

Selección de aislamientos de trichoderma spp. Para el control del cáncer bacteriano (*Clavibacter michiganensis* subsp. *Michiganensis*) del tomate (*Lycopersicum esculentum* mill.)

Raquel Guerrero¹, Cecilia Mónaco², Marina Stocco³, Jorgelina Rolleri⁴ y Norma Guerrero⁵

^{1y5}Facultad de Ciencias Pecuarias y Facultad de Ciencias Ambientales. Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Av. Quito Km. 1 1/2 vía a Santo Domingo de los Tsáchilas. Quevedo, Los Ríos - Ecuador.

^{2,3y 4}Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad Nacional de La Plata. Av. 60 y 115. La Plata, Buenos Aires - Argentina.
rguerrero@uteq.edu.ec

Resumen

En la presente investigación se evaluaron aislamientos de *Trichoderma* spp., obtenidos de plantaciones de tomate de la zona hortícola de La Plata (Buenos Aires, Argentina), para controlar el desarrollo *in vitro* de *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* agente causal del cáncer bacteriano del tomate. Utilizando un medio selectivo para *Trichoderma* spp. se obtuvieron nueve aislamientos de *Trichoderma* spp. a partir de muestras de suelo usando la técnica de dilución seriada. A través de una prueba *in vitro* se evaluó su capacidad para suprimir e inhibir el crecimiento del patógeno, encontrándose que todos ellos suprimían el crecimiento de la bacteria en medio de cultivo entre 14 y 16%, y sólo uno de ellos (aislamiento A4) inhibió aproximadamente en un 15,76% el desarrollo de la bacteria. Los aislamientos de *T. harzianum* obtenidos a partir de suelo de plantaciones de tomate de la Plata tienen potencial para actuar frente a infecciones causadas por *C. m.* subsp. *michiganensis* en el cultivo de tomate a nivel de invernáculo.

Summary

In this research, *Trichoderma* spp. isolates collected from La Plata tomato fields (Buenos Aires, Argentina) were evaluated *in vitro* against of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* pathogen of the bacterial canker of tomato. *Trichoderma* selective media was used to isolate nine strains of *Trichoderma* spp. from soil samples using the serial dilution method. Its ability to suppress and inhibit pathogen growth was evaluated in an *in vitro* assay. All *Trichoderma* isolates showed ability to suppress the bacterial growth between 14 and 16%; however, just isolate A4 was capable to inhibit the pathogen development in 15,76%, approximately. *Trichoderma* spp. isolates obtained from tomato fields in the tomato fields of La Plata has the potential to prevent the bacterial canker under glasshouse conditions.

Introducción

El tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) es una hortaliza de importancia mundial que constantemente está bajo el ataque de insectos y patógenos que afectan su potencial productivo. De las enfermedades bacterianas que atacan a este cultivo el Cáncer Bacteriano, causada por *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Davis *et al.*, 1984), es la patología de mayor importancia a nivel mundial debido a las pérdidas de plantas, efectos en la cantidad y calidad de los frutos como también por la falta de un control efectivo (Agrawal *et al.*, 2012), causando pérdidas entre 50 y 100% de la producción según EFSA (2014). Las alternativas de control disponibles son principalmente la prevención y exclusión, el uso de cultivares resistentes no está disponible al momento (De León *et al.*, 2011; Gartemann *et al.*, 2003; Sandoval, 2004; Xu *et al.*, 2010). No existen alternativas químicas eficientes para su control (Balestra *et al.*, 2009), el uso de compuestos cúpricos y antibióticos han mostrado efecto sobre el patógeno (Milijacevic *et al.*, 2009), sin embargo, han sido cuestionados por los efectos tóxicos y su potencial acumulación en los suelos y organismos vivos. Adicionalmente, cada día existe mayor presión social para la búsqueda de alternativas de control más amigables con el ambiente y que no tengan efectos negativos sobre la salud humana (Liu & Schelar, 2012). Aislamientos de *Trichoderma* spp. están siendo usados

para el control biológico de enfermedades en muchos cultivos a nivel mundial (Mayo *et al.*, 2015, Harman, 2006). Varias especies han sido exitosamente usadas tanto para aplicaciones en invernáculo como en plantaciones en campo (Ommati & Zaker, 2012). Siendo un habitante común de los suelos y ha demostrado poseer una alta capacidad para reducir las infecciones causadas por un amplio rango de patógenos (Harman, 2006). Por estas razones, siendo un habitante natural del fitoplasma del cultivo de tomate (Consolo *et al.*, 2014), se propuso en la presente investigación aislar cepas de este organismo y evaluarlas a nivel *in vitro* con la finalidad de que a futuro pueda desarrollarse una alternativa no sólo más efectiva para el control del Cáncer Bacteriano sino también acorde a las exigencias ambientales actuales.

Materiales y Métodos

Para el aislamiento de *Trichoderma* spp. se colectaron muestras de 100 g suelo de la rizósfera de plantas de tomate de tres invernáculos comerciales de la zona hortícola de La Plata (Buenos Aires, Argentina). Las tres muestras fueron colectadas en bolsas de polietileno estériles, trasladadas hasta el laboratorio de Fitopatología de la Universidad Nacional de La Plata (UNLP). Todas las muestras fueron secadas a temperatura ambiente, desmenuzadas en un mortero, tamizadas (malla de orificios de 2 mm de diámetro) y almacenadas a 4°C hasta ser procesadas. De cada muestra

se hicieron diluciones seriadas (1:10 - 1:10000) en agua destilada estéril. De las diluciones 1:1000 y 1:10000 se sembraron cinco placas de Petri, usando 1 ml de cada suspensión y 9 ml de medio selectivo para *Trichoderma* diluido (TSM desarrollado por Elad *et al.*, 1981) a 50 °C de temperatura. Las placas se incubaron a 24°C durante 8 días en oscuridad. Diariamente se hicieron observaciones y aquellas colonias que presentaron características (micelio, cuerpos fructíferos, esporas) del género *Trichoderma* fueron subcultivadas en tubos de ensayo conteniendo medio agar papa dextrosa (PDA). Para la identificación se obtuvieron cultivos monosporicos de cada uno de los aislamientos en medio PDA incubados durante 36 horas a 25°C en oscuridad y se usaron las claves taxonómicas de Samuels *et al.* (2015). Todas las cepas de *Trichoderma* spp. fueron utilizadas para el test *in vitro*, sin embargo, únicamente las cinco cepas con mejor desempeño fueron identificadas molecularmente siguiendo la metodología de Murray & Thompson (1980) modificada por Consolo *et al.* (2012). Las cepas se conservaron en papel filtro estéril de 20 x 10 mm colonizado por los hongos y almacenados a -20°C (Stocco *et al.* 2010). La colonia del patógeno fue cedida por el Laboratorio de Fitopatología de la UNLP y sus repiques se conservaron a 10°C en medio agar nutritivo extracto de levadura (NBY). Dos días antes de la instalación del experimento se inocularon matraces Erlenmeyer de 250 ml conteniendo 100 ml de caldo nutritivo

con dos discos de agar (5mm) de la bacteria desarrollada durante 48h en agar nutritivo, los matraces se incubaron a 25 + 2°C en agitación constante (50 rpm) durante 48 horas. Cada aislamiento de *Trichoderma* spp. se sembró en placas de Petri de 90 mm de diámetro conteniendo medio PDA (por duplicado) e incubados a 25 °C durante 8 días. Para el enfrentamiento *in vitro* de las colonias, se estirió la bacteria con un hisopo estéril sobre la superficie de placas de Petri conteniendo PDA. Discos de 5 mm de diámetro obtenidos de la periferia de los cultivos de cada aislamiento del antagonista se colocaron en el centro de cada placa de Petri previamente inoculada con la bacteria. Se inocularon diez placas por cada aislamiento de *Trichoderma* spp. más diez placas de testigo (diez unidades por cada aislamiento de *Trichoderma* spp. en medio de cultivo sin la bacteria y diez unidades de placas únicamente con la bacteria) y se incubaron a 25°C en oscuridad durante 72 horas.

Luego del periodo de incubación se registraron los valores de: a) diámetro de crecimiento de los hongos antagonistas y con crecimiento bacteriano visiblemente disminuido, b) el diámetro del halo de inhibición alrededor del disco y c) se consideró constante el diámetro de crecimiento bacteriano del testigo (9 cm tamaño de la placa de Petri) (Figura 1). Con los datos obtenidos se calculó el porcentaje de supresión y el porcentaje de colonización del patógeno, usando las siguientes fórmulas:

Porcentaje de Supresión = $[\text{Área de Supresión (AS)}/\text{Área de Crecimiento Bacteriano (AB)}] \times 100$

Porcentaje de Colonización = $[\text{Área de Colonización (AC)}/\text{Área de Crecimiento Bacteriano (AB)}] \times 100$

Donde:

AS = área de crecimiento de los hongos antagonistas y de crecimiento bacteriano visiblemente disminuido, obtenida con la fórmula $AS = (S/2)2*\pi$

AC = área alrededor del disco del antagonista que presentó crecimiento bacteriano, obtenida con la fórmula $AC = AB - AI$ $AI = (I/2)2*\pi$

AB = área de crecimiento bacteriano en los testigos, obtenida con la fórmula $AB = (C/2)2*\pi$

El experimento se desarrolló bajo un diseño completamente al azar. Los datos obtenidos fueron analizados usando el programa STATISTICA versión 8 (StatSoft Inc.). Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y las medias fueron comparadas usando una prueba de Tukey al 0,05 de probabilidad.

Resultados y Discusión

Ocho días después de la siembra mediante el uso de lupa estereoscópica y microscopio en la dilución 1:1000 se determinó la presencia de nueve colonias con características

correspondientes al género *Trichoderma* de acuerdo a las claves de Samuels *et al.* (2015). No se consideró la dilución 1:10000 debido al bajo número de colonias presentes.

Las muestras de los invernáculos 1 y 3 presentaron una mayor población promedio de *Trichoderma* spp. con 8 x 122 unidades formadoras de colonias (UFC) por gramo de muestra, obteniéndose cuatro colonias en cada una, mientras que a partir de la muestra B sólo se aisló una única colonia del biocontrolador lo que representa una población aproximada de 2 x 10² UFC por gramo de suelo analizado. Cada colonia fue purificada y conservada siguiendo la metodología descrita anteriormente.

La cantidad de aislamientos obtenidos por gramo de suelo (entre 2 a 8 x 10² UFC) muestran que la población de los biocontroladores en los suelos de las plantaciones hortícolas es relativamente baja. Las labores de desinfección de suelos usadas comúnmente en el Cinturón Hortícola Platense tienden a ser agresivas e incluir agroquímicos de elevada toxicidad. Stirling (2011) señala que la desinfección de suelos afecta las poblaciones microbianas que de manera natural suprimen el efecto de los patógenos. Aunque los efectos de los agroquímicos sobre el desarrollo de este género es variable, por regla general, las especies de *Trichoderma* tienden a soportar una amplia gama de agroquímicos utilizados en la agricultura (Verma *et al.*, 2007). Esto expli-

caría la presencia de aislamientos de *Trichoderma* spp. en las muestras analizadas.

Bajo la influencia de factores como los agroquímicos y disponibilidad de nutrientes, los aislamientos obtenidos nos dan una idea de la capacidad que poseen para soportar condiciones de estrés. Esto coincide con lo presentado por Liu *et al.* (2008) quienes encontraron que la mayor parte de los microorganismos habitantes del suelo son sensibles a las actividades de la agricultura convencional, especialmente a la aplicación de fungicidas y fertilizantes inorgánicos. Sin embargo, según los mismos autores, las especies de *Trichoderma* muestran ser menos sensibles a estas alteraciones en el suelo y tendrían la capacidad de ocupar rápidamente los nichos dejados por otros microorganismos.

En el análisis de los porcentajes de supresión se observó que todos los tratamientos fueron estadísticamente diferentes del testigo, es decir todos ejercieron acción significativa sobre el crecimiento de las colonias bacterianas (Figuras 2 y 3). Esta reducción en el crecimiento de las colonias en el área cercana al disco de cultivo del biocontrolador fue evaluada como porcentaje de supresión y podría estar influenciada por la producción de metabolitos tóxicos o antibióticos producidos por *Trichoderma* spp. Al respecto, Vinale *et al.* (2014) sostienen que los biocontroladores producen sustancias que pueden afectar el desarrollo de los patógenos, muchos

de ellos con propiedades antibióticas, conocida como antibiosis. Blaszczyk *et al.* (2014) indican la antibiosis es un tipo de antagonismo es un mecanismo específico de *Trichoderma* spp. frente a los patógenos.

El aislamiento A4 presentó el mayor valor de supresión con 36,42%, seguido de los aislamientos A5, A3, A1 y A2 quienes no fueron diferentes entre sí, con 34,24%, 32,41%, 31,92% y 29,83% de área bacteriana visiblemente reducida, respectivamente. Los aislamientos restantes tuvieron menor área de supresión, aunque también fueron estadísticamente diferentes del testigo. Estudios realizados por Ezziyani *et al.* (2004) mostraron que la presencia de *Trichoderma* spp., en cultivos duales con *Phytophthora capsici*, jugaría un papel importante en la reducción y destrucción de la colonia del patógeno. De igual manera, Patil *et al.* (2012) encontraron que el uso de metabolitos difusibles y volátiles en medios de cultivo, redujeron el crecimiento *in vitro* de *Pythium* spp. causante de pudrición de raíces en tomate.

En cuanto a los resultados del análisis de los porcentajes de colonización bacteriana, el aislamiento A4 identificado como *T. harzianum* fue el único que presentó valores estadísticamente diferentes del testigo (Figura 4). A pesar de que todos los aislamientos mostraron un efecto sobre el desarrollo de la bacteria, sólo uno de ellos (el aislamiento A4) mostró tener un efecto inhibitorio. La bacteria en

presencia del aislamiento A4 cubrió el 84,24% del área del medio de cultivo, mientras que los tratamientos restantes y el testigo superaron el 99% de área de medio cultivo colonizada (Tabla 1). Los aislamientos de *Trichoderma* spp. evaluados en este experimento tienen efecto sobre la bacteria, sin embargo, el nivel de acción varía entre ellos. Se ha comprobado que la actividad antagonista de algunos aislamientos de *Trichoderma* spp. podría diferir aun cuando pertenezcan a la misma especie (Vinale *et al.*, 2014). La literatura presenta resultados variables referente a la producción de antibióticos por las cepas antagonistas, tales como los observados por Eziashi *et al.* (2006) quienes mostraron que los antibióticos producidos por *T. viride* inhibieron el crecimiento *in vitro* de *Ceratocystis* spp. entre 2 a 81%. Estudios realizados por Joshi *et al.* (2010) revelaron que únicamente el 5% de los aislamientos evaluados fueron altamente antagonistas. Vinale *et al.* (2014) aseguran que la aplicación de estos metabolitos para la protección de cultivos puede ser una realidad en el futuro inmediato, debido a sus bajos costos de producción a gran escala, especialmente con aquellos extractos que posean actividad antimicrobiana tanto contra hongos como bacterias (Leelavathi *et al.*, 2014).

Los cinco aislamientos con mejor desempeño en el test *in vitro* (A1, A2, A3, A4 y A5) fueron identificados molecularmente como *T. harzianum* (Tabla 2), esto cual coincide con lo

mencionado por Consolo *et al.* (2014), Joshi *et al.* (2010) y Harman *et al.* (2004) quienes sostienen que esta especie es una de las más frecuentes en muestras de suelo.

Los aislamientos de *T. harzianum* obtenidos a partir de suelo de plantaciones de tomate del Cinturón Hortícola Platense tienen potencial para actuar frente a infecciones causadas por *C. m.* subsp. *michiganensis* en el cultivo de tomate a nivel de invernáculo. Adicionalmente, se destaca que *Trichoderma* spp. es un habitante del suelo de plantaciones de tomate del Cinturón Hortícola de La Plata y que todas las cepas aisladas poseen la capacidad de suprimir el desarrollo de las colonias del patógeno en condiciones *in vitro*, una de ellas mostró potencial para inhibir el crecimiento de *C. m. michiganensis*.

Literatura Citada

Atgrawal, K., Sharma, D., & Jain, V. (2012). Seed-borne bacterial diseases of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) and their control measures: a review. *International Journal of Food, Agriculture and Veterinary Sciences*, 2(2), 173-182.

Balestra, G., Heydari, A., Ceccarelli, D., Ovidi, E., & Quattrucci, A. (2009). Antibacterial effect of *Allium sativum* and *Ficus carica* extracts on tomato bacterial pathogens. *Crop Protection*, 28(10), 807-811.

Consolo, V., Mónaco, C., Cordo, C., Salerno, G. (2012). *Characterization of novel Trichoderma* spp. isolates as a search for effective biocontrollers of fungal diseases of economically important crops in Argentina.

World Journal of Microbiology and Biotechnology. 28:1389-1398.

Davis, M., Graves, A., Vidaver, A., & Harris, R. (1984). *Clavibacter*: a new genus containing some phytopathogenic coryneform bacteria. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 34, 107-117.

De León, L., Sivero, F., López, M., & Rodríguez, A. (2011). *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, a seed born tomato pathogen: Healthy seeds are still the goal. *Plant Diseases*, 95(11), 1328-1339.

EFSA (2014). Scientific opinion on the pest categorisation of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith) Davis et al. *EFSA Journal*, 12(6), 1-26.

Elad, Y., Chet, I., & Henis, Y. (1981). A selective medium for improving quantitative isolation of *Trichoderma* spp. from soil. *Phytoparasitica*, 9(1), 59-67.

Eziashi, E., Uma, N., Adekunle, A., & Airede, C. (2006). Effect of metabolites produced by *Trichoderma* species against *Ceratomyces paradoxa* in culture medium. *African Journal of Biotechnology*, 5(9), 703-706.

Ezziymani, M., Sánchez, C., Ahmed, A., Requena, M., & 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.

Gartemann, K., Kirchner, O., Engemann, J., Grafen, I., Eichenlaub, R., & Burger, A. (2003). *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*: First steps in the understanding of virulence of a Gram-positive phytopathogenic bacterium. *Journal of Biotechnology*, 106, 179-191.

Harman, G., Howell, C., Viterbo, A., Chet, I., & Lorito, M. (2004). *Trichoderma* species--opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews. Microbiology*, 2(1), 43-56. *Microbiology*, 2(1), 43-56.

Harman, G. (2006). Overview of Mechanisms and Uses of *Trichoderma* spp. *Phytopathology*, 96, 190-194. <http://doi.org/10.1094/PHYTO-96-0190>

Joshi, B., Bhatt, R., & Bahukhandi, D. (2010). Antagonistic and plant growth activity of *Trichoderma* isolates of Western Himalayas. *Journal of Environmental Biology*, 31(6), 921-928.

Leelavathi, M., Vani, L., & Reena, P. (2014). Antimicrobial activity of *Trichoderma harzianum* against bacteria and fungi. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3(1), 96-103.

Liu, B., Glenn, D., & Buckley, K. (2008). *Trichoderma* communities in soils from organic, sustainable, and conventional farms, and their relation with Southern blight of tomato. *Soil Biology and Biochemistry*, 40(5):1124-1136. <http://doi.org/10.1016/j.soilbio.2007.12.005>

Liu, J. & Schelar, E. (2012). Pesticide exposure and child neurodevelopment. *Workplace health Safety*, 60(5):235-243

Mayo, S., Gutierrez, S., Malmierca, M., Lorenzana, A., Campelo, M., Hermosa, R., Cosquero, P. (2015). Influence of *Rhizotocnia solani* and *Trichoderma* spp. in growth of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and in the induction of plant defense-related genes. *Frontiers in plant science*, 6:685

Patil, A., Laddha, A., Lunge, A., Paikrao, H., & Mahure, S. (2012). *In vitro* antagonistic properties of selected *Trichoderma* species against tomato root rot causing *Pythium*

species. *International Journal of Science Environment and Technology*, 1(4), 302-315.

Ommati, F. & Zaker, M. (2012). *In vitro* and greenhouse evaluation of Trichoderma isolates for biological control of potato wilt disease (*Fusarium solani*). *Archives of Phytopathology and plant protection*, 45 (13):1715-1723

Samuels, G., Chaverri, P., Farr, D., & McCray, E. (2015). Obtenido de *Trichoderma* Online, Systematic Mycology and Microbiology Laboratory, ARS, USDA: <http://taxadescriptions/keys/TrichodermaIndex.cfm>

Stirling, G. (2011). Biological control of plant-parasitic nematodes: an ecological perspective, a review of progress and opportunities for further research. En K. Davies, & Y. Spiegel (Edits.), *Biological control of plant-parasitic nematodes: building coherence between microbial ecology and molecular mechanisms* (1 ed., págs. 1-38). Springer.

Stocco, M., Mónaco, C., & Cordo, C. (2010). A comparison of preservation method for Trichoderma harzianum cultures. *Revista Iberoamericana de Micología*, 27(4), 2013-2015.

Verma, M., Brar, S., Tyagi, R. & Surampalli, V. (2007). Antagonistic fungi, Trichoderma spp.: panoply of biological control. *Biochemical Engineering Journal*, 37(1):1-20.

Vinale, F., Sivasithamparam, K., Ghisalberty, E., Marra, R., Woo, S., & Lorito, M. (2014). *Trichoderma* secondary metabolites active on plants and fungal pathogens. *The Open Mycology Journal*, 8(1):127-139.

Xu, X., Miller, F., Baysal-Gurel, K., Gartemann, R., Eichenlaub, K., & Rajashekhara, G. (2010). Bioluminescence imaging of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* infection in tomato seeds and plants. *Applied Environmental Microbiology*, 76, 3978-3988.

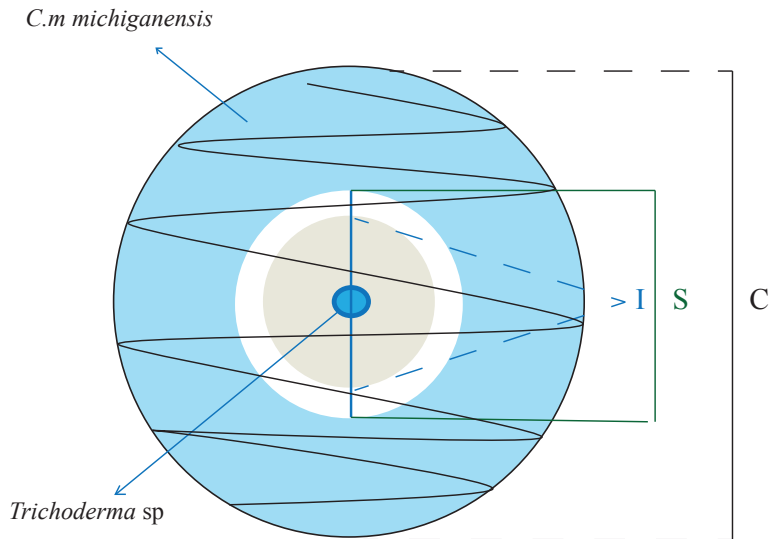


Figura 1. Gráfica descriptiva del crecimiento simultáneo de *C. m. subsp. michiganensis* y *Trichoderma spp.*, en donde: *S* es el diámetro de acción del antagonista (crecimiento del antagonista y de la bacteria visiblemente afectada), *I* es el diámetro del halo de inhibición (sin crecimiento bacteriano) y *C* es el diámetro del crecimiento bacteriano del testigo.

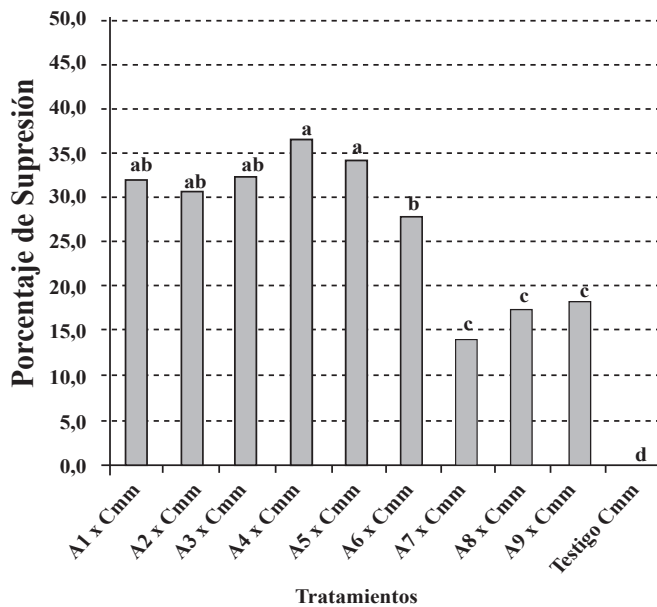


Figura 2. Porcentajes de supresión del crecimiento bacteriano de colonias de *C. m. subsp. michiganensis* ejercidos por aislamientos de *Trichoderma spp.* registrados a las 72 horas luego de la inoculación.

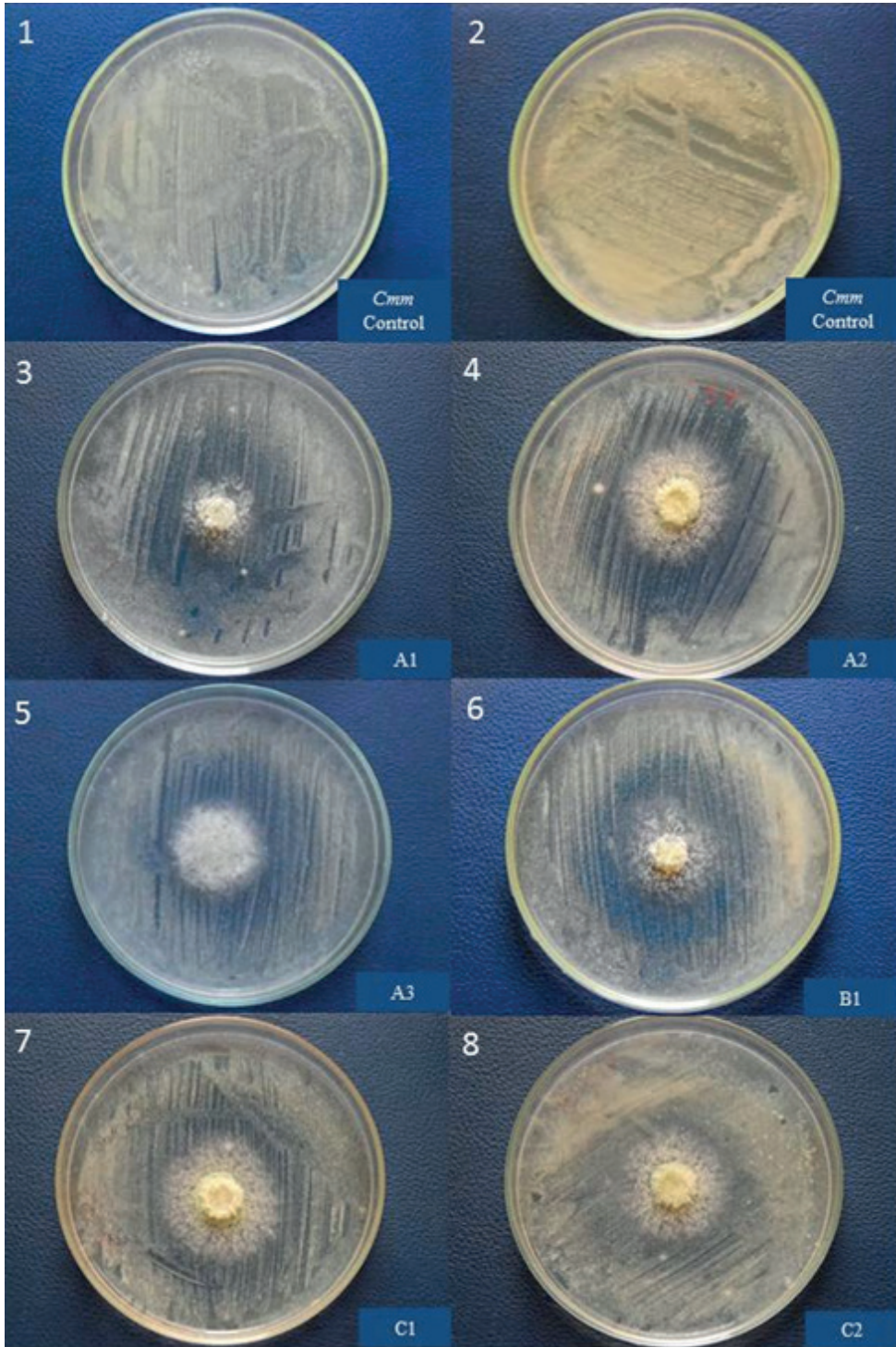


Figura 3. 1 y 2) Crecimiento de *C. m. subsp. michiganensis* en los testigos a las 72 horas después de la inoculación, 3-8) Crecimiento simultáneo de *C. m. michiganensis* y aislamientos de *Trichoderma* spp. a las 72 horas de la inoculación.

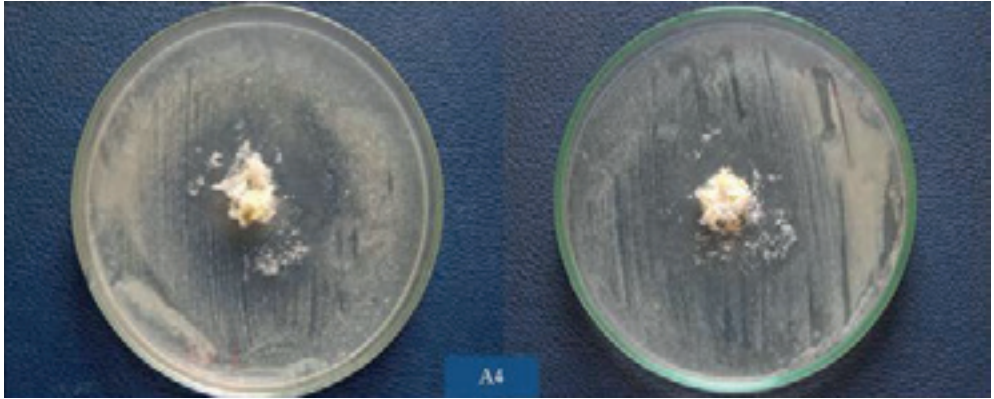


Figura 4. Halos de inhibición en colonias de *C. m. subsp. michiganensis* en crecimiento simultáneo con aislamiento A4 de *Trichoderma spp.*

Tabla 1. Porcentajes de colonización bacteriana promedios registrados en la confrontación de *C. m. subsp. michiganensis* con aislamientos de *Trichoderma spp.*, 72 horas después de la inoculación

Tratamientos	Porcentajes de Colonización (%) ¹		
A1 x <i>Cmm</i>	99,21		b
A2 x <i>Cmm</i>	99,21		b
A3 x <i>Cmm</i>	99,17		b
A4 x <i>Cmm</i>	84,24	a	
B1 x <i>Cmm</i>	99,21		b
C1 x <i>Cmm</i>	99,21		b
C2 x <i>Cmm</i>	99,04		b
C3 x <i>Cmm</i>	99,21		b
C4 x <i>Cmm</i>	99,02		b
Testigo <i>Cmm</i>	100		b

Valores con la misma letra no difieren entre sí según el Test de Tukey al 0,05 de probabilidades.

Tabla 2. Resultados de la identificación molecular de los cinco aislamientos de *Trichoderma* spp. con mejor desempeño in vitro frente a *C. m.* subsp. *michiganensis*

Aislamiento	Especie más cercana	Identificación (%)	Número de accesión (GenBank)
T1	<i>Trichoderma harzianum</i>	99	HG940492
T2	<i>Trichoderma harzianum</i>	99	KC576698
T3	<i>Trichoderma harzianum</i>	100	HG940492
T4	<i>Trichoderma harzianum</i>	92	KC403944
T5	<i>Trichoderma harzianum</i>	89	KC403946