

Endofitismo de especies de *Trichoderma* y crecimiento radicular en dos variedades de banano *in vitro*

Endophytism of *Trichoderma* species and root growth in two varieties of banana *in vitro*

Diana Carolina Ramírez-Torres¹ , Delfino Reyes-López¹ , Luis Antonio Domínguez-Perales¹ ,
Nuvia Orduño-Cruz² , Pedro Fabián Grifaldo-Alcántara³ , Carmela Hernández-Domínguez^{1*} 

¹Facultad de Ciencias Agrícolas y Pecuarias, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Av. Universidad S/N, San Juan Acateno, 73965, Teziutlán, Puebla, México.

²Facultad de Ciencias Agrotecnológicas, Universidad Autónoma de Chihuahua, Santo Niño, Chihuahua, 31110, Chihuahua, México.

³Centro Universitario de la Costa Sur, Universidad de Guadalajara, Departamento de Producción Agrícola, Av. Independencia Nacional # 151, Autlán de Navarro, 48900, Jalisco, México.

*Autor para correspondencia: carmela.hernandezd@correo.buap.mx

Fecha de recepción:

14 de octubre de 2021

Fecha de aceptación:

3 de agosto de 2022

Disponible en línea:

5 de octubre de 2022

Este es un artículo en acceso abierto que se distribuye de acuerdo a los términos de la licencia Creative Commons.



Reconocimiento-

NoComercia-

CompartirIgual 4.0

Internacional

RESUMEN

El endofitismo de hongos en plantas tiene efectos benéficos y depende de varios factores. En este estudio se evaluó el endofitismo individual y el consorcio de cinco especies —*Trichoderma spirale*, *T. longibrachiatum*, *T. parareesei*, *T. andinense* y *T. hamatum*— en raíz y bráctea de banano Williams y Francés *in vitro*. La mortalidad, la longitud y el diámetro de raíz de plantas *ex vitro* fueron evaluados. Se observaron diferencias significativas de endofitismo en raíz ($X^2_{1,00} = 31.13$, $P < 0.05$); *T. longibrachiatum* y *T. hamatum* tuvieron 48 por ciento de endofitismo en la variedad Williams, y *T. spirale*, 58 por ciento en la variedad Francés. El tratamiento formado por las cinco especies presentó 24 por ciento de endofitismo en raíz de la variedad Williams y 8 por ciento en la variedad Francés. Se observó relación entre endofitismo y crecimiento de diámetro de raíz ($R^2 = 0.771$, $P < 0.05$); sin embargo, no se observó relación ($R^2 = 0.298$, $P < 0.05$), ($R^2 = 0.089$) entre endofitismo de especies de *Trichoderma* y mortalidad de plantas de banano de ambas variedades.

PALABRAS CLAVE

Bráctea, diámetro, longitud, mortalidad, plantas, raíz.

ABSTRACT

Endophytism of fungi in plants has beneficial effects and depends on several factors. In this study, we evaluated individual endophytism and the consortium of five species —*Trichoderma spirale*, *T. longibrachiatum*, *T. parareesei*, *T. andinense* and *T. hamatum*— in root and bract in Williams and French bananas *in vitro*. Mortality, length and root diameter were evaluated on *ex vitro* plants. We observed significant differences in root endophytism ($X^2_{1,00} = 31.13$, $P < 0.05$). *Trichoderma longibrachiatum* and *T. hamatum* had 48% endophytism in the Williams variety, while *T. spirale*, 58% in the French variety. The treatment which consisted of the five species of *Trichoderma* had 24% endophytism in the root of the Williams variety, and 8% in the French variety. Correlation between endophytism and root diameter growth was observed ($R^2 = 0.771$, $P < 0.05$). However, relation ($R^2 = 0.298$, $P < 0.05$), ($R^2 = 0.089$) was not observed between endophyte of *Trichoderma* species and plant mortality of both banana varieties.

KEYWORDS

Bract, diameter, length, mortality, plants, root.

INTRODUCCIÓN

Los endófitos son microsimbiontes que habitan el interior del tejido vegetal y pasan su ciclo de vida sin causar efectos perjudiciales a la planta huésped. Éstos pueden ser bacterias, hongos o actinomicetos (Guzmán-Guzmán et al. 2019). Los hongos endófitos (HE) se caracterizan por establecer relaciones mutualistas: mientras la planta provee al hongo alimento, hospedaje y protección, el hongo confiere a la planta potencial adaptativo frente a condiciones adversas de tipo abiótico, tolerancia a sequía, estrés salino, oxidativo y suelos ácidos, con altos contenidos de zinc (Zn) y aluminio (Al) (Fontana et al. 2021; Rubio et al. 2017).

Entre los principales endofitos, *Trichoderma* sp. (Hipoceleales: Hipocraceae) es considerado antagonista natural de fitopatógenos, y es uno de los principales hongos que se ha encontrado en el interior de tejidos radiculares y partes aéreas de plantas (Ruano-Rosas et al. 2016; Samolski et al. 2012); por ello, se le asocia con un mayor crecimiento de brotes y raíces (Cai et al. 2015). Asimismo, se ha observado que la colonización de raíces por parte de estos organismos permite mayor adquisición de nutrientes del suelo y mejora la eficiencia en el uso de nitrógeno. También se asocia a la inducción de resistencia de los cultivos a enfermedades y plagas, además de reducir los síntomas de estrés abiótico (Castro-Restrepo et al. 2022; Fontana et al. 2021). A través del tiempo, se han hecho estudios sobre los beneficios de *Trichoderma* sp. inoculado sobre tejido de plantas *in vitro*, en los que se observa enraizamiento y promoción de crecimiento (Soumare et al. 2021).

En México, la técnica *in vitro* es una herramienta empleada en varios cultivos, incluyendo el banano (Galan et al. 2018), y ha permitido obtener grandes cantidades de plantas con buenas características fenotípicas, genotípicas, de vigor, además de reducir el riesgo de diseminación de plagas y enfermedades. Sin embargo, en cultivo *in vitro*, la transición entre la fase de laboratorio y la de invernadero —conocida como aclimatación— es considerada una etapa crítica, que determina la supervivencia y el establecimiento de plántulas (Soumare et al. 2021), debido a que implica cambios drásticos en la condición de cultivo para las plantas. Cuando no son propicias estas condiciones

de cultivo, pueden provocar estrés y muerte, pues se produce una disminución en el rendimiento entre 40 y 60 por ciento (Burhanuddin 2021). Por lo anterior, es necesario aplicar técnicas de adaptación de condiciones *in vitro* a *ex vitro*, como la inducción endófitica de *Trichoderma* en plantas *in vitro*, con el objetivo de estimular el crecimiento de raíz en el suelo durante el desarrollo temprano. En banano existen pocos estudios sobre colonización de raíces por parte de microorganismos, razón por la cual el objetivo de este trabajo fue evaluar la capacidad endofítica *in vitro* de *Trichoderma* sp. sobre dos variedades de *Musa* AAA, así como su capacidad de colonización de raíces y brácteas.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se llevó a cabo en la Facultad de Ciencias Agrícolas y Pecuarias de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, ubicada en San Juan Acateno, Teziutlán, Puebla, México, de donde se obtuvieron las especies de *Trichoderma*: *T. spirale* MK086990, *T. longibrachiatum* MK086985, *T. parareesei* MK086987, *T. andinense* MK086991 y *T. hamatum* MK086996 (Figura 1). Las plantas de banano (*Musa* AAA) de las variedades Williams y Francés —las cuales se obtuvieron del Laboratorio Nature Source Improved Plants S. A de C. V (Tapachula Chiapas, México)— y crecieron en medio de cultivo Murashige y Skoog (MS).

Endofitismo de especies de *Trichoderma* en brácteas y en raíces de plantas de banano

Para el ensayo, se emplearon especies de *Trichoderma* recuperadas de -80°C , crecidas en Agar Dextrosa Papa (PDA) e incubadas a $30\pm 2^{\circ}\text{C}$ por cinco días. De los crecimientos se hicieron concentraciones que fueron ajustadas a 1×10^4 esporas mL^{-1} , y de éstas colocaron 10 μL en cajas Petri nuevas, con medio de cultivo PDA, donde se habían marcado previamente cuatro puntos. Todas las cajas fueron incubadas en las mismas condiciones mencionadas anteriormente por 24 h. También se emplearon 35 plantas de banano (*Musa* AAA) *in vitro* de la variedad Williams y 35 de Francés; ambas variedades fueron repartidas en siete frascos.

Cada tratamiento consistió en la combinación de la variedad de banano y especie de *Trichoderma*, un consorcio (mezcla de las cinco especies) y el testigo absoluto sin aplicar (Figura 1), lo que dio como resultado 14 tratamientos. Para evaluar la capacidad endofita o colonización, se contó el número de raíces con micelio interno, y para evaluar el efecto de la colonización, se evaluaron las variables peso, elongación de raíz y diámetro; además, se determinó la relación entre colonización y mortalidad.

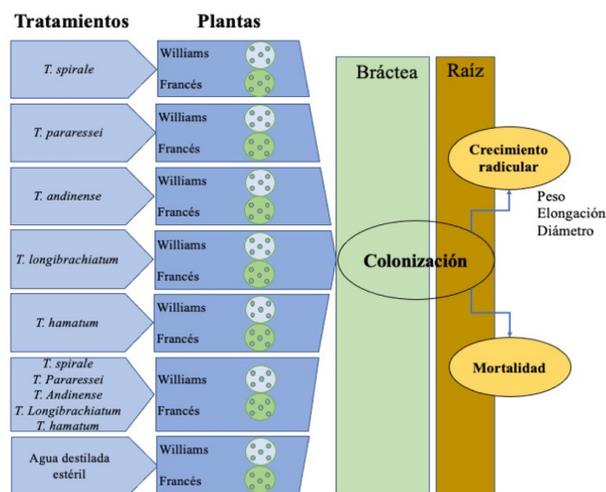


Figura 1. Distribución de tratamientos de *Trichoderma* inoculadas solas y en consorcio, en raíces de dos variedades de banano.

La inoculación de las plantas consistió en cortar dos círculos de 0.5 cm de diámetro de crecimiento de la espora sobre el medio de cultivo, los cuales se colocaron en la pared interior del frasco que contenía las plantas de banano; posteriormente, todos los tratamientos fueron incubados a 27 ± 2 °C por 120 h.

Transcurrido este tiempo, se evaluó el crecimiento del hongo dentro de los tejidos; el procedimiento consistió en seleccionar al azar cinco raíces y tres brácteas por planta, con cinco repeticiones por tratamiento. El material fue lavado con agua estéril, luego de lo cual se retiró el exceso de humedad con papel absorbente; después, se cortaron secciones de 0.5 cm², las cuales se colocaron sobre portaobjetos y fueron teñidas con azul de lactofenol a 1 por ciento; finalmente, luego de colocarles cubreobjetos, se visualizó el crecimiento micelial sobre y dentro del tejido del área teñida, bajo el objetivo de 100X de un microscopio compuesto (Leica Microsystems, modelo ICC50, Wetzlar, Alemania). Posteriormente,

se contabilizaron las plantas con crecimiento endófito y sin él.

Relación entre endofitismo, peso, elongación y diámetro de raíces de banano

Para determinar la relación endofítica y el enraizamiento se tomaron el testigo y las plantas de banano de la variedad Francés inoculadas con *T. andinense*, la variedad que tuvo menor mortalidad y presentó crecimiento endófito; se les retiró el medio de cultivo de la raíz con agua corriente; luego, se dejaron reposar en una solución de estreptomicina de 50 mg mL⁻¹, se pesaron y se midió la longitud y el diámetro de raíz. Posteriormente, las plantas fueron sembradas en una mezcla de perlita, *peat moss* y suelo, en una proporción de 1:1:3 y se evaluaron por 90 días. Transcurrido el tiempo, se contabilizaron las plantas vivas y muertas, se retiró el suelo de cada una y se midió el peso fresco (g), la elongación (cm) y el diámetro de raíz (cm).

Análisis estadístico

Para el experimento de endofitismo de especies de *Trichoderma* en brácteas y raíces de banano, se calculó el porcentaje, donde: % = número de plantas con presencia del hongo endófito/total de plantas por tratamiento $\times 100$. Los datos de porcentajes obtenidos de endofitismo en brácteas y raíces fueron analizados con la prueba de Kruskal Wallis, mediante el uso de PROC NPAR1WAY WILCOXON (Prueba de rangos con signos de Wilcoxon con nivel de significancia de 0.05). Para conocer el efecto de crecimiento endófito de los tratamientos sobre la mortalidad de plantas, se empleó la prueba de Kruskal Wallis, en la cual se hizo una comparación de medias de cuadrados mínimos y se realizó un análisis de correlación de Pearson para determinar la relación entre endofitismo y número de plantas muertas, así como la relación endofítica y enraizamiento (peso, elongación y diámetro de raíces), los datos de colonización endofita, y peso, longitud y diámetro de raíz de plantas de la variedad Francés inoculadas con *T. andinense*. El análisis se llevó a cabo con el *software* estadístico SAS versión 9.0 y SPSS Statistics versión 25 para Windows®.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Endofitismo de especies de *Trichoderma* en brácteas y en raíces de plantas de banano

El experimento presentó endofitismo ($X^2_{0.01} = 26.43$, $P \leq 0.05$), pues se observó micelio interno en raíces y brácteas en ambas variedades; sin embargo, fue mayor en brácteas (Figura 2).

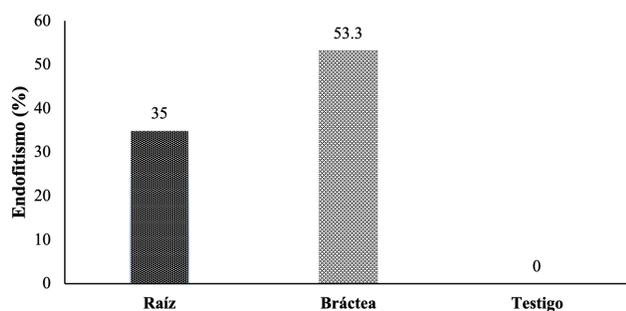


Figura 2. Endofitismo de *Trichoderma* sp. en raíz y bráctea en dos variedades de banano.

Los hongos endófitos se han encontrado en plantas de diversos ecosistemas; entre éstos, las especies de *Trichoderma* son capaces de colonizar tejidos de árboles forestales, frutales, y plantas arbustivas (Cai et al. 2015; Pánek et al. 2013). Sin embargo, existe poca información de su endofitismo en plantas de banano y su posible efecto benéfico. En este estudio, se observó micelio interno de *T. hamatum* y *T. longibrachiatum* en tejidos de banano de las variedades William y Francés, lo cual sugiere que las especies *Trichoderma* son endofitas en banano al desarrollarse en espacios inter e

intracelulares. Lo anterior concuerda con estudios desarrollados por Cai et al. (2015), quienes mencionan que plantas de jitomate presentaron crecimiento interno de *Trichoderma* en raíz. Asimismo, Zhao et al. (2018) indican que, en el cultivo de rosal, las comunidades fúngicas endofitas están más influenciadas por la etapa de desarrollo que por la variedad de planta y los tejidos, pues éstos desempeñan un papel menor en la configuración de la microbioma de las variedades de rosales estudiadas.

Se presentó mayor endofitismo en bráctea de banano (53%) que en raíz, con más de 15 por ciento de colonización. En contraste, estudios realizados por Zhang et al. (2014) con *T. harzianum* y *Beauveria bassiana* encontraron que la colonización en raíz y semilla de cacao y banano fue mayor en las partes subterráneas que en las aéreas, lo que sugiere la probabilidad de que estos hongos se dispersen más fácilmente en el suelo, al colonizar la rizosfera, con la posibilidad de reinfectar raíz.

Las especies de *Trichoderma* que presentaron mayor endofitismo en brácteas de las dos variedades inoculadas fueron *T. spirale*, *T. parareesei* y *T. hamatum* (Figura 3); sin embargo, el análisis no reveló diferencia significativa entre los tratamientos ($X^2_{0.01} = 19.74$, $P \leq 0.05$).

Al respecto, Li et al. (2020) mencionan que las comunidades de hongos endófitos también son afectadas por el tipo de tejido en raíz y tallo al que colonizan, debido a las sustancias secretadas por dichos tejidos.

En raíz, se observaron diferencias significativas entre las variedades de banano inoculadas con las

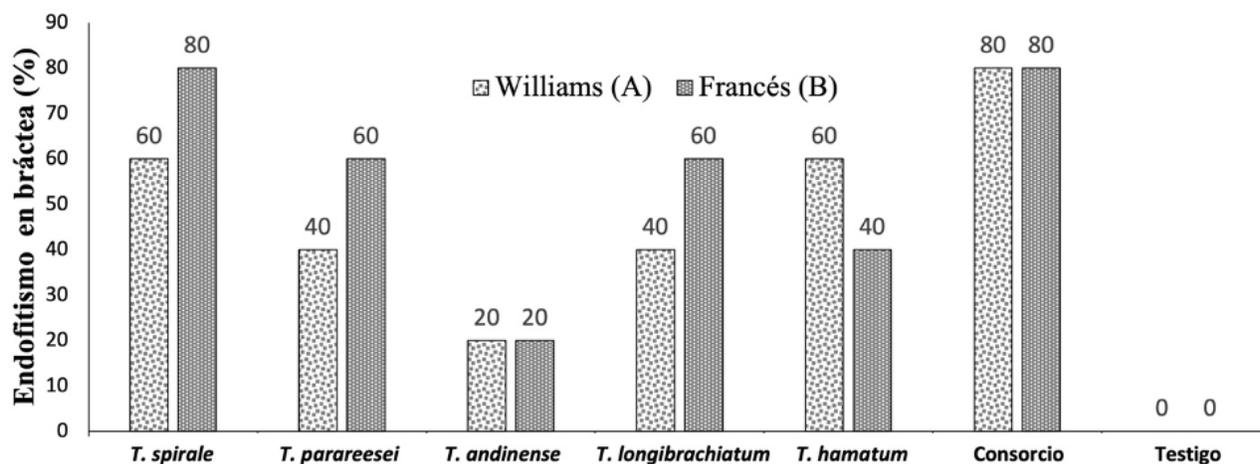


Figura 3. Endofitismo de especies de *Trichoderma* en bráctea de dos variedades de banano.

especies de *Trichoderma* ($X^2_{1,00} = 31.13, P < 0.05$). La variedad Williams inoculada con *T. longibrachiatum* y *T. hamatum* presentó endofitismo de 48 por ciento (Figura 4); mientras que estas especies en la variedad Francés presentaron endofitismo de 40 y 36 por ciento, respectivamente, y con *T. parareeseie*, 48 por ciento.

De acuerdo con el análisis taxonómico hecho por Khondoker et al. (2020), investigar los patrones de ensamblajes de comunidades endófitas en diversos cultivares reveló que los cultivares huéspedes tienen un impacto significativo en los ensamblajes de la comunidad endófitas en todos los sitios de estudio. De esta manera, los cultivares pueden desempeñar un papel importante en el endofitismo de hongos.

El menor endofitismo mostrado en raíz se presentó en las plantas tratadas con el consorcio de las cinco especies, lo que concuerda con las afirmaciones de Sharma et al. (2020), quienes mencionan que, de toda la formulación consorcial aplicada globalmente, pocas muestran un efecto sinérgico cuando se utilizan grupos grandes de microorganismos, en comparación con el uso de un solo microorganismo o pequeños consorcios microbianos. Si bien hay efectos positivos en estos grupos, también pueden surgir efectos antagónicos, entre más grandes sean.

Se presentaron diferencias significativas en mortalidad de plantas entre las distintas especies de *Trichoderma* inoculada en ambas variedades ($X^2_{1,00} = 27.3877, P < 0.05$); en este sentido, el tratamiento 10 (*T. andinense*) en banano Francés (Cuadro 2) mostró menor mortalidad sobre esta variedad de plantas. Sin embargo, el análisis de correlación no indicó relación

Cuadro 2. Comparación de medias de cuadrados mínimos obtenidos con Kruskal Wallis de crecimiento endófito en raíz y mortalidad de plantas en dos variedades de banano.

Tratamientos (T)	Crecimiento endófito en raíz	Plantas muertas
Variedad Williams		
1. <i>T. spirale</i>	32.4	38
2. <i>T. parareesei</i>	32.4	38
3. <i>T. andinense</i>	43.5 *	38
4. <i>T. longibrachiatum</i>	41.2	38
5. <i>T. hamatum</i>	56.0 *	38
6. Consorcio	24.3 *	38
7. Testigo	7.5 *	31
Variedad Francés		
8. <i>T. spirale</i>	39.3	38
9. <i>T. parareesei</i>	43.5*	38
10. <i>T. andinense</i>	24.9	17
11. <i>T. longibrachiatum</i>	37.3	38
12. <i>T. hamatum</i>	34.2	38
13. Consorcio	12.5*	38
14. Testigo	7.5*	31

* indica diferencia estadística a nivel de 0.05.

entre la mortalidad y el endofitismo de ninguna de las especies de *Trichoderma* ($R^2 = 0.0432, P < 0.05$).

Al respecto, Hazarika (2003) menciona que la tasa de mortalidad en la fase de aclimatación de ambas variedades es un fenómeno frecuente cuando las plantas se pasan a condiciones *ex vitro* por: transpiración excesiva, baja disponibilidad de agua, disponibilidad de nutrientes, supresión de fotosíntesis y sensibilidad

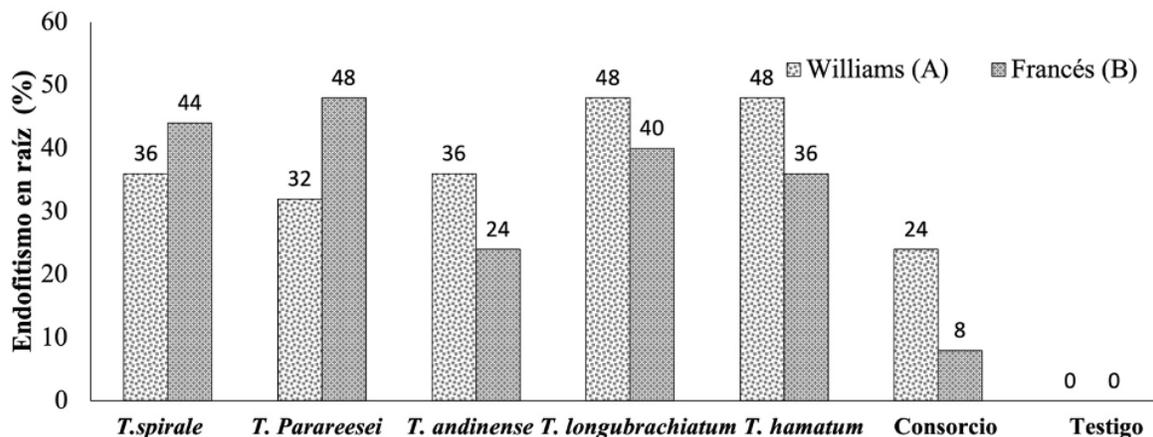


Figura 4. Endofitismo de especies de *Trichoderma* en raíz de dos variedades de banano.

al estrés ambiental. Asimismo, la respuesta de la planta ante la asociación temprana con hongos endófitos conlleva cambios en el metabolismo que implican un gasto de energía, la cual es requerida cuando la aclimatación es inmediata a la colonización, puesto que la planta será sometida a nuevos requerimientos de adaptabilidad (Savona et al. 2009).

Relación entre endofitismo, peso, elongación y diámetro de raíces de banano

No hubo relación entre endofitismo de *T. andinense* y las variables de peso y longitud de raíz, ($R^2 = -0.08575$, $P \leq 0.05$); sin embargo, se observó una relación ($R^2 = 0.771$, $P \leq 0.05$) entre endofitismo y el diámetro de la raíz principal de banano Francés (Cuadro 1).

Cuadro 1. Correlación de Pearson entre endofitismo de *T. andinense*, peso de planta, longitud y diámetro en raíz en banano var. Francés.

	Endofitismo (%)	Peso (g)	Longitud (cm)	Diámetro (cm)
Colonización endófito (%)	1.00	-0.09	-0.09	0.77**
Peso (g)	-0.08	1.00	1.00**	-0.25
Longitud (cm)	-0.08	1.00**	1.00	-0.25
Diámetro (cm)	0.77*	-0.25	-0.25	1.00

La correlación es significativa en el nivel de 0.05*, o en el nivel 0.01** (bilateral), n= 5.

Los resultados sugieren una respuesta de esta variedad a esta especie de *Trichoderma*. No obstante, varias especies colonizan la raíz de las plantas y promueven rápidamente el crecimiento inicial (Tseng et al. 2020); asimismo, He et al. (2020) mencionan que la inoculación con *T. viridae* mejora el desarrollo de raíces y la absorción de nutrientes de plantas hospedantes; por lo tanto, podría mejorar el crecimiento de las plantas y la producción de biomasa, de manera similar a *T. harzianum*, donde se ha observado engrosamiento de raíz (Kakabouki et al. 2021).

CONCLUSIONES

Las especies de *Trichoderma*: *T. spirale*, *T. longibrachiatum*, *T. parareesei*, *T. andinense* y *T. hamatum*, así como el consorcio de las cinco especies de *Trichoderma* evaluadas, tienen la capacidad de crecer endófitamente en raíz en las variedades William y Francés de banano, aunque el endofitismo de algunas que conforman el consorcio se ve afectado. Algunas especies de *Trichoderma* tienen mayor endofitismo en bráctea que en raíz, por lo que se sugiere que el tipo de tejido también influye en el endofitismo.

Por otra parte, *T. andinense* fue una de las especies de *Trichoderma* endófitas efectivas para engrosamiento de raíz de plantas de banano Francés en este estudio, pero no para banano Williams. Respecto a la relación entre mortalidad de plantas y endofitismo, *Trichoderma* es un hongo endófito incapaz de causar la muerte a plantas de banano Williams y Francés, por lo que en el traspaso de condiciones *in vitro* a *ex vitro* se recomienda cuidar las condiciones que induzcan a la mortalidad.

AGRADECIMIENTOS

Expresamos nuestros agradecimientos a la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla por el apoyo brindado en el uso de sus instalaciones y equipo en esta investigación.

LITERATURA CITADA

- Burhanuddin M. 2021. Factors that effect of the optimal plantlet growth from tissue culture on the acclimatization stage. Proceeding International Conference on Science and Engineering 4: 100-104.
- Cai F, Chen W, Wei Z, Pang G, Li R, Ran W, Shen Q. 2015. Colonization of *Trichoderma harzianum* strain SQR-T037 on tomato roots and its relationship to plant growth, nutrient availability and soil microflora. Plant and Soil 388: 337-350. <https://doi.org/10.1007/s11104-014-2326-z>
- Castro-Restrepo D, Dominguez MI, Gaviria-Gutiérrez B, Osorio E, Sierra K. 2022. Biotization of endophytes *Trichoderma asperellum* and *Bacillus subtilis* in *Mentha spicata* microplants to promote growth, pathogen tolerance and specialized plant metabolites. Plants 11: 1474. <https://doi.org/10.3390/plants11111474>
- Fontana DC, De Paula S, Torres AG, De Souza VHM, Pascholati SF, Schmidt D, Neto DD. 2021. Endophytic fungi: Biological control and induced resistance to phytopathogens and abiotic stresses. Pathogens 10: 570. <https://doi.org/10.3390/pathogens10050570>
- Galan V, Rangel A, Lopez J, Perez HJB, Sandoval J, Souza RH. 2018. Propagación del banano: técnicas tradicionales, nuevas tecnologías e innovaciones. Revista Brasileira de Fruticultura 40: 1-22. <https://doi.org/10.1590/0100-29452018574>
- Guzmán-Guzmán P, Porras-Troncoso D, Olmedo-Monfil V, Herrera-Estrella A. 2019. *Trichoderma* species: Versatile plant symbionts. Phytopathology 109: 6-16. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-07-18-0218-RVW>
- Hazarika BN. 2003. Acclimatization of tissue-cultured plants. Current Science 85: 1704-1712.
- He C, Wang W, Hou J. 2020. Plant performance of enhancing licorice with dual inoculating dark septate endophytes and *Trichoderma viride* mediated via effects on root development. BMC Plant Biology 20: 235. <https://doi.org/10.1186/s12870-020-02535-9>
- Kakabouki I, Tataridas A, Mavroeidis A, Kousta A, Karydogianni S, Zisi C, Kouneli V, Konstantinou A, Folina A, Konstantas A, Papastylianou P. 2021. Effect of colonization of *Trichoderma harzianum* on growth development and CBD content of hemp (*Cannabis sativa* L.). Microorganisms 9: 518. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9030518>
- Khondoker DGM, Oshita Y, Yasuda M, Kanasugi M, Matsuura E, Xu Q, Okazaki S. 2020. Host specificity of endophytic fungi from stem tissue of nature farming tomato (*Solanum lycopersicum* Mill.) in Japan. Agronomy 10: 1019. <https://doi.org/10.3390/agronomy10071019>
- Li J-L, Sun X, Zheng Y, Lü P-P, Wang Y-L, Guo L-D. 2020. Diversity and community of culturable endophytic fungi from stems and roots of desert halophytes in northwest China. MycoKeys 62: 75-95. <https://doi.org/10.3897/mycokeys.62.38923>
- Pánek M, Reinprecht L, Mamonova M. 2013. *Trichoderma viride* for improving spruce wood impregnability. BioResources 8: 1731-1746.
- Ruano-Rosas D, Prieto P, Rincón AM, Gómez-Rodríguez MV, Valderrama R, Barroso JB, Mercado-Blanco J. 2016. Fate of *Trichoderma harzianum* in the olive rhizosphere: Time course of the root colonization process and interaction with the fungal pathogen *Verticillium dahlia*. BioControl 61: 269-282. <http://doi.org/10.1007/s10526-015-9706-z>
- Rubio MB, Hermosa R, Vicente R, Gómez-Acosta FA, Morcuende R, Monte E, Bettiol W. 2017. The combination of *Trichoderma harzianum* and chemical fertilization leads to the deregulation of phytohormone networking, preventing the adaptive responses of tomato plants to salt stress. Frontiers in Plants Science 8: 294. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00294>
- Samolski I, Rincón AM, Pinzón LM, Viterbo A, Monte E. 2012. The *qid74* gene from *Trichoderma harzianum* has a role in root architecture and plant biofertilization. Microbiology 158: 129-138. <https://doi.org/10.1099/mic.0.053140-0>
- Savona M, Mascarello C, Mantovani E, Minuto L, Casazza G, Ruffoni B. 2009. Strategy to improve the quality, acclimatization and *ex vitro* re-introduction of micropropagated plants of *Limonium cordatum* (L.) Mill., a Mediterranean endemic. Acta Horticulturae 812: 527-532. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2009.812.76>
- Sharma P, Jambhulkar PP, Raja M, Sain SK, Javeria S. 2020. *Trichoderma* spp. in consortium and their rhizospheric interactions. En: Sharma A, Sharma P, editores. *Trichoderma*. Rhizosphere Biology. Singapur, Springer. P. 269-272. https://doi.org/10.1007/978-981-15-3321-1_14
- Soumare A, Diédhiou AG, Arora NK, Al-Ani LKT, Ngom M, Fall S, Hafidi M, Ouhdouch Y, Kouisni L, Sy MO. 2021. Potential role and utilization of plant growth promoting microbes in plant tissue culture. Frontiers in Microbiology 12: 649878. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.649878>

- Tseng Y-H, Rouina H, Groten K, Rajani P, Furch ACU, Reichelt M, Baldwin IT, Nataraja KN, Uma Shaanker R, Oelmüller R. 2020. An endophytic *Trichoderma* strain promotes growth of its hosts and defends against pathogen attack. *Frontiers in Plant Science* 11: 573670. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.573670>
- Zhang N, Wang D, Liu Y, Li S, Shen Q, Zhang R. 2014. Effects of different plant root exudates and their organic acid components on chemotaxis, biofilm formation and colonization by beneficial rhizosphere-associated bacterial strains. *Plant and Soil* 374: 689-700. <https://doi.org/10.1007/s11104-013-1915-6>
- Zhao Y, Xiong Z, Wu G, Bai W, Zhu Z, Gao Y, Parmar S, Sharma VK, Li H. 2018. Fungal endophytic communities of two wild rose varieties with different powdery mildew susceptibilities. *Frontiers Microbiology* 9: 2462. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02462>