

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA-LEÓN
ESCUELA DE CIENCIAS AGRARIAS Y VETERINARIA**



Tesis

**CARACTERIZACIÓN Y EVALUACIÓN DE *Trichoderma spp.* COMO PROMOTOR DE
CRECIMIENTO VEGETAL E INHIBIDOR DE HONGOS FITOPATÓGENOS ASOCIADOS AL
TOMATE (*Solanum lycopersicum*).**

Para optar al título de Máster en Biotecnología

Elaborado por: Ing. María Delfina Sánchez Miranda

Tutor: PhD. Leandro Alberto Páramo Aguilera.

León, noviembre 2021

DEDICATORIA

Quiero dedicar la culminación de este trabajo primeramente a Dios, que gracias a sus bendiciones y su infinita misericordia ha permitido que esta investigación se llevara a cabo.

A mis padres, quienes con sus sacrificios, amor y dedicación me han formado y apoyado incondicionalmente en cada proyecto de vida, han creído siempre en mí y me motivan para ser mejor cada día de mi vida.

A mi esposo e hijo que han sido mi motor de vida, mi ánimo y perseverancia para seguir adelante con mis deseos de superación de manera profesional y personal.

AGRADECIMIENTO

Agradezco primeramente a Dios todopoderoso y la virgen María, por ser guías en mi camino, dándome su amor e infinita misericordia, por permitirme cumplir una de las metas que tienen escrita para mí en este camino llamado vida.

Gracias a mis padres Félix Pedro Sánchez Monjarres y María Delfina Miranda Castellón, por ser los principales promotores de nuestros sueños, por confiar y creer en nosotros, por los consejos, valores y principios que nos han enseñado a lo largo de nuestras vidas.

A mi esposo Leonardo Manuel Reyes por ser mi compañero, mi apoyo incondicional, gracias por siempre creer en mí y por toda tu ayuda para que este sueño se hiciera posible, por dedicarle tiempo a mi investigación y siempre mostrarme tu amor.

A mi hijo Leonardo Sebastián Reyes Sánchez, mi principal motor de impulso, gracias por ser mi fuente de recarga de amor y de energías que me ayudan a no rendirme ante ninguna prueba.

Al doctor Leandro Alberto Páramo Aguilera, quien con toda la disposición aceptó ser mi tutor en mi investigación, por su apoyo y tiempo dedicado para que este trabajo se pudiera realizar, gracias por su compromiso por la Ciencia e investigación, por aportar ese grano de arena tan valioso al desarrollo académico de nuestro país.

RESUMEN

El género *Trichoderma* spp. representa un grupo de organismos con reconocidas capacidades como controladores biológicos y promotores de crecimiento de plantas. Sin embargo, su comportamiento no es igual cuando proviene de regiones diferentes, por esta razón el presente estudio pretende contribuir al desarrollo de opciones de control biológico mediante caracterización y evaluación de cepas nativas de *Trichoderma* spp. para su debida identificación molecular y evaluar su potencial como agentes de control biológico y promotores de crecimiento ante el cultivo del tomate (*Solanum lycopersicum*). Para los aislamientos se colectaron muestras de suelo de diferentes localidades y fueron analizadas en el laboratorio de hongos entomopatógenos de la Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua-León. Los aislamientos *Trichoderma* spp, se hicieron mediante la técnica de dilución seriada y siembra en medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA). Se hizo caracterización microscópica y antagonismo *in vitro* contra de tres aislados de *Fusarium* spp. Utilizando la técnica del cultivo dual. Los tres aislados de *Fusarium* spp. fueron identificados molecularmente perteneciendo a dos aislados *F. equiseti* y uno identificado como *Fusarium* spp. La capacidad inhibitoria de *Trichoderma* spp. se determinó mediante la fórmula del porcentaje de inhibición de crecimiento Radial (PICR), además se determinó la promoción del crecimiento de plántulas y raíces con su correspondiente ganancia de peso en el cultivo del tomate para cada una de las especies de *Trichoderma* spp. evaluada. En el estudio se obtuvieron 17 aislados nativos con morfología asociadas al género *Trichoderma* spp. los que posteriormente fueron identificados molecularmente y ubicados en el género *Trichoderma* spp. y específicamente ubicados en siete especies siendo estas *T. harzianum*, *T. asperellum*, *T. virens*, *T. viride*, *T. songyi*, *T. asperelloide* y *T. breve*. De estos aislados los correspondientes a *T. harzianum*, *T. asperellum* y *T. virens* presentaron los más altos porcentajes de PICR con 81.57%, 79.62 % y 78.62% respectivamente, superando significativamente al resto de aislados. En relación a su capacidad de promover crecimiento se pudo comprobar que *T. harzianum* y *T. viride* presentaron los más altos promedios en términos de altura de plántulas con 12.93 cm y 11.42 cm, presentando una ganancia de altura de un 38.8% y 22.6% respectivamente en comparación con el testigo. En cuanto a la variable peso se destacaron nuevamente *T. harzianum* y *T. viride* con pesos promedios de 1.4 g y 1.19 g, presentado una ganancia de peso de 72% y 46.3 % respectivamente. Finalmente, con relación a la longitud de raíces los mayores promedios se obtuvieron en *T. harzianum* con 8.09 cm, seguido de *T. songyi*. y *T. viride* los cuales presentaron promedios de 6.18 y 6.49 respectivamente estos aislados tuvieron una ganancia en longitud de 70%, 36.3% y 29.8 % respectivamente al compararse con el tratamiento testigo, estos datos superaron significativamente al resto de los aislados evaluados. Los resultados de este trabajo, sugieren que los aislados *T. harzianum*, *T. asperellum*, *T. asperelloide*, *T. virens* y *T. viride* deberían ser evaluados en condiciones de invernadero y campo para definir su utilidad.

Contenido

DEDICATORIA.....	i
AGRADECIMIENTO.....	ii
RESUMEN.....	iii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. JUSTIFICACIÓN	2
III. OBJETIVOS.....	3
IV. MARCO TEORICO.....	4
4.1. Aspectos generales sobre la identificación de <i>Trichoderma</i> spp.....	4
4.1.1. Clasificación taxonómica del género <i>Trichoderma</i> spp.	4
4.1.2. Aislamiento del hongo e identificación molecular	4
4.1.4. Condiciones nutricionales y físicas de <i>Trichoderma</i> spp.	5
4.2. Potencial inhibidor de los aislados de <i>Trichoderma</i> spp.....	6
4.3. Potencial promotor de crecimiento de <i>Trichoderma</i> spp.....	7
V. METODOLOGÍA.....	9
5.1. Identificación de especies de <i>Trichoderma</i> spp a partir de muestras de suelo agrícolas	9
5.1.1. Lugar y Método de muestreo.....	9
5.1.2. Aislamiento e identificación especies de <i>Trichoderma</i> spp.....	9
Identificación molecular de especies del género <i>Trichoderma</i> spp.....	10
Construcción de Árbol filogenético.....	12
5.2. Determinar el potencial antimicótico de <i>Trichoderma</i> spp. sobre hongos fitopatógenos de suelo... 13	
5.2.1. Pruebas de confrontación in vitro de <i>Fusarium</i> spp. vs <i>Trichoderma</i> spp.....	13
5.3. Evaluación del potencial como promotor de crecimiento de <i>Trichoderma</i> spp. sobre el cultivo de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i>).	14
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	16
6.1. Resultados de la identificación de aislados de <i>Trichoderma</i> spp. a partir de muestras de suelo agrícolas	16
6.1.1. Aislamiento de <i>Trichoderma</i> spp.	16
6.1.2. Identificación Morfológica de los aislados de <i>Trichoderma</i> spp.....	17
6.1.3 Identificación Molecular de <i>Trichoderma</i> spp	21
6.2. Pruebas de confrontación entre <i>Trichoderma</i> spp. y <i>Fusarium</i> spp.....	25
6.3. Potencial de aislados de <i>Trichoderma</i> spp. como promotor de crecimiento en cultivo de Tomate (<i>Solanum lycopersicum</i>).....	29
6.3.1. Altura de plántulas de tomate bajo la influencia de aislados de <i>Trichoderma</i> spp.....	29

6.3.2. Peso de plántulas de tomate bajo la influencia de aislados de <i>Trichoderma</i> spp.....	33
6.3.3. Longitud de raíces de plántulas de tomate bajo la influencia de aislados de <i>Trichoderma</i> spp. ...	35
VII. CONCLUSIONES	37
VIII. RECOMENDACIONES	39
IX. BIBLIOGRAFÍA.....	40
X. ANEXOS.....	52

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Electroferograma corregido con el uso de Bioedit v7.0.9(NCBI)	11
Figura 2. Secuencia nucleotítica en formato FASTA (NCBI)	11
Figura 3. Listado de secuencias de microorganismos con mayor porcentaje de identidad respecto a la secuencia en estudio mostrado por BLAST (NCBI)	12
Figura 4. Ventana mostrada en el alineamiento múltiple usando Clustal W versión 1.4 incluido en el programa Bioedit v7.0.9 (Méndez, 2018).....	12
Figura 5. Aislados de <i>Trichoderma</i> spp, se puede ver estructura morfológica, forma, color y crecimiento de siete especies. A, A': <i>T. breve</i> (Crecimiento en placa, estructura morfológica) B, B': <i>T. asperellum</i> (Crecimiento en placa, estructura morfológica); C, C': <i>T. asperelloide</i> (Crecimiento en placa, estructura morfológica); D, D': <i>T. songyi</i> (Crecimiento en placa, estructura morfológica); E, E': <i>T. virens</i> (Crecimiento en placa, estructura morfológica) F, F': <i>T. viride</i> (Crecimiento en placa, estructura morfológica); G, G': <i>T. harzianum</i> (Crecimiento en placa, estructura morfológica)	19
Figura 6. Fragmento del Árbol filogenético (Árbol completo Anexo 1) de diferentes especies de <i>Trichoderma</i> identificados en el diagnóstico molecular, además de los <i>Fusarium</i> spp. utilizados en el presente estudio. El árbol filogenético se construyó usando el programa MEGA 7.0.14 usando el método Neighbor-Joining T ree, evaluando la confiabilidad haciendo bootstrapping de 1000 repeticiones (Castillo-Reyes, et al., 2015; Tamura, et al., 2011; Álvarez, et al., 2013).....	22
Figura 7. Confrontación entre tres aislados de <i>Fusarium</i> spp. identificados como <i>Fusarium equiseti</i> (F1:T53LB- 21), <i>Fusarium</i> sp. (F2: TF15), <i>Fusarium equiseti</i> (F3: TFM-1-2-3) versus tres aislados de <i>Trichoderma</i> identificados como <i>Trichoderma harzianum</i> (T1), <i>T. asperellum</i> (T11A) y <i>T. virens</i> (CIXD-07) ambos con 9 días de crecimiento	28
Figura 8. Crecimiento del cultivo de tomate, frente a cada una de las especies de <i>Trichoderma</i> spp. identificadas en este trabajo en comparación con el testigo sin <i>Trichoderma</i> spp	31
Figura 9. Se representa la Estimulación del crecimiento individual provocado por la acción de cada uno de los siguientes <i>Trichoderma</i> spp., frente a su testigo. A. <i>Trichoderma harzianum</i> , B. <i>T. viride</i> , C. <i>T. songyi</i> , D. <i>T. breve</i> , E. <i>T. asperelloide</i> , F. <i>T. virens</i> , G. <i>T. asperellum</i> , H. Testigo	32

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Escala de evaluación de capacidad antagónica de los biocontroladores. (Ezziyyani, et al., 2004)	14
Tabla 2. Distribución geográfica y rubros muestreados para la obtención de aislados de <i>Trichoderma</i> spp.	17
Tabla 3. Descripción morfológica de algunas de las especies de <i>Trichoderma</i> spp. aisladas de diversas fuentes reportadas (Gams, W., & Bissett, J. 1998; Harman G. 2000; González; et al., 2000; Hernández., 2011; Jaklitsch, et al., 2013).....	20
Tabla 4. Identificación de aislados de <i>Trichoderma</i> spp. mediante análisis filogenético en correspondencia con el árbol filogenético de la figura II	23
Tabla 5. Porcentaje de inhibición de crecimiento radial de tres aislados de <i>Fusarium</i> spp. contra 17 aislados de <i>Trichoderma</i> spp. a los 9 días de confrontación	29
Tabla 6. Altura promedio de plántulas de tomate con respecto al testigo.....	32
Tabla 7. Peso promedio de plántulas de tomate inoculadas con aislados de <i>Trichoderma</i> spp.....	34
Tabla 8. Longitud promedio de raíces de plántulas de tomate inoculada con aislados de <i>Trichoderma</i> spp.	35

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Árbol Filogenético de hongos utilizando el método Neighbor-Joining con un bootstrap de 1000 réplicas. El Árbol fue realizado en el programa MEGA5.0, el código de acceso al GenBank se especifica al inicio del nombre del microorganismo.....	53
Anexo 2. Sección 1 de Árbol filogenético.....	54
Anexo 3. Sección 2 de Árbol filogenético.....	55
Anexo 4. Sección 3 de Árbol filogenético.....	56
Anexo 5. Secuencias corregidas y alineadas en formato FASTA de microorganismos identificados vía molecular.....	57
Anexo 6. Separación de medias de altura de plántulas de tomate según Duncan	88
Anexo 7. Separación de medias de datos de peso de plántulas de tomate según Duncan	89
Anexo 8. Separación de medias de datos de longitud de raíces de plántulas de tomate según Duncan	89

I. INTRODUCCIÓN

La producción agropecuaria a nivel mundial es una de las principales fuentes de alimentos en el mundo y contribuye grandemente al mantenimiento de la seguridad alimentaria de todos los países, especialmente de los países en vías de desarrollo (FAO, 2014); sin embargo, la sostenibilidad de la producción agropecuaria mundial se ha visto amenazada por diferentes limitantes, tales como sistemas agrícolas ineficientes, uso excesivo de fertilizantes nitrogenados que elevan el contenido de sales en el suelo y la alta dependencia de plaguicidas químicos para el control de insectos plagas y enfermedades. Todo esto ha generado un alto grado de resistencia de los organismos plagas, cambios en la diversidad microbiana del suelo y consecuentemente contaminación ambiental (Barragán-Ocaña & Valle-Rivera, 2016).

Lo antes expuesto ha generado un amplio interés en el uso de alternativas no sintéticas para el control de enfermedades de plantas. El uso de control biológico para el manejo de las enfermedades ha cobrado mucha relevancia en los últimos años debido principalmente a que existen muchas experiencias documentadas en las que se ha demostrado su importancia y su espacio en la agricultura latinoamericana (Bettioli, *et al.*, 2015). Entre los organismos biológicos utilizados para el control de enfermedades en cultivos agrícolas se destaca el uso del género *Trichoderma* spp., debido a su capacidad de producir diversos metabolitos y su adaptación a diversas condiciones ambientales y sustratos, lo que le confiere la posibilidad de ser utilizada exitosamente en la industria biotecnológica (Martínez, *et al.*, 2013).

El género *Trichoderma* spp. es un hongo de gran importancia en la agricultura orgánica, como agente de control biológico de organismos fitopatógenos (Tovar, 2008), es un organismo antagonista de hongos fitopatógenos de suelo tales como *Phytophthora* spp, *Rhizoctonia* spp, *Sclerotium* spp, *Oídium* spp. y *Fusarium* spp., entre otros. Su modo de acción sobre los patógenos varía, y puede ser hiperparásito (Ezziyyani, *et al.*, 2004), antibiosis, micoparasitismo, competencia por nutrientes y espacio (Guigón y Muñoz, 2013), igualmente puede producir metabolitos que inducen mecanismos de resistencia en las plantas (Tovar, 2008), y producir toxinas y antibióticos (Romero, *et al.*, 2009).

A pesar de la importancia que tiene este organismo como agente de control biológico, en Nicaragua existe limitada información relacionada a las especies nativas del género *Trichoderma* spp., así como también se desconoce sus potencialidades como promotor de crecimiento e inhibidor de organismos patógenos. Por lo anterior, el presente estudio pretende identificar molecularmente aislados de *Trichoderma* spp., y evaluar sus capacidades como promotor de crecimiento de plantas e inhibidor de organismos patógenos de suelo.

II. JUSTIFICACIÓN

El presente estudio se basa en la premisa de que Nicaragua es un país eminentemente agropecuario y que la producción agroalimentaria depende fundamentalmente de este sector. En términos económicos, solamente este rubro aporta a la economía del país cerca del 20% del Producto Interno Bruto, genera al mismo tiempo más de un millón de empleos y contribuye con un 33% del valor de las exportaciones totales del país (García, 2017).

En Nicaragua las plagas y enfermedades de cultivos agrícolas se combaten casi exclusivamente con agroquímicos sintéticos, los cuales representan un alto riesgo a la salud humana y al medio ambiente al ser usados de forma excesiva e indiscriminada (Salazar y Guzmán, 2014). En la actualidad nuestros agricultores utilizan estos productos de forma masiva y prácticamente se ha creado una dependencia altísima a estos productos en los sistemas agroalimentarios con las subsecuentes consecuencias en los sistemas ambientales, sociales y salud (Hilje y Rodríguez, 1987). Estudios realizados en el occidente de Nicaragua por Orantes (2014) indican que existe un incremento en la tasa de Enfermedad Renal Crónica en agricultores que han sido expuestos entre otras variables a pesticidas agrícolas, lo que refuerza la preocupación existente en relación al uso masivo de agroquímicos para el control de plagas y enfermedades de cultivos de importancia económica.

Otros estudios realizados por Flores, *et al.*, (2013) han demostrado que la utilización de plaguicidas en la zona del Caribe de Nicaragua ha generado presencia a diferentes concentraciones de agroquímicos del tipo de los organofosforados y carbamatos en el agua de las comunidades de Kukra Hill, en el caribe Nicaragüense. Estos autores sugieren que la presencia de estos residuos químicos en el agua se debe al uso indiscriminado de estos productos en la agricultura intensiva que ha sido característica en esta zona del país.

A la luz de estos resultados de investigación, la agricultura actual se encuentra en una profunda crisis ambiental, razón por la cual se puede afirmar que la sustentabilidad de los sistemas agroalimentarios que generan la mayor parte de alimentos en el mundo está en peligro. La producción intensiva de bienes agropecuarios debido a su alta demanda en el mercado internacional ha creado por lo tanto una sucesión de problemas de tipo económico, social y ambiental (Conway, 1994). Una de las alternativas que mejor efecto ha tenido para el control de enfermedades de plantas es el uso de plaguicidas microbianos. Según García, *et al.*, (2006) los microorganismos para ser utilizados como plaguicidas microbianos deben ser efectivos, específicos y con una alta patogenicidad. El hongo *Trichoderma* spp. ha demostrado que posee excelentes características para ser utilizado como un bioplaguicida principalmente por su capacidad de producir diversos metabolitos tóxicos y su amplia adaptación a diversas condiciones ambientales y sustratos (Martínez, *et al.*, 2013). También se reporta a *Trichoderma* spp. Como estimulador de crecimiento el cual ha sido ampliamente reportado en la literatura científica, en la que se indica que son capaces de producir fitohormonas utilizadas por las plantas para su crecimiento. En nuestro país los estudios sobre este organismo son incipientes. Especialmente, si hablamos de cepas nativas del género de *Trichoderma* spp. de las cuales hay mucho desconocimiento. Por lo anterior se considera de mucha importancia estudiar estas cepas nativas su potencialidad como antimicótico y su valor como estimulador de crecimiento.

III. OBJETIVOS

Objetivo general

Caracterizar especies nativas de *Trichoderma* spp. evaluando su potencial como promotores del crecimiento vegetal e inhibidores de hongos fitopatógenos asociados al cultivo del tomate (*Solanum lycopersicum*).

Objetivos específicos

1. Identificar por la vía molecular los aislados de *Trichoderma* spp. provenientes de los departamentos de Chinandega, León, Managua, Chontales y Matagalpa.
2. Evaluar el potencial de los aislados de *Trichoderma* spp. como inhibidor a nivel *in vitro* del crecimiento de tres aislados del género *Fusarium* spp.
3. Definir el potencial de los aislados de *Trichoderma* spp. como promotor de crecimiento y peso plántulas de tomate (*Solanum lycopersicum*) en condiciones controladas.

IV. MARCO TEÓRICO

4.1 Aspectos generales sobre la identificación de *Trichoderma* spp.

El género *Trichoderma* spp. Se presenta naturalmente en diferentes hábitats, aparece distribuido por todas las latitudes desde zonas polares a ecuatoriales. Se caracteriza por ser saprófito, sobrevive en suelos con diferentes cantidades de materia orgánica debido a su gran capacidad de descomponerla. En determinadas condiciones, puede ser anaerobio facultativo. Estos atributos le permiten tener una mayor plasticidad. Tal capacidad de adaptación a diversas condiciones ambientales y sustratos le confiere a este género la posibilidad de ser utilizado en la industria biotecnológica (Howell, 2003).

4.1.1 Clasificación taxonómica del género *Trichoderma* spp.

La clasificación taxonómica del género *Trichoderma* spp. Pertenece al reino Mycetae (Fungi), división *Eumycota*, subdivisión *Ascomycotina*, clase *Euascomycetes*, orden *Hypocreales*, familia *Hypocreaceae* y género *Trichoderma* e *Hypocrea*. Estos hongos se caracterizan por predominar en los ecosistemas terrestres (suelos agrícolas, pastizales, bosques y desiertos) y acuáticos (Zhang, *et al.*, 2005).

Algunas especies son de vida libre en el suelo, oportunistas, simbiontes de plantas, y otras son micoparásitas. Además, pueden colonizar distintos ambientes, debido a su alta capacidad reproductiva (Bissett, 1991). Los requerimientos nutrimentales de estos hongos filamentosos son pocos, aunque su crecimiento es favorecido por la materia orgánica y temperaturas que oscilen en un rango de 25 a 30 °C (Papavizas, 1985). Sin embargo, se pueden adaptar y sobrevivir en condiciones extremas de temperatura, pH y salinidad (Widden y Scattolin, 1988).

4.1.2. Aislamiento del hongo e identificación molecular.

Uno de los procedimientos más importante en la producción y utilización del hongo *Trichoderma* spp, es el aislamiento de dicho organismo. Esto es especialmente importante debido a que el uso de este hongo como agente bioestimulador o controlador de organismos fitopatógenos sin tomar en cuenta condiciones edafoclimáticas específicas, conduce a un efecto biorregulador no uniforme, inadaptabilidad y baja eficiencia. Esto hace indispensable el aislamiento de cepas autóctonas de los sitios donde se van a utilizar para que las cepas a utilizarse sean mejor (Samaniego, *et al.*, 2018)

El aislamiento de *Trichoderma* spp., se puede hacer de suelo y de tejido vegetal, en el aislamiento del suelo se puede realizar por diferentes métodos convencionales debido a su rápido crecimiento y abundante producción de conidias. Un método que es ampliamente utilizado para el aislamiento de estos hongos es la técnica de lavado de suelo recomendada por (Kubicek y Harman, 2002). En el caso de tejido vegetal este se corta en trozos pequeños y se esteriliza con hipoclorito de sodio se coloca en papel toalla para eliminar el exceso de agua y luego se coloca en un medio de cultivo como Papa Dextrosa Agar para que crezca y pueda ser identificado morfológicamente (Agrios, 2006).

Después del aislamiento del hongo se debe realizar la identificación, la cual puede hacerse mediante la observación de estructuras a nivel morfológico, sin embargo, este método es usualmente inexacto. Por lo anterior se sugiere la utilización de aplicaciones biotecnológicas de la biología molecular, con el propósito de realizar la identificación a nivel molecular, la cual ha sido utilizada efectivamente para identificar de forma confiable diferentes especies de *Trichoderma* spp. (Kubicek y Harman, 2002). Algunos métodos moleculares basados en la caracterización de proteínas y ácidos nucleicos proveen un casi ilimitado número de marcadores para diferentes estudios taxonómicos, por lo que los estudios a nivel de especies se sugieren sean realizados con estas herramientas moleculares (Bruns, *et al.*, 1991).

4.1.4 Condiciones nutricionales y físicas de *Trichoderma* spp.

Condiciones nutricionales

Gracias a la maquinaria de enzimas hidrolíticas como amilasas, celulasas, peptinasas, quitinasas, entre otras, *Trichoderma* spp. es un degradador activo de sustratos como almidón, celulosa y peptina, las cuales son empleadas como fuente de crecimiento (Cucuk y Kivanci, 2008). Para su óptimo desarrollo, el hongo, necesita fuentes de carbono y nitrógeno, las cuales puede encontrar en hidratos de carbono, ácidos grasos y aminoácidos, urea, amoníaco y nitritos respectivamente. Adicionalmente su desarrollo puede ser suplementado con microelementos y vitaminas en cantidades tolerables, estos pueden ser Cu, Fe, Mo, Mn, Zn y vitamina B (Cruz, 2007).

Condiciones físicas.

Luz: Es fotosensible, ya que presenta una mayor esporulación y un mejor desarrollo al ser expuesto a la luz, pero es mejor al alternar luz y oscuridad. Este hongo puede tener una buena esporulación al ser expuesto a 3 minutos de luz o de 10-30 segundos de luz UV a 366 mnm (Vásquez, 2010).

Temperatura: Es un microorganismo mesófilo, cuya temperatura óptima de crecimiento es de 25- 30°C, pero a la vez capaz de crecer en temperaturas que van de los 10-40°C.

pH: Tiene un amplio rango de crecimiento a pH (entre 2 y 9), pero lo hace de forma óptima entre 4 y 7.

Humedad: Posee la capacidad de adaptarse en medios con humedades de 20-90% pero crece óptimamente en humedades entre 70-80% (Vásquez, 2010).

Salinidad: Se puede presentar o no crecimiento al ser expuesto a determinadas concentraciones de sales, así como a CaCl₂, debido a que en concentraciones mayores a 80 g/L inhibe el crecimiento, hasta 60g/L tiene un desarrollo mínimo y a 10g/L puede desarrollarse de manera óptima. Frente a sales como a NaCl y KCl es difícil su crecimiento, ya que los iones Na y K inhiben su esporulación disminuyendo la presión osmótica de la célula lo que conlleva a la disminución de la esporulación (Simkovic, *et al.*, 2008).

4.2 Potencial inhibidor de los aislados de *Trichoderma* spp.

El género *Trichoderma* spp., utiliza mecanismos antagónicos que se describen como competencia, antibiosis y micoparasitismo, sin ser estos mutuamente excluyentes y pudiendo por lo tanto actuar a la vez (Dubos, 1987).

La **competencia** en el caso de *Trichoderma* spp. es por nutrientes, por oxígeno y por espacio, es entendida como el desigual comportamiento de dos o más organismos ante un mismo requerimiento, siempre y cuando la utilización del mismo por uno de los organismos reduzca la cantidad disponible para los demás. Según Nakkeeran, *et al.*, (2018), el mecanismo de competencia utilizado por este hongo está vinculado a competición por espacios o sitios de infección en las raíces de las plantas, igualmente se da competencia en las semillas de planta. Se ha demostrado que enfermedades causadas por *Chondrostereum purpureum*, fue controlado por *Trichoderma viride* mediante una colonización temprana en las heridas frescas en planta de manzano. Otros autores han encontrado que en el caso de *Trichoderma harzianum* aplicado a *Fusarium oxysporum*, *Fusarium* spp. *vasinfectum* y *Fusarium oxysporum*, se ha ejercido un fuerte control a las infecciones en el cultivo de algodón y melón, siempre empleando el método de competencia por espacio a infectar (Sivan & Chet, 1989). Se ha comprobado que *Trichoderma* spp, produce más de 43 metabolitos secundarios los cuales exhiben diversos niveles de actividad antibiótica, muchos de los cuales han sido encontrados asociados a actividades de biocontrol (Howell, 1998).

El **micoparasitismo** en el caso de *Trichoderma* spp., es un proceso basado en la producción de enzimas líticas que degradan la pared celular de los hongos patógenos, se ha observado que este hongo se enrolla alrededor de las hifas de *Rhizoctonia solani*, el cual pierde su contenido celular y colapsa. Otros hongos que han sido observados siendo parasitados por *Trichoderma* spp, son *Sclerotium rolfii* y *Pythium* spp, los cuales después de ser atacados presentan daño celular (Nakkeeran, *et al.*, 2018). Diferentes especies de *Trichoderma* spp. Son utilizadas para el control de hongos patógenos del suelo, entre los géneros que han sido reportados siendo controlados se destacan *Phytophthora* spp, *Rhizoctonia* spp, *Sclerotium* spp., *Colletotrichum* spp., *Pythium* spp. Y *Fusarium* spp., entre otros (González, *et al.*, 2000).

La antibiosis es la acción directa de antibióticos o metabolitos tóxicos producidos por un microorganismo sobre otro sensible a estos. Algunos autores opinan que la antibiosis no debe ser el principal mecanismo de acción de un antagonista, ya que existe el riesgo de aparición de cepas del patógeno resistente al antibiótico. Muchas cepas de *Trichoderma* spp. Producen metabolitos secundarios volátiles y no volátiles, algunos de los cuales inhiben el desarrollo de otros microorganismos con los que no hacen contacto físico. Tales sustancias inhibidoras son consideradas "antibióticos" (Infante, *et al.*, 2009). Al inicio se estimó que la actividad inhibidora de aislamientos de *Trichoderma* spp. Sobre otros hongos se debía solo a compuestos no volátiles (Dennis y Webster, 1971). Este tipo de control puede realizarse mediante contacto directo o sin establecer contacto físico alguno con el organismo patógeno, *Trichoderma* spp., puede inhibir el crecimiento de otros hongos y bacterias mediante la producción de varios metabolitos secundarios volátiles y no volátiles como gliotoxina, viridina y gliovirina, a lo que se llama antibiosis (Howell, *et al.*, 1993).

Stefanova, *et al.*, (1999) informaron la presencia de metabolitos no volátiles con actividad antifúngica en cuatro aislamientos de *Trichoderma spp.* Y concluyeron que los mismos reducen el crecimiento micelial de *Phytophthora nicotianae* y *R. solani* en medios de cultivo envenenado con filtrados líquidos donde se habían cultivado las cepas antagónicas. Rivero, (2008), por otro método, evaluó el efecto de antibiosis de dos aislados de *Trichoderma spp.* en cultivo dual con *A. padwickii*, *B. oryzae*, *C. lunata* y *Phoma spp.*, obteniendo inhibición significativa del crecimiento radial de estos patógenos.

4.3 Potencial promotor de crecimiento de *Trichoderma spp.*

Otro mecanismo en el cual *Trichoderma spp.* Incide sobre hongos fitopatógenos, es mediante la promoción de crecimiento de las plantas. Esta promoción de crecimiento puede ocurrir de forma directa o indirecta, la promoción de crecimiento puede ocurrir por el biocontrol de organismos patógenos o a través de hormonas de crecimiento como auxinas, citoquininas y giberelinas (Arshad & Franken, 1991). Otros investigadores como Baker, *et al.*, (1984) han encontrado que *Trichoderma spp.* Puede estimular el crecimiento de al menos 87 especies de plantas, incluyendo flores y cultivos hortícolas. Por otro lado, se ha demostrado que las semillas tratadas con este hongo, germinan más rápido, en el caso de semillas de chiltomo se demostró que germinan dos días más rápido que las semillas sin tratar (Nakkeeran, *et al.*, 2018).

Otras investigaciones demuestran que este hongo interviene en los procesos respiratorios durante la germinación, además, acelera el desarrollo de los tejidos meristemáticos primarios, los cuales aumentan volumen, altura, así como el peso de las plantas. Este hongo secreta fitohormonas como el ácido Indol Acético que estimulan la germinación, crecimiento y desarrollo radicular, mejora la asimilación de nutrientes, lo que influye en el crecimiento vegetativo de cultivos como papa, tomate, maíz y café (Hernández, 2011).

Además del efecto biocontrolador de patógenos, se ha comprobado que la inoculación de *T. harzianum* aporta otros beneficios a las plantas; a través de la descomposición de materia orgánica, libera nutrientes en formas disponibles para la planta (Howell, 2003; Godes, 2007), por lo cual se utiliza frecuentemente como un organismo biofertilizante en diferentes productos comerciales (Moreno, *et al.*, 2007); promueve el crecimiento y desarrollo de los cultivos produciendo metabolitos que estimulan los procesos de desarrollo vegetal (Sutton y Peng, 1993); tiene la capacidad de multiplicarse en el suelo y colonizar las raíces de las plantas liberando factores de crecimiento (auxinas, giberelinas y citoquininas) que estimulan la germinación y el desarrollo de las plantas (Altomare, *et al.*, 1999). Se ha reportado la producción de ácido 3-indol acético (AIA), sustancia que actúa como hormona vegetal favoreciendo el desarrollo del sistema radical, entre otros beneficios (Valencia, *et al.*, 2005). *T. harzianum* también ha sido reportado como promotor del crecimiento vegetal en cultivos de berenjena, arveja, frijol, café, tomate, papa, especies forestales, entre otros (Zambrano, 1989; Börkman, *et al.*, 1998; Dandurand y Knudsen, 1993). En la década de los ochenta se realizaron diversos estudios para determinar el efecto de *Trichoderma spp.* Sobre cultivos de importancia agrícola como el cultivo del tomate. Un ejemplo de estos estudios lo presentó Windham, *et al.*, (1986) quienes destacaron, que el cultivo del tomate ser inoculado con *Trichoderma spp.*, experimentaba un aumento significativo en sus variables de desarrollo,

tales como un incremento en la tasa de germinación, emergencia, peso seco y fresco de la planta. Posteriormente, otros estudios realizados por Gupta, et al., (2014) demostraron que en el caso del cultivo del tomate inoculado con el hongo *Trichoderma* spp., reportan incrementos en plantas adultas de hasta un 28% de altura y un peso de 8% en comparación con plantas no inoculadas. Estos estudios fueron corroborados por Uddin, et al., (2018) quienes realizaron estudios en plántulas de tomate inoculando *Trichoderma harzianum* en sustrato de siembra, logrando incrementar el peso fresco y altura de plántulas de tomate, asimismo, se pudo observar un incremento significativo en el peso fresco de raíces de plántulas. Estos resultados pueden deberse a la liberación de hormonas de crecimiento asociadas a *Trichoderma* spp., sin embargo, se ha reportado ampliamente en la literatura científica que *Trichoderma* spp. tiene actividad antagonista contra patógenos asociados al cultivo del tomate tales como *Fusarium* spp, *Pythium ultimum* y *P. capsici*, lo que influye significativamente en un crecimiento más rápido y saludable de la planta (Uddin, et al., 2018).

V. METODOLOGÍA

5.1 Identificación de especies de *Trichoderma* spp. a partir de muestras de suelo agrícolas.

5.1.1. Lugar y Método de muestreo

Sitios de muestreos: Las muestras de suelo fueron tomadas de terrenos agrícolas, ubicadas en el Departamento de Chinandega, específicamente en los municipios de El Viejo, Tonalá, Chichigalpa, y Posoltega (ver tabla 2). La zona muestreada se caracterizó por poseer temperaturas promedio de 21-30°C, una altura de 70.42 msnm, con suelo franco arenoso y una pendiente del 1%. En esta zona es predominante el clima tropical seco.

Método de muestreo: El muestreo se realizó en forma de zigzag, el cual consistió en líneas cruzadas caminando unos 25 a 30 pasos desde cada punto seleccionado de muestreo. En cada punto se realizó un hoyo cuadrado de un pie cúbico tomando 150 gramos de suelo de los primeros 15 cm de profundidad. Las cinco submuestras tomadas de cada parcela se homogenizaron y de ellas se tomó la muestra representativa de cada parcela la cual fue de 150 gramos. Estas muestras se colocaron en bolsas plásticas, las cuales a su vez fueron colocadas en bolsa de papel para posteriormente ser etiquetadas con la información necesaria para su identificación (Ozten y Manterola, 2017).

5.1.2 Aislamiento e identificación especies de *Trichoderma* spp.

Aislamiento de *Trichoderma* spp: Las muestras de suelo fueron almacenadas en refrigeración a una temperatura de 5°C, en el laboratorio de hongos entomopatógenos del Centro de Investigación y Reproducción de Controladores Biológicos (CIRCB) ubicado en el Campus Agropecuario de la UNAN, León. Para el aislamiento de *Trichoderma* spp. se utilizó la técnica de dilución diseminada seriada (Lecuona, 1996). La concentración de conidias de las especie de *Trichoderma* spp. se determinó mediante la metodología descrita por French & Hebert (1988). Se tomó un gramo de la formulación preparada, el cual se colocó en un tubo de ensayo con 9mL de agua destilada estéril, posteriormente se realizaron diluciones en serie hasta obtener la dilución 10^8 a partir de la cual se realizó el conteo de conidias. El conteo se realizó utilizando un microscopio de luz y una cámara Neubauer, después de realizado el montaje en la cámara se dejó reposar durante cinco minutos. El número de conidias por ml se obtuvo multiplicando el total de conidias observadas por el factor de conversión de la cámara y por el factor de la dilución (Vélez et al., 1997, Monzón, 2001).

N° de conidias/g = N° de conidias x factor de dilución x factor de cámara.

Se preparó una dilución 10^8 y se pipeteó 1 mL en platos Petri conteniendo medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA), esterilizado previamente a 15 libras de presión y 121°C por 15 minutos. Los platos Petri inoculados se mantuvieron en incubación a temperatura entre 23- 25°C por un periodo de 6 a 8 días. Las colonias del hongo que presentaron las características típicas de *Trichoderma* spp fueron reaisladas en medio cultivo PDA; a partir de estos cultivos puros se prepararon montajes para observaciones en el microscopio con el fin de identificar *Trichoderma* spp. a nivel de género (Chavarría, 2016).

Caracterización morfológica de *Trichoderma* spp: La caracterización de los aislados de *Trichoderma* spp. se realizaron en base a las características macroscópicas del hongo, tales como aspecto de la colonia y ritmo de crecimiento. Para la caracterización macroscópica de *Trichoderma* spp. se prepararon medios de cultivo PDA (Papa Dextrosa Agar) en platos Petri. Por cada aislado se prepararon tres platos Petri con PDA incubándose a una temperatura de 24-25°C, 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad. A partir del quinto día de incubación se hicieron observaciones y se registraron los aspectos de cada colonia a observar las cuales fueron los siguientes: crecimiento esporulante polvoriento, producción de burbujas, crecimiento vertical, crecimiento circular, color de la colonia al iniciar y finalizar el crecimiento, color de la colonia por la parte superior e inferior del plato Petri. Para la caracterización microscópica se observaron las siguientes características: Las estructuras reproductivas (conidias, conidióforos y fiálides,) determinando forma y tamaño de las mismas. Para determinar el tamaño de las estructuras se hicieron mediciones micrométricas, siguiendo la metodología descrita por French y Hebert, (1982).

Identificación molecular de especies del género *Trichoderma* spp.

La identificación molecular de los aislados se realizó con base en la amplificación de las regiones ITS1 del ADN, se utilizaron los cebadores ITS1 (5 TCC GTA GGT GAA CCT GCG G 3) (White, *et al.*, 1990). El servicio de secuenciación de ADN se realizó en el Centro de Biología Molecular (CBM) de la Universidad Centroamericana (UCA), ubicada en Managua, Nicaragua. Una vez obtenidas las secuencias, se corrigieron utilizando el software Bioedit v7.0.9 (Castillo, *et al.*, 2015), posteriormente se obtuvieron del GenBank del National Center for Biotechnology Information (NCBI) secuencias de las regiones estudiadas de hongos relacionadas taxonómicamente con los microorganismos, usando la herramienta BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) para comparar secuencias altamente similares (Castillo, *et al.*, 2015). Se realizó un alineamiento múltiple con cinco secuencias elegidas para cada secuencia en estudio, utilizando la aplicación Clustal W Multiple alignment versión 1.4 incluida en el menú Accessory Application del programa Bioedit v7.0.9 y se utilizaron los parámetros por defecto. El árbol filogenético se construyó usando el programa MEGA 7.0.14 usando el método Neighbor-Joining Tree, evaluando la confiabilidad haciendo bootstrapping de 1000 repeticiones (Castillo-Reyes, *et al.*, 2015; Tamura, *et al.*, 2011; Álvarez, *et al.*, 2013).

Corrección de Secuencias: Para realizar las correcciones de los electroferogramas (Figura 1) se corrigió visualmente usando el programa Bioedit v7.0.9., lo que constituye el primer paso del análisis de las secuencias. Esto se debe que en ocasiones se producen errores durante la secuenciación y se reflejan en el electroferograma y la secuencia. Se observó la secuencia de bases, donde se editaron los errores producidos por el secuenciador. Posteriormente se guardaron en formato FASTA (Figura 2). Se debe revisar los electroferogramas antes de continuar con los análisis debido a que generan mucha información, incluyendo la calidad de PCR y la confiabilidad de los datos (Méndez, 2018).

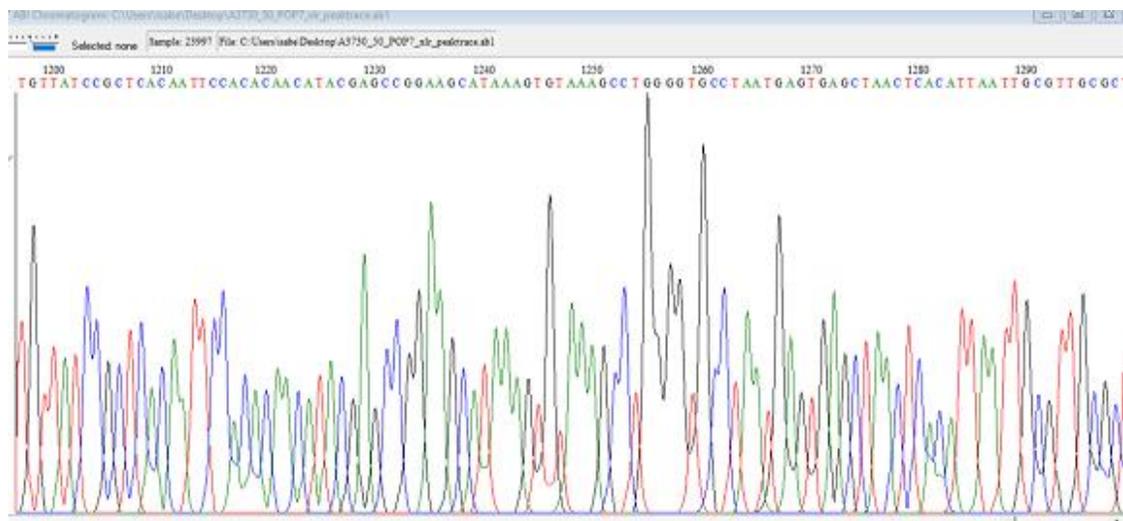


Figura 1. Electroferograma corregido con el uso de Bioedit v7.0.9 (NCBI) (Fuente propia).

```
>SecuenciaCGACATTACCGAGTTTAACTCCCAAACCCATGTGAACGTTACCAAACCTGTTGCCTCGGC
GGGATCTCTGCCCCGGGTGCGTCGCAGCCCCGACCAAGGCGCCCGCGGAGGACCAACCTAAAACCT
TTATTGTATACCCCCTCGCGGGTTTTTTTATAATCTGAGCCTTCTCGGCGCCTCTCGTAGGCGTTTCGAA
AATGAATCAAACTTCAACAACGGATCTCTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGA
TAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATT
CTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCTCGAACCCCTCCGGGGGGTTCGGCGTTGGGGATC
GGCCCTCCCTTAGCGGGTGGCCGTCTCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGCAGCCTCTCTGCGCAGT
AGTTTGCACACTCGCATCGGGAGCGCGGCGCG
```

Figura 2. Secuencia nucleotídica en formato FASTA (NCBI) (Fuente propia).

Comparación de Secuencias: Para realizar la comparación de las secuencias se obtiene de la base de datos del GenBank del National Center for Biotechnology Information (NCBI) (Figura 2) secuencias de las regiones estudiadas de hongos, utilizando la herramienta BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) para hacer la comparación de las secuencias altamente similares, ITS para hongos (Castillo-Reyes, *et al.*, 2015). En el caso del programa BLAST del GenBank, en la primera sección se indica el nivel y el tamaño de los fragmentos alineados, seguido de un listado en orden decreciente de las secuencias de microorganismos con los que se muestra la identidad (% de coincidencia) (Figura 3). En la siguiente sección, se presenta cada alineamiento de la secuencia problema o query frente a cada secuencia de otro microorganismo, indicando el número y porcentaje de bases idénticas (identity) (Bou, 2011). Se seleccionaron cinco secuencias que presentaban mayor identidad y frecuencia con la secuencia del microorganismo en estudio.

Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
Trichoderma sp. isolate LL397 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence, and internal trans	924	924	100%	0.0	99.61%	MK715424.1
Trichoderma sp. isolate RS382 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence, and internal trans	924	924	100%	0.0	99.61%	MK715422.1
Trichoderma sp. isolate RS365 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence, and internal trans	924	924	100%	0.0	99.61%	MK715359.1
Trichoderma sp. isolate ML417 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence, and internal trans	924	924	100%	0.0	99.61%	MK715348.1
Trichoderma sp. isolate ML406 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence, and internal trans	924	924	100%	0.0	99.61%	MK715280.1
Trichoderma sp. isolate LS411 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence, and internal trans	924	924	100%	0.0	99.61%	MK715164.1
Trichoderma sp. isolate LS390 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence, and internal trans	924	924	100%	0.0	99.61%	MK714972.1
Trichoderma cf. harzianum voucher PDA N184-1 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcrip	924	924	100%	0.0	99.61%	MF108894.1
Trichoderma cf. harzianum voucher XZ N184-1 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcrib	924	924	100%	0.0	99.61%	MF108888.1
Trichoderma cf. harzianum voucher PDA N196-1 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcrip	924	924	100%	0.0	99.61%	MF108887.1
Trichoderma cf. harzianum voucher PDA N227-1 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcrip	924	924	100%	0.0	99.61%	MF108885.1
Trichoderma cf. harzianum voucher PDA N75-2 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcrib	924	924	100%	0.0	99.61%	MF108872.1
Trichoderma cf. harzianum voucher PDA N66-1 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcrib	924	924	100%	0.0	99.61%	MF108871.1
Trichoderma cf. harzianum voucher PDA N35-3 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcrib	924	924	100%	0.0	99.61%	MF108869.1
Trichoderma cf. harzianum voucher XZ N215-1 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcrib	924	924	100%	0.0	99.61%	MF108868.1
Trichoderma cf. harzianum voucher XZ N203-1 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcrib	924	924	100%	0.0	99.61%	MF108864.1
Trichoderma cf. harzianum voucher XZ N191-1 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcrib	924	924	100%	0.0	99.61%	MF108860.1
Trichoderma cf. harzianum voucher PDA N06-1 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcrib	924	924	100%	0.0	99.61%	MF108848.1
Trichoderma harzianum strain hap38 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2	924	924	100%	0.0	99.61%	KY795990.1
Trichoderma harzianum isolate CTCCS-J-G-HB40441 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene and internal tran	924	924	100%	0.0	99.61%	KY764898.1
Trichoderma harzianum isolate CTCCS-J-G-QT40446 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene and internal tran	924	924	100%	0.0	99.61%	KY764886.1
Trichoderma harzianum isolate CTCCS-J-G-QT40442 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene and internal tran	924	924	100%	0.0	99.61%	KY764882.1
Trichoderma harzianum isolate CTCCS-J-G-QT40435 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene and internal tran	924	924	100%	0.0	99.61%	KY764873.1
Trichoderma harzianum isolate CTCCS-J-G-QT40004 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene and internal tran	924	924	100%	0.0	99.61%	KY764855.1
Trichoderma harzianum isolate CTCCS-J-G-QT40002 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene and internal tran	924	924	100%	0.0	99.61%	KY764854.1
Trichoderma harzianum isolate CTCCS LG-1K40140 internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene and internal tran	924	924	100%	0.0	99.61%	KY764836.1

Figura 3. Listado de secuencias de microorganismos con mayor porcentaje de identidad respecto a la secuencia en estudio mostrado por BLAST (NCBI). (Fuente propia)

Alineamiento de Secuencias: Se realizó un alineamiento múltiple con las cinco secuencias elegidas para cada secuencia en estudio, utilizando la aplicación Clustal W Multiple alignment versión 1.4 incluida en el menú Accessory Application del programa Bioedit v7.0.9 (Figura 4) y se utilizó los parámetros por defecto (Méndez, 2018). Posteriormente se repitieron los pasos de comparación de la secuencia alineada en el BLAST y la selección de las cinco secuencias con mayor identidad para ser guardadas en formato FASTA.

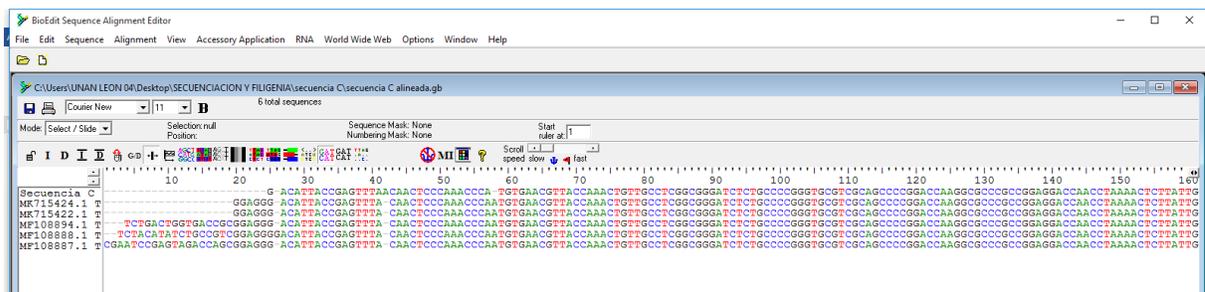


Figura 4. Ventana mostrada en el alineamiento múltiple usando Clustal W versión 1.4 incluido en el programa Bioedit v7.0.9 (Fuente propia).

Construcción de Árbol filogenético

Se utilizó el programa MEGA 7.0.14 para la construcción de los árboles filogenéticos, usando el método Neighbor-Joining Tree, evaluando la confiabilidad haciendo bootstrapping de 1000 repeticiones, teniendo en cuenta que cada rama se deberá repetir como mínimo en el 50% de las veces (Bou, *et al.*, 2011; Castillo-Reyes, *et al.*, 2015; Tamura, *et al.*, 2011 citados por Rodríguez, 1999 y Álvarez, *et al.*, 2013).

5.2. Determinar el potencial antimicótico de *Trichoderma* spp. sobre hongos fitopatógenos de suelo.

Los hongos fitopatógenos utilizados en el estudio fueron suministrados por el laboratorio de biotecnología del Programa de Investigación Estudios Nacionales y Servicios del Ambiente de la Universidad Nacional de Ingeniería (PIENSA-UNI), los cuales estaban identificados a nivel de género como *Fusarium* spp. Posteriormente, los mismos fueron identificados por vía molecular siguiendo el procedimiento antes descrito.

5.2.1. Pruebas de confrontación *in vitro* de *Fusarium* spp. Vs *Trichoderma* spp.

En el caso de la técnica de confrontación, se utilizó Papa Dextrosa Agar (PDA) como medio de cultivo para evaluar el potencial de *Trichoderma* spp. como inhibidor de dos especies del género *Fusarium* spp provenientes de diferentes suelos agrícolas que fueron proporcionadas por la Universidad de Ingeniería (UNI). Las muestras de suelos provenían de aislados de plantas de maní, cuyo estudio molecular dio su resultado en especie; *Fusarium* spp. (F15), proveniente del Departamento de León, el segundo aislado (M-1-2-1) pertenecía a muestra de suelo del cultivo de papa perteneciente al programa de agricultores de fincas modelos de UNI, del cual estudios moleculares dieron como resultado *Fusarium equiseti*. El tercer aislado se obtuvo de muestras extraídas de Bosques en la Finca “Toro Blanco”- León, los estudios moleculares dio como resultado *Fusarium equiseti* (53LB-21). Las placas se incubaron a $28 \pm 1^\circ \text{C}$ y los diámetros de crecimiento del patógeno y del biocontrolador se midieron a las 72, 96 y 120 horas. Para la evaluación de la capacidad biocontrolador de los microorganismos se empleó la escala utilizada por Ezziyyani, *et al.*, (2004) (ver tabla 1) y el cálculo del Porcentaje de Inhibición del Crecimiento Radial (PICR), que mide el antagonismo de los microorganismos evaluados, el cual se obtiene empleando la fórmula propuesta por Suárez, *et al.*, (2008)

Como control negativo se utilizaron tres placas donde se colocaron únicamente los hongos evaluados; con las mediciones obtenidas se determinó el porcentaje de inhibición, utilizando la siguiente ecuación:

$$\text{Porcentaje de inhibición: } \frac{(D. C. C - D. C. P)}{(D. C. C)} * 100$$

Dónde:

D.C.C = Diámetro de la colonia control.

D.C.P = Diámetro de la colonia problema.

Tabla 1. Escala de evaluación de capacidad antagónica de los biocontroladores. (Ezziyani, et al., 2004)

Grado	Capacidad antagónica	Potencial biocontrolador
0	Ninguna invasión de la superficie de la cepa patógena	Muy malo
1	¼ Invasión de la superficie de la cepa patógena	Malo
2	½ invasión de la superficie de la cepa patógena	Deficiente
3	Total, invasión de la superficie de la cepa patógena	Bueno
4	Total, invasión de la superficie de la cepa patógena esporulación sobre ella	Muy bueno

Para determinar si existe una significancia estadística en los porcentajes de inhibición de crecimiento radial (PICR) entre los aislados estudiados. Se realiza un diseño completamente al azar con tres replicas, utilizando SPSS. Finalmente, para la continuidad de este trabajo se seleccionaron las mejores de cada una de las especies de *Trichoderma* spp. que estaban siendo confrontadas.

5.3. Evaluación del potencial como promotor de crecimiento de *Trichoderma* spp. sobre el cultivo de tomate.

Con el propósito de determinar el potencial de crecimiento vegetal que produce *Trichoderma* spp, se realizó aplicación de conidias a una concentración de 10^8 en el sustrato, previo la siembra de la semilla de tomate. Posteriormente, se seleccionó el aislado que presentó el mayor efecto inhibitorio contra los tres aislado de *Fusarium* spp, para ser utilizados en la evaluación como promotor de crecimiento. En el caso de especies con más de un aislado, igualmente se seleccionó el aislado con mayor nivel de inhibición de *Fusarium* spp. dentro de esa especie.

Preparación de inóculo y sustrato de siembra:

El inóculo se preparó siguiendo la metodología propuesta por Cárdenas, (2013), quien sugiere la preparación de una solución madre utilizando 10 mL de agua destilada, retirándose de la solución madre 1 mL con una micropipeta, que se depositará en una Cámara Neubauer y con la ayuda del microscopio compuesto en el lente de 40 X, se determinó el número de UFC/mL y mediante diluciones se ajustó a la concentración de 10^8 conidios/mL.

Para la realización del presente ensayo en la etapa de plántulas se utilizaron bandejas marca protek de uso liviano de polipropileno de 105 celdas, rellenas con sustrato estéril *Peat Moss*: (Lambert Peat Moss Inc., Quebec, Canadá), el cual está compuesto por un conjunto de especies de musgos pertenecientes al género *Sphagnum* spp, también llamados musgos de turbera. Este sustrato es muy utilizado por productores hortícolas y ha sido aplicado en estudios como sustrato para evaluar la efectividad de *Trichoderma* spp. como biocontrolador y promotor de crecimiento en el cultivo del tomate (Ruiz-Cisneros, et al., 2018).

Proceso de inoculación y siembra: Se depositó 1mL de la suspensión de conidias en cada una de las celdas previamente llenas con el sustrato, posteriormente se colocaron dos semillas en cada celda las cuales se sembraron a 1 cm de profundidad, posterior a la germinación se dejó solamente una planta por celda, para un total de 105 plántulas por cada bandeja. Este procedimiento se realizó para cada uno de los siete aislados de *Trichoderma* spp. seleccionados para evaluar su potencial como promotor de crecimiento, siendo estos T1: *T.harzianum*; T12: *T. asperelloide*; T11c: *T. viride*; T8: *T. songyi*; F2TG-11: *T. breve*; T3: *T.asperellum*; CIXD-07: *T.virens*). Al tratamiento testigo (sin inocular) sólo se le agregó 1 mL de agua destilada estéril. Todas las bandejas se mantuvieron en oscuridad a $28\pm 2^{\circ}\text{C}$.

Las plántulas fueron regadas dos veces al día, asegurándose que el suelo quedara a capacidad de campo. Las variables a medir fueron altura, peso de las plántulas y longitud de raíces. La medición de la altura de las plantas se realizó utilizando una regla milimétrica, midiendo desde la base de la planta hasta el meristemo apical de la planta. El peso de plántulas (peso fresco). Se realizó mediante la extracción de las plántulas, realizándose un lavado minucioso de las raíces para eliminar el sustrato y posteriormente pesándolas, utilizando una balanza analítica, los resultados fueron expresados en miligramos. La longitud de raíces se realizó extrayendo las plántulas y realizándose un lavado minucioso para eliminar el sustrato y posteriormente se midió la longitud de las raíces, los resultados se registraron en milímetros. La medición de estas variables se realizó 25 días después de emergidas las plantas, debido que es a esa edad que las plantas son evaluadas agrónomicamente para decidir si están en condiciones o no de ser trasplantadas a campo, dicha medición se realizó de conformidad con lo recomendado por otros autores en la evaluación del género *Trichoderma* spp. como promotor de crecimiento en plántulas de tomate (Santana, *et al.*, 2016).

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Resultados de la identificación de aislados de *Trichoderma* spp. a partir de muestras de suelo agrícolas.

6.1.1. Aislamiento de *Trichoderma* spp.

Para esta investigación se recolectaron un total de 50 muestras de suelo obtenidas de diferentes zonas geográficas de Nicaragua, para luego llevarlas al Laboratorio de Hongos Entomopatógenos de la UNAN-León, situado en la entrada a la comunidad La Ceiba 1 ½ km al este de la ciudad de León (12°25'17"n 86°51'09"w). En 17 de las 50 muestras analizadas se logró extraer un aislado de cada una de las muestras provenientes de diversos rubros agrícolas y de 33 de las muestras restantes analizadas no se logró extraer ningún aislado (Ver Tabla 2). De los 17 aislados de *Trichoderma* spp. obtenidos, cinco de ellos fueron encontrados asociados al cultivo del plátano los que corresponden a los códigos T11c, T3, T2, T4, T1 (Ver Tabla 2), siendo en este rubro que se recuperó la mayor cantidad de aislados (5) en el presente estudio. Otros autores como Samuelian, (2016) y Pineda, *et al.*, (2019), han reportados resultados similares a los obtenidos en el presente trabajo, quienes también encontraron una alta cantidad de aislados de *Trichoderma* spp. en la rizosfera de suelos agrícolas asociados al cultivo del plátano. Azarte, *et al.*, (2006) encontraron hasta 25 aislados de *Trichoderma* spp. asociados al cultivo de plátano, esta asociación, ha sido aprovechada por otros investigadores, quienes han demostrado su importancia como controlador de enfermedades fungosas asociadas a *Mycosphaerella fijiensis* en el plátano (Azarte *et al.*, 2006).

En la Tabla 2, se puede observar que en el caso del cultivo tomate, fueron extraídos dos aislados de *Trichoderma* spp a partir de tomate triturado (T14 y T121G-21) y dos provenientes de suelo asociado al cultivo del tomate (T5, TF2TG-11). En este último caso, la asociación con *Trichoderma* spp ha sido ampliamente documentada y se ha indicado que los exudados radiculares de este cultivo proveen un ambiente rico en carbono y energía que crean un ambiente favorable para el desarrollo de *Trichoderma* spp. en la rizosfera de éste y otros cultivos (Fernández, *et al.*, 2017; Haichar, *et al.*, 2014). En suelos asociados a bosques se logró aislar *Trichoderma* spp. en tres ocasiones (T13, T10, TCIXD-07) (Ver Tabla 2), este comportamiento era esperado debido a la actividad que ejerce este organismo sobre los ciclos biogeoquímicos, particularmente en el ciclo del carbono de suelos asociados a bosques (Almaraz, *et al.*, 2012). De igual manera se sabe que este tipo de hongo puede vivir en la rizosfera de plantas forestales siendo ampliamente conocida su habilidad de competir con otros microorganismos por espacio y nutrientes. En el caso de bosques de pino, Martínez (1999) aisló una amplia variedad de hongos de suelo, siendo las poblaciones de *Trichoderma* spp., el género más abundante y dominante en su estudio. Publicaciones más recientes indican que altas poblaciones de este género pueden ser encontradas en bosques asociados a las raíces de árboles y así como también a la materia orgánica y sedimentos de bosques (Ma, *et al.*, 2020). De las muestras tomadas de suelos destinados a pastizales se obtuvieron dos aislados del hongo *Trichoderma* spp. tal como se puede ver en la Tabla 2, correspondiendo a los códigos (T8 y T9). Esta asociación entre *Trichoderma* spp. y suelos de pastizales ha sido reportado previamente y se ha encontrado conviviendo con este tipo de plantas sin causar ningún daño, sino actuando como organismo benéfico el desarrollo de patógenos y

mejorando la absorción de nutrientes (Talavera y Téllez, 2007). Finalmente, se obtuvo un aislado de *Trichoderma* spp, de los cultivos de guayaba (T11a), sandía (T12) y suelos no agrícolas (TCIXD-08) (Ver Tabla 2).

Tabla 2. Distribución geográfica, rubros muestreados, cantidad de aislados obtenidos y código para cada uno de los rubros en mención. (Fuente propia).

Departamento	Municipios	Rubros/ muestreados	Cantidad de Aislados obtenidos	Código
Chinandega	Chichigalpa	Guayaba	1	(T11a)
	Tonalá	Plátano	4	(T1, T2, T3, T11c)
		Bosque	1	(T13)
		Sandía	1	(T12)
	Posoltega	Plátano	1	(T4)
León	León	Tomate	1	(T5)
Matagalpa	Terrabona	Tomate	1	(TF2TG-11)
		Bosque	1	(T10)
		Tomate triturado	2	(T121G-21, T14)
		Pastizales	2	(T8, T9)
Chontales	La Libertad	Suelos no agrícolas	1	(TMIXD-08)
Managua	Ticuanatepe	Reserva	1	(TCIXD-07)
		Natural El		
		Chocoyero		
Total			17	

6.1.2. Identificación Morfológica de los aislados de *Trichoderma* spp.

Las características observadas al microscopio de los aislados antes obtenidos se pueden observar en la Figura 5 y se describen en detalle en la Tabla 3. Los aislados T3, T5, T13, T14, T10, T11a, que fueron extraídos de los diferentes sustratos tomate triturado, suelos de bosque, guayaba y tomate, al ser observadas al microscopio sus estructuras morfológicas se pudo comprobar que mostraron similares características a las descritas por Samuels, *et al.*, (1999), consistiendo en conidióforos con ramificaciones escasas y en pares, fiálides rectos y conidias subglobosas con unas verrugas levemente perceptibles correspondiendo a *Trichoderma asperellum*.

Con relación a los aislados correspondientes a los códigos T12 y T9 provenientes del cultivo de sandía y pastizales (Ver Tabla 3), se pudo comprobar que las estructuras morfológicas relacionadas a conidióforos, fiálides y conidias eran muy similares a *Trichoderma asperelloides* reportada por Masaquiza, (2019); y López, (2012).

En el caso de los aislados T2, T4 y TF2TG-11 (Ver Tabla 3), dos a partir del cultivo del plátano y una ocasión de tomate triturado. Estos aislados, al ser observados al microscopio, se encontró que las estructuras morfológicas de esta especie referidas a conidióforo, fiálides y conidias fueron congruentes con las reportadas previamente por Chen & Zhuang (2017) correspondiente a *Trichoderma breve*, describiendo conidióforos simétricos usualmente con ramas laterales cortas, fiálides en pares o en grupos de tres y conidias color verde sin verrugas visibles (Ver Tabla 3). Los aislados TCIXD-07, TMIXD-08 (Ver Tabla 3) fueron extraídos de suelos asociados a bosque y suelo no agrícola, morfológicamente su conidióforo se caracteriza por tener una base estéril y producir ramas cerca del ápice del mismo, sus fiálides se agrupan de dos a cinco verticilios en ramificaciones terminales y sus conidias son elipsoidales con pequeñas verrugas en su superficie, casi imperceptible color verde oscuro, descripciones que concuerdan con la morfología de *Trichoderma virens* (Ver Tabla3). Estas características coinciden con la descripción que hicieron de este género Gams y Bissett, (1998).

En el caso de los aislados T8, T121G-21 fueron aislados de tomate triturado y de suelos asociados a pastizales. Al observarse en el microscopio presentaban conidióforos de forma verticiliar, con fiálides angostas y rectas y las conidias tenían coloración amarillenta a verdosas sin verrugas visibles en la superficie (Tabla 3), estas características coinciden con las descritas por otros investigadores como Park, *et al.*, (2014) para describir a *Trichoderma songyi*. Finalmente, el aislado T11c fue obtenido en una ocasión de suelos asociados a cultivo de plátano, las observaciones de sus estructuras morfológicas realizadas a nivel de microscopio (Tabla 3) coinciden con lo descrito por Gams y Bissett, (1998) para *Trichoderma viride*.

r

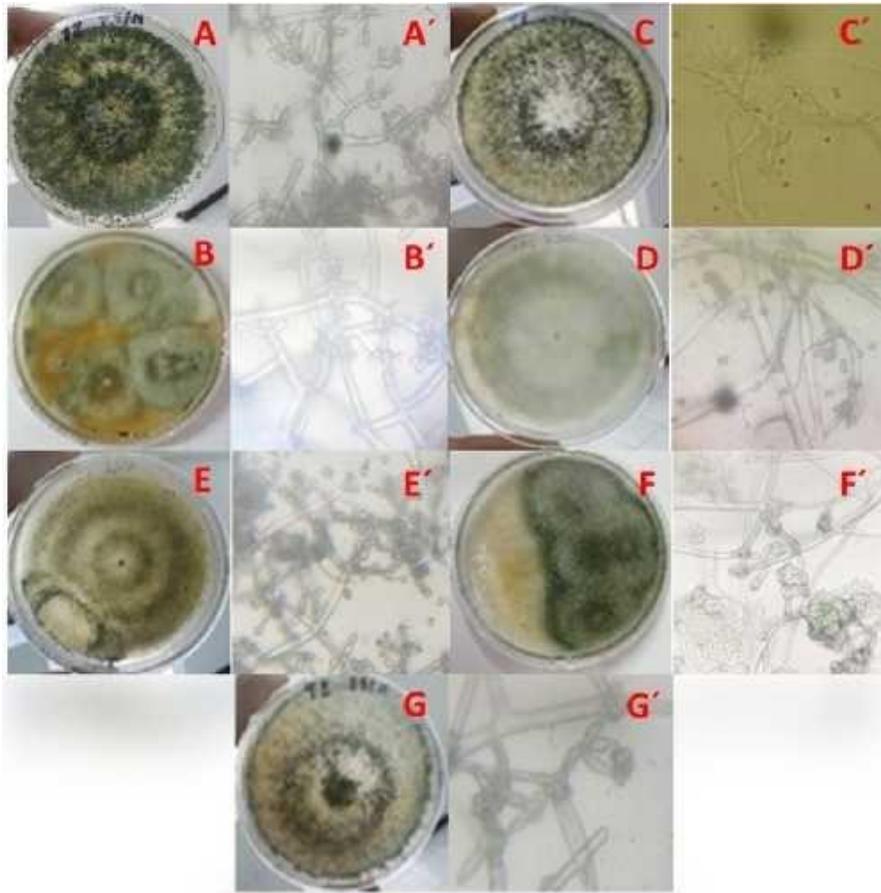


Figura 5. Aislados de *Trichoderma* spp, se puede apreciar estructura morfológica, forma, color y crecimiento de siete especies. A, A': *T. breve* (Crecimiento en placa, estructura morfológica) B,B':*T. asperellum* (Crecimiento en placa, estructura morfológica); C,C': *T. asperelloide* (Crecimiento en placa, estructura morfológica); D,D': *T. songyi* (Crecimiento en placa, estructura morfológica); E,E': *T.virens* (Crecimiento en placa, estructura morfológica) F,F':*T,viride* (Crecimiento en placa, estructura morfológica); G,G':*T.harzianum* (Crecimiento en placa, estructura morfológica).(Fuente propia).

Tabla 3. Descripción morfológica de algunas de las especies de *Trichoderma* spp. aisladas de diversas fuentes reportadas (Gams, W., & Bissett, J. 1998; Harman G. 2000; González; *et al.*, 2000; Hernández., 2011; Jaklitsch, *et al.*, 2013).

Especie de <i>Trichoderma</i> spp.	Conidióforo	Fiálides	Conidias
<i>Trichoderma harzianum</i> (T1)	Tiende a tener una forma verticiliada, con una estructura piramidal.	Poseen forma entre ampuliforme a lageniforme, usualmente 3–4 fiales verticiliados y ocasionalmente en pares.	Forma subglobosa a ovoide, con una coloración subhialina a verde pálido
<i>Trichoderma viride</i> (T11c)	Usualmente no muy ramificada, las ramas a menudo en pares o con tres verticillios aparentemente flexibles.	Frecuentemente se presentan en pares o grupos de tres, son angosto y lageniformes	Forma globosa a elipsoidal, usualmente con verrugas evidentes, coloración verdeazulada a verde oscuro.
<i>Trichoderma virens</i> (TCIXD-07, TMIXD-08)	La base es frecuentemente estéril y sin ramas, cerca del ápice se ramifica y cada rama termina en 3-6 fiálides. Las ramificaciones primarias son irregulares, sencillas o en pares opuestas debajo de los septos.	Se forman en conidióforos complejos lageniforme a ampuliforme en su mayoría surgen agrupadas en grupo de 2 a 5 verticillios en ramificaciones terminales	Conidia en forma elipsoidal a ovoide, con la superficie lisa, con muy pequeñas verrugas, casi imperceptibles. Color verde oscuro.
<i>Trichoderma asperellum</i> (T3, T5, T10, T11a, T13, T14) y <i>Trichoderma asperelloides</i> (T12, T9)	Posee ramificaciones no muy abundantes, las cuales se presentan generalmente en pares.	Las Fiálides son rectas, con el ápice sinuoso o en forma de garfio. Se organizan de forma sencilla o en espiral.	Conidia con forma variable entre subglobosa a elipsoidal, con coloración verde, con verrugas levemente perceptible
<i>Trichoderma songyi</i> (T8, T121G-21)	Tiene formar verticiliar	Fiálides angostas de forma recta, lageniforme y un poco engrosadas en medio	Las conidias son amarillentas o verdosas, superficie lisa y de forma elipsoidal
<i>Trichoderma breve</i> (T2, T4, TF2TG-11)	Conidióforo simétrico, típico de <i>Trichoderma</i> , usualmente con ramas laterales cortas.	Fiálides formadas solitarios, en pares o en grupos de tres, de forma ampuliforme o lageniforme	Conidia color verde, lisa, de forma globosa o subglobosa.

6.1.3 Identificación Molecular de *Trichoderma* spp.

El análisis filogenético realizado a los 17 aislados de *Trichoderma* spp. obtenidos en el presente estudio, permitió determinar que seis aislados pertenecían a la especie *asperellum* (T3, T5, T10, T11a, T13, T14) (Ver *Tabla 4*, *Figura 6* y *Anexo 1*: figuras 9-12), estableciéndose una correlación entre lo observado en el análisis morfológico con lo obtenido en la identificación molecular. Identificar este número de aislados de esta especie es muy importante, debido al reconocido potencial como agente de control biológico de enfermedades de plantas que posee esta especie. Estudios *in vitro* realizados en el año 2018 indican que los aislados de *Trichoderma asperellum* poseen una alta capacidad inhibitoria contra hongos fitopatógenos del género *Fusarium* spp. (Duarte, *et al.*, 2018). De igual manera, en condiciones *in vitro*, otros autores encontraron que *Trichoderma asperellum* mostró un alto nivel de control sobre *Rhizoctonia solani*

que es un hongo de suelo que causa serios daños a una amplia variedad de cultivos (Jaklitsch, *et al.*, 2013). Otros estudios, desarrollados a nivel de campo, demostraron nuevamente excelentes niveles de control de esta especie sobre organismos fitopatógenos como *Pyricularia grisea*, *Fusarium* spp., *P. pachyrhizi* y *Cercospora kikuchii*, organismos asociados a cultivos de alta importancia agrícola como arroz, frijol y soya, lo que viene a corroborar la importancia de esta especie, dada su utilidad y potencial como agente de control biológico de enfermedades de plantas (Cruz, *et al.*, 2015).

Diversos autores han reportado que *Trichoderma virens* (TCIXD-07, TCIXD-08) produce una enzima denominada β -1,6-glucanasa que degrada la pared celular de hongos fitopatógenos y ha sido demostrado que dicha enzima disminuye la capacidad de *Pythium ultimum* de infectar plantas, lo cual fue confirmado a través de bioensayos con diferentes especies vegetales (Larralde-Corona, *et al.*, 2008; Martínez, *et al.*, 2013). Los análisis moleculares comprobaron lo que se había previsto en los estudios morfológicos. Por otro lado, se ha indicado que la especie *Trichoderma harzianum* (T1), es capaz de producir una enzima del tipo de las proteasas que degrada las enzimas que utiliza *B. cinerea* para degradar los componentes de la pared celular de las plantas (Harman, 2000) inhibiendo de esta forma su capacidad de infectarlas. De igual manera, esta especie es capaz de ejercer control sobre *Rhizoctonia solani* en follaje del cultivo del arroz reduciendo la incidencia de esta enfermedad en aproximadamente un 30% (Rodríguez, 1999), nuevamente se corrobora por vía molecular lo observado por vía morfológica. *Trichoderma viride* (T11c) produce una enzima β -glucosidasa y mediante ella degrada la fitotoxina que produce *Rhizoctonia solani* en las raíces de las plantas (Howel, 2003), esta especie presentan un alto potencial como controlador biológico, ya que se ha demostrado que es capaz de disminuir la incidencia y severidad de patógenos que atacan el follaje de plantas, tal es el caso de *Moniliophthora roreri* causante de la moniliasis en cacao (Verde, 2007).

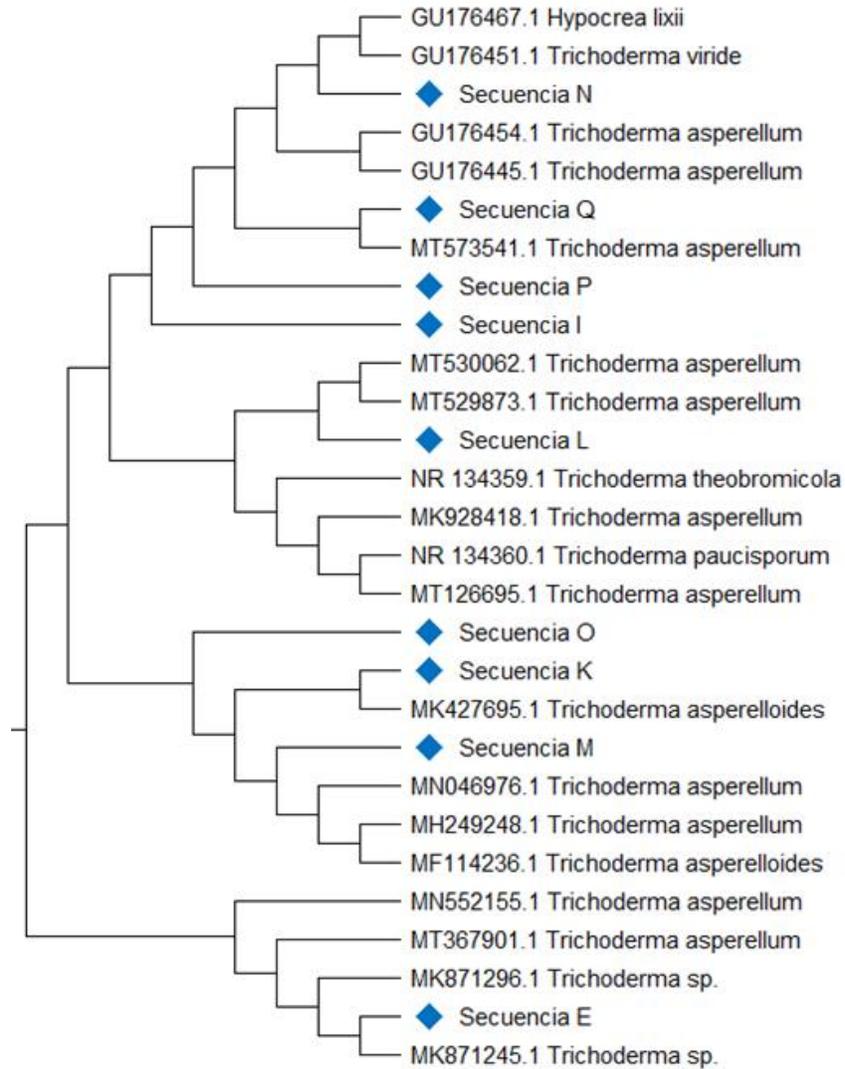


Figura 6. Fragmento del Árbol filogenético (Árbol completo Anexo 1) de diferentes especies de *Trichoderma* spp. identificados en el diagnóstico molecular, además de los *Fusarium* spp. utilizados en el presente estudio. El árbol filogenético se construyó usando el programa MEGA 7.0.14 usando el método Neighbor-Joining Tree, evaluando la confiabilidad haciendo bootstrapping de 1000 repeticiones (Castillo-Reyes, *et al.*, 2015; Tamura, *et al.*, 2011; Álvarez, *et al.*, 2013).

Hasta este momento, existe una limitada información sobre la relación del hongo *Trichoderma songyi* (T8, T121G-21), con variables agrícolas o ambientales. Sin embargo, Park, *et al.*, (2014) identificó esta especie asociada al hongo comestible de considerable valor económico como es *Tricholoma matsutake* en Pino. Aunque no hay estudios que indiquen su efecto sobre este hongo, estudios previos demuestran que el género *Trichoderma* spp. ha exhibido una correlación positiva cuando es encontrado en asociación con el hongo *Tricholoma matsutake* (Vaario, *et al.*, 2011).

Por lo que se ha sugerido que es de vital importancia desarrollar proyectos de investigación que involucren esta especie de *Trichoderma* (Park, *et al.*, 2014), los resultados de la identificación molecular aquí realizada mostraron una correcta correlación entre la identificación morfológica y molecular.

Los aislados correspondientes a (T12 y T9) *Trichoderma asperelloides* que fueron identificados en cultivo de sandía y pastizales. Cruz *et al* (2020). Se describen observaciones macroscópicas evidenciaron la interacción antagonista-patógeno, dando como resultado el *T. asperelloides* como antagónico *in vitro* frente al crecimiento de *Fusarium* spp. por lo que el uso de *T. asperelloides* puede ser efectivo en reducir daños de gomosis en cítricos. Los resultados de la identificación molecular aquí realizada mostraron una correcta correlación entre la identificación morfológica y molecular.

Finalmente, los aislados correspondientes a *Trichoderma breve* (T2, T4, TF2TG-11) que fueron identificados en tres localidades, se corresponden con una especie de la que se dispone con una muy limitada información. Pero dada la utilidad de este género para la agricultura, ambiente y farmacología entre otras áreas de la ciencia, debería retomarse esta especie para futuros estudios (Chen y Zhuang, 2017). Los resultados de la identificación molecular aquí realizada mostraron una correcta correlación entre la identificación morfológica y molecular.

Tabla 4. Identificación de aislados de *Trichoderma* spp. mediante análisis filogenético en correspondencia con el árbol filogenético de la figura 6. (Fuente propia).

Código de Secuencia	Código del Microorganismo	Aislado / Cultivo	Procedencia de la muestra	Vecino más cercano (No de acceso)	Max punt.	Ident. Max	Identidad final
N	T11c	Plátano	Tonalá	<i>Trichoderma viride</i> (GU176451.1)	843	100	<i>Trichoderma viride</i>
Q	T14	Tomate triturado	Terrabona	<i>Trichoderma asperellum</i> (MT573541.1)	843	100	<i>Trichoderma asperellum</i>
P	T13	Bosque	Tonalá	<i>Trichoderma asperellum</i> (MT573541.1)	843	100	<i>Trichoderma asperellum</i>
I	T5	Tomate	UNAN-León	<i>Trichoderma asperellum</i> (MT573541.1)	843	100	<i>Trichoderma asperellum</i>
L	T10	Bosque	Terrabona	<i>Trichoderma asperellum</i> (MT529873.1)	907	99.4	<i>Trichoderma asperellum</i>
O	T12	Sandia	Tonalá	<i>Trichoderma asperelloides</i> (MK427695.1)	946	100	<i>Trichoderma asperelloides</i>

K	T9	Pastizales	Terrabona	<i>Trichoderma asperelloides</i> (MK427695.1)	946	99.43	<i>Trichoderma asperelloides</i>
M	T11a	Guayaba	Chichigalpa	<i>Trichoderma asperellum</i> (MN046976.1)	929	99.61	<i>Trichoderma asperellum</i>
E	T3	Plátano	Tonalá	<i>Trichoderma asperellum</i> (MK871245)	937	99.8	<i>Trichoderma asperellum</i>
T	T121G-21	Tomate triturado	Terrabona-Guajiniquil	<i>Trichoderma songyi</i> (NR159053.1)	870	99.3	<i>Trichoderma songyi</i>
J	T8	Pastizales	Terrabona	<i>Trichoderma songyi</i> (H973225.1)	939	99.8	<i>Trichoderma songyi</i>
S	TCIXD-07	Bosque	Reserva Natural “El Chocoyero	<i>Trichoderma virens</i> (MT229169.1)	809	100	<i>Trichoderma virens</i>
R	TMIXD-08	Suelos no Agrícolas	Chontales-La libertad	<i>Trichoderma virens</i> (NR138428.1)	776	100	<i>Trichoderma virens</i>
D	T2	Plátano	Tonalá	<i>Trichoderma breve</i> (NR154574.1)	802	99.3	<i>Trichoderma breve</i>
G	T4	Plátano	Posoltega	<i>Trichoderma breve</i> (NR154574.1)	802	99.3	<i>Trichoderma breve</i>
U	TF2TG-11	Tomate triturado	Terrabona-Guajiniquil	<i>Trichoderma breve</i> (NR154574.1)	802	99.3	<i>Trichoderma breve</i>
C	T1	Plátano	Tonalá	<i>Trichoderma harzianum</i> (MF108885.1)	924	100	<i>Trichoderma harzianum</i>

El análisis de los resultados de identificación microbiana permitió determinar que *T. asperellum* (con seis especies identificadas) resultó ser la especie predominante en las diferentes regiones muestreadas, *Trichoderma breve* (con tres especies identificadas), *T. asperelloides*, *T. songyi* y *T. virens* le correspondieron dos especies (con dos especies identificadas para cada uno de ellos) y finalmente *T. viride* y *T. harzianum* (con un identificado cada uno). El proceso de identificación por vía molecular estuvo en un porcentaje de identidad máxima entre 99.3 y 100 para todas las especies identificadas, lo cual reporta un alto nivel de confianza en la identificación final obtenida.

6.2. Pruebas de confrontación entre *Trichoderma* spp. y *Fusarium* spp.

En el presente estudio, se realizaron pruebas de confrontación entre 17 aislados del género *Trichoderma* spp, contra tres aislados del género *Fusarium* spp, dos de estos aislados correspondieron a *Fusarium equiseti* (F53LB-21 y FM-1-2-3) y el tercer aislado fue identificado como *Fusarium* spp. (F15), para un total de 51 pruebas de confrontación. El aislado de *Trichoderma harzianum* (T1), fue el que presentó los mayores porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) en las tres especies de *Fusarium* spp. evaluadas (*Fusarium equiseti* 78.57% y 87%; *Fusarium* sp. 79%) (Tabla 5). En el caso de los dos aislados de *F. equiseti*, se obtuvieron promedios de PICR con una diferencia de 8.43 puntos porcentuales entre ambos. Esta diferencia encontrada en ambos aislados de una misma especie, pero de diferentes proveniencias, podría atribuirse a la variabilidad propia que experimentan organismos extraídos de diferentes ambientes agroecológicos. Pimentel, *et al.*, (2020) realizó un estudio con 47 aislados de *Trichoderma* spp para evaluar su potencial de control biológico contra *Fusarium* spp., de los 47 aislados, 16 fueron identificados como *T. harzianum*, en estos casos se obtuvieron resultados de PICR que oscilaron entre 40-92%. La variación entre las respuestas de las especies de *T. harzianum* fue de 52 puntos porcentuales, lo que demuestra que organismos de una misma especie pueden producir niveles de control diferentes cuando su lugar de origen es diferente. Esto podría explicar porque en nuestro estudio dos especies de *Fusarium equiseti* extraídos de lugares distintos, no presenten resultados iguales.

Los resultados del presente estudio permitieron observar que los aislados de *Trichoderma* spp. previamente identificados lograron inhibir el crecimiento y desarrollo de las especies de *Fusarium* spp. analizadas, estos resultados son congruentes con lo reportado en la literatura científica que señala que al evaluar el PICR de *Trichoderma* spp. sobre *Fusarium* spp. se logran porcentajes de inhibición de hasta un 92% de inhibición, superando ligeramente los promedios más altos obtenidos en nuestros estudios (Pimentel *et al.*, 2020). Esto nos muestra y nos permite afirmar que los aislados encontrados poseen potencial como agentes de control biológico contra el género *Fusarium* spp, tal como lo han reportado otros estudios realizados por (Carvalho, *et al.*, 2011) los cuales demuestran que algunas especies de *Trichoderma* spp. han logrado reducir la incidencia de enfermedades causadas por *Fusarium* spp en diversos cultivos. Este comportamiento puede deberse a la capacidad de *Trichoderma* spp. de inhibir el desarrollo de *Fusarium* spp. mediante tres mecanismos que son hiperparasitismo, competencia por espacios y antibiosis (Alabouvette, *et al.*, 2009; Martínez, *et al.*, 2013; Mukhopadhyay y Kumar, 2020). El análisis de la figura 7 permite observar que *Trichoderma harzianum* es hiperparásito a ambos *Fusarium equiseti*, pero en mayor proporción a *F. equiseti* (53LB-21), mientras que el mismo presenta una antibiosis ante *Fusarium* spp. (F15), Mientras *Trichoderma asperellum* muestra competencia por espacio ante ambos *equiseti* (F53LB- 21 y FM-1-2-3) y una marcada antibiosis ante *Fusarium* sp. (F15). Finalmente *Trichoderma virens* presenta un mecanismo de competencia para los tres *Fusarium* spp. analizados, con una ligera antibiosis y hiperparasitismo ante *Fusarium* spp, además de un ligero hiperparasitismo ante *Fusarium equiseti* (FM-1-2-3). *Trichoderma harzianum* es el que confronta más agresivamente a las tres especies de *Fusarium* spp. analizados con un mecanismo hiperparásitico.

Coincidente con los resultados antes descritos, otros investigadores (Sundaramoorthy y Balabaskar 2013) han reportado que *T. harzianum* ha demostrado ser el aislado más efectivo para inhibir el crecimiento de *Fusarium* spp., estos investigadores han reportado a *T. harzianum* como un antagonista altamente efectivo contra *Fusarium oxysporum*. Algunos investigadores han documentado una reducción significativa en el crecimiento y desarrollo de *F. oxysporum*, al exponerse a *T. harzianum*, siendo su respuesta similar al de testigos químicos utilizados en dichos experimentos (Sundaramoorthy y Balabaskar 2013). En el caso de *Trichoderma asperellum*, se ha demostrado el potencial antagonista de este hongo contra organismos fungosos fitopatógenos en condiciones de confrontación dual, Bhagat and Pan (2010) evaluaron 12 aislados de *Trichoderma* spp., *in vitro* contra *Rhizoctonia solani* encontrando que todos los aislados inhibieron significativamente el crecimiento micelial de este hongo, estos resultados parecen estar vinculados a la capacidad de *Trichoderma* spp. de secretar enzimas degradadoras de la pared celular como quitinasa y celulosa. Otros autores como Díaz-Gutiérrez, *et al.*, (2021), afirman que la habilidad de *T. asperellum* de producir estos exudados está relacionado a su actividad antagonista y su micoparasitismo.

Aceves, *et al.*, (2001), señalan que *Trichoderma virens* posee una alta capacidad de inhibir el desarrollo de hongos fitopatógenos debido a que posee efectos antagónicos y micoparasiticos, señala que este hongo tiene una alta agresividad que se demuestra en su capacidad de competir por sitios de crecimiento e infección que el hongo fitopatógenos necesita para crecer y multiplicarse. Esto coincide con lo reportado en el presente estudio, en el que se pudo observar que *T. virens*, se ubicó en el tercer lugar en cuanto a su capacidad para inhibir a las especies de *Fusarium* spp. en estudio mediante un mecanismo que resultó predominantemente por competencia.

Según los resultados obtenidos (Ver Tabla 5) *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma asperellum* y *Trichoderma virens* demostraron ser los aislados que presentaron un mayor nivel de inhibición del crecimiento de las tres especies de *Fusarium* spp. comparadas. En el porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) es importante resaltar que los 17 aislados evaluados presentaron una inhibición del crecimiento radial de *Fusarium* spp. superior al 60% (Ver Tabla 5). Resultados similares obtuvo Suarez, *et al.*, (2008) quien al evaluar 20 aislados de *Trichoderma harzianum* obtuvo niveles de inhibiciones superiores al 60%. Otro autor Michel, (2001) reportó porcentajes de PICR de 69.50%

porcentajes de inhibición superiores al PICR obtenido en el estudio. En el caso de *Trichoderma asperellum* en estudio se obtuvo un PICR de (77.14 y 86 % para los dos *Fusarium quiseti* y 75% para *Fusarium spp.*) de inhibición de *Fusarium spp.*, siendo este resultado ligeramente inferior al obtenido por Andrade-Hoyos, *et al.*, (2019), quien reportó porcentajes de PICR de 88.25 al confrontar *Trichoderma asperellum* contra *Fusarium oxysporum* en condiciones *in vitro*. Estos resultados pueden deberse a que algunas especies de *Trichoderma asperellum* han sido reportadas produciendo enzimas que degradan la pared celular de algunos hongos fitopatógenos como *Fusarium oxysporum*, por lo que se cree que esta habilidad puede estar relacionado a su actividad antagonista (Díaz, *et al.*, 2021). Otros autores como Elsharkawy, *et al.*, (2013) y Alabouvette, *et al.*, (2009), también obtuvieron resultados en los que estos tres aislados *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma asperellum* y *Trichoderma virens* presentaron altos niveles de antagonismo y micoparasitismo contra el género *Fusarium spp.*

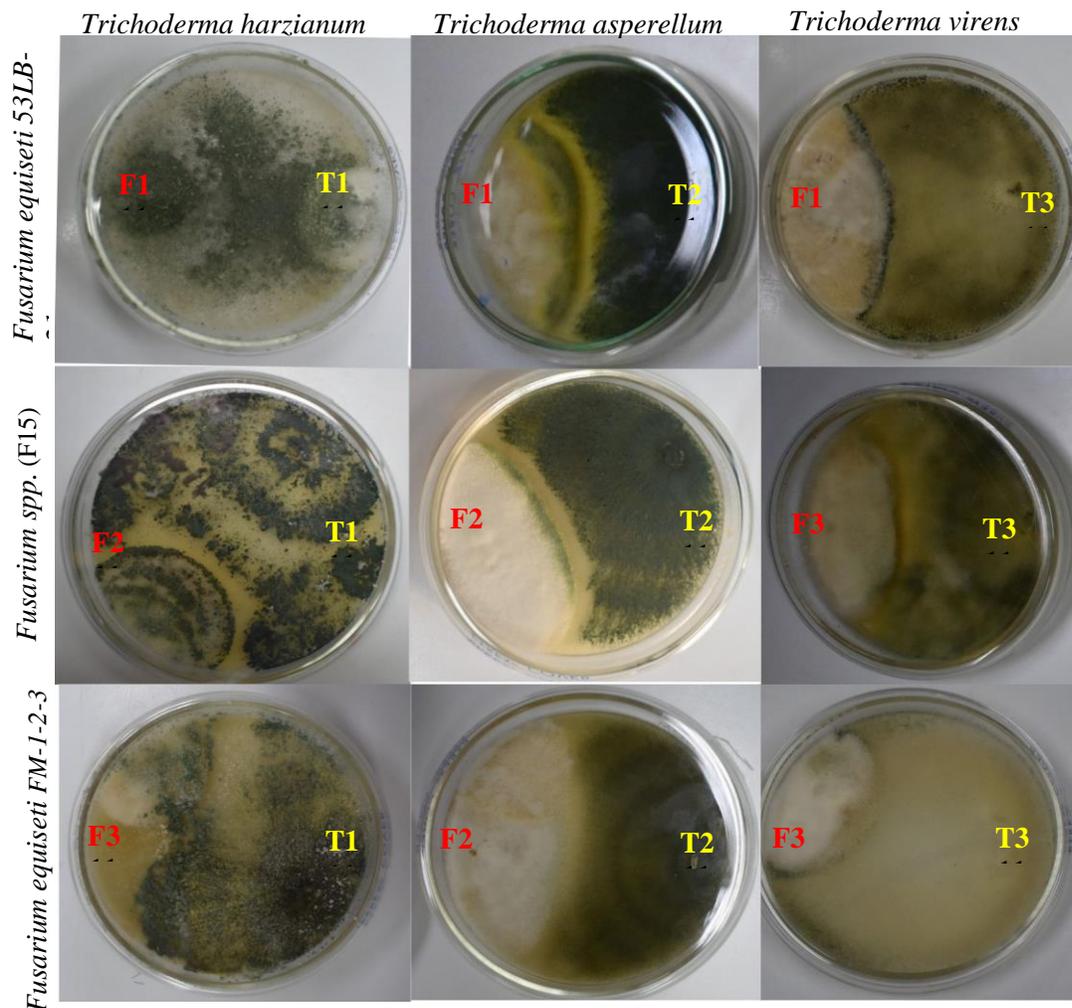


Figura 7. Confrontación entre tres aislados de *Fusarium spp.* identificados como *Fusarium equiseti* (F1:T53LB-21), *Fusarium spp.* (F2: TF15), *Fusarium equiseti* (F3: TFM-1-2-3) versus tres aislados de *Trichoderma* identificados como *Trichoderma harzianum* (T1), *T. asperellum* (T11A) y *T. virens* (CIXD-07) ambos con 9 días de crecimiento. (Fuente propia).

Tabla 5. Porcentaje de inhibición promedio de crecimiento radial de tres aislados de *Fusarium spp.* contra 17 aislados de *Trichoderma spp.* a los 9 días de confrontación (Fuente propia).

<i>Trichoderma spp.</i>	<i>Fusarium equiseti</i> F53LB-21	<i>Fusarium spp.</i> F15	<i>Fusarium equiseti</i> FM-1-2-3
T8	78.57	50	84
T11C	74.76	64	84
T13	75.24	66	77
T11a	77.14	75	86
T5	73.33	56	86
T4	71.90	65	78
MIXD-08	76.19	61	80
T10	75.71	62	83
T14	71.90	61	84
T9	70.95	61	80
T12	77.62	62	79
T12-1-1-21	74.86	63	81
T2	78.57	52	86
T1	78.57	79	87
T72T621	76.67	67	86
CIXD-07	77.52	75	83
T3	68.57	50	84
Testigo	93	90	95

6.3. Potencial de aislados de *Trichoderma spp.* como promotor de crecimiento en cultivo de Tomate (*Solanum lycopersicum*)

En la presente evaluación se cuantificó el potencial de los siete aislados de *Trichoderma spp.*, como promotores de crecimiento vegetal, seleccionando a los aislados que presentaron los mejores resultados en la confrontación de *Trichoderma spp.* versus *Fusarium spp.* a continuación, se detallan los resultados obtenidos para evaluar el potencial de *Trichoderma spp.*

6.3.1. Altura de plántulas de tomate bajo la influencia de aislados de *Trichoderma spp.*

La evaluación realizada a diferentes aislados de *Trichoderma spp.*, demostró que fueron efectivos como inductores del crecimiento de las plantas pudiéndose demostrar que dos aislados correspondientes a *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma viride*, presentaron los más altos niveles de promoción del crecimiento con una altura de 12.93 y 11.42 cm respectivamente. Estos datos son congruentes con lo reportado por Santana Baños, *et al.*, (2016) quienes, al medir altura de plántulas de tomate de 25 días de germinados, obtuvieron alturas promedio de 12.28 cm en las plantas

inoculadas con *Trichoderma harzianum*. Otros autores han evaluado la eficacia de *T. harzianum* sobre el crecimiento de plántulas de maracuyá, berenjena, arveja, frijol y especies forestales obteniendo un crecimiento de plántulas que superan a sus contrapartes sin inocular (Dandurand y Knudsen, 1993) y (Cubillos, *et al.*, 2009). En el caso de *Trichoderma viride* se ha demostrado su potencial como promotor de crecimiento, Shanmugaiyah, *et al.*, (2009) evaluó la utilidad de *Trichoderma viride* como promotor de crecimiento en plántulas de algodón, encontrando que las plantas inoculadas con este hongo presentaron alturas promedias de 16.87 cm superando en 75% a plantas de algodón sin inocular. El análisis estadístico (Anexo 3) realizado demuestra que *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma viride* presentaron mayores promedios de altura que el resto de tratamientos, presentando 12.93 y 11.42 cm de crecimiento en promedio, superando a su correspondiente testigo absoluto en un 38.8 % y 22.6% respectivamente (Ver Tabla 6, Figuras 8 y 9).

Como se puede apreciar en la Tabla 6, el tratamiento correspondiente a *Trichoderma songyi*, se ubicó en tercer lugar presentando una altura promedio de 10.42 cm, superando al testigo en un 11.90%. El resto de tratamientos evaluados presentaron promedios de estimulación del crecimiento que oscilaron entre 0.3% y 6.30%, estadísticamente todos los tratamientos incluyendo al testigo fueron clasificados en un mismo grupo lo que indica que no presentaron diferencias significativas. Sin embargo, se pudo observar la tendencia que en todos los tratamientos utilizados se obtuvo mayor altura con respecto al testigo (Ver Tabla 6, Figuras 8 y 9). Esta ganancia en altura de 11.90% obtenida en el tratamiento inoculado con *Trichoderma songyi*, son comparables con lo reportado por Ozbay and Newman (2004), quienes de igual manera reportaron un incremento significativo 18.9% de incremento en la altura de plántulas de tomate en comparación con plántulas sin inocular con *Trichoderma* spp.

Lorito, (2006) reporta que la ganancia de altura, para el caso de *Trichoderma* spp. se debe a que estos liberan en el suelo ácidos orgánicos tales como el ácido glucónico, ácido cítrico y el ácido fumárico, estos ácidos se incorporan al suelo y lo acidifican, logrando una más eficiente solubilización de fosfatos, micronutrientes y trazas minerales (hierro, manganeso y magnesio). Paudel, (2018) reportó que estos nutrientes son conocidos por ser de baja solubilidad, por lo que al volverse más solubles por el efecto de *Trichoderma* spp. se incrementa el crecimiento del follaje y longitud de las raíces. Otros investigadores (Contreras, *et al.*, 2014) evaluaron la eficacia de inoculación de *Trichoderma harzianum* sobre plántulas de tomate y encontraron que plantas inoculadas con conidias de este hongo incrementaron su altura al compararla con plántulas sin inoculación.

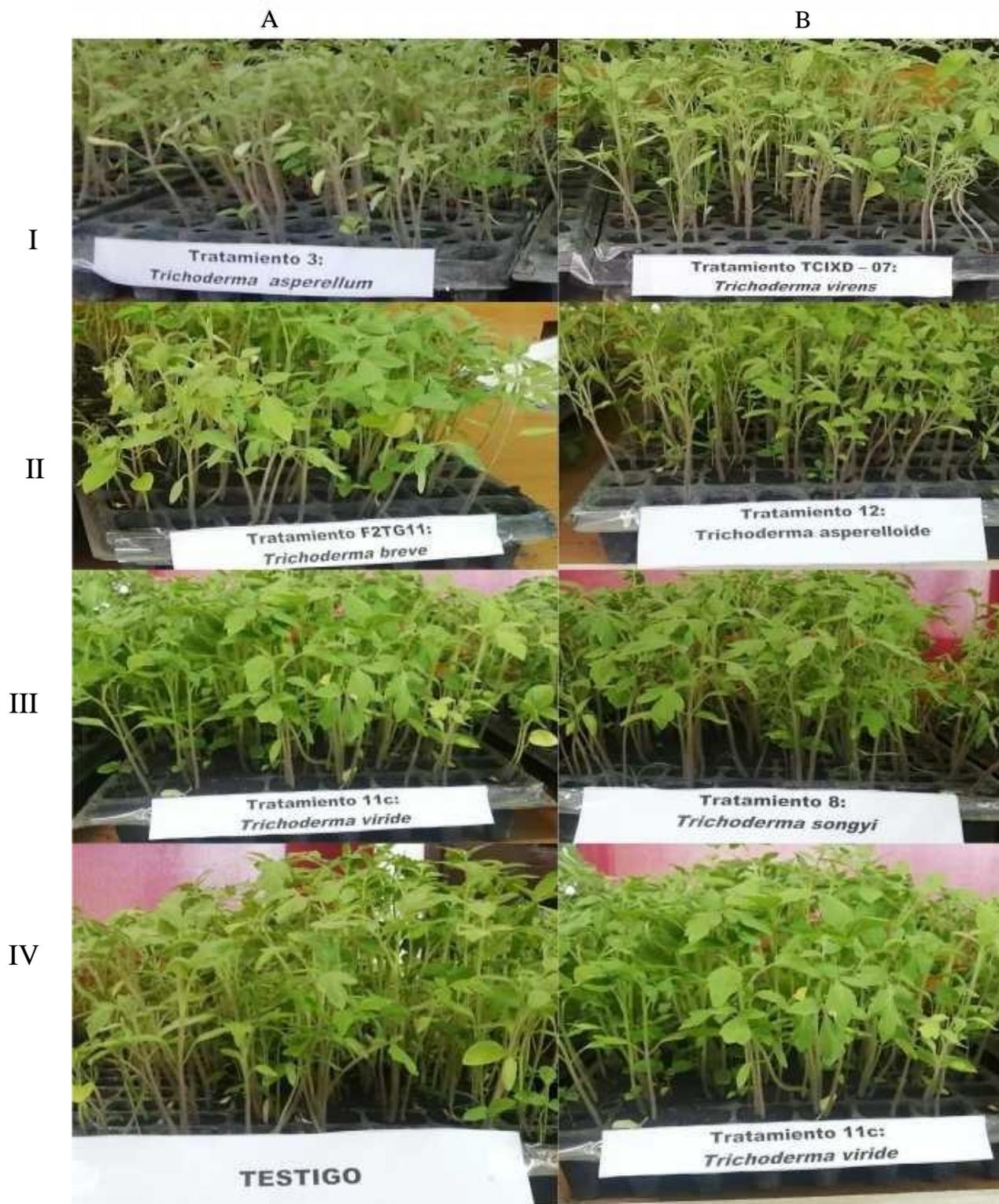


Figura 8. Crecimiento del cultivo de tomate, frente a cada una de las especies de *Trichoderma* spp. identificadas en este trabajo en comparación con el testigo sin *Trichoderma* spp. (Fuente propia).

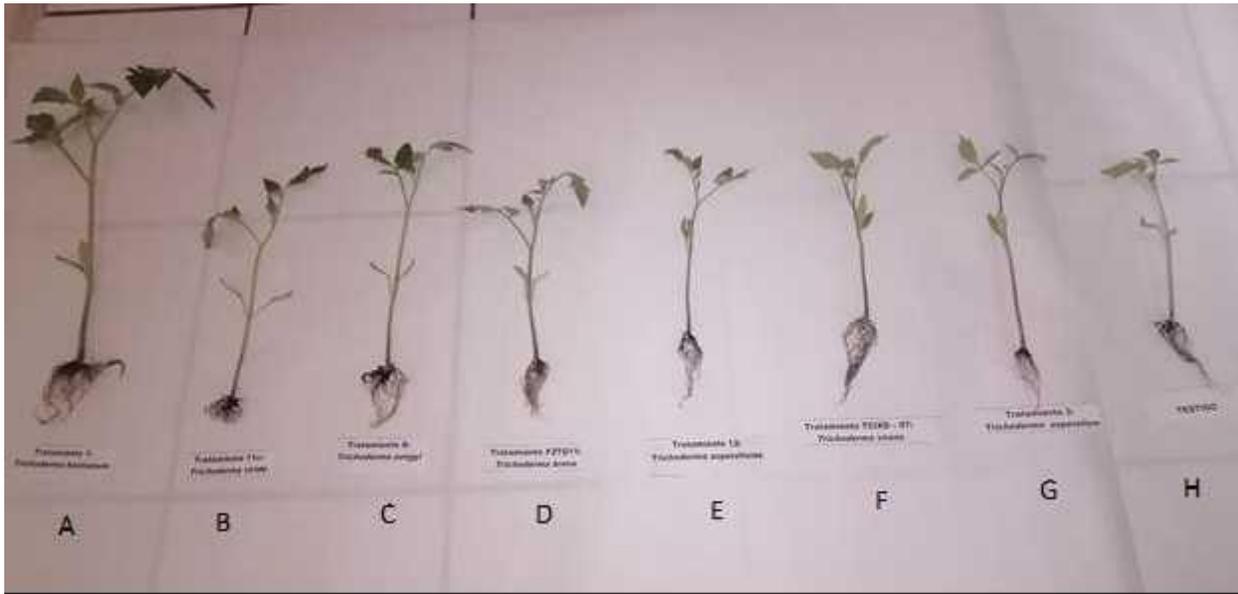


Figura 9. Se representa la estimulación del crecimiento individual provocado por la acción de cada uno de los siguientes *Trichoderma spp.*, frente a su testigo. **A.** *Trichoderma harzianum*, **B.** *T. viride*, **C.** *T. songyi*, **D.** *T. breve*, **E.** *T. asperelloide*, **F.** *T. virens*, **G.** *T. asperellum*, **H.** Testigo. (Fuente propia).

Tabla 6. Altura promedio de plántulas de tomate con respecto al testigo (Fuente propia).

Microorganismos	N° de muestras	Altura (cm)	% de estimulación
<i>Trichoderma harzianum</i>	50	12.930a	38.8
<i>Trichoderma viride</i>	50	11.420b	22.6
<i>Trichoderma songyi</i>	50	10.420b	11.9
<i>Trichoderma asperelloide</i>	50	9.900c	6.3
<i>Trichoderma virens</i>	50	9.860c	5.9
<i>Trichoderma asperellum</i>	50	9.758c	4.8
<i>Trichoderma breve</i>	50	9.340c	0.3
Testigo	50	9.310c	----

Los promedios con letras iguales no son significativamente diferentes dentro de una columna de acuerdo con la Prueba de Separación de medias realizada según Duncan.

La capacidad de promover el crecimiento de plántulas por parte de *Trichoderma spp.* puede ser a que las plantas inoculadas mejoran su vigor y su capacidad para tolerar factores adversos abióticos o bióticos lo que explica su mejor crecimiento y desarrollo Paudel, *et al.*, (2018). De igual manera Jaroszuk-Ścisieł, (2019), señala que este hongo sintetiza hormonas de crecimiento como el etileno, auxinas y giberelinas, lo que explicaría el rápido crecimiento de las plantas al ser inoculadas por este hongo. Otro mecanismo de acción de *Trichoderma spp.* que beneficia a las plantas es la solubilización de nutrientes como el fosfato, esto lo logra mediante la producción ácidos orgánicos tales como ácido

glucónico, fumárico y cítricos, los cuales disminuyen el pH del suelo y permiten la solubilización de fosfatos y otros micro y macronutrientes como el manganeso y el magnesio (Paudel, *et al.*, 2018).

Los datos obtenidos de la variable altura de las plantas fueron analizados mediante la Prueba de homogeneidad de varianzas obteniéndose diferencia significativa ($P < 0.05$) por lo que se concluye que los datos se distribuyen de forma normal. Posteriormente, se realizó análisis de varianza de un factor obteniéndose una significancia de ($P < 0.05$) existiendo diferencias significativas entre algunos de los tratamientos evaluados (Ver Anexo 3, Tabla 9).

6.3.2. Peso de plántulas de tomate bajo la influencia de aislados de *Trichoderma* spp.

La prueba de homogeneidad de varianza realizada a los promedios de peso de plántulas de tomate sometidas a diferentes aislados de *Trichoderma* spp., demuestran que estos datos están distribuidos normalmente, obteniéndose una diferencia significativa ($P < 0.05$). Asimismo, se realizó a los mismos datos un análisis de varianza de un factor obteniéndose una significancia de ($P < 0.05$) por lo que se deduce que efectivamente los tratamientos presentan diferencias significativas entre sí. Esto significa que al menos uno de los tratamientos evaluados superó al resto de los tratamientos en relación con el peso promedio de las plántulas (Ver Anexo 3, Tabla 10)

En la Tabla 7, se observa que los aislados de *Trichoderma* spp. correspondientes a las especies *harzianum* y *viride* presentaron los mayores promedios de peso al compararse con el resto de los tratamientos presentando 1.4 g -1.19g, de peso respectivamente, lo que significó un incremento en el peso de las plantas de 72% y 46.3% respectivamente, al compararse con el testigo que obtuvo un peso promedio de 0.81g. Esto demuestra que existe una respuesta significativa del crecimiento de las plántulas de tomate ante la presencia de ambas especies de *Trichoderma* spp, que no está presente en el testigo. El tratamiento inoculado con *Trichoderma asperellum* se ubicó en tercer lugar con un peso promedio de 1 g, superando al testigo que presentó un peso promedio de 0.80 gramos y presentando una ganancia en peso de 27.4 % si lo comparamos con el testigo que fue evaluado sin haber sido inoculado con *Trichoderma* spp. (Ver Tabla 7).

El aislado correspondiente a *Trichoderma breve* presentó un promedio de peso de 0.83g superando levemente al Testigo que presentó 0.80 gramos de peso, lo que representa una ganancia de peso de un 2.3% para el tratamiento *Trichoderma breve*. Finalmente, se ubicaron tres tratamientos que son *Trichoderma asperelloide*, *Trichoderma virens*, y *Trichoderma songyi*, los cuales presentaron peso promedio de 0.717 g, 0.75 g y 0.77 g, ninguno de estos tratamientos superó al testigo que tuvo un peso promedio de 0.80, sin embargo, al realizar separaciones de medias según Duncan (Ver Anexo 3, Tabla 10), se obtuvo que ninguno de estos cuatro promedios de peso es estadísticamente diferentes entre sí. Por lo cual se puede afirmar que el testigo, *Trichoderma asperelloide*, *Trichoderma virens*, y *Trichoderma songyi* tuvieron un comportamiento similar, ninguno de los tres tratamientos con *Trichoderma* spp. experimentaron ganancia de peso en comparación con el testigo, por el contrario, se observó que presentaron disminución de peso en un -12.1%, - 7.2%, y -5% al comprarse con el peso del testigo. Esta disminución de peso de las plántulas al ser inoculadas puede estar asociada a efectos inhibitorios en el crecimiento y desarrollo que ha sido reportado cuando se asocian determinados cultivos con determinadas especies de hongos (Páramo y Hernández, 2017)

Estos resultados coinciden con lo reportado por Contreras, *et al.*, (2014) quienes desarrollaron estudios sobre la respuesta de plántulas de tomate a aplicaciones de conidias de *Trichoderma harzianum*, los resultados obtenidos en el presente estudio demuestran que efectivamente las plántulas de tomate inoculadas incrementaron su peso en comparación con plantas no inoculadas. Otros autores como (Naseby, *et al.*, 2000) quienes evaluaron la eficacia de diferentes aislados de *Trichoderma* spp. sobre el incremento del peso de plántulas de guisantes, coinciden con el presente estudio en que las plántulas inoculadas con *Trichoderma* spp. incrementan el peso de las plántulas al compararlas con plantas no inoculadas. Sin embargo, estos últimos investigadores obtienen, hasta un 62% de ganancia de peso, siendo superados por los resultados del presente estudio donde obtuvimos hasta un 72% de ganancia de peso en el caso de *Trichoderma harzianum*. A diferencia con lo reportado por Naseby, *et al.*, (2000) en este estudio tres especies de *Trichoderma* spp. como son *Trichoderma asperelloide*, *Trichoderma virens*, y *Trichoderma songyi*, no promovieron el peso de las plántulas y tuvieron un peso similar al testigo sin inoculación.

Esta propiedad de *Trichoderma harzianum* de promover el crecimiento y desarrollo de las plantas ha sido reportada en cultivos como la Maracuyá (Cubillos, *et al.*, 2009), también se ha reportado que favorece la germinación, diámetro del tallo, peso de la planta y peso de raíz en tomate por Santana, *et al.*, (2016). Otros autores han comprobado que la inoculación de *T. harzianum* aporta beneficios a las plantas a través de la descomposición de materia orgánica, liberando nutrientes en formas disponibles y favoreciendo la actividad solubilizadora de fosfatos (Azarmi, *et al.*, 2011).

Tabla 7. Peso promedio de plántulas de tomate inoculadas con aislados de *Trichoderma* spp.

Microorganismos	N° de muestras	Peso (g)	% de estimulación
<i>Trichoderma harzianum</i>	50	1.404 a	72
<i>Trichoderma viride</i>	50	1.194 b	46.3
<i>Trichoderma asperellum</i>	50	1.040 c	27.4
<i>Trichoderma breve</i>	50	0.835 d	2.3
Testigo	50	0.816 d	---
<i>Trichoderma songyi</i>	50	0.775 d	-5
<i>Trichoderma virens</i>	50	0.757 d	-7.2
<i>Trichoderma asperelloide</i>	50	0.717 d	-12.1

Los promedios con letras iguales no son significativamente diferentes dentro de una columna de acuerdo a la Prueba de Separación de medias realizada según Duncan. (Fuente propia).

6.3.3. Longitud de raíces de plántulas de tomate bajo la influencia de aislados de *Trichoderma* spp.

En la Tabla 8 y Anexo 3, Tabla 11, se pueden apreciar los promedios de longitud de raíces de plántulas de tomate expuestas a aislados de *Trichoderma* spp. que fueron sometidos a prueba de homogeneidad de varianza, resultando que los datos de estas longitudes se distribuyen normalmente ($P < 0.05$). Estos datos fueron posteriormente evaluados mediante un análisis de varianza de un factor dando como resultado que los tratamientos evaluados presentaba diferencias significativas entre sí ($P < 0.05$). Esto significa que al menos uno de los tratamientos evaluados presenta una

longitud de raíz diferente con respecto al testigo y por lo tanto se sugiere realizar una separación de medias según Duncan para determinar dónde están las diferencias significativas.

Los promedios de longitud de raíces correspondientes al tratamiento *Trichoderma harzianum* presentaron las mayores longitudes de raíces en el estudio, con un promedio de 8 cm de largo, superando en un 70% al testigo y al resto de los tratamientos evaluados en diferentes porcentajes. En segundo lugar, se ubicaron los tratamientos *Trichoderma songyi* y *Trichoderma viride* los cuales presentaron porcentajes de estimulación de 36.3 y 29.8 respectivamente, estos dos tratamientos no presentaron diferencias significativas entre sí, pero fueron estadísticamente superiores al resto de tratamientos excepto al tratamiento *Trichoderma harzianum*. Los tratamientos correspondientes a *T. asperellum* y *T. asperelloide* presentaron promedio de longitud de raíces de 5.40 cm, situándose en tercer lugar como tratamientos promotores de su crecimiento superando en 13.40% al tratamiento testigo. El resto de los tratamientos evaluados *T. virens*, *T. breve* oscilaron entre 4.4 y 4.7 cm de longitud no presentando diferencias significativas entre sí. En el caso de *T. breve*, es el único tratamiento que exhibió un crecimiento negativo, al ser menor la longitud de raíces en este tratamiento en comparación con el testigo. Sin embargo, el análisis estadístico señala que estas diferencias no son significativas, por lo que se considera que no hubo diferencias en el comportamiento de *T. virens*, *T. breve* con respecto al Testigo.

Tabla 8. Longitud promedio de raíces de plántulas de tomate inoculado con aislados de *Trichoderma* spp. (Fuente propia).

Microorganismos	N° de muestras Analizadas	Longitud promedio (cm)	% de estimulación con respecto al testigo
<i>Trichoderma harzianum</i>	50	8.096 a	70
<i>Trichoderma songyi</i>	50	6.490 b	36.3
<i>Trichoderma viride</i>	50	6.180 b	29.8
<i>Trichoderma asperellum</i>	50	5.400 c	13.4
<i>Trichoderma asperelloide</i>	50	5.400 c	13.4
<i>Trichoderma virens</i>	50	4.768 cd	0.16
Testigo	50	4.760 cd	----
<i>Trichoderma breve</i>	50	4.480 d	-5.8

Los promedios con letras iguales no son significativamente diferentes dentro de una columna de acuerdo a la Prueba de Separación de medias realizada según Duncan.

La habilidad de promover el crecimiento radicular encontrado en este estudio, fue similar a lo reportado por Contreras, *et al.*, (2014), ya que al evaluar la reacción de plántulas de tomate inoculadas con *Trichoderma harzianum* encontró que estas plantas presentaban raíces con una mayor longitud y el número de raíces laterales era también superior a las raíces de plántulas no inoculadas. Otros autores como Mwangi, *et al.*, (2011), encontró incrementos en la longitud de raíces de plántulas de tomate inoculadas con *Trichoderma harzianum* de entre 40% y 109% de incremento. Los resultados de *Trichoderma harzianum* en este estudio, están dentro de los rangos obtenidos por estos investigadores ya que se obtuvo un incremento en la longitud de raíces de plántulas de tomate de hasta un 70% y en el caso de *Trichoderma songyi* se obtuvo un incremento de longitud de 36.4 cercano al 40% obtenido por este mismo autor. Otras investigaciones revelan que este comportamiento se debió a la presencia de Auxinas que es una hormona de crecimiento vinculada a la inducción de raíces laterales y pelos radiculares, sin embargo, este hongo también ha sido encontrado produciendo otras fitohormonas como el ácido indolacético (IAA) y análogos de la Auxina (Vinale, *et al.*, 2008; Paudel, *et al.*, 2018). Mwangi, *et al.*, (2011) indican que algunas razas de *Trichoderma harzianum* han mostrado un robusto y duradero proceso de colonización de las raíces de las plantas, permitiendo al hongo penetrar en la superficie de las raíces lo cual ayuda a aumentar el desarrollo radicular mejorando la tolerancia de las plantas a factores ambientales estresantes, logrando esto a través de un incremento en la absorción de nutrientes. Paudel, *et al.*, (2018) explica que estos procesos se producen mediante la síntesis de fitohormonas que se producen en la planta debido a la interacción de *Trichoderma* spp, generando moléculas parecidas a citoquinina y giberelinas, lo cual coincide con lo señalado por Contreras, *et al.*, (2014).

De igual manera, *Trichoderma viride* al ser inoculado en plántulas de Chiltomo (*Capcicum annuum*) presentó un efecto estimulante en el crecimiento de las plantas logrando un incremento en la longitud de raíces y en el número de raíces laterales (Salinas y Soriano 2014; Vazallo, *et al.*, 2013). Este mismo comportamiento ha sido observado en el sistema radicular del algodón (*Gossypium hirsutum*), al ser inoculado con *T.viride* (Shanmugaiyah, *et al.*, 2009). Otros autores han demostrado que la utilización de *Trichoderma harzianum* en plántulas de chícharo promovió un incremento en el peso de raíces superando en un 62% plántulas no inoculadas. De igual manera este hongo logró proteger las plántulas de organismos fitopatógenos como *Pythium* spp. (Naseby, *et al.*, 2000). Autores como Ozbay and Newman (2004), han reportado que plantas que han sido inoculadas con aislados de *Trichoderma* spp han presentado mayor altura que plantas sin *Trichoderma* spp. Esto ha sido explicado dado que estos hongos tienen la capacidad de solubilizar fosfatos y micronutrientes tales como zinc, cobre, hierro y manganeso, estos nutrientes son conocidos por ser de baja solubilidad, por lo que al volverse más solubles por el efecto de *Trichoderma* se incrementa el crecimiento del follaje y la longitud de las raíces, lo que explicaría el significativo incremento de peso en plántulas de tomate inoculadas con *Trichoderma* spp. Estos datos ya han sido reportados por otros investigadores como Paudel, *et al.*, (2018). Los resultados que se han obtenido en este estudio (Ver Tabla 8), se pueden deber entonces, a la capacidad de *Trichoderma* spp., de aumentar el desarrollo radicular y sintetizar hormonas de crecimiento, lo que provoca una mayor longitud de raíces y por ende mejora la absorción de nutrientes y agua, obteniendo por este medio plantas de mejor calidad y de tamaño adecuado para el trasplante.

VII. CONCLUSIONES

El desarrollo del presente trabajo y el análisis de los resultados obtenidos permitieron arribar a las siguientes conclusiones:

1. El proceso de aislamiento arrojó un total de 17 aislados de posibles *Trichoderma* spp. en igual número de muestras analizadas, en 33 de las muestras analizadas no fue posible obtener ningún aislado. Resalta el hecho que, en suelos asociados a cultivo de plátano, suelos de bosques y pastizales se obtuvo el mayor número de aislados, en correspondencia con la literatura citada. El análisis morfológico y los resultados de la literatura revisada permitieron observar estructuras morfológicas similares a *T. asperellum*, *T. songyi*, *T. breve* etc.
2. Se identificaron molecularmente 17 aislados de *Trichoderma* spp. correspondiente a las siguientes especies: seis especies pertenecen a *T. asperellum*, dos especies a *T. songyi*, tres especies pertenecen a *T. breve*, dos pertenecen a *T. virens*, dos a *T. asperelloide*, una especie fue identificada como *T. harzianum* y finalmente una fue identificada como *T. viride*. En el caso de los tres aislados identificado morfológicamente como *Fusarium* spp. al ser identificados molecularmente fueron identificadas dos especies como *F. equiseti* y uno identificado como *Fusarium* spp.
3. Los procesos de identificación de *Trichoderma* spp. realizados en esta investigación permiten afirmar que es posible identificar especies de alto valor agronómico (*T. asperellum*, *T. asperelloide*, *T. harzianum* y *T. songyi*) en diferentes regiones del país y con una alta calidad en porcentajes de identidad final (99.3 al 100%)
4. Al calcularse el Porcentaje de Inhibición del Crecimiento Radial (PICR) de los tres aislados de *Fusarium* spp. en presencia de 17 aislados de *Trichoderma* spp. identificadas, se concluyó que *Trichoderma harzianum* (T1) fue la especie que presentó en los tres aislados de *Fusarium* spp. el mayor nivel de inhibición con un promedio de 81.57%, seguido de *T. asperellum* (T11a) 79.62%, y finalmente *T. virens* (TCIXD-07) quien presentó el tercer nivel de inhibición más alto con 78.62%.
5. Los resultados obtenidos permiten concluir que *T. harzianum* es hiperparásito para ambas especies de *Fusarium equiseti*, mientras que presenta un mecanismo de antibiosis frente a *Fusarium* spp. *Trichoderma asperellum* inhibe por competencia a ambos *F. equiseti* y por antibiosis a *Fusarium* spp. finalmente *T. virens* inhibe por competencia a todos los *Fusarium* spp analizados, con una ligera antibiosis e hiperparasitismo antes *Fusarium* spp.
6. Los aislados de *T. harzianum* y *T. viride* presentaron el mayor potencial promotor de crecimiento en plántulas de tomate obteniéndose una ganancia en altura de 38.8% y 22.6% respectivamente en comparación al testigo. En el peso fresco de plántulas se obtuvo una ganancia de peso de 72% y 46.3% en comparación al testigo. Finalmente, estas mismas especies con respecto longitud de raíces superan al testigo en un 70% y 36.3% respectivamente.

7. La literatura revisada reporta hasta un 62% de ganancia de peso, siendo superados por los resultados del presente estudio donde se obtuvo hasta un 72% de ganancia de peso en el caso de *Trichoderma harzianum*. Se destaca el hecho de que, en este estudio, tres especies de *Trichoderma* spp. como son *Trichoderma asperelloide*, *Trichoderma virens*, y *Trichoderma songyi*, no promovieron el peso de las plántulas y tuvieron un peso similar o menor al testigo sin inoculación, mostrando inhibición al desarrollo del cultivo del tomate.
8. *Trichoderma harzianum* resultó ser el tratamiento que más estimula el crecimiento de raíces (70% respecto al testigo), superado significativamente al resto de tratamientos. Seguidamente se ubicaron *T. songyi* y *T. viride* con porcentaje de estimulación del crecimiento de raíces de 36.3 y 29.8 % respectivamente al compararse con el testigo. Los demás tratamientos evaluados presentaron porcentajes inferiores a los anteriores.
9. De manera general se concluye en que especies de *Trichoderma* spp. como: *T.harzianum*, *T.asperellum*, *T. asperelloide* *T.virens* y *T. viride* destacan en la inhibición del crecimiento radial de los patógenos evaluados, en la promoción del crecimiento de plántulas de tomate, en la ganancia de peso y en el estímulo de crecimiento de raíces para este mismo cultivo.

VIII. RECOMENDACIONES

Habiendo llegado al final de esta etapa investigativa, nuevas puertas han sido abiertas y esto permite formular las siguientes recomendaciones:

1. Basados en los resultados de esta investigación se recomienda que futuros trabajos de aislamientos de *Trichoderma spp.* partan de analizar suelos asociados a los cultivos de plátano, bosques y pastizales para obtener un mayor éxito en procesos de aislamientos e identificación de *Trichoderma spp.*
2. Especies como *T. songyi* y *T. viride* que fueron aisladas e identificadas por medio de este trabajo ameritan atención especial en estudios a futuro ya que a la fecha se dispone de muy poca o limitada información de las misma.
3. Los aislados de *T. harzianum* *T. virens* y *T. asperellum* presentaron en el presente estudio las mejores aptitudes como agentes controladores biológicos de *Fusarium spp.* en condiciones de plántulas, por lo que se sugiere que se continúen evaluaciones con estos tres aislados a nivel de invernadero con plantas adultas y en campo en cultivos hortícolas susceptibles al género *Fusarium spp.*
4. Evaluar el potencial de *T. harzianum* y *T. viride* como promotores de crecimiento en plántulas de cultivos pertenecientes a la familia solanácea en condiciones de invernadero y campo.
5. Se recomienda continuar realizando la búsqueda y evaluación de especies nativas del género *Trichoderma spp.* asociados a plantas cultivadas de importancia económica para identificar aislados que puedan ser potencialmente utilizados como agentes de control biológico y promotores de crecimiento.

IX. BIBLIOGRAFÍA

- Aceves AC., Rebolledo Domínguez, O., Lezama Gutiérrez, R., Ochoa Moreno, ME., Mesina Escamilla, JC, y Samuels, GJ. (2001). Especies de *Trichoderma* en Suelos Cultivados con Mango Afectados por “Escoba de Bruja” y su Potencial Inhibitorio sobre *Fusarium oxysporum* y *F. subglutinans*. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 19 (2), 154-160.
- Agrios, GN. (2006). *Plant Pathology*. (5th Ed.) San Diego, CA, Estados Unidos: *Elsevier Academic Press*.
- Alabouvette, C., Olivain, C., Migheli, Q., Steinberg, C (2009) Microbiological control of soil-borne phytopathogenic fungi with special emphasis on wilt-inducing *Fusarium oxysporum*. *New Phytologist* 184:529-544.
- Álvarez, C., Osorio, N., y Montoya, M. (2013). Identificación molecular de microorganismos asociados a la rizósfera de plantas de vainilla en Colombia. *Acta Biológica Colombiana*, 293-305.
- Almaraz-Sánchez, A., Alvarado-Rosales, D., Tlapal-Bolaños, B. y Espinoza-Victoria, D. (2012). Identificación de hongos antagonistas a *Phytophthora cinnamomi* rands en bosques de encino del Arrayanal, Colima y Tecoaapa, Guerrero. *Revista Chapingo. Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 18:341-356.
- Altomare, C., Norvell, WA., Björkman., T. y Harman., GE. (1999). Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant-growth-promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai 1295-22. *Appl. Environ. Microb.* 65(7), 2926-2933.
- Andrade-Hoyos P, Luna-Cruz A, Hernández EO, Gayosso EM, Valenzuela NL, Cureno HJB. (2019). Antagonismo de *Trichoderma* spp., vs hongos asociados a la marchitez de chile. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 2019; 10 (6):1259-1272.
- Arshad, M., y Frankenberger, WT. (1991) Microbial production of plant hormones. In: Keister D.L., Cregan P.B. (Eds) *The Rhizosphere and Plant Growth. Beltsville Symposia in Agricultural Research, vol 14. Springer, Dordrecht.* https://doi.org/10.1007/978-94-011-3336-4_71.
- Azarmi, R., Hajieghrari, B. y A. Giglou. (2011). Effect of *Trichoderma* isolates on tomato seedling growth response and nutrient uptake. *African Journal of Biotechnology* 10(31): 5850-5855.

- Azarte, J.; A. Casimiro, M. Domínguez y O. Santos. (2006). Antagonismo del *Trichoderma* spp., sobre *Mycosphaerella fijiensis* Morelet, agente causal de la sigatoka negra del plátano (*Musa* sp.) *in vitro* e invernadero. *Revista Mexicana de Fitopatología* 24 (2): 98-104.
- Baker, R., Elad, Y., y Chet, I. (1984) The controlled experiment in the scientific method with special emphasis on biological control. *Phytopathology* 74, 1019–1021.
- Barragán-Ocaña, A. y Valle- Rivera, M. (2016). Rural development and environmental protection through the use of biofertilizers in agriculture: *An alternative for underdeveloped countries Technology in Society* 46:90-99.
- Bhagat, S, y Pan S (2010) Biological management of root and collar rot (*Rhizoctonia solani*) of French bean (*Phaseolus vulgaris*). *Indian J Agric Sci* 80(1):42–50
- Bettiol, W., Rivera, M., Mondino, P., Montealegre, J. Colmenarez, Y. (2015). Control biológico de enfermedades de plantas en América Latina y el Caribe. *Embrapa Meio Ambiente-Libros científicos (ALICE)*.
- Bissett, J. (1991). A revision of the genus *Trichoderma*. III. Section *Pachybasium*. *Can. J. Bot.* 69, 2373–2417.
- Börkman, T., Blanchard, L., y Harman, G. (1998). Growth enhancement of shrunken-2 sweet corn by *Trichoderma harzianum*: *effect of environmental stress. J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 23(1), 295-322.
- Bou, (2011) Bacterial identification methods in the microbiology laboratory Volume 29, Issue 8 Pages 601-608
- Bruns, T., White. T. y Taylor, J. (1991). Fungal molecular systematics. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* Vol. 22. 525-564.
- Cárdenas, BA., (2013). La Biotecnología aplicada en la agricultura. Cultivo de Tejidos Vegetales. CDB-ITESM. *Módulo III. ITA No.9. DGETA-SEP.*
- Carvalho, DDC. Mello, SCM. Lobo, Junior, M., Silva, MC. (2011). Control of *Fusarium oxysporum* f. sp *phaseoli in vitro* and on seeds and growth promotion of common bean in early stages by *Trichoderma harzianum*. *Tropical Plant Pathology* 36:28-34.
- Castillo-Reyes, F., Hernández-Castillo, F., Gallegos-Morales, G., Flores-Olivas, A., Rodríguez-Herrera, R., & Aguilar, C. (2015). Efectividad *in vitro* de Bacillus y polifenoles de plantas nativas de México sobre *Rhizoctonia solani*. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 549-562.

- Chavarría, M., (2016). Evaluación de aislados nativos de *Trichoderma* spp para el manejo de hongos causantes de mal del talluelo en tomate (*Solanum lycopersicom* L.) p. 06. UNA. Managua Nicaragua.
- Chen, K., y Zhuang, WY. (2017) Discovery from a large-scaled survey of *Trichoderma* in soil of China. *Scientific Reports* 7: 9090.
- Contreras-Cornejo, H., Macías-Rodríguez, LI., Alfaro, C.R., López-Bucio, J. (2014). *Trichoderma* spp. improves growth of Arabidopsis seedlings under salt stress through enhanced root development, osmolite production, and Na⁺ elimination through root exudates. *Mol. Plant Microbe Interact.* 27, 503–514.
- Conway, G. (1994), "Sustainability in Agricultural Development: Trade-offs Between Productivity, Stability, and Equitability", en *Journal for Farming Systems Research and Extension*
- Cruz, C. (2007). Estandarización del proceso de producción del hongo *Trichoderma koningii* Th003 mediante fermentación bifásica a escala piloto. Trabajo de Grado. Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, 148 p.
- Cruz, A., Rivero, D., Echevarría, A., Infante, D., y Martínez, B. (2015). *Trichoderma asperellum* en el manejo de hongos fitopatógenos en los cultivos de arroz (*Oryza sativa* L.), frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) y soya (*Glycine max* L.). *Rev. Protección Veg.*; 30(suppl.1):87p.
- Cruz-Rivero L., Silva-Martínez, K., González-Cárdenas J. C. Elorza-Martínez P. Purroy-Vásquez, R (2020). Análisis Campo-Sustancia de TRIZ para el uso de *Trichoderma asperelloides* como antagonico en *Citrus sinensis*. ISSN 2007-6940 Vol. 8No. 2
- Cubillos-Hinojosa, J., Mejía, L., y Valero. N. (2009). *Trichoderma harzianum* como promotor del crecimiento vegetal del maracuyá (*Passiflora edulis* var. flavicarpa Degener). *Agron. Colomb.* 27: 81-86
- Cucuk, C., y Kivanci, M. (2008). Effect of carbon source on production of lytic enzymes by *Trichoderma harzianum*. *Journal of Applied Biological Sciences*, 2(2): 23-26.
- Dandurand, L. y G. Knudsen. (1993). Influence of *Pseudomonas fluorescent* on hyphal growth and biocontrol activity of *Trichoderma harzianum* in the spermosphere and rhizosphere of pea. *Phytopathol.* 83(3), 265-270.
- Dennis, L., y Webster, J. (1971) Antagonistic properties of species groups of *Trichoderma*. III Hyphal interaction. *Trans Br Mycol Soc.*; 57:363-369.

- Díaz-Gutiérrez, C., Arroyave, C., Llugany, M., Poschenrieder, C., Martos, S., Peláez, C. (2021) *Trichoderma asperellum* as a preventive and curative agent to control *Fusarium* wilt in *Stevia Rebaudiana*. *Biological Control*. Volume 155, April 2021, 104537.
<https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2021.104537>.
- Duarte-Leal, Y; Pozo-Martínez, L. y Martínez-Coca, B. (2018). Antagonismo in vitro de cepas de *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg frente a aislados de *Fusarium* spp. *Rev. Protección Veg.*, vol.33, n.1
- Dubos, B. (1987). Fungal antagonism in aerial agrobiocenoses. In: Innovative approaches to plant disease control, ed. by I. Chet, pp.107- 135. John Wiley and Sons, New York, *Ecological and Applied Microbiology*.
- Elsharkawy, MM. Shimizu, M., Takahashi, H., Ozaki, K. y Hyakumachi, M. (2013) Induction of systemic resistance against cucumber mosaic virus in *Arabidopsis thaliana* by *Trichoderma asperellum* SKT-1. *Plant Pathol. J.* 29, 193–200.
- Ezziyyani, M., Pérez, C., Sid, A., Requena, M., y Candela, M. (2004). *Trichoderma harzianum* como biofungicida para el biocontrol de *Phytophthora capsici* en plantas de pimiento (*Capsicum annuum* L.). *Anales de Biología* (26):35-45.
- Ezziyyani, M., Pérez-Sánchez, C., Requena, ME., Rubio, L., y Candela, ME. (2004). Biocontrol por *Streptomyces rochei* –Ziyani, de la podredumbre del pimiento (*Capsicum annuum* L.) causada por *Phytophthora capsici*. *Anales de Biología*. 26:69-78.
- FAO. (2014). Growing Greener Cities in Latin America and the Caribbean. Food and Agricultural Organization of the United Nations (FAO), Santiago, Chile. Recuperado de <http://www.fao.org/3/a-i3696e.pdf>
- Fernández, E, Trillas, MI y Segarra, G, (2017). Increased rhizosphere populations of *Trichoderma asperellum* strain T34 caused by secretion pattern of root exudates in tomato plants inoculated with *Botrytis cinerea*. *Plant Pathology*.
- Flores-Pacheco, J. A., Mairena, Álvaro, & Espluga, J. (2013). Evaluación de riesgos en sistemas agrícolas asociados a la utilización de plaguicidas en el Municipio de Kukra Hill, Nicaragua, Centroamérica. *Nexo Revista Científica*, 26(1), 34–44. <https://doi.org/10.5377/nexo.v26i1.1034>

- French, ER., y Hebert, T. (1982). Metodología de investigación fitopatología. ed. M de la Cruz. Sn José, CR. IICA. 290p.
- Gams, W., y Bissett, J. (1998). Morphology and identification of *Trichoderma*. In Harman, G.E. and Kubicek, C.P. (Eds.), *Trichoderma and Gliocladium, Vol (1), Basic Biology, Taxonomy and Genetics*. (pp. 3-34). London, England: *Taylor and Francis Ltd*.
- García, C. (2017). Las políticas de crédito al sector agropecuario en Nicaragua 1990-2012. *Orbis, Revista Científica Ciencias Humanas*, 24-44.
- García Gutiérrez, C., Hernández Velázquez., VM y González Maldonado., MB. (2006). Procesos biotecnológicos de producción de bioplaguicidas: hongos entomopatógenos. 91-118 pp. En: *Biotecnología Financiera Aplicada a Bioplaguicidas. Cipriano García Gutiérrez e Hiram Medrano Roldán* (Eds).
- Godes, A. (2007). Perspectivas de los inoculantes fúngicos en Argentina. pp. 11-14. En: Izaguirre-Mayoral, ML., C. Labandera y J. San Juan (eds.). *Biofertilizantes en Iberoamérica: una visión técnica, científica y empresarial*. Imprenta Denad Internacional, Montevideo
- González, A., Mas, S., Cabeza, D., Campos, M. (2000). Influencia de la luz solar en el crecimiento y esporulación del biofungicida *Trichoderma viride*. *Tecnología química*. 20 (1): 92-98.
- Guigón, C., Muñoz, L. (2013). Avances en el control biológico de la cenicilla del chile *Leveillula aurica* en Chihuahua, México. Salaires, *Chihuahua, México*, Centro de Investigación en Recursos Naturales (CIRENA). 16 p.
- Gupta, VK., Schmoll, M., Herrera-Estrella, A., Upadhyay, RS., Druzhinina, I., Tuohy, MG. (2014). *Biotechnology and biology of Trichoderma*. Ed. Elsevier. Poland.
- Haichar, FEZ. Santaella, C., Heulin, T., y Achouak, W., (2014). Root exudates mediated interactions belowground. *Soil Biology and Biochemistry* 77, 69–80.
- Harman, G. (2000). Myths and dogmas of control. Changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. *Plant Disease*.; 84(4):377-393.
- Hernández, J. (2011). Caracterización molecular y agronómica de aislados de *Trichoderma* spp nativos del noreste de México. <https://revistas.unal.edu.co/index.php/biotecnologia/article/view/28009/38333>

- Hernández-Mendoza, JL; Sánchez-Pérez; MI; García-Olivares, JG; Mayek-Pérez, N; González-Prieto, JM; Quiroz-Velásquez JDC. (2011). *Caracterización molecular y agronómica de aislados de Trichoderma spp nativos del noreste de México (en línea). Revista Colombiana de Biotecnología.* 13(2): 176-185.
- Hilje, L., y Rodríguez, H. (1987). Crecimiento, fenología y acumulación de biomasa en una población experimental de Maíz (*Zea mays L.*) en Barba, Costa Rica.
- Howell, C. (2003). Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: The history and evolution of current concepts. *Plant Diseases.* 87(1):4-10.
- Howell, CR. (1998). The role of antibiosis in biocontrol. In: Harman, GE. Kubicek, CP. (Eds.), *Trichoderma and Gliocladium. Enzymes, Biological Control and Commercial Application*, vol. 2. *Taylor and Francis Ltd., London*, pp. 173–183.
- Howell, C., Stipanovic, R., Lumsden, R. (1993). *Antibiotic production by strains of Gliocladium virens and its relation to the biocontrol of cotton seedling diseases. Biocontrol Science and Technology.*
- Infante, D., Martínez, B., Pereira, B., Reyes, Y., Herrera, A. (2013). Identificación molecular y evaluación patogénica de trece aislamientos de *Trichoderma* spp frente a *Rhizoctonia solani* Kühn. *Biotechnol Apl.*; 30 (1):17-22.
- Infante, D., Martínez, B., González, N., y Y, Reyes. (2009). Mecanismos de acción de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos. *Rev. Protección Veg.* v.24 n.1
- Jaklitsch, WM., Samuels GJ., Ismaiel, A., y Voglmayr, H. (2013). Disentangling the *Trichoderma viride* complex. *Persoonia* 31: 112-146.
- Jaroszuk-Ściśeł, J., Tyśkiewicz, R., Nowak, A., Ozimek, E., Majewska, M., Hanaka, A., Tyśkiewicz, K., Pawlik, A., y Janusz, G. (2019). Phytohormones (Auxin, Gibberellin) and ACC Deaminase In Vitro Synthesized by the Mycoparasitic *Trichoderma* DEMTkZ3A0 Strain and Changes in the Level of Auxin and Plant Resistance Markers in Wheat Seedlings Inoculated with this strain conidia. *International journal of molecular sciences*, 20 (19), 4923. <https://doi.org/10.3390/ijms20194923>.
- Kubicek. CP., y Harman, GE. (2002). *Trichoderma y Gliocladium*. Volume 1. Basic biology, taxonomy, and genetics.
- Kubicek, CP., (1998). (Eds.). Volumen 2. P.153-152. *Taylor & Francis Ltd., London, UK*.
- Larralde-Corona, C., Santiago, M., Sifuentes, A., Rodríguez, I., Shirai, K., y Narváez, J., (2008) Control potential and polyphasic characterization of novel native *Trichoderma* strains against *Macrophomina phaseolina* isolated from sorghum and common bean. *Appl Microbiol Biotechnol.* 80:167–177.

- Lecuona, R. (1996). Técnicas empleadas con hongos entomopatógenos. In *Microorganismos Patógenos Empleados en el Control Microbiano de Insectos Plagas*. Buenos Aires, Talleres gráfico. p. 143-150
- López, CLÁ. (2012). Identificación y caracterización bioquímica, morfológica y molecular de microorganismos cultivables asociados a la rizosfera y al sustrato de plantas de vainilla. (Tesis de Maestría presentada para optar al título de Magíster en Ciencias-Geomorfología y Suelos), *Universidad Nacional de Colombia, Colombia*.
- Lorito M. (2006). La biología molecular de las interacciones entre *Trichoderma*, hongos fitopatógenos y plantas: oportunidades para desarrollar nuevos métodos de control de enfermedades. *Fitosanidad*. 2006; 10(2):139–40.
- Ma, J., Tsegaye, E., Li, M., Wu, B., y Jiang, X. (2020). Biodiversity of *Trichoderma* from grassland and forest ecosystems in Northern Xinjiang, China. *3 Biotech* 10, 362 (2020). <https://doi.org/10.1007/s13205-020-02301-6>
- Martínez, B., Infante, D. y Reyes, RY. (2013). *Trichoderma* spp. y su función en el control de plagas en los cultivos. *Revista de Protección Vegetal*. 1(28):1-11.
- Martínez, AE. (1999). Estudio ecológico de los hongos del suelo de un bosque de *Pinus Taeda*. Buenos Aires. Trabajo de grado (Doctorado en Ciencias Biológicas. Universidad de Buenos Aires. *Facultad de Ciencias Naturales*.
- Masaquiza Chango., CE. (2019). Caracterización morfológica y molecular de hongos asociados a la rizósfera de plantas de café en la isla Santa Cruz–Galápagos (Bachelor's thesis, Quito: UCE).
- Méndez. J (2018). Desarrollo a nivel de laboratorio de un bioplaguicida a base de *Basillus subtilis* para el manejo de plagas y enfermedades en cultivos de interés agrícola. Managua: UNI. 16 p.
- Michel, A. (2001). Cepas nativas de *Trichoderma* spp. (Euascomycetes: Hypocreales), su antibiosis y Micoparasitismo sobre *Fusarium subglutinans* y *F. oxysporum* (Hyphomycetes: Hyphales). México: Universidad de Colima.
- Monzón, A. 2001. Producción, uso y control de calidad de hongos entomopatógenos en Nicaragua. MIP.103 p.
- Moreno-Sarmiento, N., L. Moreno-Rodríguez y D. Uribe-Vélez. (2007). Biofertilizantes para la agricultura en Colombia. pp. 38-45. En: Izaguirre-Mayoral, M.L., C. Labandera y J. Sanjuán (eds.). *Biofertilizantes en Iberoamérica: una visión técnica, científica y empresarial*. Imprenta Denad Internacional, Montevideo.

- Mukhopadhyay, R., Kumar, D. (2020). *Trichoderma*: a beneficial antifungal agent and insights into its mechanism of biocontrol potential. *Egypt J Biol Pest Control* 30, 133 (2020). <https://doi.org/10.1186/s41938-020-00333-x>.
- Mwangi, MW. Monda, EO, Okoth, SA y Jefwa, JM. (2011). Inoculation of tomato seedlings with *Trichoderma Harzianum* and Arbuscular Mycorrhizal Fungi and their effect on growth and control of wilt in tomato seedlings. *Braz J Microbiol.* 2011; 42(2):508-513. Doi: 10.1590/S1517-838220110002000015.
- Nakkeeran, S., Vinodkumar, S., Priyanka, R., y Renukadevi, P. (2018). Mode of action of *Trichoderma* spp. in biological control of plant diseases. In *Biocontrol of Soil Borne Pathogens and Nematodes* (pp. 81–95). New Delhi, IN: Jeya Publishing house.
- Naseby, DC., Pascual, J.A., Lynch, JM. (2000). Effect of biocontrol strains of *Trichoderma* on plant growth, *Pythium ultimum* population, soil microbial communities and soil enzyme activities. *J. Appl. Microbiol.* 88, 161-169.
- Orantes Navarro, C. (2014). Epidemiología de la enfermedad renal crónica en los adultos de las comunidades agrícolas salvadoreñas. *MEDICC review.* Vol 16.
- Ozbay, N., Newman, ES. (2004). Effect of *T. harzianum* strains to colonize tomato roots and improve transplant growth. *Pak. J. Biol. Sci.* 7, 253-257.
- Otzen T, Manterola C. (2017). Técnicas de muestreo sobre una población a estudio. *International Journal of Morphology.*
- Papavizas. C., (1985). *Trichoderma* and *Gliocladium*: biology, ecology and potential for biocontrol. *Annu. Rev. Phytopathol.* 23, 23–54.
- Páramo-Aguilera¹ L.A., J.L. Hernández-Mendoza², (2017). Caracterización de *Trichoderma viridae* y *T. atroviridae* aislados de monumentos históricos en ciudad de México. ISSN-E 1995-9516 Universidad Nacional de Ingeniería <http://revistas.uni.edu.ni/index.php/Nexo> <http://dx.doi.org/10.5377/nexo.v30i2.5525>.
- Park, MS., Oh, SY. Cho, HJ. Fong JJ. Cheon WJ, y Lim, YW. (2014). *Trichoderma songyi* sp. Nov., a new species associated with the pine mushroom (*Tricholoma matsutake*). *Antonie van Leeuwenhoek* 106, 593–603
- Paudel, V., Pathak, R., Lamichhane, J., Gauchan, D. (2018). Biocontrol and growth enhancement potential of *Trichoderma* spp. on broad leaf mustard. *Kathmandu University Journal of Science, Engineering and Technology*, 13(1), 85-94. <https://doi.org/10.3126/kuset.v13i1.21265>

- Pimentel, M. F., Arnao, E., Warner, A. J., Subedi, A., Rocha, L. F., Srour, A. Y., Bond, JP., Fakhoury AM. (2020). *Trichoderma* isolates inhibit *Fusarium* virguliforme growth, reduce root rot, and induce defense-related genes on soybean seedlings. *Plant Dis.* 104, 1949–1959. Doi: 10.1094/PDIS-08-19-1676-RE
- Pineda, M., Pineda, D., Labarca, J., Ulacio, D., Paredes, C., y Casassa, A. M. (2019). Microbiota del suelo asociada al cultivo del plátano (*Musa aab* cv. Hartón) en bosque seco tropical del Sur del Lago de Maracaibo, Venezuela. *Revista Udo Agrícola.* 9 (1):158-165.
- Rivero Deyanira. (2008). Identificación y control *in vitro* con quitosana y *Trichoderma* spp. de hongos que causan el manchado del grano en arroz (*Oryza sativa* L.). *Rev. Protección Veg.*
- Rodríguez, H., Nass, H., Cardona, R., y Alemán, L. (1999). Alternativas para controlar el añublo de la vaina, causado por *Rhizoctonia solani* del arroz. *Fitopatología Venezolana.*; 12(1):18.
- Romero, O., Huerta, M., Damián, M., Domínguez, F., y Arellano, D. (2009). Características de *Trichoderma harzianum*, como agente limitante en el cultivo de hongos comestibles. *Revista Colombiana de Biotecnología* 11(2):143-151.
- Ruiz-Cisneros, MF., Ornelas-Paz, JJ., Olivas-Orozco, GI., Acosta-Muñiz, CH., Sepúlveda-Ahumada, DR., Pérez-Corral, DA., Rios-Velasco, C., Salas-Marina, MA., Fernández-Pavía, SP. (2018). Effect of *Trichoderma* spp. and phytopathogenic fungi on plant growth and tomato fruit quality. *Revista Mexicana de Fitopatología* 36(3): 444-456. DOI: 10.18781/R.MEX.FIT.1804-5.
- Salazar-Antón, W y Guzmán-Hernández, T. (2014). Efecto nematicida de extractos de *Quassia amara* y *Brugmansia suaveolens* sobre *Meloidogyne* sp. Asociado al tomate en Nicaragua. *Agronomía Mesoamericana*, 25 (1), 111-119.
- Salinas, RV., BB. Soriano. (2014). Efecto de *Trichoderma viride* y *Bradyrhizobium yuanmingense* en el crecimiento de *Capsicum annuum* en condiciones de laboratorio», *Revista Científica de Estudiantes* 2: 32, Chile, 2014.
- Samaniego-Fernández, L., Maimouna, H., Corbea, O., Rondón-Castillo, AJ, y Placeres-Espinosa I. (2018). Aislamiento, identificación y evaluación de cepas autóctonas de *Trichoderma* spp antagonistas de patógenos del suelo. *Rev. Protección Veg.* 2018, vol.33, n.3.
- Samuels, GJ., E. Lieckfeldt y HI. Nirenberg (1999). *Trichoderma asperellum*, a new species with warted conidia, and redescription of *T. viride*. – *Sydowia* 51(1): 71-88.

- Samuelian, S. (2016). Potential of *Trichoderma harzianum* for control of banana leaf fungal pathogens when applied with a food source and an organic adjuvant. 3 Biotech. 6. 10.1007/s13205-015-0327-0.
- Santana Baños, Y., Busto Concepción, A., GF., Yunio, AG., Carrodegua Díaz, S., Páez Fernández, PL., Díaz Lugo, G. (2016). Efecto de *Trichoderma harzianum* Rifai y FitoMas-E® como bioestimulantes de la germinación y crecimiento de plántulas de tomate. Centro Agrícola, 43(3), 5-12.
- Shanmugaiah, V., Balasubramanian, N., Gomathinayagam, S., Manoharan, P., y Rajendran, A. (2009). Effect of single application of *Trichoderma viride* and *Pseudomonas fluorescens* on growth promotion in cotton plants. African Journal of Agricultural Research, 4, 1220-1225.
- Simkovic M., Ditte P., Kurucova A., Lakatos B., y Varecka LC. (2008). Dependent induction of conidiation in submerged cultures of *Trichoderma viride*. *Can. J. Microbio.*; 54, 291–298.
- Sivan, A., y Chet, I. (1989). The possible role of competition between *Trichoderma harzianum* and *Fusarium oxysporum* on rhizosphere colonization. *Phytopathology*, 79: 198-203.
- Stapleton, J., Quick y JE. Devay. (1985). *Soil solarization: effects on soil properties, crop fertilization and plant growth*. *Soil Biology and Biochemistry* 17: 369-373.
- Stefanova, M., Leiva A., y Larriganaga L, Coronado, MF. (1999). Actividad metabólica de cepas de *Trichoderma* spp para el control de hongos fitopatógenos del suelo. *Revista Facultad de Agronomía.*; 16:509-516.
- Suárez, CL; Fernández, RJ; Valero, NO; Gámez RM; Páez, AR. (2008). Antagonismo In vitro de *Trichoderma harzianum* Rifai sobre *Fusarium solani* (mart.) Sacc, asociado a la marchitez del maracuyá. *Rev. Colomb. Biotecnol* 10(2): 35-43
- Suárez, M., Carol, L., Fernández B., Reinel JV., Nelson, O, Gámez C., Rocío M., Páez R., Alberto R., (2008). Antagonismo in vitro de *Trichoderma harzianum* Rifai sobre *Fusarium solani* (Mart.) Sacc., asociado a la marchitez en maracuyá. *Revista Colombiana de Biotecnología*, X (2) ,35-43.
- Sukul, NC. (1992). Plants antagonistic to plant parasitic nematodes. *Indian Rev. Life Sci.* 12:23-52.
- Sundaramoorthy S., y P. Balabaskar. (2013). Biocontrol efficacy of *Trichoderma* spp. against wilt of tomato caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *J App Biol Biotech*, 1 (03): 036-040.
- Sutton, J., y G. Peng. (1993). Biocontrol of *Botrytis cinerea* in strawberry leaves. *Phytopathol.* 83, 615-621

- Talavera, A., y Téllez, M. (2007). Hongos patógenos, especies amigables con el ambiente. *Revista. Inventio* 27(12):41-45. Disponible en: http://inventio.uaem.mx/index.php/inventio/arti_cle/view/167/413
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M., y Kumar, S. (2011). MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Molecular Biology and Evolution* 28, 2731-2739.
- Tovar, J. (2008). *Evaluación de la capacidad antagonista "in vivo" de aislamientos de Trichoderma spp frente al hongo fitopatógeno Rhizoctonia solani*. Tesis de Grado. Bogotá, Colombia, Pontificia Universidad Javeriana. 81 p.
- Uddin, MN., Rahman, UU., Khan, W., Uddin, N., y Muhammad, M. (2018). Effect of *Trichoderma harzianum* on tomato plant growth and its antagonistic activity against *Phythium ultimum* and *Phytophthora capsici*. *Egypt J Biol Pest Control* 28, 32 (2018). <https://doi.org/10.1186/s41938-018-0032-5>
- Vaario, LM, Fritze H, Spetz P, Heinonsalo J, Hanajík P, & Pennanen T (2011) *Tricholoma matsutake* dominates diverse microbial communities in different forest soils. *Appl Environ Microbiol* 77(24):8523–8531
- Vásquez, J. (2010). Caracterización microbiológica y producción de *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma viride* en cultivo artesanal. 55p.
- Valencia, H., Sánchez J., y Valero, N. (2005). Producción de ácido indolacético por microorganismos solubilizadores de fosfato presentes en la rizósfera de *Espeletia grandiflora* y *Calamagrostis effusa* del Páramo el Granizo pp. 177-193. En: Bonilla, M. (ed.). Estrategias adaptativas de plantas de páramo y del bosque altoandino en la cordillera oriental de Colombia. Unibiblos, Bogotá.
- Vazallo, SN., Terrones-Ramírez, L., Toro-Carranza B., Zárate-García, B., y Soriano-Bernilla. (2013). Efecto de la inoculación de *Rhizobium etli* y *Trichoderma viride* sobre el crecimiento aéreo y radicular de *Capsicum annum* var. *Longum*. *REBIOLEST* 1: 11-21.
- Verde W. (2007). Dos Hongos Antagónicos (*Trichoderma harzianum* y *Trichoderma viride*). Efecto en el control de la Moniliasis (*Moniliophthora roreri* Cif y Par. Evans, *et al.*) del cacao en la Región Ucayali. Tesis. Ing. Agr. UNAS. Perú. 70 pp.

- Vélez, PE; Posada, FJ; Marín, P; González, MT; Osorio, E; Bustillo, AE. 1997. Técnicas para el control de calidad de formulaciones de hongos entomopatógenos. Boletín Técnico No. 17, CENICAF
- Vinale, FK., Sivasithamparam, E.L., Ghisalberti, R., Marra, MJ., Barbetti., y H. Li. (2008). A novel role for *Trichoderma* secondary metabolites in the interactions with plants. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 72:80-86.
- White TJ., Bruns T., Lee S., y Taylor JW. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. En: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ, editors. *PCR Protocols: A guide to methods and applications*. New York: Academic Press; p. 315-322.
- Widden P., y Scattolin V. (1988). *Competitive interactions and ecological strategies of Trichoderma species colonizing spruce litter*. *Mycologia* 80, 795–803.
- Windham, M.T., Elad, Y., y Baker, R. (1986). *A mechanism for increased plant-growth induced by Trichoderma spp.* *Phytopathology* 76 (5), 518–521.
- Zambrano, C. (1989). Efecto de la concentración de inóculo de *Trichoderma harzianum* sobre el desarrollo de *Macrophomina phaseolina*. p. 56. En: *Resúmenes XI Seminario Nacional de Fitopatología. Sociedad Venezolana de Fitopatología*. 19 al 23 de noviembre 1989. Trujillo, Venezuela.
- Zhang C., Druzhinina I., Kubick C.P. y Xu T. (2005). *Trichoderma biodiversity in China: evidence for a north to southern distribution of species in East Asia*. *FEMS Microbiol. Lett.* 251, 251- 257.

X. ANEXOS

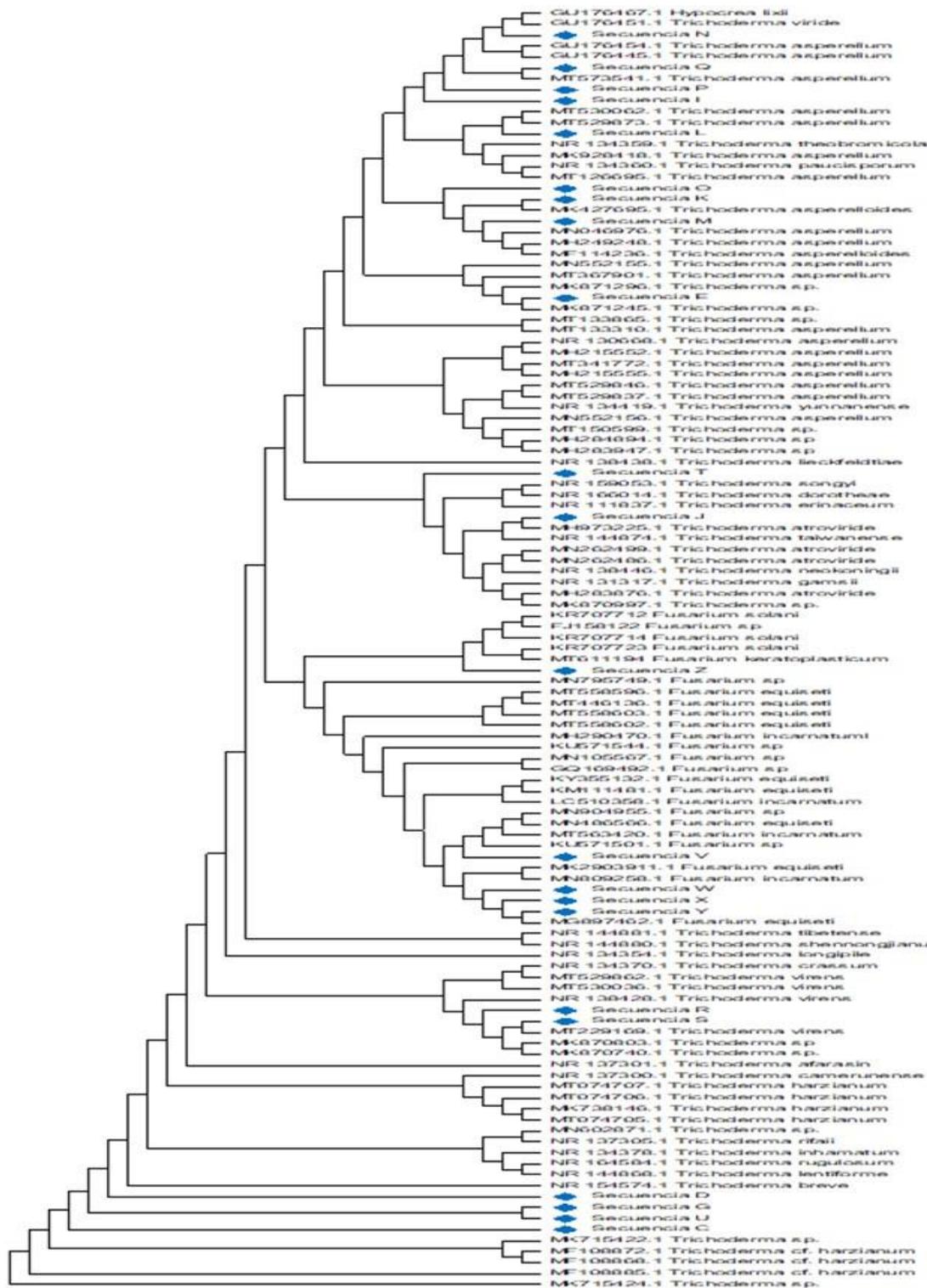
Anexos 1. Árbol Filogenético de hongos.

Anexo 2. Secuencias corregidas y alineadas en formato FASTA.

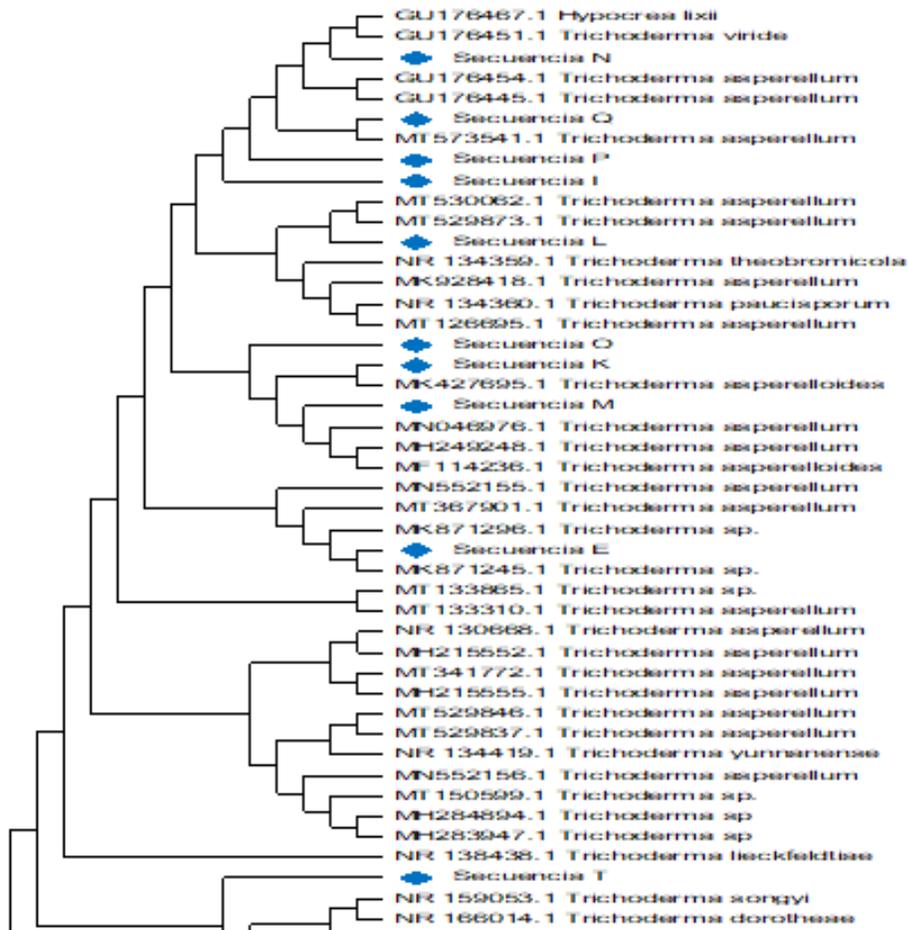
Anexo 3. Análisis de la promoción del crecimiento.

Anexo 4. Artículo Científico publicado en la revista científica El higo, de la Universidad Nacional de Ingeniería- sede regional -Estelí.

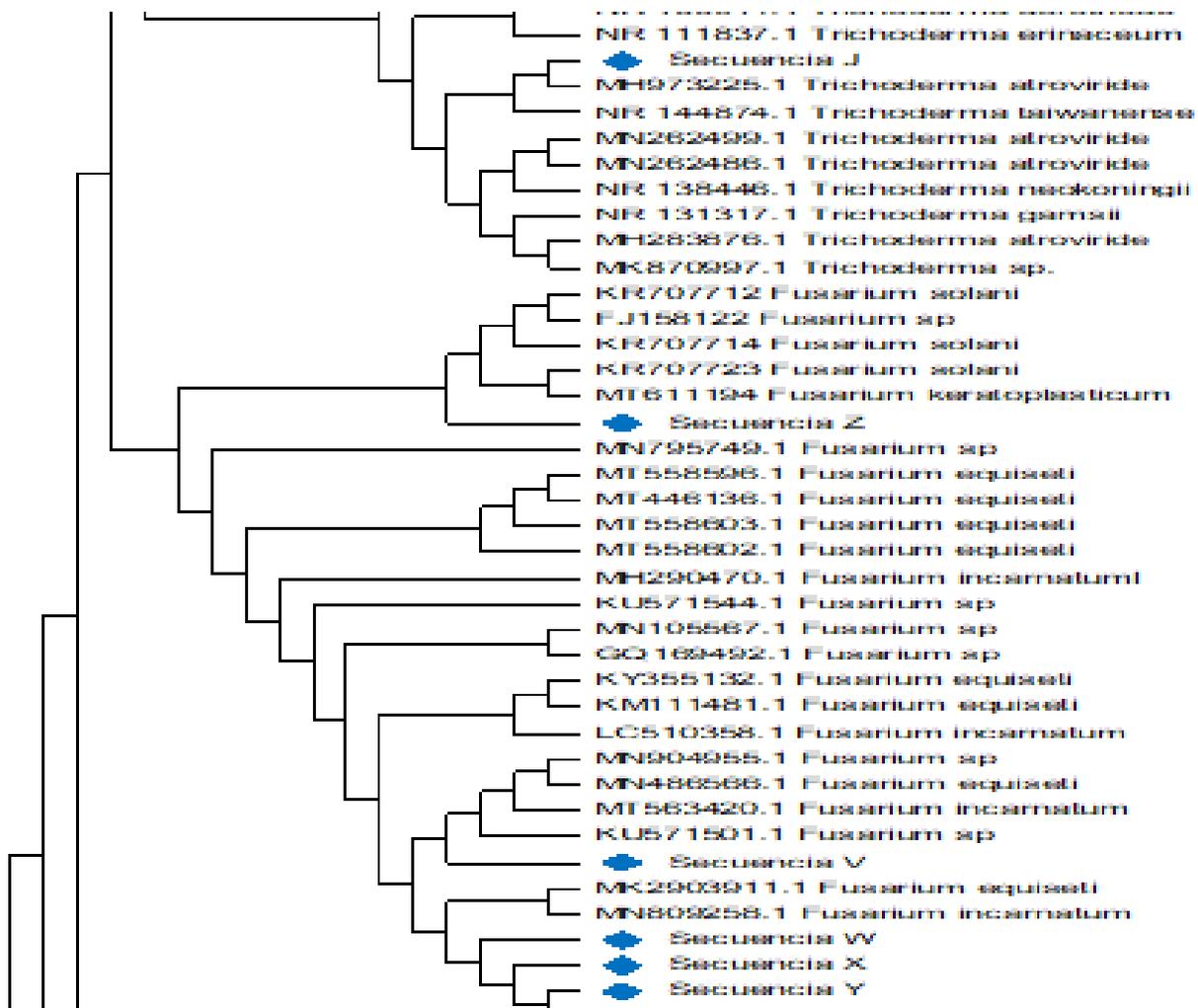
Anexo 1



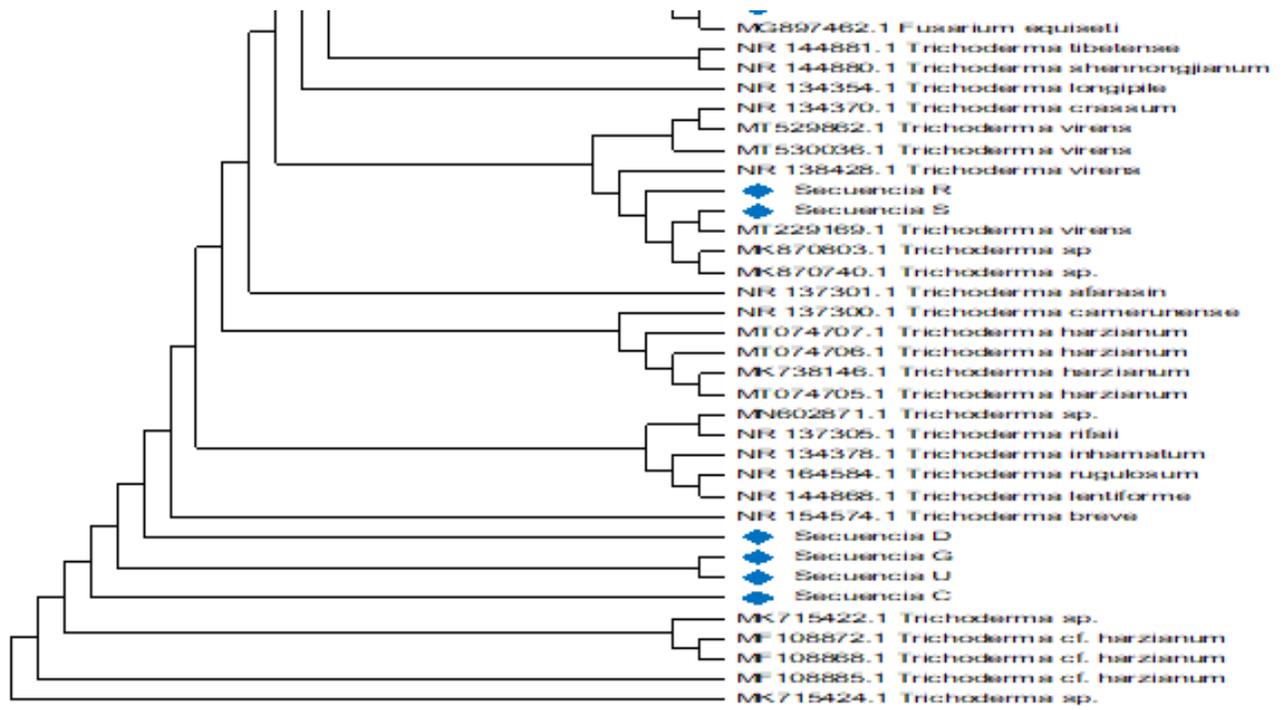
Anexo 1. Árbol Filogenético de hongos utilizando el método Neighbor-Joining con un bootstrap de 1000 réplicas. El árbol fue realizado en el programa MEGA 9.0.14, el código de acceso al GenBank se especifica al inicio del nombre del microorganismo. (Fuente propia).



Anexo 2. Sección 1 de Árbol filogenético (Fuente propia).



Anexo 3. Sección 2 de Árbol filogenético



Anexo 4. Sección 3 de Árbol filogenético (Fuente propia).

Anexo 5. Secuencias corregidas y alineadas en formato FASTA de microorganismos identificados vía molecular. (Fuente propia).

Secuencia C

```
CCGACATTACCGAGTTTAAACAACCTCCCAAACCCATGTGAACGTTACCAAACCTGTTGCCTCGGCGGGATC
TCTGCCCCGGGTGCGTCGCAGCCCCGGACCAAGGCGCCCCGCCGGAGGACCAACCTAAAACCTTTATTGT
ATACCCCCTCGCGGGTTTTTTTTATAATCTGAGCCTTCTCGGCGCCTCTCGTAGGCGTTTCGAAAATGAAT
CAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAA
TGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGG
GCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCTCGAACCCCTCCGGGGGGTTCGGCGTTGGGGATCGGCCCTC
CCTTAGCGGGTGGCCGTCTCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGCAGCCTCTCTGCGCAGTAGTTTGC
ACACTCGCATCGGGAGCGCGGCGCG
```

>MK715424.1 *Trichoderma* sp.

```
GGAGGGACATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCAATGTGAACGTTACCAAACCTGTTGCCTCGGCGG
GATCTCTGCCCCGGGTGCGTCGCAGCCCCGGACCAAGGCGCCCCGCCGGAGGACCAACCTAAAACCTTT
ATTGTATAACCCCCTCGCGGGTTTTTTTTATAATCTGAGCCTTCTCGGCGCCTCTCGTAGGCGTTTCGAAA
TGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATA
AGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCT
GGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCTCGAACCCCTCCGGGGGGTTCGGCGTTGGGGATCGG
CCCTCCCTTAGCGGGTGGCCGTCTCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGCAGCCTCTCTGCGCAGTAG
TTTGCACACTCGCATCGGGAGCGCGGCGGTCCACAGCCGTTAAACACCCAACCTTCTGAAATGTTGACC T
```

>MK715422.1 *Trichoderma* sp.

```
GGAGGGACATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCAATGTGAACGTTACCAAACCTGTTGCCTCGGCGG
GATCTCTGCCCCGGGTGCGTCGCAGCCCCGGACCAAGGCGCCCCGCCGGAGGACCAACCTAAAACCTTT
ATTGTATAACCCCCTCGCGGGTTTTTTTTATAATCTGAGCCTTCTCGGCGCCTCTCGTAGGCGTTTCGAAA
TGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATA
AGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCT
GGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCTCGAACCCCTCCGGGGGGTTCGGCGTTGGGGATCGG
CCCTCCCTTAGCGGGTGGCCGTCTCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGCAGCCTCTCTGCGCAGTAG
TTTGCACACTCGCATCGGGAGCGCGGCGGTCCACAGCCGTTAAACACCCAACCTTCTGAAATGTTGACC T
```

>MF108885.1 *Trichoderma cf. harzianum*

```
CCTTGGTACGCGGAGGGACATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCAATGTGAACGTTACCAAACCTGTT
GCCTCGGCGGGATCTCTGCCCCGGGTGCGTCGCAGCCCCGGACCAAGGCGCCCCGCCGGAGGACCAACC
TAAAACCTTTATTGTATAACCCCCTCGCGGGTTTTTTTTATAATCTGAGCCTTCTCGGCGCCTCTCGTAGGC
GTTTCGAAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGA
AATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGC
CAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCTCGAACCCCTCCGGGGGGTTCGGCGTT
GGGGATCGGCCCTCCCTTAGCGGGTGGCCGTCTCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGCAGCCTCTCT
GCGCAGTAGTTTGCACACTCGCATCGGGAGCGCGGCGGTCCACAGCCGTTAAACACCCAACCTTCTGA
AATGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAAAAGCCCGGAGGAAA
```

>MF108872.1 *Trichoderma cf. harzianum*

```
TTTGTGACGCGGAGGGACATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCAATGTGAACGTTACCAAACCTGTTG
CCTCGGCGGGATCTCTGCCCCGGGTGCGTCGCAGCCCCGGACCAAGGCGCCCCGCCGGAGGACCAACCT
AAAACCTTTATTGTATAACCCCCTCGCGGGTTTTTTTTATAATCTGAGCCTTCTCGGCGCCTCTCGTAGGCG
TTTCGAAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAA
ATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCC
AGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCTCGAACCCCTCCGGGGGGTTCGGCGTTG
```

GGGATCGGCCCTCCCTTAGCGGGTGGCCGTCTCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGCAGCCTCTCCTG
CGCAGTAGTTTGCACACTCGCATCGGGAGCGCGGCGGTCCACAGCCGTTAAACACCCAACCTTCTGAA
ATGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATAACAAAAGGGGGGGGAAGAATC

>MF108868.1 *Trichoderma cf. harzianum*

GCTTGGTACGCGGAGGGACATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCAATGTGAACGTTACCAAACCTGTT
GCCTCGGCGGGATCTCTGCCCGGGTGCCTCGCAGCCCCGGACCAAGGCGCCCGCCGGAGGACCAACC
TAAAACCTTTATTGTATACCCCTCGCGGGTTTTTTTATAATCTGAGCCTTCTCGGCGCCTCTCGTAGGC
GTTTCGAAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGA
AATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGC
CAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCTCGAACCCCTCCGGGGGGTCCGGCGTT
GGGGATCGGCCCTCCCTTAGCGGGTGGCCGTCTCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGCAGCCTCTCCT
GCGCAGTAGTTTGCACACTCGCATCGGGAGCGCGGCGGTCCACAGCCGTTAAACACCCAACCTTCTGA
AATGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATACAA

>Secuencia D

ATACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCAAGTGAACGTTACCAAACCTGTTGCCTCGGCGGGACTCTGCCCC
GGGTGCGTTCGACAGCCCCGGACCAAGGCGCCCGCCGGAGGACCAACCAAACTCTTTTTGTATACCCCT
CGCGGGTTTTTATAATCTGAGCCTTCTCGGCGCCTCTCGTAGGCGTTTCGAAAATGAATCAAACTTTCA
ACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCA
GAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTC
CGAGCGTCATTTCAACCCTCGAACCCCTCCGGGGGGTCCGGCGTTGGGGATCGGCCCTCCCTTAGCGGGT
GGCCGTCTCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGCAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACACTCGCATC
GGGAGCGCGGCGGTCCACAGCCGTTA

>MK738146.1 *Trichoderma harzianum*

TCCGTAGGTGAACCTGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCAATGTGAACGTTACCA
AACTGTTGCCTCGGCGGGATCTCTGCCCGGGTGCCTCGCAGCCCCGGACCAAGGCGCCCGCCGGAGG
ACCAACCAAAACTCTTTTTGTATACCCCTCGCGGGTTTTTTTATAATCTGAGCCTTCTCGGCGCCTCTCG
TAGGCGTTTCGAAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGC
AGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGC
GCCCCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCTCGAACCCCTCCGGGGGGTCC
GGCGTTGGGGATCGGCCCTCCCTTAGCGGGTGGCCGTCTCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGCAGCC
TCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACACTCGCATCGGGAGCGCGGCGGTCCACAGCCGTTAAACACCCAACCT
TCTGAAATGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGA

>MT074707.1 *Trichoderma harzianum*

GAACCTGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCAATGTGAACGTTACCAAACCTGTTGC
CTCGGCGGGATCTCTGCCCGGGTGCCTCGCAGCCCCGGACCAAGGCGCCCGCCGGAGGACCAACCAA
AACTCTTTTTGTATACCCCTCGCGGGTTTTTTTATAATCTGAGCCTTCTCGGCGCCTCTCGTAGGCGTTT
GAAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATG
CGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGT
ATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCTCGAACCCCTCCGGGGGGTCCGGCGTTGGGG
ATCGGCCCTCCCTTAGCGGGTGGCCGTCTCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGCAGCCTCTCCTGCGC
AGTAGTTTGCACACTCGCATCGGGAGCGCGGCGGTCCACAGCCGTTAAACACCCAACCTTCTGAAATGT
TGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAA

>MT074706.1 *Trichoderma harzianum*

GAACCTGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCAATGTGAACGTTACCAAACCTGTTGC
CTCGGCGGGATCTCTGCCCGGGTGCCTCGCAGCCCCGGACCAAGGCGCCCGCCGGAGGACCAACCAA

AACTCTTTTTGTATAACCCCTCGCGGGTTTTTTATAATCTGAGCCTTCTCGGCGCCTCTCGTAGGCGTTTC
GAAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATG
CGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGT
ATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCTCGAACCCTCCGGGGGGTTCGGCGTTGGGG
ATCGGCCCTCCCTTAGCGGGTGGCCGTCTCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGCAGCCTCTCCTGCGC
AGTAGTTTGCACACTCGCATCGGGAGCGCGGCGGTCCACAGCCGTTAAACACCCAACCTTCTGAAATGT
TGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAA

>MT074705.1 *Trichoderma harzianum*

GAACCTGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCAATGTGAACGTTACCAAACCTGTTGC
CTCGGCGGGATCTCTGCCCGGGTGCCTGCGAGCCCCGGACCAAGGCGCCCGCCGGAGGACCAACCAA
AACTCTTTTTGTATAACCCCTCGCGGGTTTTTTATAATCTGAGCCTTCTCGGCGCCTCTCGTAGGCGTTTC
GAAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATG
CGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGT
ATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCTCGAACCCTCCGGGGGGTTCGGCGTTGGGG
ATCGGCCCTCCCTTAGCGGGTGGCCGTCTCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGCAGCCTCTCCTGCGC
AGTAGTTTGCACACTCGCATCGGGAGCGCGGCGGTCCACAGCCGTTAAACACCCAACCTTCTGAAATGT
TGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAA

>MN602871.1 *Trichoderma* sp.

CGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCAAT
GTGAACGTTACCAAACCTGTTGCCTCGGCGGGATCTCTGCCCGGGTGCCTGCGAGCCCCGGACCAAGGC
GCCCCCGGAGGACCAACCAAAACTCTTTTTGTATAACCCCTCGCGGGTTTTTTATAATCTGAGCCTTCT
CGGCGCCTCTCGTAGGCGTTTCGAAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATC
GATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTG
AACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCTCGAACCC
CTCCGGGGGGTTCGGCGTTGGGGATCGGCCCTCCCTTAGCGGGTGGCCGTCTCCGAAATACAGTGGCGGT
CTCGCCGCAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACACTCGCATCGGGAGCGCGGCGGTCCACAGCCGTT
AAACACCCAACCTTCTGAAATGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAAAA

>Secuencia E

GTCATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCAAGTGAACGTTACCAAACCTGTTGCCTCGGCGGGGTCACGC
CCCGGGTGCCTGCGAGCCCCGGAACCAGGCGCCCGCCGGAGGAACCAACCAAACTCTTTCTGTAGTCCC
CTCGCGGACGTATTTCTTACAGCTCTGAGCAAAAATTCAAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTC
TTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATC
ATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAAC
CCTCGAACCCCTCCGGGGGATCGGCGTTGGGGATCGGGACCCCTCACACGGGTGCCGGCCCCGAAATACA
GTGGCGGTCTCGCCGCAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACAACCTCGCACCGGGAGCGCGGCGGTCCAC
GTCCGTAAAACACCCAACCT

>MK871296.1 *Trichoderma* sp.

TATAAGTCTCGTTGGTGACCAGCGGAGGGTCATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCAATGTGAACG
TTACCAAACCTGTTGCCTCGGCGGGGTCACGCCCGGGTGCCTGCGAGCCCCGGAACCAGGCGCCCGCC
GGAGGAACCAACCAAACTCTTTCTGTAGTCCCCTCGCGGACGTATTTCTTACAGCTCTGAGCAAAAAT
CAAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATG
CGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAG
TATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCTCGAACCCCTCCGGGGGATCGGCGTTGG
GGATCGGGACCCCTCACACGGGTGCCGGCCCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGCAGCCTCTCCTGCG
GCAGTAGTTTGCACAACCTCGCACCGGGAGCGCGGCGGTCCACGTCCGTA AAAACACCCAACCTTCTGA
AATGT TGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAA

>MK871245.1 *Trichoderma* sp.

CAATAGGGTCTCGTTGGTGACCAGCGGAGGGTCATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCAATGTGAAC
GTTACCAAACCTGTTGCCTCGGCGGGGTACGCCCCGGGTGCGTCGCAGCCCCGGAACCAGGCGCCCCG
CGGAGGAACCAACCAAACTCTTTCTGTAGTCCCCTCGCGGACGTATTTCTTACAGCTCTGAGCAAAAAT
TCAAAAATGAATCAAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAAT
GCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCGCCAG
TATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCCTCGAACCCCTCCGGGGGATCGGCGTTGGG
GATCGGGACCCCTCACACGGGTGCCGGCCCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGCAGCCTCTCCTGCGC
AGTAGTTTGCACAACTCGCACCGGGAGCGCGGCGCGTCCACGTCCGTA AAAACACCCAACCTTTCTGAAAT
GTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATAAA

>MK928418.1 *Trichoderma asperellum*

CTTGATTGGTGAAGTTGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTACA
ACTCCCAAACCCAATGTGAACGTTACCAAACCTGTTGCCTCGGCGGGGTACGCCCCGGGTGCGTCGCAG
CCCCGGAACCAGGCGCCCCGCCGAGGAACCAACCAAACTCTTTCTGTAGTCCCCTCGCGGACGTATTTT
TTACAGCTCTGAGCAAAAATTCAAAATGAATCAAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCG
ATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGA
ACGCACATTGCGCCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCCTCGAACCCC
TCCGGGGGATCGGCGTTGGGGATCGGGACCCCTCACACGGGTGCCGGCCCCGAAATACAGTGGCGGTC
TCGCCGCAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACAACTCGCACCGGGAGCGCGGCGCGTCCACGTCCGTA
AAACACCCAACCTTTCTGAAATGTGACCTCGGATCAGGTTTGATGGCCCCCCCC

>MT529846.1 *Trichoderma asperellum*

AAGTAAAAGTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTACAACCTCC
CAAACCCAATGTGAACGTTACCAAACCTGTTGCCTCGGCGGGGTACGCCCCGGGTGCGTCGCAGCCCC
GGAACCAGGCGCCCCGCCGAGGAACCAACCAAACTCTTTCTGTAGTCCCCTCGCGGACGTATTTCTTAC
AGCTCTGAGCAAAAATTCAAAATGAATCAAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGA
AGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGC
ACATTGCGCCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCCTCGAACCCCTCCG
GGGATCGGCGTTGGGGATCGGGACCCCTCACACGGGTGCCGGCCCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGC
CGCAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACAACTCGCACCGGGAGCGCGGCGCGTCCACGTCCGTA AAAAC
ACCCAACCTTTCTGAAATGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAA

>MT529837.1 *Trichoderma asperellum*

AGTAAAAGTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTACAACCTCCC
AAACCCAATGTGAACGTTACCAAACCTGTTGCCTCGGCGGGGTACGCCCCGGGTGCGTCGCAGCCCCG
GAACCAGGCGCCCCGCCGAGGAACCAACCAAACTCTTTCTGTAGTCCCCTCGCGGACGTATTTCTTACA
GCTCTGAGCAAAAATTCAAAATGAATCAAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAA
GAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCA
CATTGCGCCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCCTCGAACCCCTCCGG
GGGATCGGCGTTGGGGATCGGGACCCCTCACACGGGTGCCGGCCCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCC
GCAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACAACTCGCACCGGGAGCGCGGCGCGTCCACGTCCGTA AAAAC
ACCCAACCTTTCTGAAATGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAA GCGGAG

>Secuencia G

GGGACTTACCGGTTTACAACCTCCCAAACCCAAGTGAACGTTACCAAACCTGTTGCCTCGGCGGGACTCTG
CCCCGGGTGCGTCGCAGCCCCGGACCAAGGCGCCCGCCGGAGGACCAACCAAACTCTTATTGTATAC
CCCCTCGCGGGTTTTTTTTTTTATAATCTGAGCCTTCTCGGCGCCTCTCGTAGGCGTTTCGAAAATGAAT
CAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAA
TGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCGCCAGTATTCTGGCGG
GCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCCTCGAACCCCTCCGGGGGGTTCGGCGTTGGGGATCGGCCCTC

CCTTAGCGGGTGGCCGTCTCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGCAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGC
ACACTCGCATCGGG

>NR_164584.1 *Trichoderma rugulosum*

ACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCAATGTGAACGTTACCAAACCTGTTGCCT
CGGCGGGATCTCTGCCCGGGTGCCTCGCAGCCCCGGACCAAGGCGCCCGCCGGAGGACCAACCAAAA
CTCTTATTGTATACCCCCTCGCGGGTTTTTTTTTTTATAATCTGAGCCTTCTCGGCGCCTCTCGTAGGCGT
TTCGAAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAA
ATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCG
AGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCTCGAACCCCTCCGGGGGGTGGCGTTG
GGGATCGGCCCTCCCTTAGCGGGTGGCCGTCTCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGCAGCCTCTCCTG
CGCAGTAGTTTGCACACTCGCATCGGGAGCGCGGCGCGTCCACAGCCGTTAAACACCCAACCTTCTGAA
ATGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGC

>NR_137301.1 *Trichoderma afarasin*

TCATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCAATGTGAACGTTACCAAACCTGTTGCCTCGGCGGGATCTCT
GCCCCGGGTGCGTTCGAGCCCCGGACCAAGGCGCCCGCCGGAGGACCAACCAAAAACCTTTTTGTATA
CCCCCTCGCGGGTTTTTTTTTATAATCTGAGCCTTCTCGGCGCCTCTCGTAGGCGTTTCGAAAATGAATCAA
AACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGT
GAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCAGTATTCTGGCGGGCA
TGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCTCGAACCCCTCCGGGGGGTGGCGTTGGGGATCGGCCCTCCCT
TAGCGGGTGGCCGTCTCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGCAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACA
CTCGCATCGGGAGCGCGGCGCGTCCACAGCCGTTAAACACCCAACCTTCTGAAATGTTGACCTCGGATCA
GGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCA

>NR_154574.1 *Trichoderma breve*

CCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCAATGTGAACGTTACCAAACCTGTTGCCTCGGCGGGATCTCTGCCCGG
GGTGCCTCGCAGCCCCGGACCAAGGCGCCCGCCGGAGGACCAACCAAAAACCTTTATTGTATACCCCCT
CGCGGGTTTTTTAATAATCTGAGCCTTCTCGGCGCCTCTCGTAGGCGTTTCGAAAATGAATCAAACTTT
CAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTG
CAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTG
TCCGAGCGTCATTTCAACCCTCGAACCCCTCCGGGGGGTGGCGTTGGGGATCGGCCCTCCCTTAGCGG
GTGGCCGTCTCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGCAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACACTCGCA
TCGGGAGCGCGGCGCGTCCACAGCCGTTAAACACCCAACCTTCTGAAATGTTGACCTCGGATCAGGTAG
GAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAAT

>NR_134378.1 *Trichoderma inhamatum*

TCGGAGGGATCATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCAATGTGAACGTTACCAAACCTGTTGCCTCGGC
GGGATCTCTGCCCGGGTGCCTCGCAGCCCCGGACCAAGGCGCCCGCCGGAGGACCAACCAAAAACCTCT
TATTGTATACCCCCTCGCGGGTTTTTTTTTATAATCTGAGCCTTCTCGGCGCCTCTCGTAGGCGTTTCGAA
AATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGA
TAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCAGTATT
CTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCTCGAACCCCTCCGGGGGGTGGCGTTGGGGATC
GGCCCTCCCTTAGCGGGGGCCGTCTCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGCAGCCTCTCCTGCGCAGTA
GTTTGCACACTCGCATCGGGAGCGCGGCGCGTCCACAGCCGTTAAACACCCAACCTTCTGAAATGTTGAC
CTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATAT

>NR_144868.1 *Trichoderma lentiforme*

CGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCAATGTGAACGTTACCAAACCT
GTTGCCTCGGCGGGATCTCTGCCCGGGTGCCTCGCAGCCCCGGACCAAGGCGCCCGCCGGAGGACCA
ACCAAAAACCTTTATTGTATACCCCCTCGCGGGTTTTTTTTTATAATCTGAGCCTTCTCGGCGCCTCTCGTAG

GCGTTTCGAAAATGAATCAAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGC
GAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCC
GCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCTCGAACCCCTCCGGGGGGTTCGGCG
TTGGGGATCGGCCCTCCCTTAGCGGGTGGCCGTCTCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGCAGCCTCTC
CTGCGCAGTAGTTTGCACACTCGCATCGGGAGCGCGGCGGTCCACAGCCGTTAAACACCCAACCTTCTG
AAATGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCC

>Secuencia I

GGGGGACTTACCGGATTTAACAACCTCCCAAACCCAAGTGAACGTTACCAAACCTGTTGCCTCGGGCGGG
TCACGCCCCGGGTGCGTTCGACGCCCCGGAACCAGGCGCCCGCCGGAGGAACCAACCAAACCTTTTCTG
TAGTCCCCCTCGCGGACGTATTTCTTACAGCTCTGAGCAAAAATTCAAATGAATCAAAACTTTCAACAA
CGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAAT
TCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAG
CGTCATTTCAACCCTCGAACCCCTCCGGGGGATCGGCGTTGGGGATCGGGACCCCTCACACGGGTGCCG
GCCCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGCAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACAACCTCGCACCGGGA
GCGCGGCGCGTCCACGTCCGT

>MN552156.1 *Trichoderma asperellum*

TTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCAATGTGAACGTTACCAAACCTGTTGCCTCGGGCGGGTTCACGCC
CGGGTGCCTCGCAGCCCCGGAACCAGGCGCCCGCCGGAGGAACCAACCAAACCTTTTCTGTAGTCCCC
TCGCGGACGTATTTCTTACAGCTCTGAGCAAAAATTCAAATGAATCAAAACTTTCAACAACGGATCTC
TTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAA
TCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTT
CAACCCTCGAACCCCTCCGGGGGATCGGCGTTGGGGATCGGGACCCCTCACACGGGTGCCGGCCCCGA
AATACAGTGGCGGTCTCGCCGCAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACAACCTCGCACCGGGAGCGCGGC
GCGTCCACGTCCGTAAAACACCCAACCTTTCTGAAATGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGA
ACTTAAGCATATC

>MN552155.1 *Trichoderma asperellum*

TTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCAATGTGAACGTTACCAAACCTGTTGCCTCGGGCGGGTTCACGCC
CGGGTGCCTCGCAGCCCCGGAACCAGGCGCCCGCCGGAGGAACCAACCAAACCTTTTCTGTAGTCCCC
TCGCGGACGTATTTCTTACAGCTCTGAGCAAAAATTCAAATGAATCAAAACTTTCAACAACGGATCTC
TTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAA
TCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTT
CAACCCTCGAACCCCTCCGGGGGATCGGCGTTGGGGATCGGGACCCCTCACACGGGTGCCGGCCCCGA
AATACAGTGGCGGTCTCGCCGCAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACAACCTCGCACCGGGAGCGCGGC
GCGTCCACGTCCGTAAAACACCCAACCTTTCTGAAATGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGA
ACTTAAGCATATCAAT

>MN046976.1 *Trichoderma asperellum*

ACGTATGGTACGCGGAGGGACATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCAATGTGAACGTTACCAAACCT
GTTGCCTCGGGCGGGTTCACGCCCCGGGTGCGTTCGACGCCCCGGAACCAGGCGCCCGCCGGAGGAACCA
ACCAAACCTTTTCTGTAGTCCCCCTCGCGGACGTATTTCTTACAGCTCTGAGCAAAAATTCAAATGAAT
CAAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAA
TGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCGCCAGTATTCTGGCGG
GCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCTCGAACCCCTCCGGGGGATCGGCGTTGGGGATCGGGACCC
CTCACACGGGTGCCGGCCCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGCAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGC
CAACTCGCACCGGGAGCGCGGCGGTCCACGTCCGTAAAACACCCAACCTTTCTGAAATGTTGACCTCGG
ATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCCGGAGGAAAA

>MH249248.1 *Trichoderma asperellum*

AAAGTACTTTTTGGGACAGCGGAGGGACATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCAATGTGAACGTTAC
CAAACCTGTTGCCTCGGGCGGGTTCACGCCCCGGGTGCGTTCGACGCCCCGGAACCAGGCGCCCGCCGGAG

GAACCAACCAAACCTCTTTCTGTAGTCCCCTCGCGGACGTATTTCTTACAGCTCTGAGCAAAAATTCAA
ATGAATCAAAAACCTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGAT
AAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATC
TGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCTCGAACCCTCCGGGGGATCGGCGTTGGGGATCG
GGACCCCTCACACGGGTGCCGGCCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGAGCCTCTCCTGCGCAGTA
GTTTGCACAACCTCGCACCGGGAGCGCGCGCTCCACGTCCGTAAAACACCCAACCTTTCTGAAATGTTG
ACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCCAGAGGAAAAACGGTGCGT
TGGG

>MT133865.1 *Trichoderma* sp.

ATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCAATGTGAACGTTACCAAACCTGTTGCCTCGGCGGGGTACGCC
CCGGGTGCGTGCAGCCCCGGAACCAGGCGCCCGCCGGAGGAACCAACCAAACCTCTTTCTGTAGTCCC
CTCGCGGACGTATTTCTTACAGCTCTGAGCAAAAATTCAAATGAATCAAAAACCTTTCAACAACGGATCT
CTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGA
ATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATT
TCAACCCTCGAACCCTCCGGGGGATCGGCGTTGGGGATCGGGACCCCTCACACGGGTGCCGGCCCGG
AAATACAGTGGCGGTCTCGCCGAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACAACCTCGCACCGGGAGCGCG
GCGCGTCCACGTCCGTAAAACACCCAACCTTTCTGAAATGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCT
GAACTTAAGCATATC

>Secuencia J

CCAAACCCATGTGAACCATAACCAAACCTGTTGCCTCGGCGGGGTACGCCCCGGGTGCGTGCAGCCCCG
GAACCAGGCGCCCGCCGGAGGGACCAACCAAACCTCTTTCTGTAGTCCCCTCGCGGACGTTATTTCTTAC
AGCTCTG AGCAAAAATTCAAATGAATCAAAAACCTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGA
AGAACG CAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGC
ACATTGCCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCTCGAACCCTCCGGG
GGGTC GCGTGGGGACCTCGGGAGCCCCTAAGACGGGATCCCGGCCCGAAATACAGTGGCGGTCTCG
CCGACGCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACAACCTCGCACCGGGAGCGCGGGCGGTCCACGTCCGTAAAAC
ACCAAACCTTTCTGAAATGTTGACCT

>MN262499.1 *Trichoderma atroviride*

TGCGGAGGGATCATTACGCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCAATGTGAACCATAACCAAACCTGTTGCCTCG
GCGGGGTACGCCCCGGGTGCGTGCAGCCCCGGAACCAGGCGCCCGCCGGAGGGACCAACCAAACCTC
TTTTCTGTAGTCCCCTCGCGGACGTTATTTCTTACAGCTCTGAGCAAAAATTCAAATGAATCAAAAACCT
TCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATT
GCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCT
GTCCGAGCGTCATTTCAACCCTCGAACCCTCCGGGGGGTTCGGCGTTGGGGACCTCGGGAGCCCCTAAG
ACGGGATCCCGGCCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACAAC
TCGCACCGGGAGCGCGGCGGTCCACGTCCGTAAAACACCCAACCTTTCTGAAATGTTGACCTCGGATCA
GGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATAT

>MN262486.1 *Trichoderma atroviride*

GCAACAGTTTGTATGTTTACATTGTTTGGAGTGAAAACCTTTGCACGTAGGTGCACCTGCGGAGGGATC
ATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCAATGTGAACCATAACCAAACCTGTTGCCTCGGCGGGGTACGCC
CCGGGTGCGTGCAGCCCCGGAACCAGGCGCCCGCCGGAGGGACCAACCAAACCTCTTTCTGTAGTCC
CCTCGCGGACGTTATTTCTTACAGCTCTGAGCAAAAATTCAAATGAATCAAAAACCTTTCAACAACGGAT
CTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGT
GAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCA
TTTCAACCCTCGAACCCTCCGGGGGGTTCGGCGTTGGGGACCTCGGGAGCCCCTAAGACGGGATCCCG
GCCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACAACCTCGCACCGGGA
GCGCGGCGGTCCACGTCCGTAAAACACCCAACCTTTCTGAAATGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATAC
CCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAAGCGG

>MH283876.1 *Trichoderma atroviride*

CATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCAATGTGAACCATACCAAACCTGTTGCCTCGGCGGGGTACGCG
CCCGGGTGCCTCGCAGCCCCGGAACCAGGCGCCCGCCGAGGGACCAACCAAACCTCTTTTCTGTAGTC
CCCTCGCGGACGTTATTTCTTACAGCTCTGAGCAAAAATTCAAATGAATCAAACCTTTCAACAACGGA
TCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGT
GAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCA
TTTCAACCCTCGAACCCTCCGGGGGGTTCGGCGTTGGGGACCTCGGGAGCCCCTAAGACGGGATCCCG
GCCCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACAACCTCGCACCGGGA
GCGCGGCGCGTCCACGTCCGTAAAACACCCAACCTTTCTGAAATGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATAC
CCGCTGAACTTAAGCATATCAATAA

>MH973225.1 *Trichoderma atroviride*

CCTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCAATGTGAACCAT
ACCAAACCTGTTGCCTCGGCGGGGTACGCCCCGGGTGCGTGCAGCCCCGGAACCAGGCGCCCGCCGG
AGGGACCAACCAAACCTCTTTTCTGTAGTCCCCTCGCGGACGTTATTTCTTACAGCTCTGAGCAAAAATT
CAAATGAATCAAACCTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATG
CGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGT
ATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCTCGAACCCTCCGGGGGGTTCGGCGTTGGGG
ACCTCGGGAGCCCCTAAGACGGGATCCCGGCCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGAGCCTCTCCT
GCGCAGTAGTTTGCACAACCTCGCACCGGGAGCGCGGCGCGTCCACGTCCGTAAAACACCCAACCTTTCTG
AAATGTTGACCTCGGATCATGTTGCAGTCGTTTCATAC

>MK870997.1 *Trichoderma sp.*

AAAAGTCTCGTTGGTGACCAGCGGAGGGTTCATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCAATGTGAACCAT
ACCAAACCTGTTGCCTCGGCGGGGTACGCCCCGGGTGCGTGCAGCCCCGGAACCAGGCGCCCGCCGG
AGGGACCAACCAAACCTCTTTTCTGTAGTCCCCTCGCGGACGTTATTTCTTACAGCTCTGAGCAAAAATT
CAAATGAATCAAACCTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATG
CGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGT
ATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCTCGAACCCTCCGGGGGGTTCGGCGTTGGGG
ACCTCGGGAGCCCCTAAGACGGGATCCCGGCCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGAGCCTCTCCT
GCGCAGTAGTTTGCACAACCTCGCACCGGGAGCGCGGCGCGTCCACGTCCGTAAAACACCCAACCTTTCTG
AAAGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGA

>Secuencia K

GGACATACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCAATGTGAACGTTACCAAACCTGTTGCCTCGGCGGGGTACG
GCCCCGGGTGCGTGCAGCCCCGGAACCAGGCGCCCGCCGAGGAACCAACCAAACCTCTTTCTGTAGT
CCCCTCGCGGACGTTATTTCTTACAGCTCTGAGCAAAAATTCAAATGAATCAAACCTTTCAACAACGGA
TCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGT
GAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCA
TTTCAACCCTCGAACCCTCCGGGGGATCGGCGTTGGGGATCGGGACCCCTCACACGGGTGCCGGCCCC
GAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACAACCTCGCACCGGGAGCGC
GGCGCGTCCACGTCCGTAAAACACCCAACCTTTCTGAAATG

>MN552156.1 *Trichoderma asperellum*

TTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCAATGTGAACGTTACCAAACCTGTTGCCTCGGCGGGGTACGCCC
CGGGTGCCTCGCAGCCCCGGAACCAGGCGCCCGCCGAGGAACCAACCAAACCTCTTTCTGTAGTCCCC
TCGCGGACGTTATTTCTTACAGCTCTGAGCAAAAATTCAAATGAATCAAACCTTTCAACAACGGATCTC
TTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAA
TCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTT
CAACCCTCGAACCCTCCGGGGGATCGGCGTTGGGGATCGGGACCCCTCACACGGGTGCCGGCCCCGA

AATACAGTGGCGGTCTCGCCGAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACAACCTCGCACCGGGAGCGCGGC
GCGTCCACGTCCGTAAAACACCCAACCTTTCTGAAATGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGA
ACTTAAGCATATC

>MN552155.1 *Trichoderma asperellum*

TTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCAATGTGAACGTTACCAAACCTGTTGCCTCGGCGGGGTCACGCCC
CGGGTGCCTCGCAGCCCCGGAACCAGGCGCCCGCCGGAGGAACCAACCAAACCTTTTCTGTAGTCCCC
TCGCGGACGTATTTCTTACAGCTCTGAGCAAAAATTCAAAATGAATCAAACCTTTCAACAACGGATCTC
TTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAA
TCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTT
CAACCTCGAACCCCTCCGGGGGATCGGCGTTGGGGATCGGGACCCCTCACACGGGTGCCGGCCCCGA
AATACAGTGGCGGTCTCGCCGAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACAACCTCGCACCGGGAGCGCGGC
GCGTCCACGTCCGTAAAACACCCAACCTTTCTGAAATGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGA
ACTTAAGCATATCAAT

>MN046976.1 *Trichoderma asperellum*

ACGTATGGTACGCGGAGGGACATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCAATGTGAACGTTACCAAACCT
GTTGCCTCGGCGGGGTCACGCCCCGGGTGCGTTCGAGCCCCGGAACCAGGCGCCCGCCGGAGGAACCA
ACCAAACCTTTTCTGTAGTCCCCTCGCGGACGTATTTCTTACAGCTCTGAGCAAAAATTCAAAATGAAT
CAAACCTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAA
TGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGG
GCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCTCGAACCCCTCCGGGGGATCGGCGTTGGGGATCGGGACCC
CTCACACGGGTGCCGGCCCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGC
CAACTCGCACCGGGAGCGCGGCGGTCCACGTCCGTAAAACACCCAACCTTTCTGAAATGTTGACCTCGG
ATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCCGGAGGAAAA

>MT133865.1 *Trichoderma sp.*

ATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCAATGTGAACGTTACCAAACCTGTTGCCTCGGCGGGGTCACGCC
CCGGGTGCGTTCGAGCCCCGGAACCAGGCGCCCGCCGGAGGAACCAACCAAACCTTTTCTGTAGTCCC
CTCGCGGACGTATTTCTTACAGCTCTGAGCAAAAATTCAAAATGAATCAAACCTTTCAACAACGGATCT
CTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGA
ATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATT
TCAACCTCGAACCCCTCCGGGGGATCGGCGTTGGGGATCGGGACCCCTCACACGGGTGCCGGCCCCG
AAATACAGTGGCGGTCTCGCCGAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACAACCTCGCACCGGGAGCGCG
GCGCGTCCACGTCCGTAAAACACCCAACCTTTCTGAAATGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCT
GAACTTAAGCTATC

>MK427695.1 *Trichoderma asperelloides*

CCTAGCTGACGCGGAGGACATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCAATGTGAACGTTACCAAACCTGTT
GCCTCGGCGGGGTCACGCCCCGGGTGCGTTCGAGCCCCGGAACCAGGCGCCCGCCGGAGGAACCAACC
AAACTCTTTCTGTAGTCCCCTCGCGGACGTATTTCTTACAGCTCTGAGCAAAAATTCAAAATGAACAAA
ACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTG
AATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCAT
GCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCTCGAACCCCTCCGGGGGATCGGCGTTGGGGATCGGGACCCCTCA
CACGGGTGCCGGCCCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACAAC
TCGCACCGGGAGCGCGGCGGTCCACGTCCGTAAAACACCCAACCTTTCTGAAATGTTGACCTCGGATCA
GGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCT

>Secuencia L

TACCGAATTTAACAACCTCCCAAACCCATGTGAACGTTACCAAACCTGTTGCCTCGGCGGGGTCACGCCCC
GGGTGCGTTCGAGCCCCGGAACCAGGCGCCCGCCGGAGGAACCAACCAAACCTTTTCTGTAGTCCCCT

CGCGGACGTATTTCTTACAGCTCTGAGCAAAAATTCAAATGAATCAAACCTTTCAACAACGGATCTCT
TGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAAT
CATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTT
AACCTCGAACCCTCCGGGGGATCGGCGTTGGGGATCGGGACCCCTCACACGGGTGCCGGCCCCGAA
ATACAGTGGCGGTCTCGCCGCAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACAACCTCGCACCGGGAGCGCGGGC
GTCCACGTCCGTAACAC

>NR_134419.1 *Trichoderma yunnanense*

GTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCAATGT
GAACGTTACCAAACCTGTTGCCTCGGCGGGGTACGCCCGGGTGCCTGCGAGCCCCGGAACCAGGCGC
CCGCCGGAGGAACCAACCAAACCTTTTCTGTAGTCCCCTCGCGGACGTATTTCTTACAGCTCTGAGCAA
AAATTCAAATGAATCAAACCTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCG
AAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCC
CCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCTCGAACCCTCCGGGGGATCGGCGT
TGGGGATCGGGACCCCTCACACGGGTGCCGGCCCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGCAGCCTCTCCT
GCGCAGTAGTTTGCACAACCTCGCACCGGGAGCGCGGGCGCTCCACGTCCGTAACACCCAACTTTCTG
AAATGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATAT

>NR_130668.1 *Trichoderma asperellum*

CCGAGTTTACAACCTCCCAAACCAATGTGAACGTTACCAAACCTGTTGCCTCGGCGGGGTACGCCCCGG
GTGCGTCGCAGCCCCGGAACCAGGCGCCCGCGGAGGAACCAACCAAACCTTTTCTGTAGTCCCCTCGC
GGACGTATTTCTTTACAGCTCTGAGCAAAAATTCAAATGAATCAAACCTTTCAACAACGGATCTCTTG
GTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCA
TCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAA
CCCTCGAACCCTCCGGGGGATCGGCGTTGGGGATCGGGACCCCTCACACGGGTGCCGGCCCCCTAAAT
ACAGTGGCGGTCTCGCCGCAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACAACCTCGCACCGGGAGCGCGGGC
GTCCACGTCCGTAACACCCAACTTTCTGAAATG

>NR_138438.1 *Trichoderma lieckfeldtia*

CTCGGAGGGATCATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCAATGTGAACGTTACCGAAACCTGTTGCCTCG
GCGGGGTACGCCCCGGGTGCGTGCAGCCCCGGAACCAGGCGCCCGCGGAGGAACCAACCAAACCTC
TTTCTGTAGTCCCCTCGCGGACGTTATTTCTTACAGCTCTGAGCAAAAATTCAAATGAATCAAACCTTT
CAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTG
CAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTG
TCCGAGCGTCATTTCAACCCTCGAACCCTCCGGGGGATCGGCGTTGGGGATCGGGACCCCTCACACGG
GTGCCGGCCCTGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGCAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACAGCTCGCA
CCGGGAGCGCGGCGCGTCCACGTCCGTAACACCCAACTTTCTGAAATGTTGACCTCGGATCAGGTA
GGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATC

>NR_134359.1 *Trichoderma theobromicola*

CTCGGAGGGATCATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCAATGTGAACGTTACCAAACCTGTTGCCTCG
CGGGGTACGCCCCGGGTGCGTGCAGCCCCGGAACCAGGCGCCCGCGGAGGAACCAACCAAACCTCT
TTCTGTAGTCCCCTCGCGGACGTTATTTCTTACAGCTCTGAGCAAAAATTCAAATGAATCAAACCTTT
ACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGC
AGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGT
CCGAGCGTCATTTCAACCCTCGAACCCTCCGGGGGATCGGCGTTGGGGATCGGGACCCCTCACACGG
GGTGCCGGCCCTGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGCAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACAACCTCG
ACCGGGAGCGCGGCGCGTCCACGTCCGTAACACCCAACTTTCTGAAATG

>NR_134360.1 *Trichoderma paucisporum*

CTGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCAATGTGAACGTTACCAAACCTGTTGCCTCG
GCGGGGTCACGCCCCGGGTGCGTTCGAGCCCCGGAACCAGGCGCCCCGCCGGAGGGACCAACCAAACCT
TTTCTGTAGTCCCCTCGCGGACGTATTTCTTACAGCTCTGAGCAAAAATTCAAAATGAATCAAAACT
TTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATT
GCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCT
GTCCGAGCGTCATTTCAACCCTCGAACCCCTCGGGGGGATCGGCGTTGGGGATCGGGACCCCTCACA
CGGGTGCCGGCCCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGCAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACAACCT
GCACCGGGAGCGCGGCGGTCCACGTCCGTAAAACACCCAACCTTTCTGAAATG

>Secuencia M

GGACTTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCATGTGAACGTTACCAAACCTGTTGCCTCGGCGGGGTCACG
CCCCGGGTGCGTTCGAGCCCCGGAACCAGGCGCCCCGCCGGAGGAACCAACCAAACCTTTTCTGTAGTC
CCCTCGCGGACGTATTTCTTACAGCTCTGAGCAAAAATTCAAAATGAATCAAAACTTTCAACAACGGAT
CTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGT
GAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCA
TTCAACCCTCGAACCCCTCCGGGGGATCGGCGTTGGGGATCGGGACCCCTCACACGGGTGCCGGCCCC
GAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGCAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACAACCTCGCACCGGGAGCGCG
GCGCGTCCACGTCCGTAAAACACCCAA

>MT367901.1 *Trichoderma asperellum*

AAGAAGGGATCATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCAATGTGAACGTTACCAAACCTGTTGCCTCGGC
GGGGTCACGCCCCGGGTGCGTTCGAGCCCCGGAACCAGGCGCCCCGCCGGAGGAACCAACCAAACCTTT
TCTGTAGTCCCCTCGCGGACGTATTTCTTACAGCTCTGAGCAAAAATTCAAAATGAATCAAAACTTTCA
ACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCA
GAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTC
CGAGCGTCAATTTCAACCCTCGAACCCCTCCGGGGGATCGGCGTTGGGGATCGGGACCCCTCACACGGGT
GCCGGCCCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGCAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACAACCTCGCAC
GGGAGCGCGGCGCGTCCACGTCCGTAAAACACCCAACCTTTCTGAAATGTTGACCTCGGATCAGGTAGG
AATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAA

>MT133310.1 *Trichoderma asperellum*

TCCGTAGGGTAACCTGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCAATGTGAACGTTACCA
AACTGTTGCCTCGGCGGGGTCACGCCCCGGGTGCGTTCGAGCCCCGGAACCAGGCGCCCCGCCGGAGGA
ACCAACCAAACCTTTTCTGTAGTCCCCTCGCGGACGTATTTCTTACAGCTCTGAGCAAAAATTCAAAAT
GAATCAAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAA
GTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCGCCAGTATTCTG
GCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCAATTTCAACCCTCGAACCCCTCCGGGGGATCGGCGTTGGGGATCGGG
ACCCCTCACACGGGTGCCGGCCCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGCAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTT
TGCACAACCTCGCACCGGGAGCGCGGCGGTCCACGTCCGTAAAACACCCAACCTTTCTGAAATGTTGACC
TCGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAAAAATCCGGAGGAA

>MT126695.1 *Trichoderma asperellum*

CTTCCGTAGGGTAACCTGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCAATGTGAACGTTAC
CAAACCTGTTGCCTCGGCGGGGTCACGCCCCGGGTGCGTTCGAGCCCCGGAACCAGGCGCCCCGCCGGAG
GAACCAACCAAACCTTTTCTGTAGTCCCCTCGCGGACGTATTTCTTACAGCTCTGAGCAAAAATTCAAA
ATGAATCAAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGAT
AAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCGCCAGTATTC
TGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCAATTTCAACCCTCGAACCCCTCCGGGGGATCGGCGTTGGGGATCG
GGACCCCTCACACGGGTGCCGGCCCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGCAGCCTCTCCTGCGCAGTA

GTTTGCACAACCTCGCACCGGGAGCGCGGGCGGTCCACGTCCGTAAAACACCCAACCTTTCTGAAATGTGA
CCTCGGATCAGTGTAGAAATACCCACTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAA

>MT150599.1 *Trichoderma* sp.

GTAGGTGAACCTGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCAATGTGAACGTTACCAAA
CTGTTGCCTCGGCGGGGTACGCCCCGGGTGCGTTCGACCCCCGGAACCAGGCGCCCCGCCGGAGGAAC
CAACCAAACCTCTTTCTGTAGTCCCCTCGCGGACGTATTTCTTACAGCTCTGAGCAAAAATTCAAAATGA
ATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGT
AATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCGCCAGTATTCTGGC
GGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCCTCGAACCCCTCCGGGGGATCGGCGTTGGGGATCGGGAC
CCCTCACACGGGTGCCGGCCCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGCAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTG
CACAACCTCGCACCGGGAGCGCGGGCGGTCCACGTCCGTAAAACACCCAACCTTTCTGAAATGTTGACCTC
GGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGA

>MF114236.1 *Trichoderma asperelloides*

CCCTAATGGTGACGCGGAGGGACATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCAATGTGAACGTTACCAAA
CTGTTGCCTCGGCGGGGTACGCCCCGGGTGCGTTCGACCCCCGGAACCAGGCGCCCCGCCGGAGGAAC
CAACCAAACCTCTTTCTGTAGTCCCCTCGCGGACGTATTTCTTACAGCTCTGAGCAAAAATTCAAAATGA
ATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGT
AATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCGCCAGTATTCTGGC
GGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCCTCGAACCCCTCCGGGGGATCGGCGTTGGGGATCGGGAC
CCCTCACACGGGTGCCGGCCCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGCAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTG
CACAACCTCGCACCGGGAGCGCGGGCGGTCCACGTCCGTAAAACACCCAACCTTTCTGAAATGTTGACCTC
GGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAA

>Secuencia N

AACAACCTCCCAAACCCATGTGAACGTTACCAAACTGTTGCCTCGGCGGGGTACGCCCCGGGTGCGTTCG
CAGCCCCGGAACCAGGCGCCCCGCCGGAGGAACCAACCAAACCTCTTTCTGTAGTCCCCTCGCGGACGTA
TTTCTTACAGCTCTGAGCAAAAATTCAAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGC
ATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCT
TTGAACGCACATTGCGCCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCCTCGAA
CCCCTCCGGGGGATCGGCGTTGGGGATCGGGACCCCTCACACGGGTGCCGGCCCCGAAATACAGTGGC
GGTCTCGCCGCAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACAACCTCGCACCGGGAGCGCGGGCGGTCCACGT
CGTAAAACACCCAACCTTTCT

>MK928418.1 *Trichoderma asperellum*

CTTGATTGGTGAAAGTTGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTACA
ACTCCCAAACCCAATGTGAACGTTACCAAACTGTTGCCTCGGCGGGGTACGCCCCGGGTGCGTTCGACG
CCCCGGAACCAGGCGCCCCGCCGGAGGAACCAACCAAACCTCTTTCTGTAGTCCCCTCGCGGACGATTTCT
TACAGCTCTGAGCAAAAATTCAAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGA
TGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAA
CGCACATTGCGCCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCCTCGAACCCCT
CCGGGGGATCGGCGTTGGGGATCGGGACCCCTCACACGGGTGCCGGCCCCGAAATACAGTGGCGGTCT
CGCCGCAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACAACCTCGCACCGGGAGCGCGGGCGGTCCACGTCCGTAA
AACACCCAACCTTTCTGAAATGTGACCTCGGATCAGGTTTGATGGCCCCCCCC

>MT530062.1 *Trichoderma asperellum*

TTTGAGGAAGTAAAAGTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTA
CAACTCCCAAACCCAATGTGAACGTTACCAAACTGTTGCCTCGGCGGGGTACGCCCCGGGTGCGTTCG
AGCCCCGGAACCAGGCGCCCCGCCGGAGGAACCAACCAAACCTCTTTCTGTAGTCCCCTCGCGGACGATTT
TCTTACAGCTCTGAGCAAAAATTCAAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCAT
CGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTT

GAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCTCGAACC
CCTCCGGGGGATCGGCGTTGGGGATCGGGACCCCTCACACGGGTGCCGGCCCCGAAATACAGTGGCGG
TCTCGCCGACGCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACAACCTCGCACCCGGGAGCGCGGCGGTCCACGTCCG
TAAAACACCCAACCTTTCTGAAATGTGACCTCGGATCAGGAGATGCCCCG

>MT529873.1 *Trichoderma asperellum*

TTTTGGAAGTAAAAGTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTACA
ACTCCCAAACCCAATGTGAACGTTACCAAACCTGTTGCCCTCGGCGGGGTACGCCCCGGGTGCGTCGCAG
CCCCGGAACCAGGCGCCCCGCCGAGGAACCAACCAAACCTTTTCTGTAGTCCCCTCGCGGACGTATTTT
TTACAGCTCTGAGCAAAAATTCAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCG
ATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGA
ACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCTCGAACCCC
TCCGGGGGATCGGCGTTGGGGATCGGGACCCCTCACACGGGTGCCGGCCCCGAAATACAGTGGCGGT
TCGCCGACGCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACAACCTCGCACCCGGGAGCGCGGCGGTCCACGTCCGTA
AAACACCCAACCTTTCTGAAATGTTGACCTCGGATCAGGTAGATCATTAT

>MT150599.1 *Trichoderma sp.*

GTAGGTGAACCTGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCAATGTGAACGTTACCAA
CTGTTGCCCTCGGCGGGGTACGCCCCGGGTGCGTCGCAGCCCCGGAACCAGGCGCCCGCCGAGGAAC
CAACCAAACCTTTTCTGTAGTCCCCTCGCGGACGTATTTCTTACAGCTCTGAGCAAAAATTCAAATGA
ATCAAACCTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGT
AATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGC
GGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCTCGAACCCTCCGGGGGATCGGCGTTGGGGATCGGGAC
CCCTCACACGGGTGCCGGCCCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGCAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTG
CACAACCTCGCACCCGGGAGCGCGGCGGTCCACGTCCGTA AAAACACCCAACCTTTCTGAAATGTTGACCTC
GGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGA

>MT133865.1 *Trichoderma sp.*

ATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCAATGTGAACGTTACCAAACCTGTTGCCCTCGGCGGGGTACGCC
CCGGGTGCGTCGCAGCCCCGGAACCAGGCGCCCGCCGGAGGAACCAACCAAACCTTTTCTGTAGTCCC
CTCGCGGACGTATTTCTTACAGCTCTGAGCAAAAATTCAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCT
CTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGA
ATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATT
TCAACCCTCGAACCCTCCGGGGGATCGGCGTTGGGGATCGGGACCCCTCACACGGGTGCCGGCCCCG
AAATACAGTGGCGGTCTCGCCGCAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACAACCTCGCACCCGGGAGCGCG
GCGCGTCCACGTCCGTA AAAACACCCAACCTTTCTGAAATGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCT
GAACTTAAGCATATC

>Secuencia O

GGACATTACCGAGTTTAAACAACCTCCCAAACCCATGTGAACGTTACCAAACCTGTTGCCCTCGGCGGGGTCA
CGCCCCGGGTGCGTCGCAGCCCCGGAACCAGGCGCCCGCCGGAGGAACCAACCAAACCTTTTCTGTAG
TCCCCTCGCGGACGTATTTCTTACAGCTCTGAGCAAAAATTCAAATGAATCAAACTTTCAACAACG
GATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTC
AGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCG
TCATTTCAACCCTCGAACCCTCCGGGGGATCGGCGTTGGGGATCGGGACCCCTCACACGGGTGCCGGC
CCCTAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGCAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACAACCTCGCACCCGGGAGC
GCGGCGGTCCACGTCCGTA AAAACACCCAACCTTTCTGAAATGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCT
GAACTTAAGCATATC

>NR_130668.1 *Trichoderma asperellum*

CCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCAATGTGAACGTTACCAAACCTGTTGCCCTCGGCGGGGTACGCCCCGG
GTGCGTCGCAGCCCCGGAACCAGGCGCCCGCCGGAGGAACCAACCAAACCTTTTCTGTAGTCCCCTCGC
GGACGTATTTCTTACAGCTCTGAGCAAAAATTCAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTG
GTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCA

TCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAA
CCCTCGAACCCCTCCGGGGGATCGGCGTTGGGGATCGGGACCCCTCACACGGGTGCCGGCCCCCTAAAT
ACAGTGGCGGTCTCGCCGAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACAACCTCGCACCGGGAGCGCGGCGC
GTCCACGTCCGTAAAACACCCAACCTTTCTGAAATG

>NR_134419.1 *Trichoderma yunnanense*

GTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCAATGT
GAACGTTACCAAACCTGTTGCCTCGGCGGGGTACGCCCGGGTGCCTCGCAGCCCCGGAACCAGGCGC
CCGCCGGAGGAACCAACCAAACCTTTCTGTAGTCCCTCGCGGACGTATTTCTTACAGCTCTGAGCAA
AAATTCAAATGAATCAAACCTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCG
AAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCC
CCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCTCGAACCCCTCCGGGGGATCGGCGT
TGGGGATCGGGACCCCTCACACGGGTGCCGGCCCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGAGCCTCTCCT
GCGCAGTAGTTTGCACAACCTCGCACCGGGAGCGCGGCGGTCCACGTCCGTAAAACACCCAACCTTTCTG
AAATGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATAT

>NR_144874.1 *Trichoderma taiwanense*

CCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCAATGTGAACCATAACCAAACCTGTTGCCTCGGCGGGGTACGCCCCGG
GTGCGTCGCAGCCCCGGAACCAGGCGCCCGCGGAGGGACCAACCAAACCTTTCTGTAGTCCCCTCGC
GGACGTTATTTCTTACAGCTCTGAGCAAAAATTCAAAATGAATCAAACCTTTCAACAACGGATCTCTTG
GTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCA
TCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAA
CCCTCGAACCCCTCCGGGGGGTTCGGCGTTGGGGATCGGGGACCCCTAAGACGGGATCCCGGCCCCGAA
ATACAGTGGCGGTCTCGCCGAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACAACCTCGCACCGGGAGCGCGGCG
CGTCCACGTCCGTAAAACACCCAACCTTTCTGAAATG

>NR_138438.1 *Trichoderma lieckfeldtia*

CTCGGAGGGATCATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCAATGTGAACGTTACCGAAACTGTTGCCTCG
GCGGGGTACGCCCCGGGTGCGTCGCAGCCCCGGAACCAGGCGCCCGCGGAGGAACCAACCAAACCTC
TTTCTGTAGTCCCCTCGCGGACGTTATTTCTTACAGCTCTGAGCAAAAATTCAAAATGAATCAAACCTTT
CAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTG
CAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTG
TCCGAGCGTCATTTCAACCCTCGAACCCCTCCGGGGGATCGGCGTTGGGGATCGGGACCCCTCACACGG
GTGCCGGCCCTGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACAGCTCGCA
CCGGGAGCGCGGCGCGTCCACGTCCGTAAAACACCCAACCTTTCTGAAATGTTGACCTCGGATCAGGTA
GGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATC

>NR_134359.1 *Trichoderma theobromicola*

CTCGGAGGGATCATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCAATGTGAACGTTACCAAACCTGTTGCCTCG
CGGGGTACGCCCCGGGTGCGTCGCAGCCCCGGAACCAGGCGCCCGCGGAGGAACCAACCAAACCTCT
TTCTGTAGTCCCCTCGCGGACGTTATTTCTTACAGCTCTGAGCAAAAATTCAAAATGAATCAAACCTTT
AACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCA
GAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGT
CCGAGCGTCATTTCAACCCTCGAACCCCTCGGGGGGATCGGCGTTGGGGATCGGGACCCCTCACACG
GGTGCCGGCCCTGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACAACCTCGC
ACCGGGAGCGCGGCGCGTCCACGTCCGTAAAACACCCAACCTTTCTGAAATG

>Secuencia P

ATGTGAACGTTACCAAACCTGTTGCCTCGGCGGGGTACGCCCGGGTGCCTCGCAGCCCCGGAACCAG
GCGCCCGCGGAGGAACCAACCAAACCTTTCTGTAGTCCCCTCGCGGACGTATTTCTTTACAGCTCTG
AGCAAAAATTCAAAATGAATCAAACCTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACG
CAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGC

GCCCCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCTCGAACCCCTCCGGGGGATC
GGCGTTGGGGATCGGGACCCCTCACACGGGTGCCGGCCCCTAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGAGCC
TCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACAACCTCGCACCGGGAGCGCGGCGCGTCCACGTCCGTAACACCCAAAC
TTTCTGAAATGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATA

> MT341772.1 *Trichoderma asperellum*

TCCGTAGGTGAACCTGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCAATGTGAACGTTACCA
AACTGTTGCCTCGGCGGGGTACGCCCCGGGTGCGTCGCAGCCCCGGAACCAGGCGCCCGCGGAGGA
ACCAACCAAACCTCTTTCTGTAGTCCCCTCGCGGACGTATTTCTTTACAGCTCTGAGCAAAAATTCAAAA
TGAATCAAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATA
AGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCT
GGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCTCGAACCCCTCCGGGGGATCGGCGTTGGGGATCGG
GACCCCTCACACGGGTGCCGGCCCCTAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGCAGCCTCTCCTGCGCAGTAGT
TTGCACAACCTCGCACCGGGAGCGCGGCGCGTCCACGTCCGTAACACCCAACTTTCTGAAATGTTGAC
CTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAA

> MH215555.1 *Trichoderma asperellum*

CGGAAGTAAAAAGTCGTAAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTACA
ACTCCCAAACCCAATGTGAACGTTACCAAACCTGTTGCCTCGGCGGGGTACGCCCCGGGTGCGTCGCAG
CCCCGGAACCAGGCGCCCCCGGAGGAACCAACCAAACCTCTTTCTGTAGTCCCCTCGCGGACGTATTTT
TTTACAGCTCTGAGCAAAAATTCAAAATGAATCAAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATC
GATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTG
AACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCTCGAACCC
CTCCGGGGGATCGGCGTTGGGGATCGGGACCCCTCACACGGGTGCCGGCCCCTAAATACAGTGGCGGT
CTCGCCGCAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACAACCTCGCACCGGGAGCGCGGCGCGTCCACGTCCGT
AAAACACCCAACCTTTCTGAAATGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCA
ATAAGCGAGAGGAAAA

> MH215552.1 *Trichoderma asperellum*

AGGAAGTAAAAAAGTCGTAAACCAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTACA
ACTCCCAAACCCAATGTGAACGTTACCAAACCTGTTGCCTCGGCGGGGTACGCCCCGGGTGCGTCGCAG
CCCCGGAACCAGGCGCCCCCGGAGGAACCAACCAAACCTCTTTCTGTAGTCCCCTCGCGGACGTATTTT
TTTACAGCTCTGAGCAAAAATTCAAAATGAATCAAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATC
GATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTG
AACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCTCGAACCC
CTCCGGGGGATCGGCGTTGGGGATCGGGACCCCTCACACGGGTGCCGGCCCCTAAATACAGTGGCGGT
CTCGCCGCAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACAACCTCGCACCGGGAGCGCGGCGCGTCCACGTCCGT
AAAACACCCAACCTTTCTGAAATGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCA
TAAGCGAGAGGAAAA

> MH284894.1 *Trichoderma sp*

CTTGTTCAATTAGAGGAAGTAAAAGTCGTAAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATT
ACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCAATGTGAACGTTACCAAACCTGTTGCCTCGGCGGGGTACGCCCCG
GGTGCCTCGCAGCCCCGGAACCAGGCGCCCCCGGAGGAACCAACCAAACCTCTTTCTGTAGTCCCCTC
GCGGACGTATTTCTTTACAGCTCTGAGCAAAAATTCAAAATGAATCAAAACTTTCAACAACGGATCTCT
TGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAAT
CATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTT
AACCCCTCGAACCCCTCCGGGGGATCGGCGTTGGGGATCGGGACCCCTCACACGGGTGCCGGCCCCTAA
ATACAGTGGCGGTCTCGCCGCAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACAACCTCGCACCGGGAGCGCGGCG
CGTCCACGTCCGTAACACCCAACTTTCTGAAATGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAA

CTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGA

> MH283947.1 *Trichoderma sp*

TCCGTAGGTGAACCTGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCAATGTGAACGTTACCA
AACTGTTGCCTCGGCGGGGTACGCCCCGGGTGCGTCGCAGCCCCGGAACCAGGCGCCCGCCGGAGGA
ACCAACCAAACCTTTTCTGTAGTCCCCTCGCGGACGTATTTCTTTACAGCTCTGAGCAAAAATTCAAAA
TGAATCAAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATA
AGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCT
GGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCTCGAACCCCTCCGGGGGATCGGCGTTGGGGATCGG
GACCCCTCACACGGGTGCCGGCCCCCTAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGCAGCCTCTCCTGCGCAGTAGT
TTGCACAACCTCGCACCGGGAGCGCGGCGCTCCACGTCCGTAAAACACCCAACCTTTCTGAAATGTTGAC
CTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGA

>Secuencia Q

CCATGTGAACGTTACCAAACCTGTTGCCTCGGCGGGGTACGCCCCGGGTGCGTCGCAGCCCCGGAACC
AGGCGCCCGCCGGAGGAACCAACCAAACCTTTTCTGTAGTCCCCTCGCGGACGTATTTCTTACAGCTCT
GAGCAAAAATTCAAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAAC
GCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATT
GCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCTCGAACCCCTCCGGGGGA
TCGGCGTTGGGGATCGGGACCCCTCACACGGGTGCCGGCCCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGCAG
CCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACAACCTCGCACCGGGAGCGCGGCG

> MT573541.1 *Trichoderma asperellum*

CGCCCCGCAATTGGCTTCCACCCATGTGAACGTTACCAAACCTGTTGCCTCGGCGGGGTACGCCCCG
GGTGCCTCGCAGCCCCGGAACCAGGCGCCCGCGGAGGAACCAACCAAACCTTTTCTGTAGTCCCCTC
GCGGACGTATTTCTTACAGCTCTGAGCAAAAATTCAAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTT
GGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATC
ATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCA
ACCCTCGAACCCCTCCGGGGGATCGGCGTTGGGGATCGGGACCCCTCACACGGGTGCCGGCCCCGAAA
TACAGTGGCGGTCTCGCCGCAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACAACCTCGCACCGGGAGCGCGGCG
GTCCACGTCCGTAAAACACCCAACCTTCTGAAAGTGACCTCGGATCAGGACAGTCCTTTTC

>GU176454.1 *Trichoderma asperellum*

CCTCGCAGCGGGAGGATATTCCGAGTTACACTCCCAACCCATGTGAACGTTACCAAACCTGTTGCCTCGG
CGGGGTACGCCCCGGGTGCGTCGCAGCCCCGGAACCAGGCGCCCGCCGGAGGAACCAACCAAACCTCT
TTCTGTAGTCCCCTCGCGGACGTATTTCTTACAGCTCTGAGCAAAAATTCAAAATGAATCAAACTTTT
AACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGC
AGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGT
CCGAGCGTCATTTCAACCCTCGAACCCCTCCGGGGGATCGGCGTTGGGGATCGGGACCCCTCACACGG
GTGCCGGCCCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGCAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACAACCTCGCA
CCGGGAGCGCGGCGCTCCACGTCCGTAAAACACCCAACCTTTCTGAAATGTTGACCTCGGATCAGGTA
GGAA

> GU176445.1 *Trichoderma asperellum*

CCTTGGGACGGGAGGACTTCCGAGTTACAACCTCCCAACCCATGTGAACGTTACCAAACCTGTTGCCTCGG
CGGGGTACGCCCCGGGTGCGTCGCAGCCCCGGAACCAGGCGCCCGCCGGAGGAACCAACCAAACCTCT
TTCTGTAGTCCCCTCGCGGACGTATTTCTTACAGCTCTGAGCAAAAATTCAAAATGAATCAAACTTTT
AACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGC
AGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGT
CCGAGCGTCATTTCAACCCTCGAACCCCTCCGGGGGATCGGCGTTGGGGATCGGGACCCCTCACACGG
GTGCCGGCCCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGCAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACAACCTCGCA
CCGGGAGCGCGGCGCTCCACGTCCGTAAAACACCCAACCTTTCTGAAATGTTGACCTCGGATCAGGTA
GGAA

GGAA

> GU176467.1 *Hypocrea lixii*

GGCTTTGGAGCGGAGGATCTTACGAGTTACTCTCCCAACCCATGTGAACGTTACCAAACCTGTTGCCTCG
GCGGGGTCACGCCCCGGGTGCGTCGCAGCCCCGGAACCAGGCGCCCGCCGGAGGAACCAACCAAACCTC
TTTCTGTAGTCCCCTCGCGGACGTATTTCTTACAGCTCTGAGCAAAAATTCAAATGAATCAAACCTTTT
AACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGC
AGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGT
CCGAGCGTCATTTCAACCCTCGAACCCTCCGGGGGATCGGCGTTGGGGATCGGGACCCCTCACACGG
GTGCCGGCCCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGCAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACAACCTCGCA
CCGGGAGCGCGGCGCGTCCACGTCCGTAAAACACCCAACCTTTCTGAAATGTTGACCTCGGATCAGGTA
GGAA

> GU176451.1 *Trichoderma viride*

CCTTTGGAGCGGAGGATATTCCGAGTTACTCTCCCAACCCATGTGAACGTTACCAAACCTGTTGCCTCG
GCGGGGTCACGCCCCGGGTGCGTCGCAGCCCCGGAACCAGGCGCCCGCCGGAGGAACCAACCAAACCTC
TTTCTGTAGTCCCCTCGCGGACGTATTTCTTACAGCTCTGAGCAAAAATTCAAATGAATCAAACCTTTT
AACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGC
AGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGT
CCGAGCGTCATTTCAACCCTCGAACCCTCCGGGGGATCGGCGTTGGGGATCGGGACCCCTCACACGG
GTGCCGGCCCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGCAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACAACCTCGCA
CCGGGAGCGCGGCGCGTCCACGTCCGTAAAACACCCAACCTTTCTGAAATGTTGACCTCGGATCAGGTA
GGAA

Secuencia R

CCCATGTGAACGTTACCAAACCTGTTGCCTCGGCGGGACTCTGCCCCGGGTGCGTCGCAGCCCCGGACCA
AGGCGCCCCGCGGAGGACCAACCAAACCTCTTATTGTATAACCCCTCGCGGGTTTTTTACTATCTGAGC
CATCTCGGCGCCCCCTCGTGGGCGTTTTCGAAAATGAATCAAACCTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTG
GCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAAT
CTTTGAACGCACATTGCGCCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCTCG
AACCCCTCCGGGGGGTCTGGCGTTGGGGATCGGCCCTTTACGGGGCCCGCCCCGAAATACAGTGGCGGT
CTCGCCGCAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACACTCGCATCGGGAGCGCGGCGCGTCCACAGCCGTT
AAACACCCCAAACCTTCTGAAATGTTGACCTCGGATCAGGTAGGA

>NR_138428.1 *Trichoderma virens*

TGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTACAATCCCAAAACCCAATGTGAACGTTACCAAACCTGTTGCCTCGGG
GGGATCTCTGCCCCGGGTGCGTCGCAGCCCCGGACCAAGGCGCCCGCCGGAGGACCAACCAAACCTCT
TATTGTATAACCCCTCGCGGGTTTTTTACTATCTGAGCCATCTCGGCGCCCCCTCGTGGGCGTTTTCGAAA
TGAATCAAACCTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATA
AGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCGCCAGTATTCT
GGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCTCGAACCCTCCGGGGGGTCTGGCGTTGGGGATCGG
CCCTTTACGGGGCCCGCCCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGCAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGC
CACTCGCATCGGGAGCGCGGCGCGTCCACAGCCGTTAAACACCCCAAACCTTCTGAAATGTTGACCTCGG
ATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCA

>NR_134370.1 *Trichoderma crassum*

TGGAAGTAAAAGTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTACAAC
TCCCAAAACCCAATGTGAACGTTACCAAACCTGTTGCCTCGGCGGGATCTCTGCCCCGGGCGCGTCGCAGC
CCCGGACCAAGGCGCCCGCCGGAGGACCAACCAAACCTCTTATTGTATAACCCCTCGCGGGTTTTTTAC
TATCTGAGCCATCTCGGCGCCCCCTCGTGGGCGTTTTCGAAAATGAATCAAACCTTTCAACAACGGATCTC
TTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAA
TCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTT

CAACCCCTCGAACCCCTCCGGGGGGTTCGGCGTTGGGGATCGGCCCTTTACGGGGCCGGCCCCGAAATAC
AGTGGCGGTCTCGCCGAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACACTCGCATCGGGAGCGCGGCGCGTCC
ACAGCCGTTAAACACCCCAAACCTTCTGAAATGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTA
AGCATATCAATAAGCGGAGGA

>NR_134354.1 *Trichoderma longipile*

TGGAAGTAAAAGTCGTACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTACAAC
CCCAAACCCAATGTGAACGTTACCAAACCTGTTGCCTCGGCGGGATCTCTGCCCCGGGTGCGTCGCAGCC
CCGGACCAAGGCGCCCCGCCGGAGGACCAACCAAACTCTTTATGTATACCCCTCGCGGGTTTTTTACA
ATCTGAGCCATCTCGGCGCCCTCGTGGGCGTTTCGAAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCT
TGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAAT
CATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTT
AACCTCGAACCCCTCCGGGGGGTTCGGCGTTGGGGATCGGCCCTTTACGGGGCCGGCCCCGAAATACA
GTGGCGGTCTCGCCGAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACACTCGCATCGGGAGCGCGGCGCGTCCA
TTGCCGTAACACCCAACTTTCTGAAATGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGACTTAAGC
ATATCAATAAGCGGAGGA

>NR_144881.1 *Trichoderma tibetense*

TTTACAACCTCCCAAACCCAATGTGAACGTTACCAAACCTGTTGCCTCGGCGGGATCTCTGCCCCGGGTGC
GTCGCAGCCCCGGACCAAGGCGCCCGCCGGAGGACCAACCAAACTCTTATTGTATACCCCTCGCGG
GTTTTTTATTATCTGAGCCATCTCGGCGCCCTTTCGGGCGTTTCGAAAATGAATCAAACTTTCAACAA
CGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAAT
TCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAG
CGTCATTTCAACCCTCGAACCCCTCCGGGGGGTTCGGCGTTGGGGATCGGCCCTTTACCGGCCGGCCCCG
AAATACAGTGGCGGTCTCGCCGAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACACTCGCACCGGGAGCGCGGG
GCAGTCCAATGCCGTAACACCCAACT

>NR_144880.1 *Trichoderma shennongjianum*

TTTACAACCTCCCAAACCCAATGTGAACGTTACCAAACCTGTTGCCTCGGCGGGATCTCTGCCCCGGGCGC
GTCGCAGCCCCGGACCAAGGCGCCCGCCGGAGGACCAACCAAACTCTTGTGTATACCCCTCGCGG
GTCTTTTACTGTCTGAGCCATCTCGGCGCCCTCGCGGGCGTTTCGAAAATGAATCAAACTTTCAACA
ACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAA
TTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGA
GCGTCATTTCAACCCTCGAACCCCTCCGGGGGGTTCGGCGTTGGGGATCGGCCCTTACGGGGCCGGCCCC
CGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACACTCGCACCGGGAGCGCGG
GCGCGTCCATTGCCGTAACACCCAACT

>Secuencia S

CCATGTGAACGTTACCAAACCTGTTGCCTCGGCGGGATCTCTGCCCCGGGTGCGTCGCAGCCCCGGACCA
AGGCGCCCCGGGAGGACCAACCAAACTCTTATTGTATACCCCTCGCGGGTTTTTTACTATCTGAGC
CATCTCGGCGCCCTCGTGGGCGTTTCGAAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTG
GCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAAT
CTTTGAACGCACATTGCGCCCCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCTCG
AACCCCTCCGGGGGGTTCGGCGTTGGGGATCGGCCCTTTACGGGGCCGGCCCCGAAATACAGTGGCGGT
CTCGCCGAGCCTCTCCTGCGCAGTA

> MT229169.1 *Trichoderma virens*

AGGGTTTCAACTCCCAAACCCATGTGAACGTTACCAAACCTGTTGCCTCGGCGGGATCTCTGCCCCGGGTG
CGTCGCAGCCCCGGACCAAGGCGCCCGCCGGAGGACCAACCAAACTCTTATTGTATACCCCTCGCG
GGTTTTTTACTATCTGAGCCATCTCGGCGCCCTCGTGGGCGTTTCGAAAATGAATCAAACTTTCAAC
AACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGA
ATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCG

AGCGTCATTTCAACCCTCGAACCCCTCCGGGGGGTTCGGCGTTGGGGATCGGCCCTTTACGGGGCCGGCC
CCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGCAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACACTCGCATCGGGAGCGC
GGCGGTCCACAGCCGTTAAACACCCCAAACCTTCTGAAATGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCC
GCTGAACTTAAGCATATCAATAAGGCGGAGGAATTTAATAGCGATTTA

> MT530036.1 *Trichoderma virens*

AGTAAAAGTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTACAACCTCCC
AAACCCAATGTGAACGTTACCAAACCTGTTGCCTCGGCGGGATCTCTGCCCCGGGTGCGTCGCAGCCCCG
GACCAAGGCGCCCGCCGGAGGACCAACCAAAAACCTTTATTGTATACCCCTCGCGGGTTTTTTACTATC
TGAGCCATCTCGGCGCCCTCGTGGGCGTTTTCGAAAATGAATCAAAAACCTTTCAACAACGGATCTCTTG
TTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCAT
CGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAAC
CCTCGAACCCCTCCGGGGGGTTCGGCGTTGGGGATCGGCCCTTTACGGGGCCGGCCCCGAAATACAGTG
GCGGTCTCGCCGCAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACACTCGCATCGGGAGCGCGGGCGGTCCACAG
CCGTTAAACACCCCAAACCTTCTGAAATGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCA
TAT

> MT529862.1 *Trichoderma virens*

GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTACAACCT
CCCAAACCCAATGTGAACGTTACCAAACCTGTTGCCTCGGCGGGATCTCTGCCCCGGGTGCGTCGCAGCC
CCGGACCAAGGCGCCCGCCGGAGGACCAACCAAAAACCTTTATTGTATACCCCTCGCGGGTTTTTTACTA
TCTGAGCCATCTCGGCGCCCTCGTGGGCGTTTTCGAAAATGAATCAAAAACCTTTCAACAACGGATCTCTT
GGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATC
ATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCA
ACCCTCGAACCCCTCCGGGGGGTTCGGCGTTGGGGATCGGCCCTTTACGGGGCCGGCCCCGAAATACAG
TGCGGTCTCGCCGCAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACACTCGCATCGGGAGCGCGGGCGGTCCAC
AGCCGTTAAACACCCCAAACCTTCTGAAATGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAG
CATATCA

> MK870803.1 *Trichoderma sp*

TGGGGTTCGGGCTTCACTCCCAACCCATGTGAACGTTACCAAACCTGTTGCCTCGGCGGGATCTCTGCCCC
GGGTGCGTCGCAGCCCCGGACCAAGGCGCCCGCCGGAGGACCAACCAAAAACCTTTATTGTATACCCCT
TCGCGGGTTTTTTACTATCTGAGCCATCTCGGCGCCCTCGTGGGCGTTTTCGAAAATGAATCAAAAACCTT
CAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTG
CAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTG
TCCGAGCGTCATTTCAACCCTCGAACCCCTCCGGGGGGTTCGGCGTTGGGGATCGGCCCTTTACGGGGCC
GGCCCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGCAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACACTCGCATCGGGA
GCGCGGCGCGTCCACAGCCGTTAAACACCCCAAACCTTCTGAAATGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAAT
ACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAA

> MK870803.1 *Trichoderma sp*

TGGGGTTCGGGCTTCACTCCCAACCCATGTGAACGTTACCAAACCTGTTGCCTCGGCGGGATCTCTGCCCC
GGGTGCGTCGCAGCCCCGGACCAAGGCGCCCGCCGGAGGACCAACCAAAAACCTTTATTGTATACCCCT
TCGCGGGTTTTTTACTATCTGAGCCATCTCGGCGCCCTCGTGGGCGTTTTCGAAAATGAATCAAAAACCTT
CAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTG
CAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTG
TCCGAGCGTCATTTCAACCCTCGAACCCCTCCGGGGGGTTCGGCGTTGGGGATCGGCCCTTTACGGGGCC
GGCCCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGCAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACACTCGCATCGGGA
GCGCGGCGCGTCCACAGCCGTTAAACACCCCAAACCTTCTGAAATGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAAT
ACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAA

>Secuencia T

ACAACCTCCCAAACCCATGTGAACCATAACCAAACCTGTTGCCTCGGCCGGGGTACGCCCCCGGGTGCCTCGC
AGCCCCGGAACCCAGGCGCCCGCCGAGGGACCAACCAAACCTTTACTGTAGTCCCCTCGCGGACGTT
ATTTCTTACAGCTCTGAGCAAAAAATTCAAAATGAATCAAAACCTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTG
GCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAAT
CTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCTCG
AACCCCTCCGGGGGGTTCGGCGTTGGGGATCGGGAACCCCTCAGACGGGATCCCGGCCCGAAATACAG
TGGCGGTCTCGCCGAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACAACCTCGCACCGGGAGCGCGGCGCGTCCA
CGTCCGTAAAACACCCAACCTTTCTGAAATGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAG
CATATCA

>NR_111837.1 *Trichoderma erinaceum*

AGGGATCATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCAATGTGAACCATAACCAAACCTGTTGCCTCGGCCGGGG
TCACGCCCCGGGTGCCTCGCAGCCCCGGAACCCAGGCGCCCGCCGAGGGACCAACCAAACCTTTACT
GTAGTCCCCTCGCGGACGTTATTTCTTACAGCTCTGAGCAAAAAATTCAAAATGAATCAAAACCTTTCAA
CAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAG
AATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCC
GAGCGTCATTTCAACCCTCGAACCCCTCCGGGGGGTTCGGCGTTGGGGATCGGGAACCCCTCAGACGGG
ATCCCGGCCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACAACCTCGCA
CCGGGAGCGCGGCGCGTCCACGTCCGTAAAACACCCAACCTTTCTGAAATGTTGACCTCGGATCAGGTA
GGAATACCCGCTGAACTTAA

>NR_159053.1 *Trichoderma songyi*

GTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCAATGTGAACCATAACCAAACCTGT
TGCCTCGGCCGGGGTACGCCCCGGGTGCGTTCGAGCCCCGGAACCCAGGCGCCCGCCGAGGGACCAAC
CAAACCTTTACTGTAGTCCCCTCGCGGACGTTATTTCTTACAGCTCTGAGCAAAAAATTCAAATGAATC
AAAACCTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAAT
GTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGG
CATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCTCGAACCCCTCCGGGGGGTTCGGCGTTGGGGATCGGGAACCC
CTCAGACGGGATCCCGGCCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGC
ACAACCTCGCACCGGGAGCGCGGCGCGTCCAC

>NR_166014.1 *Trichoderma dorotheae*

TCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCAAT
GTGAACCATAACCAAACCTGTTGCCTCGGCCGGGGTACGCCCCGGGTGCGTTCGAGCCCCGGAACCCAGGC
GCCCCCGGAGGGACCAACCAAACCTTTTCTGTAGTCCCCTCGCGGACGTTATTTCTTACAGCTCTGAG
CAAAAATTCAAAATGAATCAAAACCTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCA
GCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGC
CCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCTCGAACCCCTCCGGGGGGTTCGG
CGTTGGGGATCGGGAACCCCTAAGACGGGATCCCGGCCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGAGCC
TCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACAACCTCGCACCGGGAGCGCGGCGCGTCCACGTCCGTAAAACACCCAAC
TTCTGAAATGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCA

>NR_138446.1 *Trichoderma neokoningii*

GCGGAGGGATCATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCAATGTGAACCATAACCAAACCTGTTGCCTCGGC
GGGGTACGCCCCGGGTGCGTTCGAGCCCCGGAACCCAGGCGCCCGCCGAGGGACCAACCAAACCTTT
TTCTGTAGTCCCCTCGCGGACGTTATTTCTTACAGCTCTGAGCAAAAAATTCAAAATGAATCAAAACCTTT
AACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGC
AGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGT
CCGAGCGTCATTTCAACCCTCGAACCCCTCCGGGGGGTTCGGCGTTGGGGATCGGGAACCCCTAAGACG
GGATCCCGGCCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACAACCTCG
CACCGGAGCGCGGCGGTCCACGTCCGTAAAACACCCAACCTTTCTGAAATGTTGACCTCGGATCAGGT
AGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATC

>NR_131317.1 *Trichoderma gamsii*

TTACCGAGTTTACACTCCCAAACCCAATGTGAACCATACCAAACCTGTTGCCTCGGCGGGGTCACGCCCC
GGGTGCGTTCGACGCCCCGGAACAGGCGCCCGCGGAGGGACCAACCAAACCTCTTTTCTGTAGTCCCCCT
CGCGGACGTTATTTCTTACAGCTCTGAGCAAAAATTCAAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTC
TTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAA
TCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTT
CAACCCTCGAACCCCTCCGGGGGGTTCGGCGTTGGGGATCGGGAACCCCTAAGACGGGATCCCCGGCCCC
GAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGACGCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACAACCTCGCACCGGGGAGCGC
GGCGGTCCACGTCCGTAAAAACCCAACCTTCTGAAATGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCT
GAACTTAAGCATATCAATAA

>Secuencia U

CCAATGTGAACGTTACCAAACCTGTTGCCTCGGCGGGATCTCTGCCCCGGGTGCGTCGCAGCCCCGGACC
AAGGCGCCCCCGGAGGACCAACCAAACCTCTTTTTGTATACCCCTCGCGGGTTTTTTTTATAATCTG
AGCCTTCTCGGCGCCTCTCGTAGGCGTTTCGAAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTT
CTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCG
AATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCC
TCGAACCCCTCCGGGGGGTTCGGCGTTGGGGATCGGCCCTCCCTTAGCGGGTGGCCGTCTCCGAAATACA
GTGGCGGTCTCGCCGACGCTCTCCTGCGCA

>NR_137301.1 *Trichoderma afarasin*

TCATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCAATGTGAACGTTACCAAACCTGTTGCCTCGGCGGGATCTCT
GCCCCGGGTGCGTCGCAGCCCCGGACCAAGGCGCCCCCGGAGGACCAACCAAACCTCTTTTTGTATA
CCCCCTCGCGGGTTTTTTTTATAATCTGAGCCTTCTCGGCGCCTCTCGTAGGCGTTTCGAAAATGAATCAA
AACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGT
GAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCA
TGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCCTCGAACCCCTCCGGGGGGTTCGGCGTTGGGGATCGGCCCTCCCT
TAGCGGGTGGCCGTCTCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGACGCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACA
CTCGCATCGGGAGCGCGGGCGGTCCACAGCCGTTAAACACCCAACCTTCTGAAATGTTGACCTCGGATCA
GGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCA

>NR_134378.1 *Trichoderma inhamatum*

TCGGAGGGATCATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCAATGTGAACGTTACCAAACCTGTTGCCTCGGC
GGGATCTCTGCCCCGGGTGCGTCGCAGCCCCGGACCAAGGCGCCCCCGGAGGACCAACCAAACCTCT
TATTGTATACCCCTCGCGGGTTTTTTTTATAATCTGAGCCTTCTCGGCGCCTCTCGTAGGCGTTTCGAA
AATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGA
TAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATT
CTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCCTCGAACCCCTCCGGGGGGTTCGGCGTTGGGGATC
GGCCCTCCCTTAGCGGGGGCCGTCTCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGACGCTCTCCTGCGCAGTA
GTTTGCACACTCGCATCGGGAGCGCGGGCGGTCCACAGCCGTTAAACACCCAACCTTCTGAAATGTTGAC
CTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATAT

>NR_137305.1 *Trichoderma rifaii*

CGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCAATGTGAACGTTACCAA
ACTGTTGCCTCGGCGGGATCTCTGCCCCGGGTGCGTCGCAGCCCCGGACCAAGGCGCCCCCGGAGGA
CCAACCAAACCTCTTTTTGTATACCCCTCGCGGGTTTTTTTTATAATCTGAGCCTTCTCGGCGCCTCTCGT
AGGCGTTTCGAAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGC
GCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGC
CCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCCTCGAACCCCTCCGGGGGGTTCGG
CGTTGGGGATCGGCCCTCCCTTAGCGGGTGGCCGTCTCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGACGCTC

TCCTGCGCAGTAGTTTGCACACTCGCATCGGGAGCGCGGCGCGTCCACAGCCGTTAAACACCCAACTTC
TGAAATGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATAT

>NR_144868.1 *Trichoderma lentiforme*

CGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCAATGTGAACGTTACCAA
ACTGTTGCCTCGGCGGGATCTCTGCCCCGGGTGCGTTCGAGCCCCGGACCAAGGCGCCCGCGGAGGACCA
ACCAAACTCTTATTGTATACCCCTCGCGGGTTTTTTTTATAATCTGAGCCTTCTCGGCGCCTCTCGTAG
GCGTTTTCGAAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGC
GAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCC
GCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCTCGAACCCCTCCGGGGGGTTCGGCG
TTGGGGATCGGCCCTCCCTTAGCGGGTGGCCGTCTCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGCAGCCTCTC
CTGCGCAGTAGTTTGCACACTCGCATCGGGAGCGCGGCGCGTCCACAGCCGTTAAACACCCAACTTCTG
AAATGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCC

>NR_137300.1 *Trichoderma camerunense*

TCATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCAATGTGAACGTTACCAAACCTGTTGCCTCGGCGGGATCTCT
GCCCCGGGTGCGTTCGAGCCCCGGACCAAGGCGCCCGCGGAGGACCAACCAAACTCTTTTTGTATA
CCCCCTCGCGGGTTTTTTATAATCTGAGCCTTCTCGGCGCCTCTCGTAGGCGTTTTCGAAAATGAATCAAA
ACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAAATGCGATAAGTAATGTG
AATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCAT
GCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCTCGAACCCCTCCGGGGGGTTCGGCGTTGGGGATCGGCCCTCCCTT
AGCGGGTGGCCGTCTCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGCAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACAC
TCGCATCGGGAGCGCGGCGCGTCCACAGCCGTTAAACACCCAACTTCTGAAATGTTGACCTCGGATCAG
GTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGC

>Secuencia V

TTACAACCTCCCAAACCCCTGTGAACATACCTATACGTTGCCTCGGCGGATCAGCCCGCGCCCCGTAAAA
CGGGACGGCCCCCGGAGACCCCTAAACTCTGTTTTTAGTGGAACCTTCTGAGTAAAACAAACAATA
AATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCAAAAATGCGATAAG
TAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGG
CGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTTCAACCCTCAAGCTCAGCTTGGTGTGGGACTCGCGGTAACCCG
CGTTCCCAAATCGATTGGCGGTCACGTTCGAGCTTCCATAGCGTAGTAATCATAACCTCGTTACTGGT
AATCGTCGCGGCCACGCCGTAACCCCAACTTCTGAATGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGC
TGAACCTAAGCATATCAAAA

> MN795749.1 *Fusarium sp*

AAAAAGGGTCTTCCGTTGGTGACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCCTGTGA
ACATACCTATACGTTGCCTCGGCGGATCAGCCCGCGCCCCGTAAAACGGGACGGCCCCCGGAGGACC
CCTAAACTCTGTTTTTAGTGGAACCTTCTGAGTAAAACAAACAATAAATCAAACTTTCAACAACGGAT
CTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCAAAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGT
GAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCA
TTTCAAC

> MH290470.1 *Fusarium incarnatum*

TGGAAGTAAAAAATCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTACAA
CTCCCAAACCCCTGTGAACATACCTATACGTTGCCTCGGCGGATCAGCCCGCGCCCCGTAAAACGGGAC
GGCCCGCCCGAGGACCCCTAAACTCTGTTTTTAGTGGAACCTTCTGAGTAAAACAAACAATAAATCAA
AACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCAAAAATGCGATAAGTAATGT
GAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCA
TGCCTGTTTCGAGCGTCATTTCAACCCTCAAGCTCAGCTTGGTGTGGGACTCGCGGTAACCCCGGTTCCC
CAAATCGATTGGCGGTCACGTTCGAGCTTCCATAGCGTAGTAATCATAACCTCGTTACTGGTAATCGTC

GCGGCCACGCCGTAAAACCCCAACTTCTGAATGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTT
AAGCATATCAAAA

> KY355132.1 *Fusarium equiseti*

GCCTGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCCTGTGAACATACCTATACGTTGCCTCG
GCGGATCAGCCCGCGCCCCGTAAAACGGGACGGCCCGCCGAGGACCCCTAAACTCTGTTTTAGTGG
AACTTCTGAGTAAAACAAACAAATAAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATG
AAGAACGCAGCAAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACG
CACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTTGAGCGTCATTTCAACCCTCAAGCTCAGCT
TGGTGTGGGACTCGCGGTAACCCGCGTTCCCAAATCGATTGGCGGTCACGTCGAGCTTCCATAGCGT
AGTAATCATAACCTCGTTACTGGTAATCGTCGCGGCCACGCCGTAAAACCCCAACTTCTGAATGTTGA
CCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAAAG

> KM11481.1 *Fusarium equiseti*

CCTTCCGTAGGGGGTACCTGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCCTGTGAACATAC
CTATACGTTGCCTCGGCGGATCAGCCCGCGCCCCGTAAAACGGGACGGCCCGCCGAGGACCCCTAAA
CTCTGTTTTAGTGGAACCTTCTGAGTAAAACAAACAAATAAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTG
GTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCAAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCA
TCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTTGAGCGTCATTTCAA
CCCTCAAGCTCAGCTTGGTGTGGGACTCGCGGTAACCCGCGTTCCCAAATCGATTGGCGGTCACGTC
GAGCTTCCATAGCGTAGTAATCATAACCTCGTTACTGGTAATCGTCGCGGCCACGCCGTAAAACCCCA
ACTTCTGAATGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAAAGCCGGGAGG
AA

> MT558603.1 *Fusarium equiseti*

TAGAGGAAGTAAAAGTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTAC
AACTCCCAAACCCCTGTGAACATACCTATACGTTGCCTCGGCGGATCAGCCCGCGCCCCGTAAAACGGG
ACGGCCCGCCGAGGACCCCTAAACTCTGTTTTAGTGGAACCTTCTGAGTAAAACAAACAAATAAATCA
AACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCAAAATGCGATAAGTAATG
TGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGC
ATGCCTGTTGAGCGTCATTTCAACCCTCAAGCTCAGCTTGGTGTGGGACTCGCGGTAACCCGCGTTC
CCCAAATCGATTGGCGGTCACGTCGAGCTTCCATAGCGTAGTAATCATAACCTCGTTACTGGTAATCG
TCGCGGCCACGCCGTAAAACCCCAACTTCTGAATGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAAC
TTAAGCATATCAATA

>Secuencia W

TAACAACCTCCCAAACCCCTGTGAACATACCTATACGTTGCCTCGGCGGATCAGCCCGCGCCCCGTAAA
CGGGACGGCCCGCCGAGGACCCCTAAACTCTGTTTTAGTGGAACCTTCTGAGTAAAACAAACAAATA
AATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCAAAATGCGATAAG
TAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGG
CGGGCATGCCTGTTGAGCGTCATTTCAACCCTCAAGCTCAGCTTGGTGTGGGACTCGCGGTAACCCG
CGTTCCCAAATCGATTGGCGGTCACGTCGAGCTTCCATAGCGTAGTAATCATAACCTCGTTACTGGT
AATCGTCGCGGCCACGCCGTAAAACCCCAACTTCTGAATGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCG
TGAACCTTAAGCATATCAAT

> MT558602.1 *Fusarium equiseti*

GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTACAAC
CCCAAACCCCTGTGAACATACCTATACGTTGCCTCGGCGGATCAGCCCGCGCCCCGTAAAACGGGACG
GCCCGCCGAGGACCCCTAAACTCTGTTTTAGTGGAACCTTCTGAGTAAAACAAACAAATAAATCAAA
ACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCAAAATGCGATAAGTAATGTG
AATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGC
GCCTGTTGAGCGTCATTTCAACCCTCAAGCTCAGCTTGGTGTGGGACTCGCGGTAACCCGCGTTC

CAAATCGATTGGCGGTCACGTCGAGCTTCCATAGCGTAGTAATCATAACCTCGTTACTGGTAATCGTC
GCGGCCACGCCGTAAAACCCCAACTTCTGAATGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTT
AAGCATATCAATTA

> MT558603.1 *Fusarium equiseti*

TAGAGGAAGTAAAAGTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTAC
AACTCCCAAACCCCTGTGAACATACCTATACGTTGCCTCGGCGGATCAGCCCGCGCCCCGTAAAACGGG
ACGGCCCGCCCGAGGACCCCTAAACTCTGTTTTAGTGGAACCTTCTGAGTAAAACAAACAAATAAATCA
AACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCAAAATGCGATAAGTAATG
TGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGC
ATGCCTGTTGAGCGTCATTTCAACCCTCAAGCTCAGCTTGGTGTGGGACTCGCGGTAACCCGCGTTC
CCCAAATCGATTGGCGGTCACGTCGAGCTTCCATAGCGTAGTAATCATAACCTCGTTACTGGTAATCG
TCGCGGCCACGCCGTAAAACCCCAACTTCTGAATGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAAC
TTAAGCATATCAATA

> MT558596.1 *Fusarium equiseti*

TTAGAGGAAGTAAAAGTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTA
CAACTCCCAAACCCCTGTGAACATACCTATACGTTGCCTCGGCGGATCAGCCCGCGCCCCGTAAAACGG
GACGGCCCGCCCGAGGACCCCTAAACTCTGTTTTAGTGGAACCTTCTGAGTAAAACAAACAAATAAATC
AAAACCTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCAAAATGCGATAAGTAAT
GTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGG
CATGCCTGTTGAGCGTCATTTCAACCCTCAAGCTCAGCTTGGTGTGGGACTCGCGGTAACCCGCGTT
CCCAAATCGATTGGCGGTCACGTCGAGCTTCCATAGCGTAGTAATCATAACCTCGTTACTGGTAATC
GTCGCGGCCACGCCGTAAAACCCCAACTTCTGAATGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGA
ACTTAAGCATATCAATA

> MT563420.1 *Fusarium incarnatum*

TTCTGTAGGTGAACCTGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCCTGTGAACATACCTA
TACGTTGCCTCGGCGGATCAGCCCGCGCCCCGTAAAACGGGACGGCCCGCCCGAGGACCCCTAAACTC
TGTTTTAGTGGAACCTTCTGAGTAAAACAAACAAATAAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGT
CTGGCATCGATGAAGAACGCAGCAAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATC
AATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTTGAGCGTCATTTCAACCC
TCAAGCTCAGCTTGGTGTGGGACTCGCGGTAACCCGCGTTCCCAAATCGATTGGCGGTCACGTCGAG
CTTCCATAGCGTAGTAATCATAACCTCGTTACTGGTAATCGTCGCGGCCACGCCGTAAAACCCCAACTT
CTGAATGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAA

> MN904955.1 *Fusarium* sp

TCTCCGTAGGTGAACCTGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCCTGTGAACATACCT
ATACGTTGCCTCGGCGGATCAGCCCGCGCCCCGTAAAACGGGACGGCCCGCCCGAGGACCCCTAAACT
CTGTTTTAGTGGAACCTTCTGAGTAAAACAAACAAATAAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGT
TCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCAAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATC
GAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTTGAGCGTCATTTCAACC
CTCAAGCTCAGCTTGGTGTGGGACTCGCGGTAACCCGCGTTCCCAAATCGATTGGCGGTCACGTCGA
GCTTCCATAGCGTAGTAATCATAACCTCGTTACTGGTAATCGTCGCGGCCACGCCGTAAAACCCCAAC
TTCTGAATGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAA

>Secuencia X

GAACATACCTATACGTTGCCTCGGCGGATCAGCCCGCGCCCCGTAAAACGGGACGGCCCGCCCGAGGA
CCCCTAAACTCTGTTTTAGTGGAACCTTCTGAGTAAAACAAACAAATAAATCAAACTTTCAACAACGG
ATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCAAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTC
GTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTTGAGCGT
CATTTCAACCCTCAAGCTCAGCTTGGTGTGGGACTCGCGGTAACCCGCGTTCCCAAATCGATTGGCG

GTCACGTCGAGCTTCCATAGCGTAGTAATCATAACCTCGTTACTGGTAATCGTCGCGGCCACGCCGTA
AAACCCCAACTTCTGAATGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAA
GGGGGAGGGGAGGAAAAGGA

> KU571544.1 *Fusarium* sp

TGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCCTGTGAACATACCTATACGTTGCCTCGGCG
GATCAGCCCGCGCCCCGTAAAACGGGACGGCCCGCCCGAGGACCCCTAAACTCTGTTTTTAGTGGAACT
TCTGAGTAAAACAAACAAATAAATCAAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAG
AACGCAGCAAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCAC
ATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTTGAGCGTCATTTCAACCCTCAAGCTCAGCTTGG
TGTTGGGACTCGCGGTAACCCGCGTTCCCAAATCGATTGGCGGTCACGTCGAGCTTCCATAGCGTAGT
AATCATAACCTCGTTACTGGTAATCGTCGCGGCCACGCCGTAAAACCCCAACTTCTGAATGTTGACCT
CGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGGCGGGAGGAA

> KU571501.1 *Fusarium* sp

TTCCGTAGGAGTACCTGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCCTGTGAACATACCTA
TACGTTGCCTCGGCGGATCAGCCCGCGCCCCGTAAAACGGGACGGCCCGCCCGAGGACCCCTAAACTC
TGTTTTTAGTGGAACTTCTGAGTAAAACAAACAAATAAATCAAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTT
CTGGCATCGATGAAGAACGCAGCAAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCG
AATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTTGAGCGTCATTTCAACCC
TCAAGCTCAGCTTGGTGTGGGACTCGCGGTAACCCGCGTTCCCAAATCGATTGGCGGTCACGTCGAG
CTTCCATAGCGTAGTAATCATAACCTCGTTACTGGTAATCGTCGCGGCCACGCCGTAAAACCCCAACT
TCTGAATGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGGCGGGAGGAA

> MN486566.1 *Fusarium equiseti*

TCCGTAGGTGAACCTGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCCTGTGAACATACCTAT
ACGTTGCCTCGGCGGATCAGCCCGCGCCCCGTAAAACGGGACGGCCCGCCCGAGGACCCCTAAACTCT
GTTTTTAGTGGAACTTCTGAGTAAAACAAACAAATAAATCAAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTC
TGGCATCGATGAAGAACGCAGCAAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGA
ATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTTGAGCGTCATTTCAACCCTC
AAGCTCAGCTTGGTGTGGGACTCGCGGTAACCCGCGTTCCCAAATCGATTGGCGGTCACGTCGAGCT
TCCATAGCGTAGTAATCATAACCTCGTTACTGGTAATCGTCGCGGCCACGCCGTAAAACCCCAACTTC
TGAATGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAG

> MK2903911.1 *Fusarium equiseti*

CTCAGTCTCGATTGGTGACAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCCTGTGAACATA
CCTATACGTTGCCTCGGCGGATCAGCCCGCGCCCCGTAAAACGGGACGGCCCGCCCGAGGACCCCTAA
ACTCTGTTTTTAGTGGAACTTCTGAGTAAAACAAACAAATAAATCAAAACTTTCAACAACGGATCTCTT
GGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCAAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATC
ATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTTGAGCGTCATTTCA
ACCCTCAAGCTCAGCTTGGTGTGGGACTCGCGGTAACCCGCGTTCCCAAATCGATTGGCGGTCACGT
CGAGCTTCCATAGCGTAGTAATCATAACCTCGTTACTGGTAATCGTCGCGGCCACGCCGTAAAACCCCA
AACTTCTGAATGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAA
GAAA

> MN809258.1 *Fusarium incarnatum*

TACAACCTCCCAAACCCCTGTGAACATACCTATACGTTGCCTCGGCGGATCAGCCCGCGCCCCGTAAAAC
GGGACGGCCCGCCCGAGGACCCCTAAACTCTGTTTTTAGTGGAACTTCTGAGTAAAACAAACAAATAA
ATCAAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCAAAATGCGATAAGT
AATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGC

GGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTTCAACCCTCAAGCTCAGCTTGGTGTGGGACTCGCGGTAACCCGC
GTTCCCAAATCGATTGGCGGTCACGTCGAGCTTCCATAGCGTAGTAATCATACACCTCGTTACTGGTA
ATCGTCGCGGCCACGCCGTAACCCCAACTTCTGAATGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCT
GAACTTAAGCATATCAATAAGC

>Secuencia Y

CCCTGTGAACATACCTATACGTTGCCTCGGCGGATCAGCCCCGCGCCCCGTAAAACGGGACGGCCCGCCC
GAGGACCCTAAACTCTGTTTTAGTGGAACCTTCTGAGTAAAACAAACAAATAAATCAAAACTTTCAACA
ACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCAAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAA
TTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCGAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTTTCA
GCGTCATTTCAACCCTCAAGCTCAGCTTGGTGTGGGACTCGCGGTAACCCGCGTTCCCAAATCGATT
GGCGGTCACGTCGAGCTTCCATAGCGTAGTAATCATACACCTCGTTACTGGTAATCGTCGCGGCCACGC
CGTAAAACCCCAACTTCTGAATGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCA

> MN105567.1 *Fusarium sp*

TGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCCTGTGAACATACCTATACGTTGCCTCGGCG
GATCAGCCCCGCGCCCCGTAAAACGGGACGGCCCGCCCGAGGACCCTAAACTCTGTTTTAGTGGAACCT
CTGAGTAAAACAAACAAATAAATCAAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGA
ACGCAGCAAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACA
TTGCGCCCCGAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTTCAACCCTCAAGCTCAGCTTGGT
GTTGGGACTCGCGGTAACCCGCGTTCCCAAATCGATTGGCGGTCACGTCGAGCTTCCATAGCGTAGTA
ATCATACACCTCGTTACTGGTAATCGTCGCGGCCACGCCGTAAAACCCCAACTTCTGAATGTTGACCTC
GGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAT

> GQ169492.1 *Fusarium sp*

CGTTGGTGACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCCTGTGAACATACCTATACG
TTGCCTCGGCGGATCAGCCCCGCGCCCCGTAAAACGGGACGGCCCGCCCGAGGACCCTAAACTCTGTTTT
TAGTGGAACCTTCTGAGTAAAACAAACAAATAAATCAAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCA
TCGATGAAGAACGCAGCAAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTT
TGAACGCACATTGCGCCCCGAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTTCAACCCTCAAGC
TCAGCTTGGTGTGGGACTCGCGGTAACCCGCGTTCCCAAATCGATTGGCGGTCACGTCGAGCTTCCA
TAGCGTAGTAATCATACACCTCGTTACTGGTAATCGTCGCGGCCACGCCGTAAAACCCCAACTTCTGAA
TGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAT

> MG897462.1 *Fusarium equiseti*

GGCCCCGTTGGGTAACAAGCGGGAGGGATCATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCCTGTGAACAT
ACCTATACGTTGCCTCGGCGGATCAGCCCCGCGCCCCGTAAAACGGGACGGCCCGCCCGAGGACCCTAA
ACTCTGTTTTAGTGGAACCTTCTGAGTAAAACAAACAAATAAATCAAAACTTTCAACAACGGATCTCTT
GGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCAAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATC
ATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCGAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTTCA
ACCCTCAAGCTCAGCTTGGTGTGGGACTCGCGGTAACCCGCGTTCCCAAATCGATTGGCGGTCACGT
CGAGCTTCCATAGCGTAGTAATCATACACCTCGTTACTGGTAATCGTCGCGGCCACGCCGTAAAACCC
AACTTCTGAATGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCATAAACGGAGGA

> MT446136.1 *Fusarium equiseti*

GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTACAACCT
CCCAAACCCCTGTGAACATACCTATACGTTGCCTCGGCGGATCAGCCCCGCGCCCCGTAAAACGGGACG
GCCCGCCCGAGGACCCTAAACTCTGTTTTAGTGGAACCTTCTGAGTAAAACAAACAAATAAATCAAAA
CTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCAAAATGCGATAAGTAATGTGA
ATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCGAGTATTCTGGCGGGCATG
CCTGTTTCGAGCGTCATTTCAACCCTCAAGCTCAGCTTGGTGTGGGACTCGCGGTAACCCGCGTTCCCAA
AATCGATTGGCGGTCACGTCGAGCTTCCATAGCGTAGTAATCATACACCTCGTTACTGGTAATCGTCG

CGGCCACGCCGTAAAACCCCAACTTCTGAATGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTA
AGCATATCAATAAGCGGAGGAA

> LC510358.1 *Fusarium incarnatum*

AGGGGGACCTGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCCTGTGAACATACCTATACGTT
GCCTCGGCGGATCAGCCCGCGCCCCGTAAAACGGGACGGCCCCGCCGAGGACCCTAAACTCTGTTTTTA
GTGGAACCTTCTGAGTAAAACAAACAAATAAATCAAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGTTCTGGC
GATGAAGAACGCAGCAAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTG
AACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTTGAGCGTCATTCAACCCCTCAAGCTC
AGCTTGGTGTGGGACTCGCGGTAACCCGCGTTCCCCAAATCGATTGGCGGTCACGTGAGCTTCCATA
GCGTAGTAATCATAACCTCGTTACTGGTAATCGTCGCGGCCACGCCGTAAAACCCCAACTTCTGAATG
TTGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCA

>Secuencia Z

GGGACATACCGATTTAACAATCCTCCACCCTGTGAACATACCTAAACGTTGCTTCGGCGGGAACAGACG
GCCCCGTAACACGGGCGCCCCGCCAGAGGACCCCTAACTCTGTTTCTATAATGTTTCTTCTGAGTA
AAACAAGCAAATAAATTA AAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGCTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGC
GAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCC
GCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTTGAGCGTCATTACAACCCCTCAGGCCCCCGGGCCTGGCGTTGG
GGATCG

> KR707723 *Fusarium solani*

CATTACCGAGTTATACAACCTCATCAACCCTGTGAACATACCTAAACGTTGCTTCGGCGGGAACAGACGG
CCCCGTAACACGGGCGCCCCGCCAGAGGACCCCTAACTCTGTTTCTATAATGTTTCTTCTGAGTAA
AACAAGCAAATAAATTA AAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGCTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCG
AAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCG
CCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTTGAGCGTCATTACAACCCCTCAGGCCCCCGGGCCTGGCGTTGGG
GATCGGCGGAGCCCCCTGCGGGCACACGCCGTCCCCCAAATACAGTGGCGGTCCC GCCGACAGCTTCCAT
TGCGTAGTAGCTAACACCTCGCAACTGGAGAGCGGCGCGGCCACGCCGTAAAACCCCAACTTCTGAAT
GTTGACCTCGAATCAGGT

> KR707714 *Fusarium solani*

CATTACCGAGTTATACAACCTCATCAACCCTGTGAACATACCTAAACGTTGCTTCGGCGGGAACAGACGG
CCCCGTAACACGGGCGCCCCGCCAGAGGACCCCTAACTCTGTTTCTATAATGTTTCTTCTGAGTAA
AACAAGCAAATAAATTA AAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGCTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCG
AAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCG
CCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTTGAGCGTCATTACAACCCCTCAGGCCCCCGGGCCTGGCGTTGGG
GATCGGCGGAGCCCCCGCGGGCACACGCCGTCCCCCAAATACAGTGGCGGTCCC GCCGACAGCTTCCA
TTGCGTAGTAGCTAACACCTCGCAACTGGAGAGCGGCGCGGCCACGCCGTAAAACCCCAACTTCTGA
ACGTTGACCTCGAATCAG

> KR707712 *Fusarium solani*

CATTACCGAGTTATACAACCTCATCAACCCTGTGAACATACCTAAACGTTGCTTCGGCGGGAACAGACGG
CCCCGTAACACGGGCGCCCCGCCAGAGGACCCCTAACTCTGTTTCTATAATGTTTCTTCTGAGTAA
AACAAGCAAATAAATTA AAAACTTTCAACAAGGATCTCTTGCTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCG
AAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCG
CCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTTGAGCGTCATTACAACCCCTCAGGCCCCCGGGCCTGGCGTTGGG
GATCGGCGGAGCCCCCGCGGGCACACGCCGTCCCCCAAATACAGTGGCGGTCCC GCCGACAGCTTCCA
TTGCGTAGTAGCTAACACCTCGCAACTGGAGAGCGGCGCGGCCACGCCGTAAAACCCCAACTTCTGA
ACGTTGACCTCGAATCAGGT

> FJ158122 *Fusarium sp*

GAGGACATTACCGAGTTATACACTCATCAACCCTGTGAACATACCTAAACGTTGCTTCGGCGGGAACAG
ACGGCCCCGTAACACGGGCCGCCCCGCCAGAGGACCCCCCTAACTCTGTTTCTATAATGTTTCTTCTGA
GTAAAACAAGCAAATAAATTA AAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGCTCTGGCATCGATGAAGAACGC
AGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGC
GCCCCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTTCGAGCGTCATTACAACCCTCAGGCCCCCGGGCCTGGCG
TTGGGGATCGGCGGAGCCCCCGCGGGCACACGCCGTCCCCCAAATACAGTGGCGGTCCCGCCGCAGC
TTCCATTGCGTAGTAGCTAACACCTCGCAACTGGAGAGCGGCGGGCCACGCCGTAAAACCCCCAACTT
CTGAACGTTGACCTCGAATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATTAACGAGAGGAA

> MT611194 *Fusarium keratoplasticum*

CCGTAGGTGAACCTGCGGAGGGATCATTACCGAGTTATACAACCTCATCAACCCTGTGAACATACCTAAA
ACGTTGCTTCGGCGGGAACAGACGGCCCCGTAACACGGGCCGCCCCGCCAGAGGACCCCCCTAACTCT
GTTTCTATTATGTTTCTTCTGAGTAAAACAAGCAAATAAATTA AAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGCT
CTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCG
AATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTTCGAGCGTCATTACAACCC
TCAGGCCCCCGGGCCTGGCGTTGGGGATCGGCGAGGCGCCCCCTGCGGGCACACGCCGTCCCCCAAAT
ACAGTGGCGGTCCCGCCGCAGCTTCATTGCGTAGTAGCTAACACCTCGCAACTGGAGAGCGGCGCGG
CCACGCCGTAAAACACCCA ACTTCTGAATGTTGACCTCGAATCAGGTAGGA

**Anexo 6. Separación de medias de altura de plántulas de tomate
Según Duncan**

<i>Trichoderma</i> spp.	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
Testigo	50	9.310		
<i>Trichoderma breve</i>	50	9.340		
<i>Trichoderma asperellum</i>	50	9.758		
<i>Trichoderma virens</i>	50	9.860		
<i>Trichoderma asperelloide</i>	50	9.900		
<i>Trichoderma songyi</i>	50	10.420	10.420	
<i>Trichoderma viride</i>	50		11.420	
<i>Trichoderma harzianum</i>	50			12.930
Sig.		.083	.075	1.000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

- b. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 50.000.

Anexo 7. Separación de medias de datos de peso de plántulas de tomate según Duncan

<i>Trichoderma</i> spp.	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
<i>Trichoderma asperelloide</i>	50	.717			
<i>Trichoderma virens</i>	50	.757			
<i>Trichoderma songyi</i>	50	.775			
Testigo	50	.816			
<i>Trichoderma breve</i>	50	.835			
<i>Trichoderma asperellum</i>	50		1.040		
<i>Trichoderma viride</i>	50			1.194	
<i>Trichoderma harzianum</i>	50				1.404
Sig.		.135	1.000	1.000	1.000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

- a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 50.000.

Anexo 8. Separación de medias de datos de longitud de raíces de plántulas de tomate según Duncan.

<i>Trichoderma</i> spp.	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
<i>Trichoderma breve</i>	50	4.480			
Testigo	50	4.760	4.760		
<i>Trichoderma virens</i>	50	4.768	4.768		
<i>Trichoderma asperellum</i>	50		5.312		
<i>Trichoderma asperelloide</i>	50		5.400		
<i>Trichoderma viride</i>	50			6.180	
<i>Trichoderma songyi</i>	50			6.490	
<i>Trichoderma harzianum</i>	50				8.096
Sig.		.490	.136	.426	1.000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 50.000.



IDENTIFICACIÓN MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DE ESPECIES AUTÓCTONAS *TRICHODERMA* SPP., AISLADAS DE SUELOS DE IMPORTANCIA AGRÍCOLA.

MORPHOLOGICAL AND MOLECULAR IDENTIFICATION OF NATIVE *TRICHODERMA* SPP. ISOLATED FROM SOILS OF AGRICULTURAL IMPORTANCE

María Delfina Sánchez
Miranda¹ Luis Francisco Moreno
Mayorga² Leandro Alberto
Páramo Aguilera ^{*3}

(Recibido/received

: 30-marzo-2021; aceptado/accepted: 17-mayo-2021)

RESUMEN: *Trichoderma* sp es un género de hongo que está siendo utilizado ampliamente como una alternativa sostenible para el control de enfermedades de plantas y promotor de crecimiento en cultivos de importancia agrícola. Tiene una gran diversidad genética, por lo que el presente estudio pretende identificar y describir morfológica y molecularmente especies provenientes de diferentes fuentes tan diversas como suelo agrícola, tomate triturado, cultivo de plátano, pastos entre otros. En el estudio se encontró 17 aislados de hongos con características en sus colonias similares a *Trichoderma* spp., los cuales después de observar sus características morfológicas se identificaron presuntivamente como pertenecientes a este género. La caracterización de su conidióforo, fiálides y conidias, demostró que dichos aislados correspondían al género *Trichoderma* spp. Posteriormente se demostró que los 17 aislados pertenecían al género *Trichoderma* sp mediante secuenciación, utilizando los cebadores ITS1 (5 TCC GTA GGT GAA CCT GCG G 3) ADN_r, encontrándose 7 especies diferentes del hongo en el estudio, las cuales fueron: *T. harzianum*, *T. viride*, *T. asperellum*, *T. asperelloide*, *T. songyi*, *T. virens* y *T. breve*. De estas especies *T. asperellum* y *T. harzianum*, son de vital importancia por ser previamente identificadas como efectivos agentes de control biológico de enfermedades y promotores de crecimiento de plantas y se abre una nueva puerta de investigación con *T. breve* y *T. songyi*,

¹ Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua-León. Departamento de Agroecología. Escuela de Ciencias Agrarias y Veterinaria. León Nicaragua.

² Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua-León. Departamento de Agroecología. Escuela de Ciencias Agrarias y Veterinaria. León Nicaragua.

³ Universidad Nacional de Ingeniería. Programa de Investigación, Estudios Nacionales y Servicios del Ambiente (PIENSA). Managua, Nicaragua.

*leandro.paramo@piensa.uni.edu.ni; lparamo2014@gmail.com, Autor para correspondencia ya que muy poco se conoce sobre la aplicación biotecnológica de éstas.

PALABRAS CLAVE: Identificación molecular, *Trichodermas*, Promotor de crecimiento, análisis filogenético, hongos antagonistas.

ABSTRACT: *Trichoderma* sp. is a genus of fungus that is being used widely as a sustainable alternative for the control of plant diseases and growth promoter in crops of agricultural importance. It has a great genetic diversity. Therefore, this study aims to identify and describe morphologically and molecularly species from different sources as diverse as agricultural soil, crushed tomato, plantain cultivation, pastures, among others. In the study, 17 fungal isolates were found with characteristics in their colonies similar to *Trichoderma* spp. Which after observing their morphological characteristics were presumptively identified as belonging to this genus. The characterization of its conidiophore, phialides and conidia, showed that these isolates corresponded to the genus *Trichoderma* spp. Subsequently, it was demonstrated that, the 17 isolates belonged to the genus *Trichoderma* sp by sequencing, using the ITS1 primers (5' TCC GTA GGT GAA CCT GCG G 3') rDNA, finding 7 different species of the fungus in the study, which were: *T. harzianum*, *T. viride*, *T. asperellum*, *T. asperelloide*, *T. songyi*, *T. virens* and *T. breve*. From these species, *T. asperellum* and *T. harzianum*, are of vital importance because they have been previously identified as effective agents for the biological control of diseases and plant growth promoters and a new door of research with *T. breve* and *T. songyi*, is opened since very little is known about the biotechnological application of these.

KEYWORDS: Molecular identification, *Trichodermas*, Growth promoter, Phylogenetic analysis, Antagonistic fungus.

INTRODUCCIÓN

El género *Trichoderma* representa a nivel mundial una amplia variedad de organismos con una alta relevancia económica y ambiental, debido a su potencial como agentes de control biológico de organismos fitopatógenos que afectan cultivos de importancia agrícola y su capacidad de promover el crecimiento de las plantas (Martínez, *et al.*, 2013). Muchas de las especies de *Trichoderma* han demostrado, según estudios previos, ser antagonistas de hongos fitopatógenos de suelo como *Sclerotium* sp., *Verticillium* sp., *Phymatotrichopsis omnivora* y *Fusarium* sp. (Martínez, 2016). Otra característica propia de estas especies es su potencial como promotores de crecimiento, el cual ha sido ampliamente reportado en la literatura científica, en la que se indica que son capaces de producir fitohormonas utilizadas por las plantas para su crecimiento. La caracterización convencional de las especies de *Trichoderma* basada en características morfológicas no es suficiente, debido a la plasticidad de caracteres, por lo que es importante realizar estudios moleculares para tener un diagnóstico con mayor certeza taxonómica (García, *et al.*, 2017). Los análisis filogenéticos son una herramienta que apoya y valida los estudios moleculares, mediante la evidencia evolutiva que puede demostrar relaciones convergentes o divergentes entre especies.

Por otro lado, se ha demostrado que *Trichoderma* sp es capaz de solubilizar fosfatos, micronutrientes y minerales tales como hierro (Fe), manganeso (Mn) y magnesio (Mg) que juegan un importante papel en el crecimiento de las plantas (Cubillos, 2009).

Debido a su amplio número de especies conocidas y alta diversidad genética, *Trichoderma* es un género que debe ser estudiado a nivel molecular, ya que su identificación con parámetros morfológicos es actualmente considerada insuficiente (Jaklitsch, *et al.*, 2013). Según estudios realizados, se afirma que se ha logrado

distinguir alrededor de 228 especies del género *Trichoderma* (Azarmi, *et al.*, 2011), sin embargo, nuevas especies continúan siendo identificadas en la actualidad. Por lo antes descrito, el presente estudio se identificaron molecularmente especies nativas de Nicaragua pertenecientes al género *Trichoderma*, con el propósito de caracterizarlas morfológica y molecularmente para conocer algunas de las especies de este género que estén presentes en el país, además de realizar estudios filogenéticos de las especies identificadas.

METODOLOGÍA

Aislamiento de especies de Trichoderma

Los aislados de *Trichoderma* fueron extraídos de diferentes zonas de nuestro país. De las cuales 37 muestras de suelo proveniente de diferentes fuentes: terrenos agrícolas, suelos de bosques, plátano, tomate, pastos etc. se recolectaron en fincas Agrícolas de los municipios de El viejo, Tonalá, Chichigalpa y Posoltega ubicados en el Departamento de Chinandega al occidente de Nicaragua, con una extensión de 687 km², entre las coordenadas 12° 37' de latitud norte y 87° 07' de longitud oeste, a una altitud de 46msnm. Asimismo, fueron incluidas 13 muestras de suelo previamente recolectadas, una muestra de suelo perteneciente al Laboratorio de Hongos Entomopatógenos de la Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, León (UNAN-León), ubicado en la ciudad de León, carretera la ceiba 1 ½ al este, 12 muestras de suelo de la Universidad Nacional de Ingeniería (UNI), provenientes de Terrabona, La libertad-Chontales y Managua para un total de 50 muestras estudiadas.

Método de muestreo

El muestreo se realizó mediante el método sistemático no probabilístico según lo recomendado por Otzen y Manterola (2017), el cual consistió en un diseño en forma de zig-zag, trazando líneas cruzadas caminando unos 25 a 30 pasos desde cada punto seleccionado de muestreo. En cada parcela se muestrearon cinco puntos, tomando 150 gramos de suelo de los primeros 15 cm de profundidad. Las cinco submuestras tomadas de cada parcela se homogenizaron y de ellas se tomó la muestra representativa de cada parcela de 150 gramos. Estas muestras se colocaron en bolsas plásticas y posteriormente en bolsa de papel craft, para protegerlas de los rayos UV, las cuales fueron etiquetadas para su debida identificación (Covacevich, 2017).

Aislamiento de microorganismos

Cincuenta muestras de suelos fueron procesadas para aislar *Trichoderma* spp, inoculándose tres platos por cada muestra de suelo. Las muestras de suelo se procesaron mediante la metodología de Sandoval y Stefanova (2000), con el empleo de diluciones decimales seriadas. Se pesó 1 g de suelo y se preparó una suspensión en 9 mL de agua destilada estéril para preparar una suspensión madre, de la cual se realizaron 4 diluciones decimales seriadas sucesivas hasta el valor 10^{-4} de cada dilución (entre 10^{-1} y 10^{-4}) se tomó 0,1 mL para realizar la siembra en placas Petri conteniendo medio de cultivo Agua-Agar marca Fisher (AA), más Amoxicilina(MK), utilizando 500 mg en un litro de medio de cultivo utilizado y se sembraron tres réplicas por dilución por muestra de suelo.

Las placas se incubaron a 25°C por siete días realizándose observaciones diarias, a los siete días se tomó, de las placas con mayor crecimiento, una porción superficial de esporas que presentaban características similares a *Trichoderma* spp., se preparó una suspensión de estas y se realizó la siembra en placas con medio Papa Dextrosa Agar (PDA). A partir del crecimiento fungoso sobre este medio se tomó de cada placa, una porción de medio conteniendo micelio y se sembró en otra placa Petri hasta obtener una cepa pura.

Identificación morfológica

Las colonias puras se pasaron a tubos de ensayos que contenían PDA para su preservación a 8°C. La identificación morfológica de las especies de *Trichoderma* aisladas se realizó según los criterios de Barnett y Hunter (1998). Para ello, se prepararon microcultivos de cada muestra y se realizaron observaciones microscópicas con lente objetivo 100X, para un aumento total de 1000 y así apreciar con calidad las características morfológicas de micelio, conidióforos, fiálides y conidias.

Identificación Molecular de los Aislados

La identificación molecular de los aislados se realizó con base en la amplificación de las regiones ITS1- 5.8S-ITS2 del ADNr, se utilizaron los cebadores ITS1 (5' TCC GTA GGT GAA CCT GCG G 3') (White, *et al.*, 1990). El servicio de secuenciación de ADN se realizó en el Centro de Biología Molecular (CBM) de la Universidad Centroamericana (UCA), ubicada en Managua, Nicaragua. Una vez obtenidas las secuencias, se corrigieron utilizando el software Bioedit v7.0.9 (Castillo- Reyes, *et al.*, 2015)., posteriormente se obtuvieron del GenBank del National Center for Biotechnology Information (NCBI) secuencias de las regiones estudiadas de hongos relacionadas taxonómicamente con los microorganismos, usando la herramienta BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) para comparar secuencias altamente similares (Castillo-Reyes, *et al.*, 2015). Se realizó un alineamiento múltiple con cinco secuencias elegidas para cada secuencia en estudio, utilizando la aplicación Clustal W Multiple alignment versión 1.4 incluida en el menú Accessory Application del programa Bioedit v7.0.9 y se utilizaron los parámetros por defecto. El árbol filogenético se construyó usando el programa MEGA 7.0.14 usando el método Neighbor-Joining Tree, evaluando la confiabilidad haciendo bootstrapping de 1000 repeticiones (Castillo-Reyes, *et al.*, 2015; Tamura, *et al.*, 2011; Álvarez, *et al.*, 2013).

El árbol filogenético se construyó usando el programa MEGA 7.0.14 usando el método Neighbor- Joining Tree, evaluando la confiabilidad haciendo bootstrapping de 1000 repeticiones (Castillo- Reyes, *et al.*, 2015; Tamura, *et al.*, 2011; Álvarez, *et al.*, 2013).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Aislamiento de Trichoderma

De las 50 muestras de suelo procesadas se logró aislar al hongo *Trichoderma* sp de 17 muestras proveniente de diversos rubros agrícolas (11c, 14, 13, 5, 10, 12,9, 11a, 3121G-21,8, CIXD-07, MIXD- 08, 2,4, F2TG- 11,1; Tabla 1). De los 17 aislados de *Trichoderma* obtenidos, cinco de ellos fueron encontrados asociados al cultivo del plátano (11c, 3, 2, 4,1), lo que coincide con lo reportado por otros autores como Samuelian, (2016) y Pineda, *et al.* (2019), quienes también encontraron diferentes especies de *Trichoderma* en suelos agrícolas asociados al cultivo del plátano. En el caso de tomate, dos aislados fueron recuperados de tomate triturado(14,121G-21) y uno de suelo asociado al cultivo del tomate(5), en este último caso, la asociación entre *Trichoderma* y el cultivo del tomate ha sido ampliamente documentada, y se ha indicado que los exudados radiculares de este cultivo proveen un ambiente rico en carbono y energía que crean un ambiente favorables para el desarrollo de *Trichoderma* en la rizósfera de este y otros cultivos (Fernández, *et al.*,2017 ; Haichar, *et al.*, 2014).

En suelos asociados a bosques se logró aislar en tres ocasiones (13, 10, CIXD-07) a *Trichoderma* sp, este comportamiento era esperado debido a la actividad que ejerce este organismo, sobre los ciclos biogeoquímicos, particularmente en el ciclo del carbón de los hongos asociados al suelo (Almaraz-Sánchez, *et al.*, 2012). De igual manera se sabe que este tipo de hongo puede vivir en la rizósfera de las plantas forestales siendo ampliamente conocida su habilidad de competir con otros microorganismos por espacio y nutrientes. En el caso de bosques de pino, Martínez (1999) aisló una amplia variedad de hongos de suelo, siendo las poblaciones de *Trichoderma* spp., el género más abundante y dominante en su estudio.

De las muestras tomadas de suelos destinados a pastizales (8,9), se pudo aislar el hongo *Trichoderma* en dos ocasiones, esto ya ha sido reportado previamente y se ha encontrado conviviendo a este hongo con este tipo de plantas sin causar ningún daño, sino actuando como organismo benéfico (Talavera & Téllez, 2007). Finalmente, se logró aislar en una ocasión al hongo *Trichoderma* spp, de los cultivos de guayaba (11a), sandía (12) y suelos no agrícolas (MIXD-08) (Tabla 1).

Tabla 1. Distribución geográfica y rubros muestreados de suelos agrícolas. Destacándose número y lugar donde fue posible la obtención de aislados de *Trichoderma spp.*

Departamento	Municipios	Rubros/ muestreados	Cantidad de Aislados obtenidos	Código
Chinandega	Chichigalpa	Guayaba	1	(T11a)
	Tonalá	Plátano	4	(T1, T2, T3, T11c)
		Bosque	1	(T13)
		Sandía	1	(T12)
	Posoltega	Plátano	1	(T4)
León	León	Tomate	1	(T5)
Matagalpa	Terrabona	Tomate	1	(TF2TG-11)
		Bosque	1	(T10)
		Tomate triturado	2	(T121G-21, T14)
		Pastizales	2	(T8, T9)
Chontales	La Libertad	Suelos no agrícolas	1	(TMIXD-08)
Managua	Ticuan-tepe	Reserva Natural	1	(TCIXD-07)
		El Chocoyero		
Total			17	

Identificación Morfológica de los aislados de *Trichoderma*

De las 50 muestras extraídas de diferentes Zonas de Nicaragua se encontraron 17 aislados con características morfológicas similares a las del género de *Trichoderma* sp. Los cuales fueron estudiadas al microscopio presentando las siguientes Características:

Los aislados 5,13, 14, 10, 11a; (Tabla 3) extraídos de diferentes sustratos como son tomate triturado, suelos de bosque, guayaba y tomate, al ser observadas al microscopio sus estructuras morfológicas se pudo comprobar que mostraron similares características a las descritas por Samuels, *et al.* (1999), consistiendo en conidióforos con ramificaciones escasas y en pares, fiálides rectos y Conidias subglobosas con unas verrugas levemente perceptibles (Tabla 2). Otros aislados fueron (12, 9; Tabla 3) provenientes del cultivo de sandía y pastizales, esta especie al ser observada al microscopio se pudo comprobar que las estructuras morfológicas relacionadas a conidióforos, fiálides y conidias era muy similares a *Trichoderma*. (Masaquiza_Chango, 2019; López, 2012).

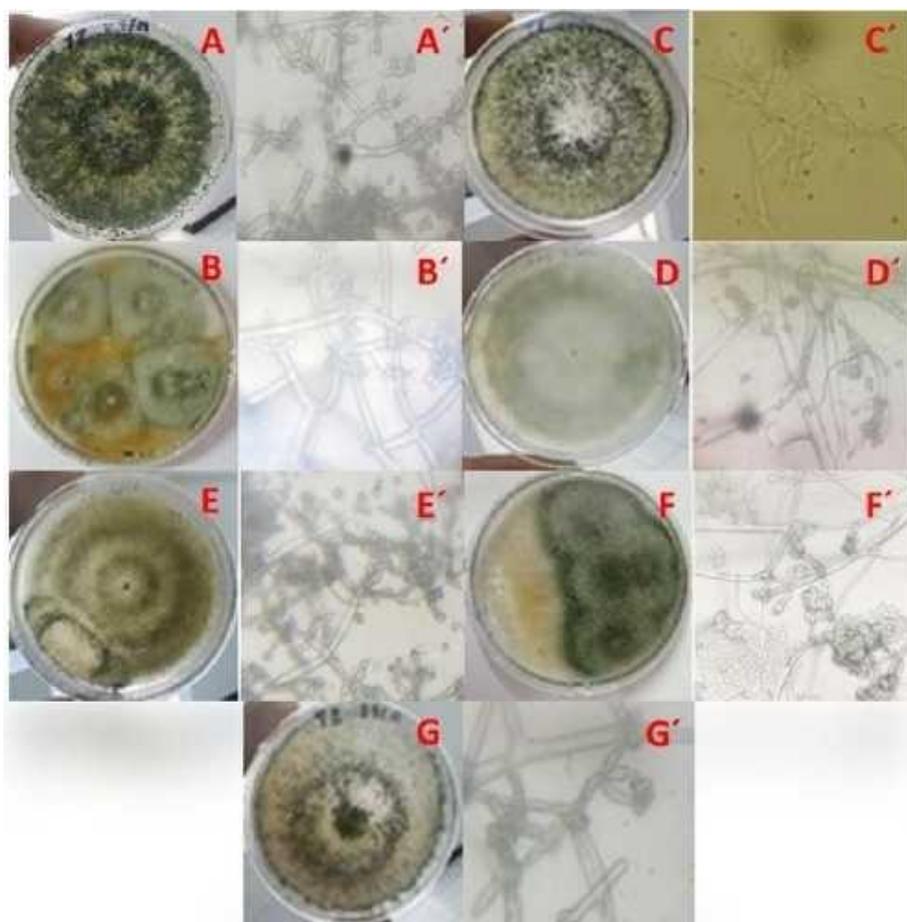


Figura 1. Se observa la morfología de hongos del género *Trichoderma*, aislados e identificados de suelos agrícolas, donde se muestra la estructura morfológica, forma, color y crecimiento de las

Siete especies identificadas. A, A': *T. breve* 2,4, F2TG-11; B,B': *T. asperellum* 3,5,10, 11a,13,14; C,C': *T. asperelloide* 12,9; D,D': *T. songyi* 121G-21,8; E,E': *T. virens* CIXD-07, MIXD-08; F,F': *T. viride* 11c; G,G': *T. harzianum* 1. (Tabla 3)

En el caso de los aislados 2,4,F2TG-11; (Tabla 3) fue extraído en tres ocasiones, dos veces del cultivo del plátano y una ocasión de tomate triturado al ser observado al microscopio, las estructuras morfológicas de esta especie referidas a conidióforo, fiálides y conidias fueron congruentes con las reportadas previamente por Chen & Zhuang (2017), quienes describieron conidióforos simétricos usualmente con ramas laterales cortas, fiálides en pares o en grupos de tres y conidias color verde sin verrugas visibles. Los aislados CIXD-07, MIXD-08; (Tabla 3) fueron extraídos dos veces, una vez de suelos asociados a bosque y la otra ocasión de suelo no agrícola, morfológicamente su conidióforo se caracteriza por tener una base estéril y producir ramas cerca del ápice del mismo, sus fiálides se agrupan de 2 a 5 verticilios en ramificaciones terminales y sus conidias son elipsoidales con pequeñas verrugas en su superficie, casi imperceptible color verde oscuro. Estas características coinciden con la descripción que hicieron de este género Gams y Bissett (1998).

En el caso de los aislados 8,121G-21; (Tabla 3) se encontraron en dos ocasiones, inicialmente de tomate triturado y luego de suelos asociados a pastizales. Al observarse en el microscopio presentaba conidióforos de forma verticiliar, con fiálides angostas y rectas. Las conidias tenían coloración amarillenta a verdosas sin verrugas visibles en la superficie, estas características coinciden con las descritas por otros investigadores Park, et al., (2014). Finalmente, 11c; (Tabla

3) fue aislado en una ocasión de suelos asociados a cultivo de plátano, las observaciones de sus estructuras morfológicas realizadas a nivel de microscopio coinciden con lo descrito por Gams y Bissett (1998) para esta especie (Figura I y Tabla 2).

Tabla 2. Caracterización morfológica de especies de *Trichoderma* sp aisladas de diversas fuentes (*Cubillos, 2009; Cruz, 2015; Park, 2014; Samuels, 1999*).

Especie de <i>Trichoderma</i> spp.	Conidióforo	Fiálides	Conidias
<i>Trichoderma harzianum</i> (T1)	Tiende a tener una forma verticiliada, con una estructura piramidal.	Poseen forma entre ampuliforme a lageniforme, usualmente 3–4 fiáles verticiliados y ocasionalmente en pares.	Forma subglobosa a ovoide, con una coloración subhialina a verde pálido
<i>Trichoderma viride</i> (T11c)	Usualmente no muy ramificada, las ramas a menudo en pares o con tres verticillios aparentemente flexibles.	Frecuentemente se presentan en pares o grupos de tres, son angosto y lageniformes	Forma globosa a elipsoidal, usualmente con verrugas evidentes, coloración verdeazulada a verde oscuro.
<i>Trichoderma virens</i> (TCIXD-07, TMIXD-08)	La base es frecuentemente estéril y sin ramas, cerca del ápice se ramifica y cada rama termina en 3-6 fiálides.	Se forman en conidióforos complejos lageniforme a ampuliforme en su mayoría surgen agrupadas en grupo de 2 a 5 verticilios en ramificaciones	Conidia en forma elipsoidal a ovoide, con la superficie lisa, con muy pequeñas verrugas, casi imperceptibles. Color verde oscuro.

		terminales	
	Las ramificaciones primarias son irregulares, sencillas o en pares opuestas debajo de los septos.		
<i>Trichoderma asperellum</i> (T3, T5, T10, T11a, T13, T14) y <i>Trichoderma asperelloides</i> (T12, T9)	Posee ramificaciones no muy abundantes, las cuales se presentan generalmente en pares.	Las Fiálides son rectas, con el ápice sinuoso o en forma de garfio. Se organizan de forma sencilla o en espiral.	Conidia con forma variable entre subglobosa a elipsoidal, con coloración verde, con verrugas levemente perceptible
<i>Trichoderma songyi</i> (T8, T121G-21)	Tiene formar verticiliar	Fiálides angostas de forma recta, lageniforme y un poco engrosadas en medio	Las conidias son amarillentas o verdosas, superficie lisa y de forma elipsoidal
<i>Trichoderma breve</i> (T2, T4, TF2TG-11)	Conidióforo simétrico, típico de <i>Trichoderma</i> , usualmente con ramas laterales cortas.	Fiálides formadas solitarios, en pares o en grupos de tres, de forma ampuliforme o lageniforme	Conidia color verde, lisa, de forma globosa o subglobosa.

Identificación Molecular de *Trichoderma*

Los 17 aislados (presuntos *Trichodermas*, según la tabla 1) fueron enviados a secuenciar y fueron procesadas las secuencias recibidas para la elaboración del árbol filogenético construido (Una parte del cual es presentado en la Figura 2). Las secuencias resaltadas en el árbol corresponden a los microorganismos en proceso de identificación y las restantes corresponden a secuencias obtenidas del Genbank como parte del procesamiento filogenético. Se pudo determinar mediante el análisis filogenético hecho a la Figura 2, que fue posible identificar y corroborar que todos los 17 aislados pertenecen al género *Trichoderma*, como se habían identificado morfológicamente y descrito en la tabla 2 y figura 1. Seis aislados de esos 17 aislados, fueron identificados como pertenecientes a la especie *asperellum* y están presentes en diversos cultivos establecidos en la región con diferentes tipos de suelos, según se estableció en la tabla 1.

Identificar este número de aislados de esta especie es muy importante, debido al reconocido potencial como agente de control biológico de enfermedades de plantas que posee, además por la diversidad de suelos y cultivos a partir de los cuales fueron aislados. Infante, *et al.*, (2013), trabajando en condiciones in vitro, encontraron que *T. asperellum* mostró un alto nivel de control sobre *Rhizoctonia solani* que es un hongo de suelo que causa serios daños a una amplia variedad de cultivos entre, los cuales se encuentran los cultivos mencionados en la tabla 1. Otros estudios, desarrollados a nivel de campo, demostraron nuevamente excelentes niveles de control de esta especie sobre organismos fitopatógenos como *Pyricularia grisea*, *Fusarium spp.*, *P. pachyrhizi* y *Cercospora kikuchii*, organismos asociados a cultivos de alta importancia agrícola como arroz, frijol y soya, lo que viene a corroborar la importancia de esta especie, dada su utilidad

y potencial como agente de control biológico de enfermedades de plantas (Cruz, *et al.*, 2015). (Figura 2 y Tabla 3). Finalmente, Duarte, *et al.*, (2018) (trabajando también *in vitro*) indicaron que *Trichoderma asperellum* posee una alta capacidad inhibitoria en contra de hongos fitopatógenos del género *Fusarium* sp.

Entre los aislados identificados, además *Trichoderma asperellum* (previamente discutido), fue posible identificar 2 *Trichoderma asperelloides*. Estos fueron encontrados en cultivos muy diferentes como sandía y pastizales, en suelos y regiones tan diferentes como occidente y Matagalpa. Otros aislados identificados fueron, 1 *Trichoderma viride* (Solo fue aislado en occidente a partir del cultivo del plátano), 2 *Trichoderma virens* (ambos fueron aislados a partir de suelos no agrícolas y en regiones tan disimiles como Managua y Chontales) , 2 *Trichoderma songyi* (solo fue aislado en cultivos diferentes en la región de Terrabona, Matagalpa), 3 *Trichoderma breve* (Solo fue aislada en occidente a partir de cultivos diferentes) y 1 *Trichoderma harzianum* (aislada en occidente a partir del cultivo del plátano).

Diversos autores han reportado que *Trichoderma virens* produce una enzima denominada β -1,6- glucanasa que degrada la pared celular de hongos fitopatógenos y ha sido demostrado que dicha enzima disminuye la capacidad de *Pythium ultimum* de infectar plantas, lo cual fue confirmado a través de bioensayos con diferentes especies vegetales (Larralde-Corona, *et al.*, 2008; Martínez, *et al.*, 2013). Por otro lado, se ha indicado que la especie *Trichoderma harzianum*, es capaz de producir una enzima del tipo de las proteasas que degrada las enzimas que utiliza *B. cinerea* para degradar los componentes de la pared celular de las plantas (Harman, 2000) inhibiendo de esta forma su capacidad de infectarlas. De igual manera, esta especie es capaz de ejercer control sobre *Rhizoctonia solani* en follaje del cultivo del arroz reduciendo la incidencia de esta enfermedad en aproximadamente un 30% (Rodríguez, 1999). *Trichoderma viride* por otro lado produce una enzima β -glucosidasa y mediante ella degrada la fitotoxina que produce *Rhizoctonia solani* en las raíces de las plantas (Howel, 2003), esta especie ha mostrado un alto potencial como controlador biológico, ya que se ha demostrado que es capaz de disminuir la incidencia y severidad de patógenos que atacan el follaje de plantas, tal es el caso de *Moniliophthora roreri* causante de la moniliasis en cacao (Verde, 2007).

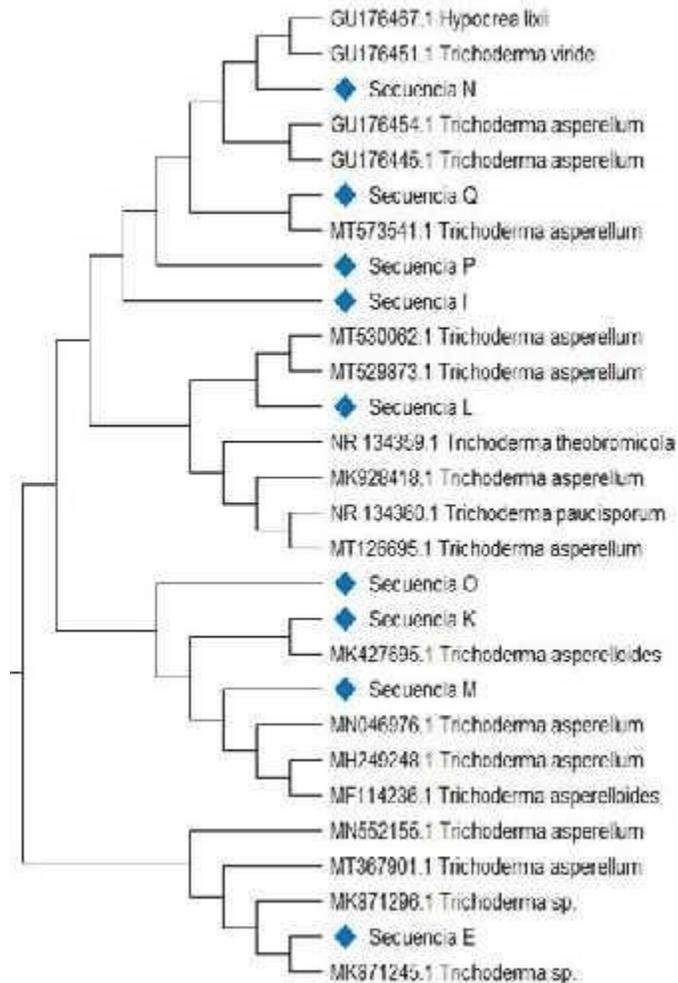


Figura 2. Árbol filogenético de diferentes especies de *Trichoderma* identificadas en el diagnóstico molecular.

Hasta este momento, existe una limitada información sobre la relación del hongo *Trichoderma songyi*, con variables agrícolas o ambientales. Sin embargo, Park, *et al.*, (2014) identificó esta especie asociada al hongo comestible de considerable valor económico como es *Tricholoma matsutake* en Pino. Aunque no hay estudios que indiquen su efecto sobre este hongo, estudios previos demuestran que el género *Trichoderma* ha exhibido una correlación positiva cuando es encontrado en asociación con el hongo *Tricholoma matsutake* (Vaario, *et al.*, 2011). Por lo que se ha sugerido que es de vital importancia desarrollar proyectos de investigación que involucren esta especie de *Trichoderma* (Park *et al.*, 2014). Finalmente, el aislado correspondiente a *Trichoderma breve* que fue identificado en tres localidades es una especie con una muy limitada información. Pero dada la utilidad de este género para la agricultura, ambiente y farmacología entre otras áreas de la ciencia, debería retomarse esta especie para futuros estudios (Chen & Zhuang, 2017) (Tabla 3y Figura 2).

Tabla 3. Identificación de hongos *Trichoderma* mediante análisis filogenético en correspondencia con el árbol filogenético de la figura II. En la tabla se muestra el código de la secuencia y el código del microorganismo, además de la muestra de donde se aisló, puntuación e identidad máxima con el vecino cercano y la identidad final de los hongos.

Código de Secuencia	Código del Microorganismo	Aislado/ Cultivo	Procedencia de la muestra	Vecino más cercano (No de acceso)	Max punt.	Ident. Max	Identidad final
N	T11c	Plátano	Tonalá	<i>Trichoderma viride</i> (GU176451.1)	843	100	<i>Trichoderma viride</i>
Q	T14	Tomate triturado	Terrabona	<i>Trichoderma asperellum</i> (MT573541.1)	843	100	<i>Trichoderma asperellum</i>
P	T13	Bosque	Tonalá	<i>Trichoderma asperellum</i> (MT573541.1)	843	100	<i>Trichoderma asperellum</i>
I	T5	Tomate	UNAN-León	<i>Trichoderma asperellum</i> (MT573541.1)	843	100	<i>Trichoderma asperellum</i>
L	T10	Bosque	Terrabona	<i>Trichoderma asperellum</i> (MT529873.1)	907	99.4	<i>Trichoderma asperellum</i>
O	T12	Sandia	Tonalá	<i>Trichoderma asperelloides</i> (MK427695.1)	946	100	<i>Trichoderma asperelloides</i>
K	T9	Pastizales	Terrabona	<i>Trichoderma asperelloides</i> (MK427695.1)	946	99.43	<i>Trichoderma asperelloides</i>
M	T11a	Guayaba	Chichigalpa	<i>Trichoderma asperellum</i> (MN046976.1)	929	99.61	<i>Trichoderma asperellum</i>
E	T3	Plátano	Tonalá	<i>Trichoderma asperellum</i> (MK871245)	937	99.8	<i>Trichoderma asperellum</i>
T	T121G-21	Tomate triturado	Terrabona-Guajiniquil	<i>Trichoderma songyi</i> (NR159053.1)	870	99.3	<i>Trichoderma songyi</i>

J	T8	Pastizales	Terrabona	<i>Trichoderma songyi</i> (H973225.1)	939	99.8	<i>Trichoderma songyi</i>
S	TCIXD-07	Bosque	Reserva Natural “El Chocoyero	<i>Trichoderma virens</i> (MT229169.1)	809	100	<i>Trichoderma virens</i>
R	TMIXD-08	Suelos no Agrícolas	Chontales-La libertad	<i>Trichoderma virens</i> (NR138428.1)	776	100	<i>Trichoderma virens</i>
D	T2	Plátano	Tonalá	<i>Trichoderma breve</i> (NR154574.1)	802	99.3	<i>Trichoderma breve</i>
G	T4	Plátano	Posoltega	<i>Trichoderma breve</i> (NR154574.1)	802	99.3	<i>Trichoderma breve</i>
U	TF2TG-11	Tomate triturado	Terrabona-Guajiniquil	<i>Trichoderma breve</i> (NR154574.1)	802	99.3	<i>Trichoderma breve</i>
C	T1	Plátano	Tonalá	<i>Trichoderma harzianum</i> (MF108885.1)	924	100	<i>Trichoderma harzianum</i>

CONCLUSIONES

El aislamiento de 50 muestras de Suelos extraídas de diferentes zonas del país permitió obtener 17 aislados que presentaban características similares a las de *Trichoderma*. Las observaciones morfológicas realizadas, permitieron presumir que existían coincidencias entre lo reportado y lo observado a nivel de laboratorio, además con la realización de las pruebas moleculares, el análisis filogenético y lo publicado por otros autores, permitió concluir en que los 17 aislados pertenecían a las especies: *T. asperellum* 14, 13, 5, 10, 3, 11a, *T. asperelloides* 12, 9; *T. breve*, 2, 4, F2TG-11; *T. harzianum* 1 *Trichoderma virens* CIXD-07, MIXD-08; *T. songyi* 121G-21, 8; *Trichoderma viride* (11c) con porcentajes de identidad que oscilan de 99 a 100%. Los aislados identificados por vía molecular, procedían de diferentes regiones del país y fueron aislados en diferentes tipos de cultivos. De gran importancia resulta el haber obtenido aislados tan efectivos en el combate de plagas como *T. asperellum* y una nueva puerta de investigación se abre con aislados de *T. breve* y de *T. songyi*, ya que muy poco se conoce sobre la aplicación de estas especies en la agricultura u otros campos de interés biotecnológico

REFERENCIAS

- Álvarez, C., Osorio, N., & Montoya, M. (2013). Identificación molecular de microorganismos asociados a la rizósfera de plantas de vainilla en Colombia. *Acta Biológica Colombiana*, 293-305.
- Almaraz-Sánchez, A., Alvarado-Rosales, D., Tlapal-Bolaños, B. & Espinoza-Victoria, D. (2012). Identificación de hongos antagonistas a *Phytophthora cinnamomi* rands en bosques de encino del Arrayanal, Colima y Tecoaapa, Guerrero. *Revista Chapingo. Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 18:341-356
- Azarmi, R., Hajieghrari, B. & A. Giglou. (2011). Effect of *Trichoderma* isolates on tomatoseedling growth response and nutrient uptake. *African Journal of Biotechnology* 10(31): 5850-5855.
- Barnett, H. y Hunter, B. (1998). Illustrated general of imperfect fungi. 4 Ed. New York: Mc Millan Publishing Company. 241 p.
- Castillo-Reyes, F., Hernández-Castillo, F., gallegos-Morales, G., Flores-Olivas, A., Rodríguez- Herrera, R., & Aguilar, C. (2015). Efectividad in vitro de Bacillus y polifenoles de plantas nativas de México sobre Rhizoctonia solani. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 549- 562.
- Chen, K. & Zhuang, W.Y. (2017) Discovery from a large-scaled survey of Trichoderma in soil of China. *Scientific Reports* 7: 9090.
- Covacevich, F. 2017. Hongos Micorrizicos arbusculares: Muestreo de suelo para determinación de actividad y diversidad de hongos micorrizicos arbusculares. En: Metodología de muestreo de suelo y ensayos a campo: Protocolos básicos comunes. D. J. Santos, M. Wilson y M. Ostinelli (Eds.) Ediciones INTA
- Cruz A, Rivero D, Echevarría A, Infante D & Martínez B. (2015). *Trichoderma asperellum* en el manejo de hongos fitopatógenos en los cultivos de arroz (*Oryza sativa* L.), frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) y soya (*Glycine max* L.). *Rev. Protección Veg.*; 30(suppl.1):87p.
- Cubillos-Hinojosa J., L. Mejía, y Valero. N. (2009). *Trichoderma harzianum* como promotor del crecimiento vegetal del maracuyá (*Passiflora edulis* var. flavicarpa Degener). *Agron. Colomb.* 27: 81-86
- Duarte-Leal, Y; Pozo-Martínez, L. & Martínez-Coca, B. (2018). Antagonismo in vitro de cepas de *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg frente a aislados de *Fusarium* spp. *Rev. Protección Veg.*, vol.33, n.1
- Fernández E, Trillas MI & Segarra G, (2017). Increased rhizosphere populations of *Trichoderma asperellum* strain T34 caused by secretion pattern of root exudates in tomato plants inoculated with *Botrytis cinerea*. *Plant Pathology*.
- Gams, W., & Bissett, J. (1998). Morphology and identification of *Trichoderma*. In Harman, G.E. and Kubicek, C.P. (Eds.), *Trichoderma and Gliocladium, Vol (1), Basic Biology, Taxonomy and Genetics*. (pp. 3-34). London, England: Taylor and Francis Ltd.

- García H; Martínez A, Hermosa M, Monte E; Aguilar C; y González C. (2017). Caracterización morfológica y molecular de cepas nativas de *Trichoderma* y su potencial de biocontrol sobre *Phytophthora infestans*. *Rev. Mex. fitopatol* vol.35 no.1 Texcoco
- Haichar FEZ, Santaella C, Heulin T & Achouak W, 2014. Root exudates mediated interactions belowground. *Soil Biology and Biochemistry* 77, 69–80.
- Harman G. (2000). Myths and dogmas of control. Changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. *Plant Disease*. 84(4):377-393.
- Howell C. (2003). Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: The history and evolution of current concepts. *Plant Diseases*.; 87(1):4-10.
- Infante D, Martínez B, Pereira B, Reyes Y, Herrera A. (2013). Identificación molecular y evaluación patogénica de trece aislamientos de *Trichoderma* spp. Frente a *Rhizoctonia solani* Kühn. *Biotechnol Apl.*; 30 (1):17-22
- Jaklitsch W.M., Samuels G.J., Ismaiel A. & Voglmayr H. (2013). Disentangling the *Trichoderma viride scens* complex. *Persoonia* 31: 112-146.
- Larralde-Corona C, Santiago M, Sifuentes A, Rodríguez I, Shirai K, & Narváez J. (2008) Control potential and polyphasic characterization of novel native *Trichoderma* strains against *Macrophomina phaseolina* isolated from sorghum and common bean. *Appl Microbiol Biotechnol*. 80:167–177.
- López, C. L. Á. (2012). Identificación y caracterización bioquímica, morfológica y molecular de microorganismos cultivables asociados a la rizósfera y al sustrato de plantas de vainilla. (Tesis de Maestría presentada para optar al título de Magíster en Ciencias-Geomorfología y Suelos), universidad Nacional de Colombia, Colombia.
- Martínez, B.; Infante, D. & Reyes, R. Y. (2013). *Trichoderma* spp. y su función en el control de plagas en los cultivos. *Revista de Protección Vegetal*. 1(28):1-11.
- Martínez-Scott, M. (2016). Evaluación de aislados nativos de *Trichoderma* sp para el control de hongos fitopatógenos del suelo en tomate. *Revista de Ciencias Naturales y Agropecuarias*. Vol.3 No.6 32-42
- Martínez, A. E. (1999). Estudio ecológico de los hongos del suelo de un bosque de *Pinus Taeda*. Buenos Aires. Trabajo de grado (Doctorado en Ciencias Biológicas. Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Naturales.
- Masaquiza Chango, C. E. (2019). Caracterización morfológica y molecular de hongos asociados a la rizósfera de plantas de café en la isla Santa Cruz–Galápagos (Bachelor's thesis, Quito: UCE).
- Otzen T, Manterola C. (2017). Técnicas de muestreo sobre una población a estudio. *International Journal of Morphology*.

- Park, M.S., Oh, S.Y., Cho, H.J., Fong J.J., Cheon WJ, & Lim, YW. (2014). *Trichoderma songyi* sp. nov., a new species associated with the pine mushroom (*Tricholoma matsutake*). *Antonie van Leeuwenhoek* 106, 593–603
- Pineda, M.; Pineda, D.; Labarca, J.; Ulacio, D.; Paredes, C. & Casassa, A. M. (2019). Micobiota del suelo asociada al cultivo del plátano (*Musa aab* cv. *Hartón*) en bosque seco tropical del Sur del Lago de Maracaibo, Venezuela. *Revista Udo Agrícola*. 9 (1):158-165.
- Rodríguez H, Nass H, Cardona R & Alemán L. (1999). Alternativas para controlar el añublo de la vaina, causado por *Rhizoctonia solani* del arroz. *Fitopatología Venezolana.*; 12(1):18.
- Samuelian, S. (2016). Potential of *Trichoderma harzianum* for control of banana leaf fungal pathogens when applied with a food source and an organic adjuvant. 3 *Biotech*. 6. 10.1007/s13205-015-0327-0.
- Sandoval I & Stefanova M. (2000). Efectividad de biopreparados de *Trichoderma* spp en el control de los hongos fitopatógenos del suelo. Boletín Técnico No. 2. Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal (INISAV). La Habana, Cuba. 22 p.
- Samuels, G. J., E. Lieckfeldt & H. I. Nirenberg (1999). *Trichoderma asperellum*, a new species with warted conidia, and redescription of *T. viride*. – *Sydowia* 51(1): 71-88.
- Talavera, A., & Téllez, M. (2007). Hongos patógenos, especies amigables con el ambiente. *Revista. Inventio* 27(12):41-45. Disponible en: <http://inventio.uaem.mx/index.php/inventio/arti.cle/view/167/413>
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M., & Kumar, S. (2011). MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Molecular Biology and Evolution* 28, 2731- 2739.
- Vaario L-M, Fritze H, Spetz P, Heinonsalo J, Hanajik P, & Pennanen T (2011) *Tricholoma matsutake* dominates diverse microbial communities in different forest soils. *Appl Environ Microbiol* 77(24):8523–8531
- Verde W. (2007). Dos Hongos Antagónicos (*Trichoderma harzianum* y *Trichoderma viride*). Efecto en el control de la Moniliasis (*Moniliophthora roreri* Cif y Par. Evans *et al.*) del cacao en la Región Ucayali. Tesis. Ing. Agr. UNAS. Perú. 70 pp
- White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor JW. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. En: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ, editors. PCR Protocols: A guide to methods and applications. *New York: Academic Press*; p. 315-322.

AGRADECIMIENTOS

A la Vicerrectoría General de la Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua –León, por el medio de su Vicerrector el Ph.D. Wilber Salazar, por su apoyo logístico para el desarrollo de la investigación.

Al Programa de Investigación Estudios Nacionales y Servicios Ambientales (PIENSA-UNI), por medio de su directora la MSc. Larisa Korsak, por la colaboración en infraestructura de laboratorio y apoyo Técnico en biotecnología para que la presente investigación culminara con éxito.

SEMBLANZA DE LOS AUTORES



María Delfina Sánchez- Miranda: Obtuvo el grado en Ingeniera en Agroecología Tropical, en la Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua – León, Nicaragua, donde actualmente es profesor adjunto $\frac{3}{4}$ de tiempo. Participó en curso de Desarrollo rural, con enfoque en mejoramiento de vida en Tsukuba, Japón y Ciudad de Guatemala, Guatemala, Trabaja en el Departamento de Agroecología de la Escuela de Ciencias Agrarias y Veterinaria específicamente en el área Biotecnología y Fitopatología.



Luis Francisco Moreno Mayorga, Ingeniero en agroecología Tropical, en la Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, León, diplomado en calidad inocuidad y trazabilidad de productos agrícolas en la Universidad Nacional Agraria, Maestrante en desarrollo Local Sostenible UNAN-León, experiencia en investigación, producción y transferencia de control biológico, entomopatógenos y entomófagos. Actualmente Profesor Asistente del departamento de Agroecología y director del Centro de Investigación y Reproducción de Controladores Biológicos de la Escuelas de Ciencias Agrarias y Veterinarias de UNAN-León.



Leandro Alberto Páramo Aguilera, Graduado como Ingeniero Químico con maestría en Ingeniería Química y énfasis en procesos biotecnológicos, en el Instituto Superior Politécnico “José Antonio Echeverría”, ISPJAE, de la Ciudad de la Habana, Cuba, en el año 1990. En 1997 se gradúa como Master en Microbiología y énfasis en bacteriología en la Universidad de Costa Rica, UCR. En junio del 2012, se gradúa como Doctor en Ciencias en el área de Biotecnología en el Centro de Biotecnología Genómica (CBG) del Instituto Politécnico Nacional (IPN) de México. Amplia experiencia en el desarrollo de procesos biotecnológicos (biofertilizantes, bebidas alcohólicas, fermentados lácteos, bioprospección, compostaje, desarrollo de bioprocesos varios, desde la identificación del microorganismo hasta el desarrollo del proceso biológico para la agricultura, el ambiente y la industria. etc).