REVISTA CUBANA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
http://www.rccb.uh.cu

ARTÍCULO DE REVISIÓN

Actividad micoparasítica en la interacción *Trichoderma* spp. - *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*

Mycoparasitic activity in the interaction Trichoderma *spp.* - Fusarium oxysporum *f. sp.* ciceris

Beatriz Fernández Millares[1], Maybel Almenares Casanova[1], Mirta Elisa Aguado[2], Acela Díaz de la Osa[1], Annia Hernández-Rodríguez[1*]

1 Departamento de Microbiología. Facultad de Biología. Universidad de La Habana. Cuba

2 Centro de Estudios de Proteínas. Facultad de Biología. Universidad de La Habana. Cuba

*Autora para correspondencia: *annia@rect.uh.cu*

RESUMEN

Este trabajo tuvo como objetivo valorar las perspectivas de empleo de *Trichoderma* ssp. para el manejo de la marchitez del garbanzo provocada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*. Se resumen los principales aspectos relacionados con la actividad antagónica y micoparasítica de *Trichoderma* spp., así como la maquinaria enzimática que se despliega en la interacción microorganismo-microorganismo. Se propone un modelo que integra las diferentes etapas de la actividad micoparasítica de *Trichoderma* ante *Fusarium*, a partir de los resultados de la interacción *T. harzianum* -Th 4 sobre *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*-1 y la literatura especializada en el tema. Las cepas autóctonas de *Trichoderma* presentan actividad micoparasítica ante *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*, lo que sugiere sus potencialidades de uso para el manejo de la marchitez del garbanzo.

Palabras clave: Actividad antagónica, micoparasitismo, reconocimiento, enrollamiento, proteasas

ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the perspectives of the use of *Trichoderma* spp. for the management of chickpea wilt caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*. The main aspects related to the antagonistic and mycoparasitic activity of *Trichoderma* spp. are summarized, as well as the enzymatic machinery deployed in the microorganism-microorganism interaction. A model integrating the different stages of the mycoparasitic activity of *Trichoderma* against *Fusarium* is proposed, based on the results of the *T. harzianum* -Th 4 interaction on *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*-1 and the specialized literature on the subject. Autochthonous *Trichoderma* strains show mycoparasitic activity against *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*, suggesting their potential use in the management of chickpea wilt.

***Keywords**: Antagonistic activity, mycoparasitism, recognition, rolling or contact, proteases .*

Recibido: 2022-06-23

Aceptado: 2022-10-13

INTRODUCCIÓN

El garbanzo (*Cicer arietinum* L.) se considera una de las fuentes de alimentación más importantes a nivel mundial, tanto para humanos como animales por su alto valor nutricional como fuente de magnesio, hierro, potasio y vitaminas del complejo B. Anualmente se producen 14,2 millones de toneladas de garbanzo distribuidas en una superficie de 14,8 millones de hectáreas (Bernardi, 2016).

En Cuba es un cultivo relativamente de nueva introducción (Martínez-Coca *et al*., 2018). Su rendimiento es afectado por factores bióticos y abióticos que generan estrés a la planta. Los factores abióticos están asociados a las condiciones climáticas que requiere la planta para su desarrollo y a la disponibilidad de nutrientes en el suelo. Entre los factores bióticos, destaca la acción de diferentes plagas, tales como insectos, caracoles y microorganismos patógenos que provocan severos daños en las plantaciones (Cárdena y Ortiz, 2013; Oliva -Ortiz *et al*., 2017). La marchitez provocada por el hongo *Fusarium oxysporum* f. sp *ciceris* es la enfermedad de mayor significación provocando síntomas de pudrición de la raíz y marchitez vascular. La etapa fenológica del cultivo más afectada es la de llenado de las legumbres (Jiménez *et al*., 2011).

Esta enfermedad produce pérdidas del 10 al 40 % de la cosecha anual y puede devastar por completo al cultivo en condiciones favorables para el desarrollo del patógeno (Guerrero *et al*., 2015). En su manejo se incluyen diferentes métodos para el control de la plaga y para evitar la diseminación de la enfermedad. Las mejores medidas de control son preventivas, ya que no existe un control curativo que sea efectivo y económicamente rentable (Martínez-Coca *et al*., 2018). Además, la eficacia de los productos químicos empleados para el manejo de este patógeno ha sido baja, debido a la alta variabilidad genética del patógeno y a que la aplicación de compuestos como los bencimidazoles y triazoles favorecen la resistencia microbiana (Yossen y Conles, 2014).

Diversos estudios demuestran que hongos pertenecientes al género *Trichoderma* (principalmente *Trichoderma harzianum*) constituyen una alternativa prometedora para el control de *Fusarium oxysporum* (Acosta *et al*., 2013; Guédez *et al*., 2012). Este antagonista posee numerosas ventajas como agente de control biológico, ya que se encuentra de forma natural en la mayoría de los suelos de uso agrícola y despliega diversos mecanismos de acción sobre los hongos fitopatógenos, tales como la competencia por espacio y nutrientes, la antibiosis y el micoparasitismo (Martínez-Coca *et al*., 2013; Duarte-Leal *et al*., 2021).

Este trabajo tiene como objetivo valorar las perspectivas de empleo de *Trichoderma* ssp. para el manejo de la marchitez del garbanzo provocada por *Fusarium oxysporum* f. sp. ciceris.

DESARROLLO

Generalidades del cultivo del garbanzo (*Cicer arietinum* L.): la marchitez provocada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*.

El garbanzo (*Ciceris arietinum* L.) es una especie de leguminosa que pertenece a la familia *Fabaceae*. Es originario de la región sur del Cáucaso y del norte de Persia, principalmente el territorio que hoy ocupa Irán (Van der Maessen, 1972). A nivel mundial se sitúa en la lista de leguminosas más cultivadas, después de la soya (*Glycine max* (L.) Merrill), el haba (*Vicia faba* L.), los frijoles (*Phaseolus vulgaris* L.) y los chícharos o guisantes (*Pisum sativum* L.). En la actualidad, más del 90 % de la producción mundial se concentra en Asia, aunque otros productores importantes son Pakistán y Turquía (Vargas-Blandino y Cárdenas, 2021). En Cuba en los últimos años, el cultivo del garbanzo ha adquirido especial importancia (Cárdenas-Travieso *et al*., 2021). Su siembra se realiza en el período seco de invierno que transcurre desde el 15 de noviembre hasta el 30 de diciembre. Aunque para cultivares de ciclo corto en localidades con bajo régimen fluvial este período puede extenderse hasta el 15 de enero (Shagarodsky *et al*., 2005).

Las enfermedades fúngicas son las más frecuentes en el cultivo del garbanzo, específicamente las causadas por hongos del suelo (Cárdenas *et al*., 2012). Entre estos se encuentran: *Sclerotium rolfsii* (Sangeeta *et al.,* 2022), *Rhizoctonia solani* (Mercado y Berruezo*,* 2021), *Macrophomina phaseolina* (DellÓlmo *et al.,* 2022) *y Fusarium* spp. (Herrera *et al.,* 2020). La marchitez del garbanzo, provocada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris,* es la principal limitación de la producción a nivel global (Herrera *et al.,*2020). El hongo penetra a través de las raíces, infectando el sistema vascular de las plantas. El patógeno secreta enzimas que degradan la pared

celular formándose geles que bloquean su sistema de transporte. La decoloración de los tejidos internos progresa desde la raíz hasta la parte aérea de la planta produciendo amarillamiento, marchitez del follaje y finalmente necrosis. Otros síntomas incluyen peciolos y raquis caídos, oscurecimiento de los haces vasculares y finalmente, la muerte de la planta (Sharma *et al*., 2019).

Fusarium oxysporum es un hongo del suelo que produce varios tipos de esporas asexuales, entre las que se encuentran macroconidios, microconidios y estructuras de resistencia, las clamidiosporas. Estas últimas constituyen una fuente importante de inóculo, ya que pueden permanecer en el suelo durante largos períodos de tiempo, lo que complejiza el control de la enfermedad (Torres, 2000).

El manejo actual de la enfermedad se lleva a cabo principalmente a través del empleo de agrotóxicos, productos químicos utilizados para combatir plagas en la agricultura y que tienen efectos nocivos para la salud. Entre ellos se encuentran Derosal®, Benomyl, Vitavax, Privent y Ridomil (Maitlo *et al*., 2014).

Trichoderma ssp. en el manejo de la marchitez del garbanzo.

Trichoderma destaca entre los microorganismos antagonistas del suelo más empleados como controladores biológicos de diferentes patógenos (Castro *et al*., 2020; Corallo *et al*., 2021). Este género tiene una alta presencia en suelos agrícolas y naturales, la capacidad de colonizar sustratos rápidamente, desarrollar actividad antagónica contra un amplio rango de agentes fitopatógenos, activar resistencia sistémica inducida en plantas y promover el crecimiento vegetal (Martínez *et al*., 2013).

Las especies pertenecientes al género *Trichoderma* se caracterizan por ser hongos saprófitos, que sobreviven en suelos con diferentes cantidades de materia orgánica y en determinadas condiciones pueden ser anaerobios facultativos, lo que les permite mostrar una mayor plasticidad ecológica. Presentan una alta capacidad enzimática para degradar sustratos, un metabolismo versátil y resistencia a inhibidores microbianos (Infante *et al*., 2009).

La mayoría de las especies de *Trichoderma* presentan clamidosporas, las cuales pueden ser intercalares y en ocasiones terminales. Las clamidosporas toleran condiciones ambientales adversas, son estructuras de sobrevivencia y permiten que el hongo pueda perdurar a través del tiempo (Stefanova *et al*., 1999). Debido a esto se dice, que las especies de *Trichoderma* producen tres tipos de propágulos: hifas, clamidosporas y conidios (Infante *et al*., 2009).

Micoparasitismo de _Trichoderma spp._

El término "micoparasitismo" define la interacción entre un micoparásito (los hongos tienen la capacidad de parasitar a otros hongos) y un micohospedador (los hongos actúan como huésped para ser parasitado) (Barnett, 1963; Hawksworth *et al*., 1995). En la figura 1 se evidencia la actividad micoparasítica de la cepa *T. harzianum* -Th 4 sobre la cepa de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*-1, gentilmente donada por la colección de cultivo del Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal de Cuba.

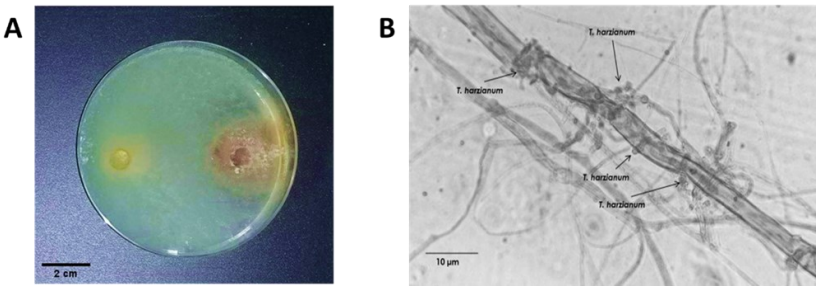

Figura 1. Actividad micoparasítica de la cepa *T. harzianum* -Th 4 ante *Fusarium oxysporum* f. sp. ciceris-1. A: Ensayo de cultivo dual, *T. harzianum* – Th4 sobrecreció la colonia de *F. oxysporum*. B: Microfotografía del cultivo dual donde se observa el enrollamiento de las hifas de *T. harzianum* Th4 alrededor de una hifa de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*-1 (400X) (Fotografías originales de los autores).

Figure 1. *Mycoparasitic activity of T. harzianum –Th4 strain against Fusarium oxysporum f. sp* ciceris-*1. A: Dual culture assay,* T. harzianum-*Th4 outgrown* F. xysporum *colony. B: Microphotograph of dual culture where coiling of the hyphae of* T. harzianum *Th4 around a hypha of* Fusarium oxysporum *f. sp* ciceris-*1 (400X) (Original photographs by authors).*

El micoparasitismo incluye una cadena de eventos sucesivos y complejos. En primer lugar, las cepas de *Trichoderma* detectan a los hongos fitopatógenos por quimiotropismo y crecen en dirección a ellos (Chet *et al*., 1981). La detección del hospedante se debe, en parte, a la expresión secuencial de las enzimas que degradan la pared celular, en su mayoría quitinasas, glucanasas y proteasas. La difusión de estas enzimas cataliza la liberación de oligómeros de la pared celular de los hongos patógenos y esto a su vez induce la expresión de endoquitinasas, que también pueden difundir y comenzar el ataque contra el hongo hospedero antes del contacto (Viterbo *et al*., 2002).

Trichoderma genera estructuras conocidas como apresorios para adherirse a su hongo hospedero. En los sitios donde se fija el apresorio, se originan orificios por donde se produce la entrada directa de las hifas hacia el lumen del hongo patógeno. La lectina que se encuentra en la pared celular, media el enrollamiento de las hifas del agente de biocontrol sobre las del patógeno, al mismo tiempo puede disolver sus paredes y llegar a penetrarlas físicamente. En este proceso intervienen al menos 20-30 genes conocidos, proteínas y otros metabolitos que están directamente involucrados en esta interacción (Singh *et al*., 2018). La acción micoparasitaria concluye con la pérdida del contenido citoplasmático de la célula hospedante mostrando síntomas de disgregación de la hifa (Nico *et al*., 2005).

Maquinaria enzimática que se despliega durante la acción micoparasitaria de *Trichoderma*

Proteasas

En la actividad micoparasítica de *Trichoderma* intervienen diferentes enzimas. Son numerosas las evidencias del importante papel que desempeñan las proteasas. Fan *et al*. (2014) informaron que las proteasas secretadas por especies de *Trichoderma* durante el biocontrol mejoran la resistencia de la planta ante el estrés biótico y suprimen el desarrollo del fitopatógeno por hidrólisis de las proteínas que componen su pared celular. Los oligonucleótidos resultantes de la hidrólisis pueden desempeñar un importante papel en el reconocimiento entre las especies de *Trichoderma* y los hongos fitopatógenos al desencadenar una cascada de señalización y mejorar la expresión de metabolitos secundarios y enzimas líticas de la pared celular (Elad y Kapat, 1999; Alfiky y Weisskopf, 2021).

T. harzianum produce y secreta al menos tres proteasas de diferentes masas moleculares; una de 18 KDa y otras dos entre los 16 y 17 KDa. En condiciones nativas, es capaz de reducir las proteínas de la pared celular del patógeno, pero no los azúcares (De Marco y Felix, 2002).

En la interacción *T. harzianum*-Th4 -*F. oxysporum*, se detectó la presencia del gen *prb1* que codifica para una proteasa alcalina cuya expresión está condicionada por la proximidad de la cepa antagonista al patógeno, lo que indica que esta enzima está involucrada en la degradación de las proteínas de la pared celular de *F. oxysporum*. Estos resultados coinciden con lo informado en otros estudios donde se ha demostrado que la proteasa alcalina Prb1 de 31 KDa de *T. harzianum*, producto del gen *prb1*, incrementa la eficacia de cepas antagonistas ante *R. solani* (Kredics *et al*., 2005).

Otras proteasas involucradas en la actividad micoparasítica son: proteasa aspártica P6281 de *Trichoderma harzianum* CECT 2413 (Suárez *et al*., 2004), proteasa aspártica PapA de *Trichoderma asperellum* T-203 (Viterbo *et al*., 2004), proteasa aspártica SA76 (Liu y Yang, 2007) y serino proteasa SL41 (Liu *et al*., 2009).

Quitinasas y glucanasas

Las quitinasas y glucanasas producidas por *Trichoderma* también participan en el mecanismo de micoparasitismo, lo que está directamente relacionado con la composición química de la pared celular fúngica. Sin embargo, en la literatura existen criterios divergentes en relación a la importancia de estas moléculas en el efecto antagonista de *Trichoderma* ante patógenos fúngicos. Carsolio *et al*., (1998) concluyeron que estas enzimas forman parte de una serie de respuestas de *Trichoderma* frente al patógeno, pero no son esenciales para un control efectivo de la enfermedad en la planta.

Otros autores han planteado que las quitinasas de *Trichoderma* son más efectivas para el control de plagas que las producidas por las plantas (De la Cruz *et al*., 1992; Markovich y Kononova, 2002). Esto podría estar relacionado con la actividad sinérgica o en sucesión de estos dos grupos de enzimas con otras moléculas efectoras producidas en las diferentes etapas del micoparasitismo. Sin embargo, otros estudios básicos deben ser realizados para corroborar esta hipótesis.

Consideraciones finales

Trichoderma spp. tiene un gran potencial de empleo, se ha comprobado que su uso es eficiente en el control de diversas plagas que afectan a cultivos de importancia económica como las leguminosas (Singh *et al*., 2018). Sin embargo, con relación a sus mecanismos de acción, se deben abordar estudios básicos a nivel bioquímico y molecular que contribuyan a dilucidar los verdaderos efectos en la interacción microorganismo-microorganismo con vistas a mejorar su efectividad como antagonistas microbianos. En particular, el micoparasitismo es de especial interés por su efecto en el control biológico de patógenos, debido a que no solo inhibe su crecimiento, sino que puede eliminar o inactivar las estructuras del patógeno presentes en el ecosistema que podrían constituir nuevas fuentes de inóculo (Alfiky y Weisskopf, 2021).

En este trabajo se propone un modelo que integra las diferentes etapas de la actividad micoparasítica de *Trichoderma* ante *Fusarium*, a partir de los resultados del estudio de la interacción *T. harzianum* -Th 4 sobre *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*-1 y lo reportado en la literatura. La Figura 2 representa de forma gráfica las tres etapas en que se desarrolla este mecanismo. En la primera etapa se activan genes que favorecen el reconocimiento microorganismo – microorganismo. En la segunda etapa *Trichoderma* se adhiere y enrolla alrededor de las hifas del patógeno. Finalmente, en la tercera etapa, degrada las estructuras celulares del patógeno y ocurre la disgregación de las hifas.

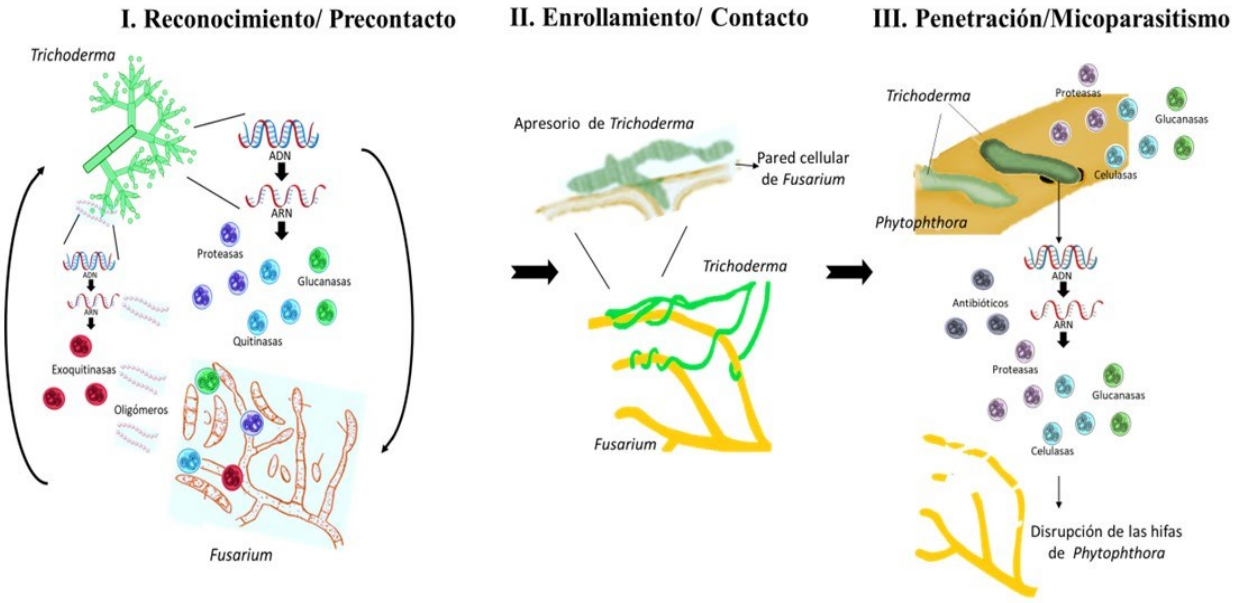

Figura 2. Modelo de la actividad micoparasítica en la interacción *Trichoderma-Fusarium.* (I) *Trichoderma* reconoce a los patógenos mediante la expresión secuencial de enzimas degradadoras de pared celular como quitinasas, glucanasas y proteasas, dando lugar a la liberación de oligómeros que inducen la expresión de los genes implicados en la producción de exoquitinasas. (II) Posteriormente, ocurre la etapa de enrollamiento/contacto, donde *Trichoderma* se adhiere y enrolla alrededor de las hifas del patógeno formando estructuras tipo apresorio que favorecen la penetración a las células del patógeno. (III) En la etapa de micoparasitismo *Trichoderma* secreta enzimas y antibióticos que inhiben el crecimiento y degradan las estructuras celulares del patógeno, provocando la disgregación de las hifas.

Figure 2. *Model of mycoparasitic activity in* Trichoderma-Fusarium *interaction. (I)* Trichoderma *recognizes pathogens through the sequential expression of cell wall degrading enzymes such as chitinases, glucanases and proteases, giving rise to the release of oligomers that induce the expression of genes involved in the production of exochitinases. (II) Subsequently, the coiling/contact stage occurs, where* Thrichoderma *adheres and coils around the pathogen´s hyphae, forming appresorium-like structures that favor the penetration of the pathogen´s cells. (III) In the stage of mycoparasitism,* Trichoderma *secretes enzymes and antibiotics that inhibit grwoth and degrade the celular structures of the pathogen, causing the disintegration of the hyphae.*

Dado el potencial benéfico que presenta *Trichoderma*, estos antagonistas microbianos representan una fuente interesante a explotar en la elaboración de biopreparados con efecto en el control de patógenos, integrándose a los paquetes tecnológicos para el uso de productos autóctonos en el fortalecimiento del manejo agroecológico de los cultivos, con énfasis en garbanzo.

Literatura Citada

Acosta-Suárez, M., T. Pichardo, B. Roque, M. Cruz-Martín, E. Mena, M. LeivaMora, R. Castro y Y. Alvarado-Capó (2013). Antagonismo in vitro de *Trichoderma harzianum* Rifai contra *Mycosphaerella fijiensis* Morelet. Biot. Veg. 13(4).

Alfiky, A. y L. Weisskopf (2021). Deciphering *Trichoderma*-Plant-Pathogen Interactions for Better Development of Biocontrol Applications. J.Fungi, 7(61).

Barnett H.L. (1963). The Nature of Mycoparasitism by Fungi. Annu. Rev. Microbiol. 17(1): 1-14.

Bernardi L. A. (2016). Informe de garbanzo (*Cicer arietinum* L.). 1-7. http:// www.agroindustria.gob.ar/new/0-0/.

Cárdenas, R. M. y R. Ortiz (2013). Tipificación y descripción de la diversidad manejada en instituciones vinculadas al Programa de Innovación Agropecuaria Local. La Biodiversidad Agrícola en manos del campesinado cubano. 28-37.

Cárdenas-Travieso, R. M., R. Ortiz Pérez, A. Echevarría Hernández 0 Shagarodsky Scull (2012). Caracterización y selección agroproductiva de líneas de garbanzo (*Cicer arietinum L.) introducidas en Cuba. Cult. Trop. 33(2): 69-74.*

Cárdenas-Travieso R. M., R. Ortiz y D. Vargas-Blandino (2021). El garbanzo en el occidente de Cuba: aportes de las ferias de Agrodiversidad. Agron. Mesom 32(2).

Carsolio, C., N. Benhamou, S. Haran, C. Cortes, A. Gutiérrez, I. Chet y A. Herrera (1999). Role of the *Trichoderma harzianum* Endochitinase Gene, *ech42*, in Mycoparasitism. Appl. Environ. Microbiol. 65(3): 929-935.

Duarte-Leal, Y., D. Infante y B. Martínez (2021). Biocontrol de cepas de *Trichoderma* spp. frente a aislados de *Fusarium* spp. procedentes de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). Rev. Prot. Veg. 36 (2): 1-5.

Castro del Ángel E., a. Sánchez, M.E. Galindo, M.E Vázquez (2020). Control biológico de la pudrición de mazorca en genotipos de maíz con especies de *Trichoderma. Revista Bio Ciencias. 7:14.*

Chet, I., G. Harman y R. Baker (1981). *Trichoderma harzianum: Its hyphal* interactions with *Rhizoctonia solani and Pythium spp. Microb. Ecol. . 7(1):* 29-38.

Corallo A. B., L.J. B. Rossi y S.M. Tiscornia (2021). *Trichoderma* strains selection for biological control of *Fusarium nygamai* in sorghum *(Sorghum bicolor L*. Moench). Revista Colombiana de Investigadores Agroindustriales 8(1): 11-22.

De la Cruz, J., A. Hidalgo, J.M. Lora, T. Benítez, J.A. Pintor y A. Llobell (1992). Isolation and characterization of three chitinases of *Trichoderma harzianum.* Eur. J. Biochem 206: 859-867.

De Marco, J. L. y C. R. Felix (2002). Characterization of a protease produced by a *Trichoderma harzianum isolate which controls cocoa plant witches' broom disease. BMC biochemistry. 3(1): 1 -7*

Elad, Y. y A. Kapat (1999). The role of *Trichoderma harzianum protease in the* biocontrol of *Botrytis cinerea. Eur. J. Plant Pathol . 105(2):*177-189.

Fan, H., Z. Liu, R. Zhang, N. Wang, K. Dou, G. Mijiti, G. Diao y Z. Wang (2014).Functional analysis of a subtilisin-like serine protease gene from biocontrol fungus *Trichoderma harzianum.* J. Microbiol. *52(2): 129-138.*

Guédez, C., L. Cañizalez, C. Castillo y R. Olivar (2012). Evaluación in vitro de aislamientos de *Trichoderma harzianum para el control de Rhizoctonia solani, Sclerotium rolfsii y Fusarium oxysporum en plantas de tomate. Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología. 32(1): 44-49.*

Guerrero, Z., J.A. Acosta, B.M. Sánchez, P.F. Ortega y M.M. Gozález (2015). Razas patogénicas de *Fusarium oxysporum f.sp ciceris* en garbanzo cultivado en Guanajuato, México. Rev.Fitotec.Mex. 38: 183-190.

Herrera L., M. Diaz, V. D. Gil y M. C. Acosta (2020). Hongos asociados a las pudriciones radicales en garbanzo (*Cicer erietinum*). Centro Agrícla 47: 84-87.

Hawksworth DL, Kirk PM, Sutton BC, Pegler DM (1995). Ainsworth & Bisby's dictionary of the fungi. 8th edition. CAB International, Wallingford.

Infante D., B. Martínez, N. González y Y. Reyes (2009). Mecanismos de acción de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos. Rev. Prot. Veg. 24(1): 14-21.

Jiménez-Fernández, D., M. Montes-Borrego, R. M. Jiménez-Díaz, J. A. NavasCortés y B. B. Landa (2011). In plant and soil quantification of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* and evaluation of *Fusarium* wilt resistance in chickpea with a newly developed quantitative polymerase chain reaction assay. 101 (2): 250-262.

Kredics, L., Z. Antal, A. Szekeres, L. Hatvani, L. Manczinger, C. Vágvölgyi y E.Nagy (2005). Extracellular proteases of *Trichoderma* species. Acta microbiológica e immunológica hungarica. 52(2): 169-184.

Liu, Y. y Q. Yang (2007). Cloning and heterologous expression of asparticprotease SA76 related to biocontrol in *Trichoderma harzianum. FEMS*microbiology letters. 277(2): 173-181.

Liu, Y., Q. Yang y J. Song (2009). A new serine protease gene from *Trichoderma harzianum* is expressed in *Saccharomyces cerevisiae.* Appl Biochem Microbiol. 45: 22-26.

Maitlo, S., R. Syed, M. Rustamani, R. Khuhro y A. Lodhi (2014). Comparative efficacy of different fungicides against *Fusarium wilt of chickpea (Cicer arietinum L.). Pak J Bot.* 46(6): 2305-2312.

Markovich, N.A. y G.L. Kononova (2002). Lytic Enzymes of *Trichoderma* and Their Role in Plant Defense from Fungal Diseases: A Review. Appl. Biochem. Microbiol. *,* 39(4): 341-351.

Martínez-Coca, B., D. Infante y Y. Reyes (2013). *Trichoderma spp.*

y su función en el control de plagas en los cultivos. Rev.Prot. Veg. 28(1): 1-11.

Martínez-Coca, B., D. Infante y W. Caraballo (2018). Antagonism of strains of *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg against isolates of *Fusarium* spp. from chickpea. Rev.Prot. Veg., 33(2).

Mercado G.E. y L. A. Berruezo (2021). Enfermedades radicales y de la base del tallo en el cultivo de garbanzo (*Cicer arietinum) en la provincia de Salta. Asociación Argentina de Fitopatólogos.*

Nico, A., C. Mónaco, G. Dal Bello y H. Alippi (2005). Efecto de la adición de enmiendas orgánicas al suelo sobre la capacidad patogénica de *Rhizoctonia solani: II. Microflora asociada y antagonismo in vitro de los aislados más* frecuentes. Revista de Investigaciones Agropecuarias. 34(1): 29 -44.

Sangeeta N., H.Virupaksha y G. Balol (2022). In vitro evaluations of fungicides againts *Sclerotium rlfsii Sacc.* Causing collar rot of chickpea. Int. J. Plant Sci. 17(2): 163-166.

Shagarodsky, T., M. L. Chiang, M. Cabrera, O. Chaveco, *et al.* (2005). Manual de instrucciones técnicas para el cultivo del garbanzo (*Cicer arietinum L.)* en las condiciones de Cuba. INIFAT-ETIAH, MINAG, Holguín. 24.

Sharma M., R. Gosh, A. Tarafdar, A. Rathore, D.R. *et al.* (2019). Exploring the genetic cipher of chickpea (*Cicer arietinum L.*) through identification and multienvironment validation of resistant sources against *Fusarium* Wilt (*Fusarium oxysporum* f. sp *ciceris*). Fronti. Sust. Food Sys. 3:78.

Singh, A., N. Shukla, B.C. Kabadwal, A.K. Tewari y J. Kumar (2018). Review on Plant-*Trichoderma*-Pathogen Interaction. Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci. 7(2): 2382-2397.

Stefanova M, A. Leiva , L. Larriganaga y M.F (1999). Coronado Actividad metabólica de cepas de *Trichoderma* spp. para el control de hongos fitopatógenos del suelo. Revista Facultad de Agronomía.16:509-516.

Suarez, B., M. Rey, P. Castillo, E. Monte y A. Llobell (2004). Isolation and characterization of PRA1, a trypsin-like protease from the biocontrol agent *Trichoderma harzianum* CECT 2413 displaying nematicidal activity. Appl. Microbiol. Biotechnol. .65 (1): 46-55.

Oliva-Ortiz, L.C., J. Velázquez, R. Sosa, L. Partida, T. Díaz, J. Arciniega y C. A. López (2017). Control de la fusariosis vascular del garbanzo (*Cicer arietinum* L.) por microorganismos nativos de Sinaloaa, México. Agrociencia 51 (6).

Torres, G. A. (2000). Algunos aspectos de los hongos del género *Fusarium y de la especie Fusarium oxysporum.* Agronomía colombiana. 17(1-3): 11-16.

Van der Maessen, L. (1972). *Cicer L., a monograph of the genus, with special* reference to the chickpea (*Cicer arietinum L.), its ecology and cultivation.* Tesis de Doctorado. Wageningen University. Países Bajos

Vargas-Blandino, D. y R. M. Cárdenas-Travieso (2021). Cultivo del garbanzo, una posible solución frente al cambio climático. Cult. Trop. 42(1).

Viterbo, A., M. Montero, O. Ramot, D. Friesem, E. Monte, A. Llobell y I. Chet (2002). Expression regulation of the endochitinase chit36 from *Trichoderma asperellum (T. harzianum T-203).* Curr. Gen. *42(2): 114-122.*

Viterbo, A., M. Harel y I. Chet (2004). Isolation of two aspartyl proteases from *Trichoderma asperellum* expressed during colonization of cucumber roots. FEMS Microbiology letters. 238 (1): 151-158.

Yossen, V. E. y M. Y. Conles (2014). Eficacia de fungicidas *in vitro* para el control de *Fusarium oxysporum* y *F. proliferatum,* agentes causales de marchitamiento en el cultivo de orégano en la Argentina. Revista industrial y agrícola de Tucumán. 91 (1): 19-25.

●●●

Los resultados publicados en la Revista Cubana de Ciencias Biológicas se presentan bajo la Creative Commons Attribution License 4,0.

(CC BY 4.0 — https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)