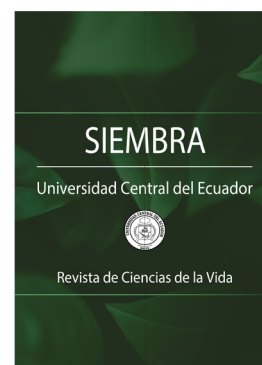


Sinergia entre la biofumigación con mostaza india y el hongo antagonista *Trichoderma harzianum* para el control de *Phomopsis* spp., bajo condiciones *in vitro*

Synergy between biofumigation with Indian mustard and the antagonist fungus *Trichoderma harzianum* for the control of *Phomopsis* spp., under *in vitro* conditions

Omar Salvador Perniola^{1,2}, María Cristina Isabel Noelting³,
Silvia Elena Chorzempa⁴, Mónica Beatriz Aulicino⁵,
Guillermo Martín Mantz⁶, Marta Mónica Astiz Gassó⁷



Siembra 11 (2) (2024): e6619

Recibido: 07/03/2024 / Revisado: 15/04/2024 / Aceptado: 30/04/2024

¹ Universidad Nacional de La Plata. Instituto Fitotécnico de Santa Catalina, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. Garibaldi 3400. CP 1836. Llavallol, Buenos Aires, Argentina.

✉ omarpnola@yahoo.com.ar

🌐 <https://orcid.org/0009-0006-2355-0242>

² Universidad Nacional de Lomas de Zamora. Facultad de Ciencias Agrarias. Ruta N° 4, Km 2. CP 1836. Llavallol, Buenos Aires, Argentina.

³ Universidad Nacional de La Plata. Instituto Fitotécnico de Santa Catalina, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. Garibaldi 3400. CP 1836. Llavallol, Buenos Aires, Argentina.

✉ mcnolting@hotmail.com

🌐 <https://orcid.org/0000-0002-7167-4518>

⁴ Universidad Nacional de Lomas de Zamora. Facultad de Ciencias Agrarias. Ruta N° 4, Km 2. CP 1836. Llavallol, Buenos Aires, Argentina

✉ chorzempa2000@yahoo.com.ar

🌐 <https://orcid.org/0009-0001-6613-447X>

⁵ Universidad Nacional de Lomas de Zamora. Facultad de Ciencias Agrarias. Ruta N° 4, Km 2. CP 1836. Llavallol, Buenos Aires, Argentina

✉ maulicino@yahoo.com

🌐 <https://orcid.org/0000-0001-5951-5701>

⁶ Universidad Nacional de La Plata. Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. Av. 60 y 119. CP 1900. La Plata, Buenos Aires, Argentina.

✉ gmartinmantz@gmail.com

🌐 <https://orcid.org/0009-0000-3893-6937>

⁷ Universidad Nacional de La Plata. Instituto Fitotécnico de Santa Catalina, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. Garibaldi 3400. CP 1836. Llavallol, Buenos Aires, Argentina.

✉ astizgasso@gmail.com

🌐 <https://orcid.org/0009-0005-9572-9703>

*Autor de correspondencia:

omarpnola@yahoo.com.ar

SIEMBRA

<https://revistadigital.uce.edu.ec/index.php/SIEMBRA>

ISSN-e: 2477-8850

Periodicidad: semestral

vol. 11, núm 2, 2024

siembra.fag@uce.edu.ec

DOI: <https://doi.org/10.29166/siembra.v11i2.6619>



Esta obra está bajo una licencia internacional Creative Commons Atribución-NoComercial

Resumen

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto combinado de dos tácticas de biocontrol de plagas: la biofumigación con *Brassica juncea* y la inoculación de *Trichoderma harzianum*, sobre el crecimiento *in vitro* del patógeno *Phomopsis* spp., agente etiológico de la cancrrosis en el cultivo de pecán (*Carya illinoensis*). Se trituraron plantas de *B. juncea* y se colocaron en envases de poliestireno en dosis de 10 y 30 g. Luego, en cada uno de estos recipientes se introdujo una caja de Petri con un disco con micelio de *Phomopsis* spp. o *T. harzianum* o ambos hongos (cultivo dual). Se incubó en cámara de cultivo. Los parámetros evaluados fueron la superficie de las colonias y el porcentaje de inhibición micelial de *Phomopsis* spp. Los datos se analizaron con estadística no paramétrica mediante la prueba de Kruskal-Wallis. Se obtuvieron los siguientes resultados: i) *B. juncea* no afectó el crecimiento de *T. harzianum*; ii) la dosis de 30 g de *B. juncea* suprimió completamente el crecimiento de *Phomopsis* spp.; iii) *T. harzianum* inhibió significativamente el crecimiento de las colonias de *Phomopsis* spp.; iv) la combinación de *T. harzianum* y la biofumigación con 10 g de *B. juncea* mostró sinergia sobre el control del crecimiento de *Phomopsis* spp. La biofumigación con *B. juncea*, la aplicación de *T. harzianum* y la combinación de ambas técnicas podrían ser alternativas promisorias para el control biológico de *Phomopsis* spp.

Palabras clave: control biológico, antagonismo, *Brassica juncea*, *Carya illinoensis*.

Abstract

This work aimed to evaluate the combined effect of two pest biocontrol strategies: biofumigation with *Brassica juncea* and inoculation of *Trichoderma harzianum*, on the *in vitro* growth of the pathogen *Phomopsis* spp., an etiological agent of canker disease in pecan crops (*Carya illinoensis*). *B. juncea* plants were crushed and placed in polystyrene recipients in doses of 10 and 30 g. Then, a Petri dish was introduced to each recipient, with a disk with a grown mycelium of *Phomopsis* spp. or *T. harzianum*, or both fungi (dual culture). Treatments were incubated in a culture chamber. The parameters evaluated were colonies' surface area and percentage of mycelial inhibition of *Phomopsis* spp. Data were analyzed with non-parametric statistics using the Kruskal-Wallis test. The

results indicated that: i) *B. juncea* did not affect the growth of *T. harzianum*; ii) the 30 g dose of *B. juncea* completely suppressed the growth of *Phomopsis* spp.; iii) *T. harzianum* significantly inhibited the growth of *Phomopsis* spp. colonies; iv) the combination of *T. harzianum* and biofumigation with 10 g of *B. juncea* showed synergy on the growth control of *Phomopsis* spp. Biofumigation with *B. juncea*, the application of *T. harzianum*, and the combination of both techniques could be promising alternatives for the biological control of *Phomopsis* spp.

Keywords: biocontrol, antagonism, *Brassica juncea*, *Carya illinoensis*.

1. Introducción

La canchrosis ocasionada por *Phomopsis* spp. es una enfermedad que afecta al cultivo de pecán (*Carya illinoensis* [Wangenh.] K. Koch): provoca lesiones hundidas y alargadas que se localizan en las ramas, a nivel del cuello y en la zona de inserción del injerto con el pie y puede llegar a ocasionar el marchitamiento de las plantas (Noelting et al., 2016b; Perniola et al., 2023). En abril de 2014 se registró por primera vez la presencia de esta enfermedad en plantaciones de pecán de la provincia de Buenos Aires, Argentina (Noelting et al., 2016a).

En busca de alternativas agroecológicas para el control de *Phomopsis* spp., que sean amigables con el medio ambiente, se iniciaron estudios preliminares *in vitro* para evaluar la biofumigación con mostaza india (*Brassica juncea* L. Czerniak) y la utilización del hongo biocontrolador *Trichoderma harzianum* Rifai, como herramientas para prevenir la enfermedad, en miras de su utilización para la desinfección de sustratos de siembra en la etapa de vivero, con el objetivo de evitar la infección en los estadios iniciales del crecimiento del pecán.

Una de las tácticas de control biológico utilizadas en el presente trabajo fue la biofumigación, que se basa en la liberación en el suelo de sustancias originadas por la descomposición de materiales orgánicos “biofumigantes” (Gimsing y Kirkegaard, 2006): residuos agroindustriales y de cosechas, estiércoles de diferentes animales, plantas frescas de especies brassicáceas y poáceas, etc. Al incorporar el biofumigante al suelo, se desencadena una serie de reacciones químicas que producen sustancias con actividad biocida: compuestos azufrados, ácido acético, amonio, etc. Asimismo, si el biofumigante es material fresco de especies brassicáceas (o algún subproducto industrial del mismo origen), su descomposición generará diferentes tipos de isotiocianatos, con variable grado de toxicidad sobre los organismos del suelo (Gowers, 2008; Harding y Wicks, 2001; Santos et al., 2021; Sarwar et al., 1998; Vandicke et al., 2020). Esto es debido a la degradación de unos compuestos denominados glucosinolatos (que están presentes en algunas células de las plantas brassicáceas), catalizada por la enzima mirosinasa, que se localiza en células cercanas a las anteriores y que entra en contacto con los glucosinolatos al producirse rupturas celulares (Chhajed et al., 2020; Kissen et al., 2009).

La mostaza india (*B. juncea*) es una de las especies brassicáceas más estudiadas para su utilización en biofumigación, con demostrado efecto fungistático sobre diversos hongos fitopatógenos: *Rhizoctonia solani* Kühn (Abdallah et al., 2020; Baysal-Gurel et al., 2020), *Pythium ultimum* Trow, *Fusarium sambucinum* FucKel, *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary (Larkin y Griffin, 2007), *Fusarium oxysporum* Schlechtend.: Fr. f. sp. *lycopersici* (Sacc.) W.C. Snyder & H.N. Hansen (Mayton et al., 1996), *Verticillium dahliae* Kleb. (Debiase et al., 2008; Michel y Lazzeri, 2008), *Phytophthora capsici* Leonian (Mason et al., 2023), *Sclerotium rolfsii* Sacc. (Chorzempa et al., 2019; Garain et al., 2021), *Fusarium graminearum* Schwabe (Perniola et al., 2012; 2021), *Phytophthora nicotianae* Breda de Haan (Baysal-Gurel et al., 2020), etc.

Otra técnica de control biológico empleada en este trabajo fue el antagonismo por *Trichoderma* spp. La utilización de este hongo como biocontrolador de plagas es una táctica agroecológica muy estudiada, debido a la facilidad de su cultivo y al amplio rango de control de fitopatógenos (Kullnig-Gradinger et al., 2002; Whipps, 2001), como resultado de múltiples mecanismos de acción, como el micoparasitismo, la competencia por los nutrientes y el espacio, la producción de antibióticos y la inducción de resistencia en las plantas (Guzmán-Guzmán et al., 2023; Poveda, 2021; Tyśkiewicz et al., 2022). Entre las especies más efectivas como biocontroladoras se encuentra *T. harzianum*, con demostrada acción sobre numerosos hongos: *R. solani* (Almeida et al., 2007), *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. (Erazo et al., 2021), *Fusarium sudanense* SA Ahmed, Al-Hatmi & de Hoog (Larran et al., 2020), *Phytophthora nicotianae* Breda de Haan (Stefanova et al., 2004), *Colletotrichum dematium* (Pers. ex Fr.) Grove (Shovan et al., 2008), *Fusarium oxysporum* f. sp. *asparagi* S.I. Cohen & Heald (Arriola et al., 2000), *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Zehra et al., 2017), *Alternaria cerealis* MT80847 (Mahmoud et al., 2021), *Alternaria burnsii* Uppal, Patel & Kamat, *Fusarium oxysporum* f. sp. *cumini* (Foc) (Deepak et al., 2008), *Fusarium ipomoeae*, *Fusarium oxysporum* Schlechtend.: Fr., *F. solani*, *Penicillium citrinum*

Thom, *Penicillium rotoruae* O'Callahan & Vaidya, *Aspergillus wentii* Wehmer, *Mucor variicolumellatus* L. Wagner & G. Walther, *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. (Paul et al., 2021), *Colletotrichum truncatum* (Schweinitz) Andrus & WD Moore (Yadav et al., 2021), entre otros patógenos.

Con respecto a la utilización conjunta de la biofumigación y *Trichoderma* spp., Kirkegaard y Matthiessen (2004) determinaron que se requieren concentraciones bajas de isotiocianatos para lograr acción fungistática sobre patógenos, como *Pythium* spp. o *Sclerotinia* spp., pero para detener el crecimiento de *Trichoderma* spp. son necesarias dosis treinta veces superiores. En trabajos previos se ha demostrado que la biofumigación con *B. juncea* suprime el crecimiento *in vitro* de *Phomopsis* spp. (Perniola et al., 2023), pero no afecta al antagonista *Trichoderma* spp. (Perniola et al., 2021). Asimismo, se observó sinergia de ambos métodos para el control *in vitro* de *F. graminearum* (Perniola et al., 2014).

Para determinar la factibilidad del uso combinado y simultáneo de la biofumigación con *B. juncea* y la aplicación de *T. harzianum*, como parte del manejo agroecológico integrado de la canchrosis del pecán, resulta importante profundizar los estudios sobre los efectos de la biofumigación sobre el hongo benéfico y los resultados de la interacción de las dos técnicas sobre *Phomopsis* spp., agente causal de dicha enfermedad.

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto combinado de dos tácticas de biocontrol de plagas: la biofumigación con *B. juncea* y la inoculación de *T. harzianum*, sobre el crecimiento *in vitro* del patógeno *Phomopsis* spp.

2. Materiales y Métodos

2.1. Materiales

El material biofumigante se obtuvo de la parte aérea de mostaza india *B. juncea* cv. "SCOP-7", variedad experimental desarrollada entre el Instituto Fitotécnico de Santa Catalina, Universidad Nacional de La Plata [IFSC] y la Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Lomas de Zamora. El cultivo de *B. juncea* se sembró en el campo experimental del IFSC, Llavallol, Argentina, en mayo de 2023; cuando alcanzó el estadio de fin de fructificación (en octubre del mismo año), se cosechó la parte aérea completa, constituida por el tallo principal y sus ramificaciones, hojas y silicuas.

La cepa de *Phomopsis* spp. utilizada fue aislada de canchros hallados en ramas infectadas de pecán e identificada y multiplicada *in vitro* en los laboratorios del IFSC. El hongo *T. harzianum* fue aislado del suelo del campo experimental del IFSC.

2.2. Procedimientos

2.2.1 Estudio del efecto biofumigante de la mostaza india sobre *Phomopsis* spp. y *T. harzianum*

La evaluación del efecto biofumigante de la mostaza india sobre *Phomopsis* spp. y *T. harzianum* se basó en una metodología ampliamente utilizada para evaluar la acción de sustancias volátiles generadas por fungicidas de origen sintético o natural (Mayton et al., 1996; Perniola et al., 2014; 2023; Richardson y Munnecke, 1964). Se segó la parte aérea de las plantas de *B. juncea*, se cortó en trozos de 2 cm de largo y se trituró en una procesadora durante un minuto, aproximadamente. El material triturado se ubicó en recipientes de poliestireno (capacidad: 900 ml), en dos dosis de 10 y 30 g (M10 y M30, respectivamente). Previamente, las cepas de *T. harzianum* y *Phomopsis* spp. se multiplicaron durante catorce y siete días, respectivamente, en medio agar papa glucosado [APG] al 2 %, a 25 ± 2 °C y oscuridad. Con un sacabocado se extrajeron discos de los respectivos cultivos de hongos, de 5 mm de diámetro, y se trasladaron de a uno a cajas de Petri con APG al 2 %. Las cajas de Petri con un disco de *Phomopsis* spp. o de *T. harzianum* se pusieron de a una dentro de los recipientes, apoyadas sobre soportes de plástico, quedando elevadas de 2 a 3 cm por encima del biofumigante. Los recipientes se cerraron con tapas plásticas. Para el control se utilizó la misma metodología, pero no se agregó el biofumigante.

2.2.2. Determinación del antagonismo de *T. harzianum* sobre *Phomopsis* spp.

Para determinar el potencial biocontrolador de *T. harzianum* sobre *Phomopsis* spp. se empleó la técnica de cultivo dual (Morton y Strube, 1955). Se colocaron en cajas de Petri con APG al 2 %, un disco de 5 mm de

diámetro de *Phomopsis* spp. y otro de *T. harzianum*, distanciados 4 cm uno del otro. Las cajas de Petri se ubicaron dentro de recipientes de 900 ml y estos se cerraron con tapas plásticas. Se utilizó el mismo control que fue citado en la sección 2.2.1.

2.2.3. Combinación de *T. harzianum* y la biofumigación con mostaza india para el control de *Phomopsis* spp.

Para estudiar el efecto conjunto de *T. harzianum* y la biofumigación con mostaza india sobre el crecimiento de *Phomopsis* spp., se combinó el cultivo dual con la técnica de biofumigación, anteriormente descriptos.

2.2.4. Incubación

La incubación se efectuó en cámara de crecimiento a 25 ± 2 °C y oscuridad. La primera etapa del ensayo (etapa biofumigante) se extendió por siete días, durante los cuales las unidades experimentales que contenían *B. juncea* estuvieron expuestas a la acción directa de los gases biofumigantes. Al séptimo día se retiró el material biofumigante de los envases de poliestireno y se continuó con la incubación hasta el día once (etapa postbiofumigante), bajo las mismas condiciones de temperatura y oscuridad citadas anteriormente, con el objeto de estudiar el crecimiento de los hongos después de haber estado expuestos a los gases.

2.3. Evaluaciones

Las mediciones se realizaron a los siete y once días, al finalizar las etapas biofumigante y postbiofumigante, respectivamente. Se midieron los diámetros de las colonias de ambos microorganismos y se calcularon sus superficies. A fin de evaluar el efecto de los diferentes tratamientos de biocontrol (biofumigación, *T. harzianum* y la combinación de ambos) sobre el hongo patógeno, se calculó el porcentaje de inhibición miceliar de *Phomopsis* spp. [*I*] mediante la ecuación [1] (Rekha et al., 2012, Vincent, 1947), donde *C* es el diámetro de la colonia de *Phomopsis* spp. en el control y, *T* es el diámetro de la colonia de *Phomopsis* spp. en el tratamiento de biocontrol.

$$I = \frac{C-T}{C} \times 100 \quad [1]$$

Los tratamientos se consideraron “supresores del hongo” cuando la superficie media de la colonia fue inferior al 50 % de la media del control (Mayton et al., 1996; Perniola et al., 2012).

2.4. Diseño experimental y análisis estadístico

En todos los procedimientos realizados, se empleó un diseño completamente aleatorizado con cinco repeticiones por tratamiento. Debido a que los datos no cumplieron los supuestos de normalidad y homocedasticidad, se aplicó estadística no paramétrica mediante la prueba de Kruskal-Wallis y la separación de medias se realizó con la prueba de comparaciones múltiples de muestras independientes por parejas. Se utilizó el programa Statistica 7.

3. Resultados y Discusión

3.1. Efecto de la biofumigación con *B. juncea* sobre *Phomopsis* spp.

En M10, al finalizar la etapa biofumigante, las colonias de *Phomopsis* spp. presentaron muy escaso crecimiento, aunque no hubo diferencia significativa con respecto al control. En cambio, en M30 no se registró crecimiento de *Phomopsis* spp. y difirió significativamente del tratamiento M10 y el control (*p* value = 0,0023; *H* = 12,13) (Tabla 1 y Figura 1A, 1D, 1G). Con respecto a la etapa postbiofumigante, se observó reanudación del crecimiento de *Phomopsis* spp. en M10, pero no en M30 (Tabla 1 y Figura 2A, 2D, 2G).

La biofumigación con 30 g de *B. juncea* suprimió totalmente el crecimiento de *Phomopsis* spp., provocando la muerte del hongo.

Tabla 1. Efecto de la biofumigación con *B. juncea* sobre el crecimiento de las colonias de *Phomopsis* spp.
Table 1. Effect of biofumigation with *B. juncea* on the growth of *Phomopsis* spp. colonies.

Tratamiento	Superficie promedio de la colonia (cm ²) [†]	
	Etapa biofumigante*	Etapa post-biofumigante**
Control	63,62 a	63,62 a
<i>B. juncea</i> - 10 g	8,11 (87,25 %) ab	56,64 (10,97 %) a
<i>B. juncea</i> - 30 g	0,00 (100,00 %) b	0,00 (100,00 %) b

[†] Los valores entre paréntesis muestran el porcentaje de inhibición micelial de *Phomopsis* spp. En cada columna, los valores con letras distintas indican diferencias significativas por la prueba de Kruskal-Wallis (* *p* value = 0,0023; *H* = 12,13 y ** *p* value = 0,0018; *H* = 12,67). / Values in parentheses show the percentage of mycelial inhibition of *Phomopsis* spp. In each column, values with different letters indicate significant differences by Kruskal-Wallis test (* *p* value = 0.0023; *H* = 12.13 and ** *p* value = 0.0018; *H* = 12.67).

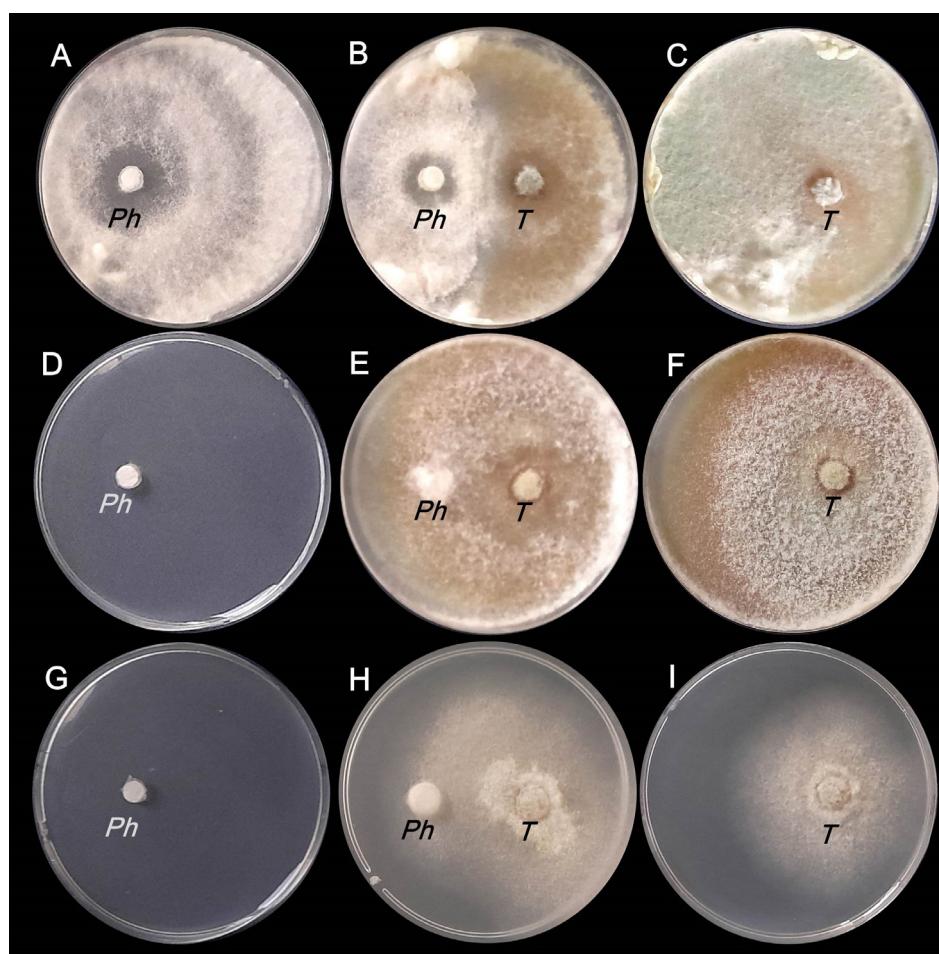


Figura 1. Colonias de *Phomopsis* spp. y *T. harzianum* al finalizar la etapa biofumigante (día 7 de la incubación). A, B, C: en ausencia de *B. juncea*; D, E, F: con 10 g de *B. juncea*; G, H, I: con 30 g de *B. juncea*; Ph: *Phomopsis* spp.; T: *T. harzianum*.

Figure 1. Colonies of *Phomopsis* spp. and *T. harzianum* at the end of the biofumigant stage (day 7 of incubation). A, B, C: in the absence of *B. juncea*; D, E, F: with 10 g of *B. juncea*; G, H, I: with 30 g of *B. juncea*; Ph: *Phomopsis* spp.; T: *T. harzianum*.

En un trabajo previo donde se evaluó la biofumigación con *B. juncea* sobre *Phomopsis* spp. (Perniola et al., 2023), se observó supresión *in vitro* del crecimiento del hongo con dosis de 30 y 60 g de *B. juncea*; sin embargo, la reducción del crecimiento fue menor cuando se utilizó material biofumigante proveniente de un cultivo de *B. juncea* sembrado en fecha subóptima, que presentaba menor contenido de glucosinolatos. Esto denota que la biofumigación con mostaza india generaría resultados variables en la reducción del crecimiento de *Phomopsis* spp., dependiendo del momento de siembra de *B. juncea* y su contenido de glucosinolatos.

Actualmente, no hay otros registros sobre el efecto de la biofumigación con *B. juncea* sobre *Phomopsis* spp.

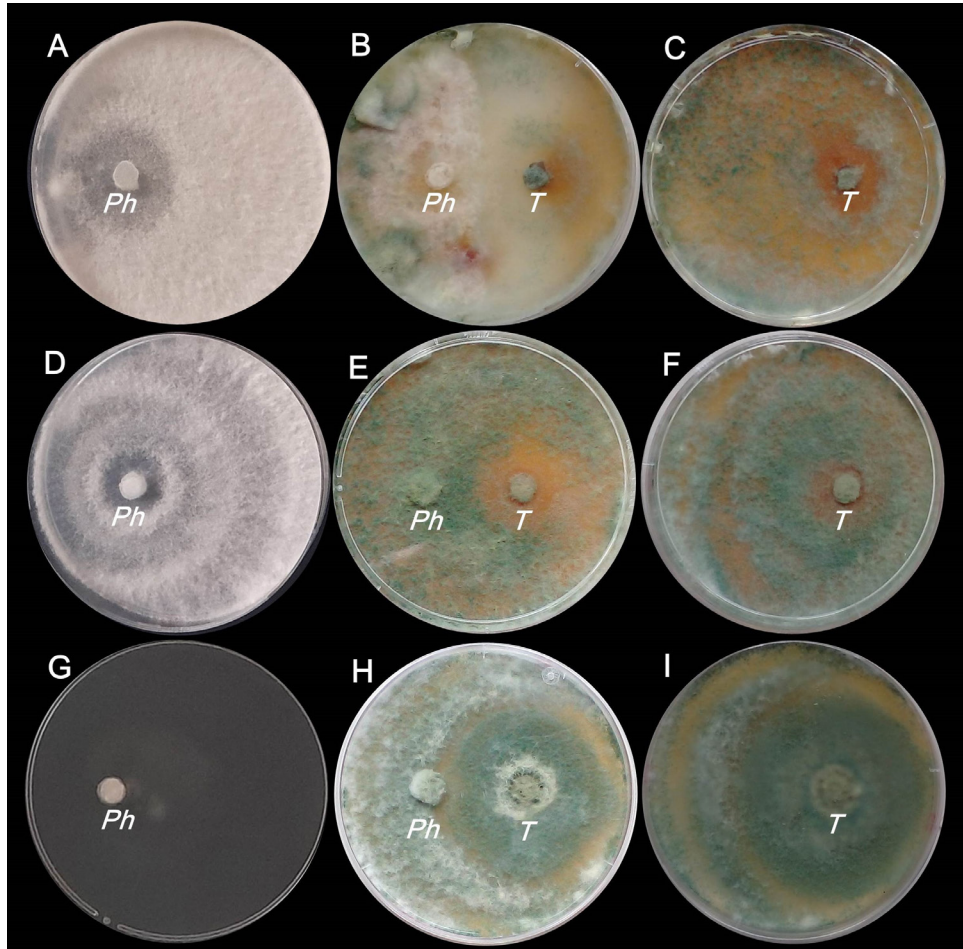


Figura 2. Colonias de *Phomopsis* spp. y *T. harzianum* al finalizar la etapa postbiofumigante (día 11 de la incubación). A, B, C: en ausencia de *B. juncea*; D, E, F: con 10 g de *B. juncea*; G, H, I: con 30 g de *B. juncea*; Ph: *Phomopsis* spp.; T: *T. harzianum*.

Figure 2. Colonies of *Phomopsis* spp. and *T. harzianum* at the end of the post-biofumigant stage (day 11 of incubation). A, B, C: in the absence of *B. juncea*; D, E, F: with 10 g of *B. juncea*; G, H, I: with 30 g of *B. juncea*; Ph: *Phomopsis* spp.; T: *T. harzianum*.

3.2. Efecto de la biofumigación con *B. juncea* sobre *T. harzianum*

Al finalizar la etapa biofumigante en el tratamiento M10, el hongo *T. harzianum* colonizó casi completamente las cajas de Petri y no se registró diferencia significativa con respecto al control sin biofumigante. En cambio, en el tratamiento M30 se observó reducción significativa de la superficie de las colonias de *T. harzianum* con respecto al control y M10 (p value = 0; $H = 25$) (Tabla 2 y Figura 1C, 1F, 1I); no obstante, una vez retirado el biofumigante, el hongo reactivó su crecimiento y colonizó la totalidad de la caja de Petri. En la etapa postbiofumigante no se registraron diferencias significativas entre tratamientos (p value = 1; $H = 0$) (Tabla 2 y Figura 2C, 2F, 2I).

Tabla 2. Efecto de la biofumigación con *B. juncea* sobre el crecimiento de las colonias de *T. harzianum*.
Table 2. Effect of biofumigation with *B. juncea* on the growth of *T. harzianum* of colonies.

Tratamiento	Superficie promedio de la colonia (cm ²) [†]	
	Etapla biofumigante*	Etapla post-biofumigante**
Control	63,62 a	63,62 a
<i>B. juncea</i> - 10 g	62,18 a	63,62 a
<i>B. juncea</i> - 30 g	32,46 b	63,62 a

[†] En cada columna, los valores con letras distintas indican diferencias significativas por la prueba de Kruskal-Wallis (* p value = 0; $H = 25$ y ** p value = 1; $H = 0$). / In each column, values with different letters indicate significant differences by Kruskal-Wallis test (* p value = 0; $H = 25$ y ** p value = 1; $H = 0$).

Los resultados muestran que la biofumigación con 10 g de *B. juncea* no suprimió el crecimiento de las colonias de *T. harzianum*, en cambio, la dosis de 30 g generó una inhibición temporal del crecimiento del hongo, sin provocar su muerte: *T. harzianum* reanudó su crecimiento una vez que finalizó la biofumigación.

Estos resultados coinciden con los hallados en trabajos previos. Perniola et al. (2014; 2016) observaron, en ensayos metodológicamente similares al presente, que la biofumigación con 5 a 55 g de *B. juncea* (en el estadio de fin de fructificación) no afectó el crecimiento *in vitro* de *Trichoderma* spp.; Chorzempa et al. (2019) hallaron que la biofumigación en condiciones de campo con 2,26 kg m⁻² de plantas frescas trituradas de *B. juncea* en el estadio de fin de fructificación, no suprimió al hongo antagonista *T. harzianum*. Asimismo, Garain et al. (2021) observaron que aislados nativos de *Trichoderma* spp. T-Nam fueron altamente tolerantes a tratamientos de biofumigación con hojas frescas maceradas de *B. juncea*, var. Pusa Mahak (valor de concentración inhibidora del 99 %: 9,46 g por 127 ml de espacio aéreo, equivalente a 67,04 g por 900 ml); Prasad et al. (2018) determinaron que *T. harzianum* fue menos sensible a los gases volátiles de varias especies del género *Brassica* (incluida *B. juncea*) en comparación con varios patógenos ensayados (*R. solani*, *S. rolfssii*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* (Padwick) Matuo & K. Sato y *S. sclerotiorum*).

3.3. Interacción de *T. harzianum* y *Phomopsis* spp. en el cultivo dual sin biofumigación

En el cultivo dual sin biofumigación se registraron los mismos valores de superficies de colonias a los 7 y 11 días de incubación, para ambos hongos. Las colonias de *Phomopsis* spp. resultaron de diámetro significativamente menor que las observadas en el cultivo individual (*p value* = 0,0053; *H* = 7,76); por el contrario, las colonias de *T. harzianum* presentaron el mismo diámetro que en el cultivo individual (*p value* = 1; *H* = 0) (Tabla 3, Figura 1A, 1B, 1C y Figura 2A, 2B, 2C).

T. harzianum inhibió significativamente el crecimiento de *Phomopsis* spp., aunque no hubo efecto supresor, ya que las colonias del patógeno en el cultivo dual superaron el 50 % de la superficie media del control, siendo el porcentaje de inhibición micelial de *Phomopsis* spp. de 48,44 % (Tabla 3). El micelio de *T. harzianum* se extendió sobre el de *Phomopsis* spp. y cubrió toda la superficie de la caja de Petri: fue poco notorio a simple vista al día 7 de la incubación (Figura 1B), pero se evidenció marcadamente al día 11, debido a la producción de conidios de color verde (Figura 2B).

Tabla 3. Antagonismo de *T. harzianum* sobre *Phomopsis* spp.
Table 3. Antagonistic effects of *T. harzianum* on *Phomopsis* spp.

Tratamiento	Superficie promedio de la colonia (cm ²) [†]	
	<i>Phomopsis</i> spp.*	<i>T. harzianum</i> **
Cultivo individual	63,62 a	63,62 a
Cultivo dual	32,80 (48,44 %) b	63,62 a

[†] Los valores entre paréntesis muestran el porcentaje de inhibición micelial de *Phomopsis* spp. En cada columna, los valores con letras distintas indican diferencias significativas por la prueba de Kruskal-Wallis (* *p value* = 0,0053; *H* = 7,76 y ** *p value* = 1; *H* = 0). / Values in parentheses show the percentage of mycelial inhibition of *Phomopsis* spp. In each column, values with different letters indicate significant differences by Kruskal-Wallis test (* *p value* = 0,0053; *H* = 7,76 y ** *p value* = 1; *H* = 0).

Otros autores encontraron mayores porcentajes de inhibición del crecimiento de *Phomopsis* spp. en cultivos duales con *T. harzianum*, variables según la especie del patógeno y la cepa del antagonista. Crovo y Clemente (2015) hallaron un 50 % de inhibición del crecimiento de *Phomopsis* spp. a los 3,5 días de incubación, aunque este porcentaje se incrementó a más del 60 % al día 7. Jakatimath et al. (2017) observaron porcentajes de inhibición micelial de *Phomopsis vexans* (Sacc. & Syd.) variables entre 56,33 y 70,66 %, según la cepa de *T. harzianum* con la que se confrontó al patógeno. López-López et al. (2023) observaron 82,2 % de inhibición de *Phomopsis perseae* Zerova cuando se lo confrontó con *T. harzianum* cepa TSONM6.

3.4. Acción conjunta de *T. harzianum* y la biofumigación con mostaza india sobre *Phomopsis* spp.

Los tratamientos que combinaban biofumigación y *T. harzianum* mostraron un porcentaje de inhibición micelial de *Phomopsis* spp. significativamente mayor que el tratamiento con *T. harzianum* sin biofumigante. No se observaron diferencias significativas entre las distintas dosis de *B. juncea*, tanto en la etapa biofumigante como en la postbiofumigante (*p value* = 0,0013; *H* = 13,29) (Tabla 4, Figura 1B, 1E, 1H y Figura 2B, 2E y 2H).

Tabla 4. Acción conjunta de *T. harzianum* y la biofumigación con mostaza india sobre *Phomopsis* spp.
Table 4. Joint effects of *T. harzianum* and Indian mustard biofumigation (*Brassica juncea*) on *Phomopsis* spp.

Tratamiento	Porcentaje de inhibición micelial de <i>Phomopsis</i> spp. †	
	Etapas biofumigante	Etapas post-biofumigante
<i>T. harzianum</i>	48,44 % a	48,44 % a
<i>T. harzianum</i> + <i>B. juncea</i> - 10 g	100,00 % b	100,00 % b
<i>T. harzianum</i> + <i>B. juncea</i> - 30 g	100,00 % b	100,00 % b

† Los valores con letras distintas indican diferencias significativas por la prueba de Kruskal-Wallis (p value = 0,0013; $H = 13,29$). / Values with different letters indicate significant differences by Kruskal-Wallis test (p value = 0.0013; $H = 13.29$).

Al finalizar el ensayo, la combinación del antagonista *T. harzianum* y la biofumigación con 10 g de *B. juncea* tuvo un efecto sinérgico en el control del crecimiento de *Phomopsis* spp.: el porcentaje de inhibición micelial en el tratamiento que combinaba las dos técnicas fue significativamente mayor que los observados en los tratamientos que aplicaban esas técnicas de biocontrol por separado (Tablas 4, 1 y 3).

En la literatura no encontramos investigaciones sobre la acción conjunta de *T. harzianum* y la biofumigación con *B. juncea* sobre *Phomopsis* spp. No obstante, existen registros de la aplicación simultánea de ambas tácticas de biocontrol en otros patógenos. En un ensayo previo donde se evaluó *in vitro* el efecto combinado de *Trichoderma* spp. y la biofumigación con plantas frescas de mostaza india (en el estadio de fin de fructificación) sobre *F. graminearum*, se observó un efecto sinérgico sobre el control del crecimiento del patógeno, con dosis de 5 y 10 g de biofumigante (Perniola et al., 2014). Otros investigadores también observaron efectos favorables al utilizar conjuntamente la biofumigación y *Trichoderma* spp. Garain et al. (2021) hallaron reducción de la incidencia de la pudrición inducida por *S. rolfsii* en *Piper betle* L. en un 95,66 %, debido al efecto combinado de la biofumigación con *B. juncea* y la enmienda de *Trichoderma* spp. en el suelo.

4. Conclusiones

Los resultados de este ensayo concuerdan con los obtenidos en pruebas *in vitro* y a campo realizadas previamente y permiten confirmar que la técnica de biocontrol con el hongo antagonista *T. harzianum* puede ser considerada compatible con la biofumigación con *B. juncea*. El crecimiento de *T. harzianum* y su potencial efecto de biocontrol sobre *Phomopsis* spp., no serían afectados por la biofumigación con *B. juncea*.

La utilización combinada de *T. harzianum* y la biofumigación con 10 g de *B. juncea*, tendría un efecto sinérgico sobre el control del crecimiento de *Phomopsis* spp.

Asimismo, la dosis de 30 g de *B. juncea* es suficiente para lograr la supresión total del patógeno, en las condiciones del presente ensayo.

La biofumigación con *B. juncea*, la aplicación de *T. harzianum* y la combinación de ambas técnicas podrían ser alternativas promisorias para el control biológico de *Phomopsis* spp.

Financiamiento

- Subsidio Lomas CyT 2022, Universidad Nacional de Lomas de Zamora.
- Fondos generados por servicios a terceros, Instituto Fitotécnico de Santa Catalina, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad Nacional de La Plata.

Contribuciones de los autores

- Omar Salvador Perniola: conceptualización, análisis formal, investigación, metodología, administración del proyecto, validación, visualización, redacción – borrador original, redacción – revisión y edición.
- María Cristina Isabel Noelting: conceptualización, investigación, metodología, administración del proyecto, validación, visualización, redacción – revisión y edición.

- Silvia Elena Chorzempa: conceptualización, análisis formal, adquisición de fondos, investigación, metodología, administración del proyecto, recursos, redacción – revisión y edición.
- Mónica Beatriz Aulicino: análisis formal, recursos, redacción – revisión y edición.
- Guillermo Martín Mantz: investigación, redacción – revisión y edición.
- Marta Mónica Astiz Gassó: conceptualización, investigación, metodología, supervisión, recursos, redacción – revisión y edición.

Implicaciones éticas

Los autores declaran que no existen implicaciones éticas.

Conflicto de interés

Los autores declaran que no existen conflictos de interés financieros o no financieros que podrían haber influido en el trabajo presentado en este artículo.

Referencias

- Abdallah, I., Yehia, R., y Kandil, M. Ah. (2020). Biofumigation potential of Indian mustard (*Brassica juncea*) to manage *Rhizoctonia solani*. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 30, 99. <https://doi.org/10.1186/s41938-020-00297-y>
- Almeida, F. B. dos R., Cerqueira, F. M., Silva, R. do N., Ulhoa, C. J., y Lima, A. L. (2007). Mycoparasitism studies of *Trichoderma harzianum* strains against *Rhizoctonia solani*: evaluation of coiling and hydrolytic enzyme production. *Biotechnology Letters*, 29(8), 1189-1193. <https://doi.org/10.1007/s10529-007-9372-z>
- Arriola, L. L., Hausbeck, M. K., Rogers, J., y Safir, G. R. (2000). The effect of *Trichoderma harzianum* and arbuscular mycorrhizae on fusarium root rot in asparagus. *Hortechology*, 10(1), 141-144. <https://doi.org/10.21273/HORTTECH.10.1.141>
- Baysal-Gurel, F., Liyanapathirana, P., y Adesso, K. M. (2020). Effect of *Brassica* crop-based biofumigation on soilborne disease suppression in woody ornamentals. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 42(1), 94-106. <https://doi.org/10.1080/07060661.2019.1625444>
- Chhajed, S., Mostafa, I., He, Y., Abou-Hashem, M., El-Domiaty, M., y Chen, S. (2020). Glucosinolate biosynthesis and the glucosinolate–myrosinase system in plant defense. *Agronomy*, 10(11), 1786. <https://doi.org/10.3390/agronomy10111786>
- Chorzempa, S. E., Perniola, O. S., Subelza, L. F., Barca, H. J., Sánchez, S. E., Rodas Alonso, R., Molina, M. C., y Astiz Gassó, M. M. (2019). Biofumigación con *Brassica juncea*. Efecto sobre *Trichoderma harzianum*, *Sclerotium rolfsii* y *Lactuca sativa*. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 54(Supl. XXXVII Jornadas Argentinas de Botánica), 136-137. <https://botanicaargentina.org.ar/wp-content/uploads/2019/09/Jornadas-Argentinas-de-Bot%C3%A1nica-2019-1-1.pdf>
- Crovo, V., y Clemente, G. E. (2015). Eficacia de fungicidas de síntesis y biológico en base a *Trichoderma harzianum* para controlar patógenos de semillas de soja. *FAVE Sección Ciencias Agrarias*, 14(2), 55-68. <https://doi.org/10.14409/fa.v14i2.5720>
- Debiase, G., Rotolo, C., Miazzi, M., Pollastro, S., Verdini, L., De Mastro, G., y Faretra, F. (2008). Biofumigant activity of *Brassicaceae* against soil-borne fungi. En *3rd International Biofumigation Symposium* (p. 59). CSIRO. Canberra. https://ausveg.com.au/app/data/technical-insights/docs/VG07191_complete.pdf
- Deepak, P., Saran, L., y Lal, G. (2008). Control of wilt and blight diseases of cumin through antagonistic fungi under *in vitro* and field conditions. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 36(2), 91-96. <https://doi.org/10.15835/nbha36276>
- Erazo, J. G., Palacios, S. A., Pastor, N., Giordano, F. D., Rovera, M., Reynoso, M. M., Venisse, J. S., y Torres, A. M. (2021). Biocontrol mechanisms of *Trichoderma harzianum* ITEM 3636 against peanut brown root rot caused by *Fusarium solani* RC 386. *Biological Control*, 164, 1049-9644. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2021.104996>

biocontrol.2021.104774

- Garain, P. K., Mondal, B. y Dutta, S. (2021). Effect of biofumigation by Indian mustard (*Brassica juncea* L.) on *Sclerotium rolfsii* Sacc., causing collar rot in betelvine (*Piper betle* L.). *Indian Phytopathology*, 74, 1015-1025. <https://doi.org/10.1007/s42360-021-00407-2>
- Gimsing, A. L., y Kirkegaard, J. A. (2006). Glucosinolate and isothiocyanate concentration in soil following incorporation of *Brassica* biofumigants. *Soil Biology and Biochemistry*, 38(8), 2255-2264. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2006.01.024>
- Gowers, S. (2008). Selection of *B. napus* and *B. rapa* lines for biofumigation potential. En *3rd International Biofumigation Symposium* (p. 79). CSIRO. Canberra. https://ausveg.com.au/app/data/technical-insights/docs/VG07191_complete.pdf
- Guzmán-Guzmán, P., Kumar, A., de los Santos-Villalobos, S., Parra-Cota, F. I., Orozco-Mosqueda, M. del C., Fadiji, A. E., Hyder, S., Babalola, O. O., y Santoyo, G. (2023). *Trichoderma* species: Our best fungal allies in the biocontrol of plant diseases—A review. *Plants*, 12(3), 432. <https://doi.org/10.3390/plants12030432>
- Harding, R. B., y Wicks, T. J. (2001). Effects of incorporating *Brassica* and cereal cover crop residues on soil populations of *Verticillium dahliae*. En *Proceedings of Second Soilborne Diseases Conference* (pp. 148-149). Lorne.
- Jakatimath, S. P., Mesta, R. K., Mushrif, S. K., Biradar, I. B., y Ajjappalavar, P. S. (2017). *In vitro* evaluation of fungicides, botanicals and bio-agents against *Phomopsis vexans*, the causal agent of fruit rot of brinjal. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 11(1), 229-235. <http://dx.doi.org/10.22207/JPAM.11.1.29>
- Kirkegaard, J. A., y Matthiessen, J. N. (2004). Developing and refining the biofumigation concept. *Agroindustria*, 3(3): 233-239.
- Kissen, R., Rossiter, J. T., y Bones, A. M. (2009). The ‘mustard oil bomb’: not so easy to assemble?! Localization, expression and distribution of the components of the myrosinase enzyme system. *Phytochemistry Reviews*, 8, 69-86. <https://doi.org/10.1007/s11101-008-9109-1>
- Kullnig-Gradinger, C. M., Szakacs, G., y Kubicek, C. P. (2002). Phylogeny and evolution of the genus *Trichoderma*: a multigene approach. *Mycological Research*, 106(7), 757-767. <https://doi.org/10.1017/S0953756202006172>
- Larkin, R. P., y Griffin, T. S. (2007). Control of soilborne potato diseases using *Brassica* green manures. *Crop Protection*, 26(7), 1067-1077. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2006.10.004>
- Larran, S., Santamarina Siurana, M. P., Roselló Caselles, J., Simón, M. R., y Perelló, A. (2020). *In Vitro* antagonistic activity of *Trichoderma harzianum* against *Fusarium sudanense* causing seedling blight and seed rot on wheat. *ACS Omega*, 5(36), 23276-23283. <http://dx.doi.org/10.1021/acsomega.0c03090>
- López-López, M. E., Del-Toro-Sánchez, C. L., Ochoa-Ascencio, S., Aguilar-López, J. A., Martínez Cruz, O., Madrigal-Pulido, J. A., Robles-García, M. A., Bernal-Mercado, A. T., Ávila-Novoa, M. G., Guerrero-Medina, P. J., y Gutiérrez-Lomeli, M. (2023). Antagonismo de cepas de *Trichoderma* spp. aisladas en Tanaxuri, Michoacán, México contra patógenos postcosecha del fruto de aguacate (*Persea americana* Mill). *Biocencia*, 25(1), 24-33. <https://doi.org/10.18633/biocencia.v25i1.1726>
- Mahmoud, G. A.-E., Abdel-Sater, M. A., Al-Amery, E., y Hussein, N. A. (2021). Controlling *Alternaria cerealis* MT808477 tomato phytopathogen by *Trichoderma harzianum* and tracking the plant physiological changes. *Plants*, 10(9), 1846. <https://doi.org/10.3390/plants10091846>
- Mason, M., Lehnhoff, E. A., Trainor, P. J., y Sanogo, S. (2023). Suppression of *Phytophthora capsici* in chile pepper using *Brassica juncea* and *Hordeum vulgare* cover crop residues and *Trichoderma harzianum* as a biocontrol agent. *Plant Disease*, 107(11), 3457-3463. <http://dx.doi.org/10.1094/PDIS-10-22-2485-RE>
- Mayton, H. S., Olivier, C., Vaughn, S. F., y Loria, R. (1996). Correlation of fungicidal activity of *Brassica* species with allyl-isothiocyanate production in macerated leaf tissue. *Phytopathology*, 86(3), 267-271. <http://dx.doi.org/10.1094/Phyto-86-267>
- Michel, V. V., y Lazzeri, L. (2008). Biofumigation to control *Verticillium* wilt influenced by plant species and soil types. En *3rd International Biofumigation Symposium* (p. 62). CSIRO. Canberra. https://ausveg.com.au/app/data/technical-insights/docs/VG07191_complete.pdf
- Morton, D. T. y Stroube, N. H. (1955). Antagonistic and stimulatory effects of microorganism upon *Sclerotium rolfsii*. *Phytopathology*, 45, 419-420. <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/19561100103>
- Noelting, M. C. I., Mantz, G., Maiale, S. J., y Molina, M. C. (2016a). Occurrence of *Phomopsis* sp. causing cankers on pecan trees in Buenos Aires province, Argentina. *New Disease Reports*, 33, 9. <http://dx.doi.org/10.5197/j.2044-0588.2016.033.009>

- Noelting, M. C. I., Mantz, G., y Molina, M. C. (2016b). Detección de una nueva patología emergente en el cultivo de pecán en la provincia de Bs. As. https://www.agro.unlp.edu.ar/sites/default/files/slides/pecan_2016.pdf
- Paul, N. C., Park, S., Liu, H., Lee, J. G., Han, G. H., Kim, H., y Sang, H. (2021). Fungi associated with post-harvest diseases of sweet potato storage roots and *in vitro* antagonistic assay of *Trichoderma harzianum* against the diseases. *Journal of Fungi*, 7(11), 927. <https://doi.org/10.3390/jof7110927>
- Perniola, O. S., Chorzempa, S. E., D'Amico, M., Staltari, S., Molina, M. C., y Astiz Gassó, M. M. (2021). Obtención de la primera variedad argentina de mostaza india: Santa Catalina UNLP, para su utilización como biofumigante. *Innovación y Desarrollo Tecnológico y Social*, 3(1), 1-23. <https://doi.org/10.24215/26838559e027>
- Perniola, O. S., Chorzempa, S. E., Staltari, S., Astiz Gassó, M. M., Galian, L. R., y Molina, M. C. (2016). Biofumigación con *Brassica juncea* L. Czerniak y *Sinapis alba* L. Acción sobre el crecimiento *in vitro* de *Trichoderma* spp. y *Azospirillum brasilense* Tarrand, Krieg et Döbereiner. *Revista de Protección Vegetal*, 31(1), 57-62. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522016000100008
- Perniola, O. S., Noelting, M. C. I., Chorzempa, S. E., Mantz, G. M., Alonso, D. O., y Astiz Gassó, M. M. (2023). Biofumigación con mostaza india: actividad supresora sobre *Phomopsis* spp., agente causal de cancrisis en pecán. En *Primer Congreso Nacional de Innovación Social*. La Plata.
- Perniola, O. S., Staltari, S., Chorzempa, S. E., Astiz Gassó, M. M., y Molina, M. C. (2014). Control biológico de *Fusarium graminearum*: utilización de *Trichoderma* spp. y biofumigación con parte aérea de *Brassica juncea*. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias UNCuyo*, 46(2), 45-56. <https://revistas.uncu.edu.ar/ojs3/index.php/RFCA/article/view/5603>
- Perniola, O. S., Staltari, S., Chorzempa, S. E., y Molina, M. C. (2012). Biofumigación con Brassicáceas: actividad supresora sobre *Fusarium graminearum*. *Revista de la Facultad de Agronomía UNLP*, 111(1), 48-53. <http://revista-vieja.agro.unlp.edu.ar/index.php/revagro/article/view/71>
- Poveda, J. (2021). *Trichoderma* as biocontrol agent against pests: New uses for a mycoparasite. *Biological Control*, 159, 104634. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2021.104634>
- Prasad, P., Kumar, J., y Pandey, S. (2018). Investigating disease controlling ability of *Brassica* volatiles and their compatibility with *Trichoderma harzianum*. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Science*, 88, 887-896. <https://doi.org/10.1007/s40011-016-0829-5>
- Rekha, D., Patil, M. B., Shridhar Shetty, P., Swamy, K. M., y Rajini, B. G. (2012). *In vitro* screening of native *Trichoderma* isolates against *Sclerotium rolfsii* causing collar rot of ground nut. *International Journal of Science and Nature*, 3(1), 117-120. [https://www.scienceandnature.org/IJSN_Vol3\(1\)2012.php](https://www.scienceandnature.org/IJSN_Vol3(1)2012.php)
- Richardson, L. T., y Munnecke, D. E. (1964). A bioassay for volatile toxicants from fungicides in soil. *Phytopathology*, 54, 836-839.
- Santos, C. A. dos., Abboud, A. C. de S., y Carmo, M. G. F. do. (2021). Biofumigation with species of the *Brassicaceae* family: a review. *Ciência Rural*, 51(1), e20200440. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr2020040>
- Sarwar, M., Kirkegaard, J. A., Wong, P. T. W., y Desmarchelier, J. M. (1998). Biofumigation potential of brassicas III. *In vitro* toxicity of isothiocyanates to soil-borne fungal pathogens. *Plant Soil*, 201, 103-112. <https://doi.org/10.1023/A:1004381129991>
- Shovan, L. R., Bhuiyan, K. A., Begum, J. A., y Pervez, Z. (2008). *In vitro* control of *Colletotrichum dematium* causing anthracnose of soybean by fungicides, plant extracts and *Trichoderma harzianum*. *International Journal of Sustainable Crop Production*, 3(3), 10-17. <https://ggfjournals.com/content/papers/v3i210-17>
- Stefanova, M., Sandoval, I., Martínez, M. L., Heredia, I., Ariosa, M. D., y Arévalo, R. (2004). Control de hongos fitopatógenos del suelo en semilleros de tabaco con *Trichoderma harzianum*. *Fitosanidad*, 8(2), 35-38. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=209117836008>
- Tyśkiewicz, R., Nowak, A., Ozimek, E., y Jarozuk-Ściśeł, J. (2022). *Trichoderma*: The current status of its application in agriculture for the biocontrol of fungal phytopathogens and stimulation of plant growth. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(4), 2329. <https://doi.org/10.3390/ijms23042329>
- Vandicke, J., De Visschere, K., Deconinck, S., Leenknecht, D., Vermeir, P., Audenaert, K., y Haesaert, G. (2020). Uncovering the biofumigant capacity of allyl isothiocyanate from several *Brassicaceae* crops against *Fusarium* pathogens in maize. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100(15), 5476-5486. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10599>
- Vincent, J. M. (1947). The esters of 4-hydroxybenzoic acid and related compounds. Part I. Methods for the study of their fungistatic properties. *Journal of the Society of Chemical Industry*, 66(5), 149-155. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10599>

doi.org/10.1002/jctb.5000660504

- Whipps, J. M. (2001). Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany*, 52(suppl_1), 487-511. https://doi.org/10.1093/jexbot/52.suppl_1.487
- Yadav, M., Dubey, M. K., y Upadhyay, R. S. (2021). Systemic resistance in chilli pepper against anthracnose (caused by *Colletotrichum truncatum*) induced by *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma asperellum* and *Paenibacillus dendritiformis*. *Journal of Fungi*, 7(4), 307. <https://doi.org/10.3390/jof7040307>
- Zehra, A., Meena, M., Dubey, M. K., Aamir, M., y Upadhyay, R. S. (2017). Synergistic effects of plant defense elicitors and *Trichoderma harzianum* on enhanced induction of antioxidant defense system in tomato against fusarium wilt disease. *Botanical Studies*, 58, 44. <https://doi.org/10.1186/s40529-017-0198-2>