

Trichoderma: su potencial en el desarrollo sostenible de la agricultura

Barbarita Companioni González¹, Grisel Domínguez Arizmendi², Rómulo García Velasco^{2*}

¹Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Calzada Antonio Narro No 1923 Buenavista. Saltillo. Coahuila. México. CP 25315.

²Universidad Autónoma del Estado de México, Centro Universitario Tenancingo. Carretera Tenancingo - Villa Guerrero km 1,5. Tenancingo. Estado de México. México. CP 52400.

*Autor para correspondencia e-mail: rgarciave@uaemex.mx

RESUMEN

La producción sostenible de alimentos sin afectar el medio ambiente es un reto para la sociedad actual que impone transformar los sistemas convencionales de explotación agraria a agroecológicos en las formas productivas. En este sentido, la utilización de microorganismos para el control de plagas y enfermedades, constituye una alternativa viable para lograr aumentos significativos en los rendimientos, calidad de los cultivos y reducir el impacto negativo de los agroquímicos en el medio ambiente. *Trichoderma* se considera uno de los antagonistas de hongos fitopatógenos más utilizado en la agricultura moderna. En este artículo se resumen algunos aspectos teóricos y prácticos de los múltiples beneficios que aportan las especies de *Trichoderma* lo cual ha hecho posible la elaboración de formulados mediante técnicas biotecnológicas y su aplicación en el desarrollo de la agricultura sostenible.

Palabras clave: antagonismo, biocontrol, enfermedades

The potential of *Trichoderma* in the sustainable development of agriculture

ABSTRACT

The sustainable production of food without affecting the environment is nowadays a society challenge that requires transforming the conventional systems of agricultural exploitation to agroecological in the productive forms. In this sense, the use of microorganisms for pests and diseases control constitutes a viable alternative to achieve significant increases yields, quality of the crops and reduce the negative impact of agrochemicals on the environment. *Trichoderma* is considered one of the most common fungal phytopathogenic antagonists in modern sustainable agriculture. This paper summarizes some theoretical and practical aspects of the multiple benefits provided by the species of *Trichoderma* spp. Therefore, this has made possible the development of formulation through plant biotechnology and its application in the development of sustainable agriculture.

Keywords: antagonism, biocontrol, diseases

INTRODUCCIÓN

La agricultura es una de las actividades humanas más importantes. Durante la mayor parte de su historia en el planeta, el ser humano se alimentó, se vistió y satisfizo sus necesidades básicas sin practicar la agricultura. Sin embargo, el modelo de la

Revolución Verde en la agricultura moderna logró un incremento significativo de la productividad agrícola. Este modelo de agricultura basado en la tecnificación y el uso de dosis masivas de insumos costosos tales como plaguicidas, fertilizantes, combustibles fósiles, maquinarias y agua para riego está siendo cuestionado en su sustentabilidad por

una serie de impactos ecológicos, económicos y sociales, derivados de las prácticas modernas de producción (Sarandón y Flores, 2014). A su vez, este modelo de agricultura tampoco ha logrado solucionar el problema del hambre en la población mundial donde el número de personas que padecen de hambre en el mundo continúa en aumento y alcanzó 821 millones en el 2017. A ello se añade otro grupo de personas desnutridas con dietas que no cumplen el mínimo necesario de calorías. Por tal motivo, la producción sostenible de alimentos sin afectar el medio ambiente es un reto para la sociedad que impone transformar los sistemas convencionales de explotación agraria a agroecológicos en las formas productivas con el interés de lograr aumentos significativos en los rendimientos, calidad de los cultivos y reducir el impacto negativo de los agroquímicos en el medio ambiente (Gutiérrez *et al.*, 2013; López *et al.*, 2015).

En el desarrollo sostenible de la agricultura moderna, la utilización de microorganismos para el manejo de plagas y enfermedades constituye una alternativa viable para asegurar la producción de alimentos sanos (Funes y Monzote, 2006; López *et al.*, 2011; López *et al.*, 2015). Los microorganismos antagonistas se encuentran en el suelo de forma natural y ofrecen varios beneficios para los cultivos. Entre ellos se encuentran que permiten mayor absorción de nutrientes (Behie *et al.*, 2012; Plett *et al.*, 2014; Behie y Bidochka, 2014; Igiehon y Babalola, 2018), mayor tolerancia al estrés biótico y abiótico (Schirawski y Perlin, 2018; Stringlis *et al.*, 2018) e inducen sistemas de defensas en plantas (Beckers *et al.*, 2009; Hermosa *et al.*, 2012; Jayaraman *et al.*, 2014; Malmierca *et al.*, 2015). Por lo tanto, su uso contribuye al desarrollo sostenible de la agricultura y permite responder a la demanda de alimentos orgánicos.

Trichoderma spp. es un hongo cosmopolita, habita de forma natural en el suelo, en especial en aquellos que contienen materia orgánica o desechos vegetales en descomposición (Harman y Lumsden, 1990). Las especies de *Trichoderma* han sido estudiadas durante más de 70 años como antagonistas de hongos fitopatógenos. No obstante, hasta inicios del siglo XXI fue que se empezó a comercializar como biocontroladores agrícolas, a causa del cambio en el modelo de agricultura que exige

cada vez obtener alimentos sanos con menores trazas de fungicidas. Desde entonces *Trichoderma* se considera como uno de los antagonistas de hongos fitopatógenos más utilizado en la agricultura moderna sustentable (Ezziyyani *et al.*, 2004; López *et al.*, 2011; Martínez *et al.*, 2013; Martínez y Pérez, 2015; Pineda *et al.*, 2017). Sin embargo, esta capacidad como antagonista es altamente variable. Según Mihuta y Rowe (1986) de 255 aislamientos obtenidos de diferentes lugares, sólo el 15% fue efectivo en el control de *Rhizoctonia*. En este mismo sentido, Arcia (1995) planteó que las cepas nativas de un lugar son más efectivas que las importadas y Martínez *et al.* (2008) mostraron que la capacidad antagonista depende de la especificidad de la cepa y de sus modos de acción. Por lo tanto, el éxito en la formulación y comercialización de biopreparados fúngicos mediante la industria biotecnológica para su aplicación en la agricultura requiere de estudios previos en la selección de aislamientos promisorios para el control. Además, se necesita del conocimiento de los mecanismos de acción relacionados con dicho control, la concentración suficiente de inóculo, la viabilidad de las esporas y el mantenimiento de la densidad de inóculo una vez que sea aplicado en el suelo o sustrato (Pineda *et al.*, 2017). Basado en los planteamientos anteriores en esta reseña se resumen algunos aspectos teóricos y prácticos de los múltiples beneficios que aportan las diferentes especies de *Trichoderma* lo cual ha hecho posible la elaboración de formulados mediante técnicas biotecnológicas y su aplicación en el desarrollo de la agricultura sostenible.

Trichoderma spp. Generalidades

Las especies del género *Trichoderma*, se ubican taxonómicamente dentro de la división *Mycota*, subdivisión *Eumycota*, la clase *Hyphomycetes*, orden *Moniliales* y en la familia *Moniliaceae*. Se distinguen por su morfología alrededor de 30 especies del género *Trichoderma*. Sin embargo, el uso de la biotecnología vegetal mediante la introducción de técnicas moleculares en micología evolutiva en los últimos años han permitido revelar la existencia de más de 100 especies distintas (Druzhinina *et al.*, 2006; Torres *et al.*, 2015). El género *Trichoderma* en su estado vegetativo presenta micelio con septos

simples. Las especies son haploides y su pared está compuesta por quitina y glucano. Se reproducen asexualmente por conidios. Presentan conidióforos hialinos ramificados, filídes simples o en grupos, conidios de 3 a 5 µm de diámetro los cuales presentan un rápido desarrollo en medios de cultivo sintéticos. Posee la capacidad de producir clamidiosporas en sustratos naturales. Estas estructuras toleran condiciones ambientales adversas y son de gran importancia para la supervivencia del género en el suelo bajo condiciones desfavorables (Harman, 2001).

T. harzianum, *T. viride*, *T. koningii* y *T. hamatum* se encuentran entre las especies más destacadas en este género con efectos beneficiosos en el control de hongos fitopatógenos y las de mayor aplicación en el desarrollo de la agricultura moderna sostenible. Estas especies se caracterizan por presentar un rápido crecimiento y una amplia capacidad de esporulación y adaptación a un amplio rango de suelos agrícolas. Su gran adaptabilidad les permite sobrevivir de forma natural en diferentes ambientes. En especial, en aquellos que contienen materia orgánica o desechos vegetales en descomposición. No obstante, estos hongos compiten en la rizosfera de la planta como endófitos y a su vez colonizan el sistema radicular. Pueden penetrar en el tejido de la raíz hasta la primera o segunda capa de célula, sólo en los espacios intercelulares (Harman, 2006; Hoitink *et al.*, 2006; Siddiqui y Akhtar, 2008; Radjacommare *et al.*, 2010).

Todas las características descritas con anterioridad hacen que este hongo antagonista constituya uno de los agentes de control de hongos fitopatógenos más utilizados en la agricultura moderna soatenible. Alrededor del 90% de los micoplaguicidas que se comercializan en el mercado para el biocontrol de agentes patógenos de plantas contienen como principio activo las esporas (conidios y clamidiosporas) de *Trichoderma* spp. (Whipps y Lumsden, 2001; Ezziyyani *et al.*, 2004; Woo *et al.*, 2006; López *et al.*, 2011; Martínez *et al.*, 2013; Martínez y Pérez, 2015; Pineda *et al.*, 2017).

Los biopreparados fúngicos que se comercializan se formulan con el objetivo de transportar el mayor número posible de propágulos (esporas) viables, para el control

de enfermedades fúngicas y bacterianas de plantas. Para ello, se debe lograr la estabilidad de las esporas las cuales deben permanecer viables durante mucho tiempo antes y después de su uso; con un tiempo mínimo de caducidad de 18 meses a 20 °C (Deshpande, 1999). Sin embargo, el éxito en el uso y comercialización de estos biopreparados fúngicos está en lograr una correcta y óptima formulación lo cual implica asegurar su fácil aplicación, la concentración suficiente de inóculo y la viabilidad de las esporas (Fravel, 2005; Martínez *et al.*, 2008; Montesinos *et al.*, 2008). Además, se debe tener en cuenta durante este proceso la selección precisa de cepas a utilizar, así como del conocimiento previo de sus mecanismos de acción y contar con un estricto sistema de calidad para su producción (Montesinos *et al.*, 2008; Martínez *et al.*, 2013; Pineda *et al.*, 2017).

En estos formulados fúngicos, las especies más utilizadas son *T. viride* y *T. harzianum* (Verma *et al.*, 2007) las cuales constituyen el ingrediente principal siendo efectivos contra un amplio grupo de hongos patógenos entre los que se encuentran *Phytophthora nicotianae*, *Rhizoctonia solani*, *Pythium* spp., *Phytophthora aphanidermatum*, *Phytophthora parasitica*, *Phytophthora capsici*, *Rhizoctonia rolfsii*, entre otras (Stefanova, 2007). Estos efectos beneficiosos justifican el uso de los microorganismos antagonistas como alternativas reales a los fungicidas químicos. Por lo cual, su uso contribuye al desarrollo sostenible de la agricultura y a su vez permite responder a la demanda de alimentos orgánicos y protege el entorno ecológico de la zona urbana (Stefanova, 1997; Stefanova *et al.*, 1999; Stefanova, 2007; Gato, 2010; Karanasios *et al.*, 2012).

Principales mecanismos de acción en las interacciones antagonicas

Varios autores (Martínez *et al.*, 2008; Hoyos *et al.*, 2008; López *et al.*, 2010) han puntualizado que en las interacciones antagonicas pueden estar involucrados varios mecanismos de acción. Incluso pueden manifestarse de forma simultánea en un mismo aislado, no siendo excluyentes ninguno de ellos. Por tanto, el éxito en el control del patógeno dependerá de la eficacia de cada uno de los mecanismos de acción o de la combinación entre ellos y pueden ser directos

e indirectos. En el primer grupo se encuentran la antibiosis (Morton *et al.*, 2004; Vinale *et al.*, 2006), la competencia por espacio y nutrientes (Harman, 2000; Bélanger *et al.*, 2012) y el micoparasitismo (Woo *et al.*, 2006; Larralde *et al.*, 2008). Este último representa su principal mecanismo de acción (Fernández, 2001). Mientras, en el segundo grupo de mecanismos se encuentran la estimulación del crecimiento (Parets, 2002; Harman *et al.*, 2004; Mathivanan *et al.*, 2005) y la inducción de resistencia a estrés biótico y abiótico (Harman, 2006; Vinale *et al.*, 2008; Jayaraman *et al.*, 2014; Schirawski y Perlin, 2018; Stringlis *et al.*, 2018). Se plantea que todos estos mecanismos actúan de forma indirecta sobre los patógenos, dado que su acción consiste en elicitar los mecanismos de defensa fisiológicos y bioquímicos en la planta. La multiplicidad de estos mecanismos en un aislado es una característica importante para su selección como agente de control biológico.

Antibiosis

Trichoderma produce una gran cantidad de compuestos con actividad antifúngica los cuales pueden actuar mediante contacto directo con los agentes patógenos o inhibir su crecimiento o reproducción sin establecer contacto físico (Dennis y Webster, 1971; Hjeljord y Tronsmo, 1998). La producción de estos compuestos antimicrobianos depende del medio de cultivo en que se encuentren, condiciones y edad del cultivo del hongo. Por otra parte, según su estructura se pueden encontrar diferentes grupos de compuestos antifúngicos (metabolitos secundarios): 1) metabolitos de bajo peso molecular, no polares que incluyen compuestos aromáticos, pironas, y butenólidos y metabolitos derivados del isocianato que pueden difundirse en el agua y actuar a cierta distancia del agente fitopatógeno, 2) metabolitos de alto peso molecular nombrados peptaiboles con características anfipáticas. Estos metabolitos pueden alterar la permeabilidad de las membranas lipídicas de las células del patógeno (Sivasithamparam y Ghisalberti, 1998). Por todo lo anterior, el riesgo de aparición de microorganismos resistentes a estos metabolitos, se encuentra limitado a la capacidad que posee un mismo aislado de *Trichoderma* en producir varios compuestos antifúngicos de forma simultánea, aspecto relevante desde el punto de vista práctico.

Competencia por espacio y nutrientes

Según Sivan y Chet (1989) el rápido crecimiento y la secreción de metabolitos de diferente naturaleza son las principales características que le confieren a gran parte de los aislados de *Trichoderma* su mayor capacidad a la hora de colonizar un espacio. De este modo, compiten de forma directa por los mismos sitios que algunos hongos fitopatógenos. La colonización de los sitios de unión de estos agentes patógenos en la planta por *Trichoderma* permite reducir la enfermedad. También su carácter saprófito les permite utilizar un amplio rango de sustratos y compiten de forma directa por los nutrientes en el medio (Hjeljord y Tronsmo, 1998). No obstante, la competencia en suelos o sustratos ricos en nutrientes por los que pudiera competir no es eficaz. Debido a esto, en aquellos suelos ricos en materia orgánica o con fertilización completa este mecanismo tiene menos valor práctico (Martínez *et al.*, 2013). En ello influyen de forma determinante factores como el tipo de suelo, pH, temperatura y humedad. Los factores mencionados deben tenerse en cuenta para obtener la eficiencia de su aplicación en campo.

Micoparasitismo

Uno de los principales mecanismos de acción de los aislados de *Trichoderma* relacionado al control biológico de hongos fitopatógenos se basa en su capacidad de parasitar a otros hongos (micoparasitismo). Este mecanismo puede actuar junto con otros, como la antibiosis y la competencia (Viterbo *et al.*, 2002). Varios autores han puntualizado que el micoparasitismo representa un proceso complejo en la interacción antagonista-patógeno (Harman, 2000; Howell, 2003; Woo *et al.*, 2006). Este ocurre en cuatro etapas fundamentales: 1) Crecimiento quimiotrófico: donde *Trichoderma* puede detectar a distancia a sus posibles hospedantes, 2) Reconocimiento: se considera que existe una alta especificidad del antagonista por su sustrato, 3) Adhesión y enrollamiento: que ocurre por la asociación de un azúcar de la pared del antagonista con una lectina presente en la pared del patógeno. Por último, la cuarta etapa que consiste en la actividad lítica donde la producción de enzimas líticas extracelulares, tales como quitinasas,

glucanasas y proteasas degradan las paredes celulares del organismo patógeno y posibilitan que las hifas de *Trichoderma* penetren al hospedero. El micoparasitismo concluye con la pérdida del contenido citoplasmático de la célula hospedante, que muestra síntomas de disgregación. Por otra parte, en este mecanismo de acción se debe resaltar que las enzimas desempeñan una función esencial, dado que la penetración de la hifa de *Trichoderma* en su hospedante está regida por la maquinaria enzimática de este antagonista y depende más del aislamiento y del hospedante, que de la propia especie del biocontrolador (López *et al.*, 2010; Martínez *et al.*, 2013). Además, estas actividades enzimáticas están codificadas por genes relacionados con el micoparasitismo y su conocimiento es de gran ayuda con el interés de mejorar la eficacia de estos microorganismos en el control biológico.

Estimulación del crecimiento vegetal

Otro de los mecanismos antagonistas producidos por el género *Trichoderma* consiste en la estimulación del crecimiento vegetal. Varios aislados de este controlador biológico son capaces de producir más de 70 metabolitos, entre ellos sustancias estimuladoras del crecimiento y del desarrollo de las plantas. Este grupo de microorganismos son capaces de secretar determinados compuestos de naturaleza hormonal así como diferentes ácidos orgánicos que disminuyen el pH del suelo (Bailey y Lumsden, 1998; Singh *et al.*, 2016; Youssef *et al.*, 2016). Además, poseen la capacidad de solubilizar los fosfatos y otros nutrientes. De esta manera mejoran el desarrollo de la planta. Por otro lado, Verma *et al.* (2007) puntualizaron que las enzimas hidrolíticas que producen movilizan la materia orgánica del medio y de esta forma mejoran la absorción de compuestos más simple por la planta y finalmente influyen en su estado nutricional. A pesar de las investigaciones realizadas se requiere de estudios mayores para definir con claridad los mecanismos que están involucrados en la estimulación del crecimiento de las plantas, por parte de las diferentes especies de *Trichoderma*.

Inducción de resistencia

Varios autores han puntualizado que durante la interacción planta-antagonista, algunas

cepas de *Trichoderma* pueden activar un mecanismo nativo de defensa en las plantas conocido como Inducción de Resistencia Sistémica. La activación de estos mecanismos suponen que pueden controlar a agentes patógenos distantes del lugar donde se encuentran físicamente el antagonista (Hatman *et al.*, 2004; Schuster y Schmoll, 2010). Estos mecanismos aceleran la respuesta frente al agente fitopatógeno y mejoran de este modo la resistencia de la planta. A su vez, permite disminuir la incidencia de la enfermedad en la planta. Incluso, existen evidencias de este modo de acción frente a nematodos (Sharon *et al.*, 2011). Diversas clases de compuestos pueden ser secretados por *Trichoderma* en la zona de la rizosfera y a su vez estar relacionados con la Inducción de Resistencia Sistémica en las plantas. En el primer grupo de compuestos se encuentran las proteínas con actividad enzimática o de otro tipo. Según algunos autores (Martínez *et al.*, 2001; Brotman *et al.*, 2008) plantean que algunas de estas proteínas liberadas por *Trichoderma* al parecer inducen solo respuestas locales y necrosis. Sin embargo, otras activan mecanismos de defensa en plantas como los productos de los genes de avirulencia (Woo *et al.*, 2006; Woo y Lorito, 2007). Otra clase de elicitores de defensa en las plantas incluyen los oligosacáridos y compuestos de bajo peso molecular secretados por la acción de enzimas de *Trichoderma*.

Atendiendo a lo anterior, los resultados recogidos en la literatura científica confirman el efecto benéfico de este antagonista en la inducción de defensa en plantas. Sin embargo, se requiere esclarecer y profundizar aún más en los conocimientos acerca de *Trichoderma* como inductor de resistencia en plantas.

Utilización de *Trichoderma* spp. como agente de control biológico y su potencial en el desarrollo sostenible de la agricultura

El género *Trichoderma* presenta diferentes mecanismos de acción que pueden ser aprovechados para la promoción del crecimiento de las plantas tanto en la nutrición como en la protección.

En América Latina, la monilliasis causada por *Moniliophthora roreri* constituye una de las

enfermedades más destructivas en el cultivo del cacao (*Theobroma cacao* L.) (Seng *et al.*, 2014). Por ejemplo, en las plantaciones de cacao en México se presentan pérdidas hasta del 60% de la cosecha por su incidencia (Gómez *et al.*, 2015; Martínez y Pérez, 2015). Sin embargo, una alternativa de control biológico a esta enfermedad es el uso de *Trichoderma* spp. (Cordero, 2010). Estudios realizados por Villamil *et al.* (2012) determinaron que las especies *T. virens* y *T. harzianum* aisladas del agrosistema cacaotal en el sur de México presentan 70% a 100% de antagonismo frente a *M. roreri* lo cual evidencia su potencial como agentes antagonistas. Por otra parte, Aneja *et al.* (2005) probaron que la especie *T. harzianum* produce, y secreta ácido noanoico en el medio de cultivo líquido que resultó inhibitorio para la germinación de esporas, y para el crecimiento micelial de *M. roreri*. Mientras, Hoyos *et al.* (2009) observaron un aumento en la producción de biomasa vegetal, así como en la resistencia bajo condiciones de estrés e incremento en la absorción de nutrientes en el cultivo de cacao.

Otro ejemplo, se encuentra en la región Ucayali en Perú donde con aplicaciones de *T. harzianum* y *T. viride* al follaje cada 14 días, disminuyó tanto la incidencia, como la severidad de la monilliasis en el cultivo de cacao (Verde, 2007). Sin embargo, en el cultivo de arroz (*Oryza sativa* L.), Garrido (2009) incorporó *T. harzianum* en los restos de cosecha y observó una reducción hasta del 50% de los esclerocios y de 13.40% de la severidad de *R. solani* en el cultivo. También en el cultivo de arroz Rodríguez *et al.* (1999) realizaron aplicaciones aéreas de *T. harzianum*, a las dosis de 5 y 10 kg ha⁻¹ lo cual permitió disminuir la incidencia de *R. solani* en 30%. Por tales razones se utiliza con mayor frecuencia *T. harzianum* y *T. viride* en diferentes biopreparados comerciales y formulaciones como promotor del crecimiento vegetal y biocontrol de hongos fitopatógenos en plantas (Youssef *et al.*, 2016).

Harman (2000) comparó el desarrollo de varias plantas con, y sin aplicación de biocontroladores. Mediante sus estudios se demostró que *Trichoderma* spp., no sólo protege la planta sino que estimula su crecimiento y la absorción de nutrientes. En

este sentido, Páez (2006) obtuvo que una cepa de *Trichoderma* contribuye al crecimiento de las raíces de maíz (*Zea mays* L.) y algunos pastos lo cual brindó a estos cultivos mayor resistencia a la sequía. En el cultivo de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) este mismo autor observó que aislamientos seleccionados de *Trichoderma* estimularon la germinación y la altura de plantas de frijol con una ganancia en peso de 60% aproximadamente. Por su parte, Mathivanan *et al.* (2005) lograron un incremento significativo del crecimiento y floración en plantas de arroz con aplicaciones de *T. viride*. Otro grupo de autores determinaron la influencia de la esterilización parcial del sustrato, en la fase de adaptación de plantas *in vitro* de *Syngonium* sp.; y su combinación con *T. viride*. En los resultados, dichos autores mostraron el efecto estimulante de este hongo antagonista sobre el crecimiento y la supervivencia de las plantas *in vitro* en la fase de adaptación del cultivo (Companioni *et al.*, 1998).

Otro ejemplo donde se muestran las funciones beneficiosas que brinda este hongo antagonista, son estudios realizados en diversos cultivos en cuanto a la protección de plantas. En particular, para el control de *P. nicotianae* en piña (*Ananas comosus* L. Merr) mediante el empleo del hongo antagonista *T. viride* se recomienda aplicar en mezcla con el sustrato (zeolita + cachaza) una concentración de 10⁸ esporas ml⁻¹ de *T. viride*; en el momento de la plantación de las plantas obtenidas *in vitro* que pasan a fase de aclimatización como parte del protocolo de propagación (Yanes *et al.*, 2000). Igualmente, Shores *et al.* (2010) lograron la colonización de las raíces de pepino (*Cucumis sativus* L.) con *T. asperellum* lo que indujo resistencia a *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* en el follaje. Por su parte, Alonso *et al.* (2018) aislaron cepas nativas de *Trichoderma* spp., y probaron el efecto *in vitro* frente a *Rosellinia necatrix* y *Verticillium dahlia*. Ambos, organismos patógenos importantes en el cultivo de rosa (*Rosa* spp.), en la región florícola del sur del Estado de México. En dicho estudio determinaron el grado de competencia por medio de cultivo dual y metabolitos volátiles de las diferentes cepas de *Trichoderma* spp. (SS1, SS2, y Cu-B). Los resultados mostraron que las cepas SS1 y

Cu-B, en el cultivo dual presentaron los mayores porcentajes de inhibición respecto a ambos agentes patógenos. Sin embargo, en el efecto de metabolitos volátiles las cepas SS2 y Cu-B alcanzaron los mejores porcentajes de inhibición con respecto a los hongos fitopatógenos evaluados. Ello indicó que las cepas de *Trichoderma* presentan diferentes mecanismos de acción *in vitro*. Estos resultados evidencian la importancia de realizar estudios previos para la selección de la cepa según su especificidad y mecanismo de acción con la finalidad de garantizar el éxito en la formulación y su posterior aplicación en campo.

En contraste, Cervantes *et al.* (2010) evaluaron la acción antagónica de aislamientos nativos de *Trichoderma* de la Comarca Lagunera, en México frente a una cepa de *Phymatotrichum omnivorum*, agente causal de la enfermedad conocida como pudrición texana de las raíces en el algodón (*Gossypium hirsutum* L.). En el estudio encontraron que las cepas nativas de las especies *T. harzianum*, *T. koningii*, *T. pseudokoningii* presentaron un control efectivo frente a *P. omnivorum* que muestra la potencialidad para su utilización. En cambio, Méndez *et al.* (2016) evaluaron el antagonismo de aislamientos de *Trichoderma* sp. provenientes de zonas productoras de cebolla (*Allium cepa* L.) con respecto a *Stromatinia cepivora*; agente causal de la enfermedad conocida como pudrición blanca en el cultivo de la cebolla. Para ello realizaron pruebas *in vitro* e *in vivo* con la finalidad de mostrar la efectividad de las cepas de *Trichoderma* aisladas. Como resultado la cepa identificada como *T. asperellum* resultó ser antagónica con respecto a *S. cepivora*, tanto en pruebas *in vitro* como en el campo. El efecto observado permitió seleccionar la cepa óptima para el control de *S. cepivora* así como para su posterior aplicación en estrategias agroecológicas en el manejo del cultivo frente a este hongo fitopatógeno.

El control de enfermedades en la etapa de semillero constituye una tarea difícil para lograr el mayor porcentaje de supervivencia en las plántulas por su elevada sensibilidad junto a la limitación en muchos casos de utilizar fungicidas de síntesis química. Es por ello que el empleo de medidas de control

biológico ha sido demostrado como uno de los métodos efectivos. Stefanova (1997) planteó que el tratamiento de las semillas constituye la forma más extensiva del uso de *Trichoderma* spp., por la ventaja que ofrece en brindarle a la plántula naciente una protección inmediata.

En Cuba, con el tratamiento de semillas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.), pimiento (*Capsicum annuum* L.) y en tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) con *Trichoderma* se protegen de forma efectiva a las plantas frente a *R. solani* sin necesidad de tratamiento al suelo previo a la siembra (Stefanova, 2007). Otro ejemplo se encuentra en el cultivo de arroz (*Oryza sativa* L.) donde Mathivanan *et al.* (2005) emplearon el tratamiento combinado a semilla y suelo con la cepa de *T. viride* (NCC 34) unos 25 días previos al trasplante y lograron una reducción de la incidencia del tizón de la vaina. También, Meneses *et al.* (2008) proponen el tratamiento de semillas con *Trichoderma* de forma óptima para el control de *Sarocladium oryzae* mientras, Martínez *et al.* (2008) para el control *Rhizoctonia* sp. demostraron que las aplicaciones a las plantas antes del trasplante y durante el primer estrés hídrico del cultivo se logra una eficacia técnica de más del 70% con dos cepas de *T. asperellum*, incluso se estimula el ahijamiento de las plantas. Otros autores, en semilleros de algodón (*Gossypium hirsutum* L.) obtuvieron cerca del 60% de reducción de la pudrición del cuello, causada por *R. solani*, cuando se aplicaron dos aislamientos de *T. asperellum* (Hoyos *et al.*, 2008). De igual forma, en el cultivo de tomate Jiménez *et al.* (2011) realizaron aplicaciones de *T. harzianum* en la etapa de semillero, en el momento del trasplante y a los quince días después del trasplante. Estos autores observaron efectos beneficiosos tanto en el crecimiento aéreo como en la raíces de las plántulas.

CONCLUSIONES

Las cepas del antagonista *Trichoderma* brindan múltiples beneficios en una diversidad de cultivos de importancia agrícola. Ello evidencia su potencial en el desarrollo sostenible de la agricultura, donde se convierte en un excelente controlador biológico.

Conflicto de interés
Los autores no declaran conflicto de intereses.

REFERENCIAS

- Alonso A, López H, Domínguez G, García R (2018) Actividad antagonista de cepas nativas de *Trichoderma* spp. sobre *Rosellinia necatrix* y *Verticillium dahlia*. Revista Mexicana de Fitopatología 36(3): S27-S28
- Aneja M, Thomas JG, Prakash KH (2005) *Trichoderma harzianum* produces nonanoic acid, an inhibitor of spore germination and mycelial growth of two cacao pathogens. Physiological and Molecular Plant Pathology 67(6): 304-307
- Arcia A (1995) Uso de antagonistas en el control de fitopatógenos del suelo. Universidad Centro Occidental (UCLA). Barquisimeto, Venezuela
- Bailey BA, Lumsden RD (1998) Direct effects of *Trichoderma* and *Gliocladium* on plant growth and resistance to pathogens. En: Harman GE, Kubicek CP (eds). *Trichoderma* and *Gliocladium*, pp. 185-204. Taylor and Francis Inc, London
- Beckers GJM, Jaskiewicz M, Liu Y, Underwood WR, He SY, Zhang S, Conrath U (2009) Mitogen-activated protein kinases 3 and 6 are required for full priming of stress responses in *Arabidopsis thaliana*. Plant Cell Online 21: 944-953
- Behie SW, Zelisko PM, Bidochka MJ (2012) Endophytic insect parasitic fungi translocate nitrogen directly from insects to plants. Science 336: 1576-1577
- Behie SW, Bidochka MJ (2014) Nutrient transfer in plant-fungal symbioses. Trends Plant Science 19: 734-740
- Bélangier RR, Dufour N, Caron J, Benhamou N (2012) Chronological events associated with the antagonistic properties of *Trichoderma harzianum* against *Botrytis cinerea*: Indirect evidence for sequential role of antibiosis and parasitism. Biocontrol Science and Technology (5): 41-53
- Brotman Y, Briff E, Viterbo A, Chet I (2008) Role of Swollenin, an expansin-like protein from *Trichoderma*, in plant root colonization. Plant Physiology 147: 779-789
- Cervantes R, Hernández V, González G, Favela E, Álvarez V (2010) Antagonismo de cepas nativas de *Trichoderma* sp. aisladas en la Comarca Lagunera contra *Phymatotrichum omnivorum* (Shear) Duggar. Revista Agraria Nueva Época- Año VII 7(1, 2, 3): 34-40
- Companiononi B, Rodríguez R, Rodríguez Y, Borrás O, Pérez MC, Bécquer R (1998) Influencia de la esterilización parcial del sustrato y su combinación con *Trichoderma viride* en la fase de adaptación de *Syngonium* sp. Cuadernos de Fitopatología (58): 135-138
- Cordero MR (2010) Diversidad de *Trichoderma* spp., en plantaciones de *Theobroma cacao* del estado carabobo, Venezuela, y su capacidad biocontroladora sobre *Crinipellis perniciosa*. Interciencia 35(10): 777-783
- Dennis C, Webster J (1971) Antagonistic properties of species groups of *Trichoderma*. Production of nonvolatile antibiotics. Transactions of the British Mycological Society (57): 25-39
- Deshpande MV (1999) Mycopesticide production by fermentation: Potential and challenges. Critical Reviews Microbiology 25(3): 229-43
- Druzhinina I, Kopchinskiy A, Kubicek C (2006) The first 100 *Trichoderma* species characterized by molecular data. Mycoscience 47: 55-64
- Ezziyyani M, Pérez C, Sid A, Requena ME, Candela ME (2004) *Trichoderma harzianum* como biofungicida para el biocontrol de *Phytophthora capsici* en plantas de pimiento (*Capsicum annum* L.). Anales de biología (26): 35-45
- Fernández OV (2001) Microorganismos antagonistas para el control fitosanitario. Manejo Integrado de Plagas 62: 96-100
- Fravel DR (2005) Commercialization and implementation of biocontrol. Annu Rev Phytopathology (43): 337-59
- Funes A, Monzote M (2006) Sistemas agroecológicos y su papel en los países del Tercer Mundo. Avances en Investigación Agropecuaria 10(003): 5-28

- Garrido M (2009) *Trichoderma*. Disponible en: <http://miguelgarridorondoy.blogspot.com/2009/07/Trichoderma.html/> Consultado 07/07/2010
- Gato Y (2010) Métodos de conservación y formulación de *Trichoderma harzianum* Rifai. Revista Fitosanidad 14(3): 189-95
- Gómez EH, Morales JH, Avendaño CH, Guillen GL, Garrido ER, Nápoles JR, Díaz CN (2015) Factores socioeconómicos y parasitológicos que limitan la producción del cacao en Chiapas, México. Revista Mexicana de Fitopatología 33(2): 232-246
- Gutiérrez A, Robles A, Santillán C, Ortiz M, Cambero OJ (2013) Control biológico como herramienta sustentable en el manejo de plagas y su uso en el estado de Nayarit, México. Revista Bio Ciencias 2(3): 102-112
- Harman GE, Lumsden RD (1990) Biological disease control. En: Lynch JM (ed). The Rhizosphere, pp. 259-280. John Wiley and Sons Ltd, England
- 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
- Harman G (2001) *Trichoderma* spp., including *T. harzianum*, *T. viride*, *T. koningii*, *T. hamatum* and other sp. Deuteromycetes, Moniliales (asexual classification system). Disponible en: <http://www.Biocontrol.entomology.cornell.edu/pathogens/> Consultado 02/02/2010
- Harman G, Howell C, Viterbo A, Chet I, Lorito M (2004) *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts. Nature Review Microbiology 2: 43-56
- Harman G (2006) Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. Phytopathology 96(2): 190-194
- Hermosa R, Viterbo A, Chet I, Monte E (2012) Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. Microbiology 158: 17-25
- Hjeljord L, Tronsmo A (1998) *Trichoderma* and *Gliocladium* in biological control: an overview. En: Harman G, Kubicek C (eds). *Trichoderma* & *Gliocladium*. Enzymes, biological control and commercial applications, pp. 131-151. Taylor & Francis, London
- Hoitink HAJ, Madden LV, Dorrance AE (2006) Systemic resistance induced by *Trichoderma* spp.: Interactions between the host, the pathogen, the biocontrol agent, and soil organic matter quality. Phytopathology 96: 186-189
- Howell CR (2003) Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. Plant Disease 87: 4-10
- Hoyos L, Chaparro P, Abramsky M, Chet I, Orduz S (2008) Evaluación de aislamientos de *Trichoderma* spp. contra *Rhizoctonia solani* y *Sclerotium rolfsii* bajo condiciones *in vitro* y de invernadero. Agronomía Colombiana 26(3): 451-458
- Hoyos L, Orduz S, Bissett J (2009) Growth stimulation in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by *Trichoderma*. Biological Control 51(3): 409-416
- Igiehon NO, Babalola OO (2018) Rhizosphere microbiome modulators: Contributions of nitrogen fixing bacteria towards sustainable agriculture. International Journal of Environmental Research and Public Health 15: 574
- Jayaraman D, Gilroy S, Ané JM (2014) Staying in touch: Mechanical signals in plant-microbe interactions. Current Opinion in Plant Biology 20: 104-109
- Jiménez CN, Albarracín S, Altuna G, Alcano M (2011) Efecto de *Trichoderma harzianum* (Rifai) sobre el crecimiento de plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum* L.). Revista Facultad Agronomía 28: 1-10
- Karanasios E, Tsiropoulos NG, Karpouzias DG (2012) On farm biopurification systems for the depuration of pesticide wastewaters: recent biotechnological advances and future perspectives. Biodegradation 23: 787-802
- Larralde 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. *Applied Microbiology Biotechnology* 80: 167–177
- López R, Bernal A, Ros M, Tittarelli F, Canali S, Intriglioli F, Pascual JA (2010) Utilisation of citrus compost-based growing media amended with *Trichoderma harzianum* T-78 in *Cucumis melo* L. seedling production. *Bioresource Technology* 101: 3718-23
- López R, Ros M, Pascual JA (2011) Mycoparasitism-related genes expression of *Trichoderma harzianum* isolates to evaluate their efficacy as biological control agent. *Biological Control* 56(1): 59-66
- López J, Pelagio R, Herrera A (2015) *Trichoderma* as biostimulant: Exploiting the multilevel properties of a plant beneficial fungus. *Scientia Horticulturae* 196: 109-123
- Malmierca MG, Barua J, McCormick SP, Izquierdo I, Cardoza RE, Alexander NJ, Hermosa R, Collado IG, Monte E, Gutiérrez S (2015) Novel aspinolide production by *Trichoderma arundinaceum* with a potential role in *Botrytis cinerea* antagonistic activity and plant defense priming. *Environmental Microbiology* 17: 1103-1118
- Martínez C, Blanc F, Le Claire E, Besnard O, Nicole M, Baccou JC (2001) Salicylic acid and ethylene pathways are differentially activated in melon cotyledons by active or heat-denatured cellulase from *Trichoderma longibrachiatum*. *Plant Physiology* 127: 334-344
- Martínez B, Reyes Y, Infante D, González E, Baños H, Cruz A (2008) Selección de aislamientos de *Trichoderma* spp. candidatos a biofungicidas para el control de *Rhizoctonia* sp. en arroz. *Revista Protección Vegetal* 23(2): 118-125
- Martínez B, Infante D, Reyes Y (2013) *Trichoderma* spp. y su función en el control de plagas en los cultivos. *Revista Protección Vegetal* 28(1): 1-11
- Martínez E, Pérez L (2015) Incidencia de enfermedades fúngicas en plantaciones de cacao de las provincias orientales de Cuba. *Revista de Protección Vegetal* 30(2): 87-96
- Mathivanan N, Prabavathy V, Vijayanandraj V (2005) Application of talc formulations of *Pseudomonas fluorescens* Migula and *Trichoderma viride* Pers. ex S.F. Gray Decrease the sheath blight disease and enhance the plant growth and yield in rice. *Journal Phytopathology* 153: 697-701
- Meneses R, Gutiérrez A, García A, Antigua G, Gómez J, Correa F, Calvert L, Hernández J (2008) Guía para el trabajo de campo en el manejo integrado de plagas del arroz. Instituto de Investigaciones del Arroz, Sancti Spiritus. Cuba
- Méndez W, Meneses K, Zúniga C, Brenes JA (2016) Antagonismo de *Trichoderma* sp. ante el patógeno *Stromatinia cepivora* en el cultivo de cebolla. *Tecnología en Marcha Volumen Especial Biocontrol*: 22-30
- Mihuta L, Rowe C (1986) *Trichoderma* spp. as biocontrol agents of *Rhizoctonia* damping-off of radish in organic soil and comparison of four delivery systems. *Phytopathology* 76(3): 306-312
- Montesinos E, Badosa E, Bonaterra A, Peñalver R, López MM (2008) Aplicación de la biotecnología al control biológico de bacterias y hongos fitopatógenos. En: Pallás V, Escobar C, Rodríguez P, Marcos JF (eds). *Herramientas biotecnológicas en Fitopatología*, pp. 345-368. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid
- Morton CO, Hirsch PR, Kerry B (2004) Infection of plant parasitic nematodes by nematophagous fungi – a review of application of molecular biology to understand infection processes and to improve biological control. *Nematology* 6: 161-170
- Páez O (2006) Uso agrícola de *Trichoderma*. Disponible en: <http://www.soil-fertility.com/> Consultado 11/04/2011
- Parets SE (2002) Evaluación agronómica de la coinoculación de micorrizas arbusculares, *Rhizobium phaseoli* y *Trichoderma harzianum* en el cultivo de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.). Tesis en opción al grado de Máster en Ciencias Agrícolas, Universidad Agraria de La Habana, Habana, Cuba
- Pineda JA, Benavides EN, Duarte AS, Burgos CA, Soto CP, Pineda CA, Fierro FJ, Mora ES, Álvarez SE (2017) Producción de

- biopreparados de *Trichoderma* spp: una revisión. Revista ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar 51(1): 47–52
- Plett JM, Daguerre Y, Wittulsky S, Vayssières A, Deveau A, Melton SJ, Kohlera A, Morrell JL, Bruna A, Veneault C, Martin F (2014) Effector MiSSP7 of the mutualistic fungus *Laccaria bicolor* stabilizes the populus JAZ6 protein and represses jasmonic acid (JA) responsive genes. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 111: 8299-8304
- Radjacommare R, Venkatesan S, Samiyappan R (2010) Biological control of phytopathogenic fungi of vanilla through lytic action of *Trichoderma* species and *Pseudomonas fluorescens*. Phytopathology and Plant Protection 43(1): 1-17
- 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
- Sarandón SJ, Flores CC (2014) Bases conceptuales de la agroecología y agricultura sustentable. En: Sarandón SJ, Flores CC (eds). Agroecología: bases teóricas para el diseño y manejo de agroecosistemas sustentables, pp. 13-70. Editorial de la Universidad de La Plata, Chile; ISBN: 978-950-34-1107-0
- Schuster A, Schmoll M (2010) Biology and biotechnology of *Trichoderma*. Applied Microbiology and Biotechnology 87: 787-799
- Schirawski J, Perlin MH (2018) Plant–microbe interaction 2017 The good, the bad and the diverse. International Journal Molecular Sciences 19(5): 1374
- Seng J, Herrera G, Vaughan CS, McCoy MB (2014) Use of *Trichoderma* fungi in spray solutions to reduce *Moniliophthora roreri* infection of *Theobroma cacao* fruits in Northeastern Costa Rica. Revista de Biología Tropical 62(3): 899-907
- Sharon E, Chet I, Spiegel Y (2011) *Trichoderma* as a biological control agent. En: Davies K, Spiegel Y (eds). Biological control of plant-parasitic nematodes: building coherence between microbial ecology and molecular mechanisms, pp. 183-201. Springer Science, Dordrecht; ISBN: 978-1-4020-9647-1
- Shoresh M, Harman G, Mastouri F (2010) Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents. Annual Review Phytopathology 48: 21-43
- Siddiqui ZA, Akhtar MS (2008) Synergistic effects of antagonistic fungi and a plant growth promoting rhizobacterium, an arbuscular mycorrhizal fungus, or composted cow manure on populations of *Meloidogyne incognita* and growth of tomato. Biocontrol Science and Technology 18(3): 279-290
- Singh V, Upadhyay R, Sarma B, Singh H (2016) *Trichoderma asperellum* spore dose depended modulation of plant growth in vegetable crops. Microbiological Research 193: 74-86
- Sivan A, Chet I (1989) The possible role of competition between of *Trichoderma harzianum* and *Fusarium oxysporum* on rhizosphere colonization. Phytopathology 79: 198-203
- Sivasithamparam K, Ghisalberti EL (1998) Secondary metabolism in *Trichoderma* and *Gliocladium*. En: Harman GE, Kubicek CP (eds). *Trichoderma* and *Gliocladium*, pp. 139-191. Taylor and Francis Inc, London
- Stefanova M (1997) Biopreparados de *Trichoderma*: Una forma de lucha efectiva contra patógenos fúngicos del suelo. Agricultura Orgánica (2-3): 24-6
- Stefanova M, Leiva A, 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
- Stefanova M (2007) Introducción y eficacia técnica del biocontrol de fitopatógenos con *Trichoderma* spp. en Cuba. Fitosanidad 11(3): 75-79
- Stringlis IA, Zhang H, Pieterse CMJ, Bolton MD, Jonge R (2018) Microbial small molecules-weapons of plant subversion. Natural Product Reports 35: 410-433

- Torres M, Ortiz C, Bautista C, Ramírez J, Ávalos N, Cappello S, De la Cruz A (2015) Diversidad de *Trichoderma* en el agroecosistema cacao del estado de Tabasco, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 86(4): 947-961
- Verde W (2007) Dos Hongos Antagónicos (*Trichoderma harzianum* y *Trichoderma viride*). Efecto en el control de la Moniliasis del cacao en la Región Ucayali. Tesis para optar por el grado de Ingeniero Agrónomo, Universidad Nacional de Ucayali, Ucayali, Perú
- Verma M, Brar S, Tyagi RD, Surampalli RY, Valero JR (2007) Antagonistic fungi, *Trichoderma* spp. panoply of biological control. *Biochemical engineering Journal* 37: 1-20
- Villamil CJE, Blanco VJE, Viteri RSE (2012) Evaluación *in vitro* de microorganismos nativos por su antagonismo contra *Moniliophthora roreri* Cif & Par en cacao (*Theobroma cacao* L.). *Revista Facultad de Agronomía Medellín* 65(1): 6305-6315
- Vinale F, Marra R, Scala F, Ghisalberti L, Lorito M, Sivasithamparam K (2006) Major secondary metabolites produced by two commercial *Trichoderma* strains active against different phytopathogens. *Letters in Applied Microbiology* 43: 143-148
- Vinale F, Sivasithamparam K, Ghisalberti EL, Marra R, Woo L, Lorito M (2008) *Trichoderma*-plant-pathogen interactions. *Soil Biology and Biochemistry* 40: 1-10
- Viterbo A, Ramot O, Chernin L, Chet L (2002) Significance of lytic enzymes from *Trichoderma* spp. in the biocontrol of fungal plant pathogens. *Antonie van Leeuwenhoek* 81: 549-556
- Whipps JM, Lumsden RD (2001) Commercial use of fungi as plant disease biological control agents: status and prospects. En: Butt T, Jackson C, Magan N (eds). *Fungal biocontrol agents: progress, problems and potential*, pp. 9-22. CABI Publishing, Wallingford
- Woo SL, Scala F, Ruocco M, Lorito M (2006) The molecular biology of the interactions between *Trichoderma* spp., phytopathogenic fungi, and plants. *Phytopathology* 96(2): 181-5
- Woo S, Lorito M (2007) Exploiting the interactions between fungal antagonists, pathogens and the plant for biocontrol. En: Vurro M, Gressel J (eds). *Novel biotechnologies for biocontrol agent enhancement and management*, pp. 107-130. Springer, Dordrecht
- Yanes PE, González OJ, Sánchez RR (2000) A technology of acclimatization of pineapple vitroplants. *Pineapple News* 7: 24
- Youssef S, Tartoura K, Abdelraouf G (2016) Evaluation of *Trichoderma harzianum* and *Serratia proteamaculans* effect on disease suppression, stimulation of ROS-scavenging enzymes and improving tomato growth infected by *Rhizoctonia solani*. *Biological Control* 100: 79-86

Recibido: 22-05-2019

Aceptado: 16-07-2019

Este es un artículo de acceso abierto distribuido bajo una Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial 4.0 Internacional (CC BY-NC 4.0) <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/> Está permitido su uso, distribución o reproducción citando la fuente original y autores.