

Universidad Autónoma de Sinaloa
Colegio en Ciencias Agropecuarias
Facultad de Agricultura del Valle del Fuerte
Doctorado en Ciencias Agropecuarias



TESIS:

Manejo de la pudrición blanda de la papa causada por *Sclerotium rolfsii*
en Sonora y Sinaloa, México

Que para obtener el grado de
Doctor en Ciencias Agropecuarias

PRESENTA:

Gabriel Herrera Rodríguez

DIRECTOR DE TESIS:

Dr. Gabriel Antonio Lugo García

CO-DIRECTOR DE TESIS:

Dr. Rubén Félix Gastélum

ASESORES:

Dra. Guadalupe Arlene Mora Romero

Dr. Hugo Beltrán Peña

CULIACÁN ROSALES, SINALOA, MÉXICO; NOVIEMBRE 2024



Dirección General de Bibliotecas
Ciudad Universitaria
Av. de las Américas y Blvd. Universitarios
C. P. 80010 Culiacán, Sinaloa, México.
Tel. (667) 713 78 32 y 712 50 57
dgbuas@uas.edu.mx

UAS-Dirección General de Bibliotecas

Repositorio Institucional Buelna Restricciones de uso

Todo el material contenido en la presente tesis está protegido por la Ley Federal de Derechos de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

Queda prohibido la reproducción parcial o total de esta tesis. El uso de imágenes, tablas, gráficas, texto y demás material que sea objeto de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente correctamente mencionando al o los autores del presente estudio empírico. Cualquier uso distinto, como el lucro, reproducción, edición o modificación sin autorización expresa de quienes gozan de la propiedad intelectual, será perseguido y sancionado por el Instituto Nacional de Derechos de Autor.

Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución-No Comercial Compartir Igual, 4.0 Internacional



AGRADECIMIENTO

“A mi director, codirector y asesores de tesis”.

Al Dr. Gabriel Antonio Lugo García, Dr. Rubén Félix Gastélum, Dra. Arlene Guadalupe Mora Romero y Hugo Beltrán López, por transmitir sus conocimientos y dirigir la presente tesis de investigación, muchas gracias.

Al Ing. Francisco Javier Orduño Cota e Ing. Francisco Javier Orduño Espinoza de la Junta Local del Valle del Fuerte por el apoyo que me brindaron.

“A mis compañeros de laboratorio”.

Sara, Belén, Araceli, y Flor por su apoyo incondicional.

A la Junta Local de Sanidad Vegetal del Valle del Fuerte y sus productores, ya que por medio de ellos se obtuvo apoyo económico para obtener materiales, reactivos, equipos, productos, terrenos, implementos agrícolas, etc. para culminar la investigación.

A la Universidad Autónoma de Sinaloa por darme la oportunidad de ser parte de esta gran institución y permitirme culminar el Doctorado.

A la Universidad Autónoma de Occidente por facilitar el apoyo administrativo y financiero para realizar el Doctorado.

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT) por otorgar el apoyo económico.

CONTENIDO

CONTENIDO.....	iv
ÍNDICE DE CUADROS	vii
ÍNDICE DE FIGURAS	ix
RESUMEN	x
CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN Y REVISIÓN DE LITERATURA.....	1
1.1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.2. REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
1.2.1. Historia y origen del cultivo de papa	3
1.2.2. Ubicación taxonómica de la papa	3
1.2.3. Descripción botánica de la papa.....	3
1.2.4. Importancia de la papa	4
1.2.5. Superficie y producción de la papa	4
1.2.6. Variedades de papa establecidas en México.....	5
1.2.7. Comercialización	5
1.2.8. Condiciones climáticas y edáficos favorables para el cultivo de papa..	5
1.2.9. Principales hongos fitopatógenos que afectan a la papa.....	6
1.2.10. Generalidades de <i>Sclerotium rolfsii</i>	6
1.2.11. Métodos de control de <i>Sclerotium rolfsii</i>	8
1.2.11.1. Control cultural	9
1.2.11.2. Control químico	9
1.2.11.3. Control biológico.....	10
1.2.12. Generalidades del género <i>Trichoderma</i>	10
CAPÍTULO 2. ANTAGONISMO, INTERACCIÓN HIFAL Y METABOLITOS VOLÁTILES DE CUATRO ESPECIES DE <i>Trichoderma in vitro</i> CONTRA <i>Sclerotium rolfsii</i> PROVENIENTES DE PAPA	14
RESUMEN	14
2.1. INTRODUCCIÓN	16
2.2 MATERIALES Y MÉTODOS.....	17
2.2.1 Obtención de aislados	17

2.2.2. Evaluación del efecto inhibitorio <i>in vitro</i> de 26 aislados de <i>Trichoderma</i> spp. contra <i>Sclerotium rolfsii</i>	19
2.2.3. Interacción hifal de <i>Trichoderma</i> spp. contra <i>Sclerotium rolfsii</i>	19
2.2.4. Efecto de metabolitos volátiles de especies de <i>Trichoderma</i> con actividad antifúngica contra <i>S. rolfsii</i>	20
2.2.5. Análisis estadísticos de datos.....	20
2.3 RESULTADOS.....	21
2.3.1. Efecto inhibitorio <i>in vitro</i> de aislados de <i>Trichoderma</i> spp. sobre <i>Sclerotium rolfsii</i>	21
2.3.2. Determinación de interacciones hifales de <i>Trichoderma</i> spp. y <i>S. rolfsii</i>	24
2.3.3. Efecto inhibitorio <i>in vitro</i> de metabolitos volátiles de <i>Trichoderma</i> contra <i>Sclerotium rolfsii</i>	26
2.4. DISCUSIÓN.....	28
CAPÍTULO 3. SENSIBILIDAD <i>IN VITRO</i> DE <i>Sclerotium rolfsii</i> Y CUATRO ESPECIES DE <i>Trichoderma</i> , A FUNGICIDAS DE USO COMÚN EN EL CULTIVO DE PAPA ...	31
RESUMEN.....	31
3.1. INTRODUCCIÓN.....	32
3.2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	34
3.2.1. Obtención de aislados.....	34
3.2.2. Sensibilidad <i>in vitro</i> de <i>Sclerotium rolfsii</i> a nueve fungicidas sintéticos.....	34
3.2.3. Efecto de fungicidas sintéticos sobre la formación de esclerocios de <i>Sclerotium rolfsii</i>	35
3.2.4. Sensibilidad <i>in vitro</i> de especies de <i>Trichoderma</i> a 10 fungicidas sintéticos.....	35
3.2.5. Análisis estadísticos de datos.....	36
3.3. RESULTADOS.....	37
3.3.1. Efectividad biológica <i>in vitro</i> de fungicidas químicos en la inhibición del crecimiento micelial de <i>Sclerotium rolfsii</i>	37
3.3.2. Efecto <i>in vitro</i> de fungicidas sintéticos sobre la formación <i>in vitro</i> de esclerocios de <i>Sclerotium rolfsii</i>	39
3.3.3. Sensibilidad <i>in vitro</i> de cuatro especies de <i>Trichoderma</i> a diez fungicidas sintéticos.....	41
3.4. DISCUSIÓN.....	46

CAPÍTULO 4. CONTROL BIOLÓGICO DE LA PUDRICIÓN BLANDA DE LA PAPA CAUSADA POR <i>Sclerotium rolfsii</i> , MEDIANTE EL USO DE ESPECIES DE <i>Trichoderma</i> Y BÚSQUEDA DE VARIEDADES DE PAPA RESISTENTES.	50
RESUMEN	50
4.1. INTRODUCCIÓN	52
4.2 MATERIALES Y MÉTODOS	53
4.2.1. Obtención de aislados	53
4.2.2. Evaluación de <i>Trichoderma</i> spp., fungicidas sintéticos y su combinación sobre el manejo de la pudrición blanda del tubérculo de papa en campo	54
4.2.3. Evaluación de diferentes variedades de papa a <i>Sclerotium rolfsii</i> en condiciones de laboratorio	55
4.2.4. Susceptibilidad de diferentes variedades de papa a <i>Sclerotium rolfsii</i> en condiciones de invernadero	56
4.2.5. Incidencia y severidad de pudrición blanda causada por <i>Sclerotium rolfsii</i> en campos comerciales de papa en Sonora y Sinaloa, México	57
4.2.6. Análisis estadístico de datos.....	60
4.3 RESULTADOS.....	60
4.3.1. Efecto de <i>Trichoderma</i> spp., fungicidas sintéticos y su combinación sobre el manejo de la pudrición blanda del tubérculo de papa en campo	60
4.3.2. Susceptibilidad de variedades de papa a <i>Sclerotium rolfsii</i> en condiciones de laboratorio	61
4.3.3. Susceptibilidad de variedades de papa a <i>S. rolfsii</i> en invernadero	63
4.3.4. Incidencia y severidad de <i>Sclerotium rolfsii</i> en cultivos de papa en Sonora y Sinaloa, México	64
4.4 DISCUSIÓN	66
CAPÍTULO 6. CONCLUSIONES GENERALES	68
CAPÍTULO 7. LITERATURA CITADA	70

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Título	Página
2-1	Origen e identificación de aislados de <i>Sclerotium rolfii</i> y especies de <i>Trichoderma</i>	18
2-2	Antagonismo <i>in vitro</i> de 26 aislados de <i>Trichoderma</i> spp. contra dos aislados de <i>S. rolfii</i>	22
2-3	Interacción hifal <i>in vitro</i> de 26 aislados de <i>Trichoderma</i> spp. y <i>Sclerotium rolfii</i> (Scr4)	25
2-4	Efecto de metabolitos volátiles de aislados de <i>Trichoderma</i> contra <i>Sclerotium rolfii</i> Scr4	27
3-1	Especies y aislados de <i>Trichoderma</i> , sitio, año de colecta y código en el Gen Bank	34
3-2	Análisis de varianza factorial del porcentaje de inhibición <i>in vitro</i> del crecimiento micelial de <i>S. rolfii</i> a cuatro concentraciones de nueve fungicidas	37
3-3	Porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de <i>Sclerotium rolfii</i> por nueve fungicidas sintéticos	39
3-4	Análisis de varianza factorial de formación de esclerocios por <i>S. rolfii</i> en PDA con cinco concentraciones de nueve fungicidas	39
3-5	Esclerocios de <i>Sclerotium rolfii</i> por caja Petri con PDA adicionado con las diferentes concentraciones con fungicidas	41
3-6	Análisis de varianza factorial del porcentaje de inhibición <i>in vitro</i> del crecimiento micelial de cuatro especies de <i>Trichoderma</i> por cuatro concentraciones de diez fungicidas	42
3-7	Porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de <i>T. azevedoi</i> , <i>T. afroharzianum</i> , <i>T. asperellum</i> y <i>T. asperelloides</i> por diez fungicidas sintéticos	44
4-1	Especies de hongos fitopatógenos y antagónicos incluidos en el presente estudio	54
4-2	Variedades, sitio y año de recolección de tubérculos de papa en campos comerciales en Sonora y Sinaloa	58

4-3	Efecto de cuatro especies de <i>Trichoderma</i> spp., fungicidas sintéticos y su combinación de ambos sobre la incidencia, severidad y rendimiento del cultivo de papa en campo	61
4-4	Porcentaje de pudrición blanda en tubérculos de papa en la variedad Orquesta, FL2027, FL1867, FL1869 y Atlantic en cámara húmeda	62
4-5	Sensibilidad de variedades de papa a <i>Sclerotium rolfsii</i> en invernadero	64
4-6	Evaluación de la susceptibilidad de las variedades de papa a <i>Sclerotium rolfsii</i> en campos comerciales de Sonora y Sinaloa	65

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Título	Página
1-1	Anatomía de una planta de papa	4
1-2	Morfología colonial de <i>Sclerotium rolfsii</i>	7
1-3	Ciclo de vida de <i>Sclerotium rolfsii</i> en planta de papa	8
2-1	Antagonismo <i>in vitro</i> de <i>Trichoderma</i> contra <i>Sclerotium rolfsii</i> (Scr4)	23
2-2	Antagonismo <i>in vitro</i> de <i>Trichoderma</i> contra <i>Sclerotium rolfsii</i> (Scr17)	23
2-3	Interacciones hifales entre aislados de <i>Trichoderma</i> spp. y <i>Sclerotium rolfsii</i> .	26
2-4	Efecto inhibitorio de metabolitos volátiles de <i>Trichoderma</i> spp. contra <i>Sclerotium rolfsii</i>	28
3-1	Inhibición del crecimiento micelial de cuatro especies de <i>Trichoderma</i> por fungicidas sintéticos	45
4-1	Patogenicidad <i>Sclerotium rolfsii</i> sobre de tubérculos de papa variedad Atlantic con dos métodos de inoculación	62
4-2	Pudrición de tallos y tubérculo de papa causados por <i>Sclerotium rolfsii</i> en invernadero	63
4-3	Tubérculos de papa infectado con <i>S. rolfsii</i>	65

RESUMEN

La pudrición blanda de la papa causada por *Sclerotium rolfsii* ha provocado pérdidas de hasta un 20 % en Sonora y Sinaloa. Los productores recurren al uso de fungicidas sintéticos como principal herramienta para el manejo de esta y otras enfermedades fungosas. Como estrategias para el manejo adecuado de la pudrición blanda se han utilizado combinaciones de estrategias en otras regiones productoras de papa en el mundo, donde sobresale el uso de especies de *Trichoderma*. Por lo anterior, en la presente investigación, en una primera etapa se determinó la efectividad biológica *in vitro* de 16 aislados de *Trichoderma asperellum*, cinco de *T. asperelloides*, cuatro de *T. afroharzianum* y uno de *T. azevedoi*. Dichas especies mostraron inhibición del crecimiento micelial, el cual varió de 21.0 a 75.4 % y 23.6 a 77.1 % en los aislados Scr4 y Scr17 de *S. rolfsii*, de forma respectiva. Con respecto a las interacciones hifales e inhibición de *S. rolfsii* mediante metabolitos volátiles se encontró que las especies de *Trichoderma* causaron vacuolización, granulación, enrollamiento, adhesión, lisis y penetración en el aislado Scr4 de *S. rolfsii*, mientras que la inhibición de los metabolitos volátiles producidos por las mismas especies de *Trichoderma* spp., inhibieron el crecimiento micelial del mismo aislado de *S. rolfsii* de 26.0 a 81.4 %. En la segunda etapa se determinó la efectividad biológica *in vitro* de nueve fungicidas contra *S. rolfsii* a las concentraciones de 0.01, 0.1, 1, 10 y 100 ppm. Los fungicidas Propineb, Tifluzamida y Propiconazol fueron los más eficaces en la inhibición del crecimiento micelial del patógeno. También se determinó la sensibilidad *in vitro* de *Trichoderma azevedoi*, *T. afroharzianum*, *T. asperellum* y *T. asperelloides* a 10 fungicidas en las concentraciones de 100, 500, 1000 y 2000 ppm, donde Propineb y Tifluzamida mostraron el menor efecto inhibitorio, aunque con una respuesta diferencial a los fungicidas en sus respectivas concentraciones. En la tercera etapa, se evaluó el efecto de los siguientes tratamientos sobre la incidencia, severidad de la enfermedad y rendimiento del cultivo de papa en campo: a) el uso de *T. azevedoi*, *T. afroharzianum*, *T. asperellum* y *T. asperelloides* en combinación con fungicidas sintéticos, b) uso de las especies de *Trichoderma* solas y c) uso de fungicidas sintéticos solos, los cuales se aplicaron en diferentes etapas fenológicas del cultivo. Las parcelas donde se aplicaron las cuatro especies de *Trichoderma* mostraron la menor incidencia, severidad de la enfermedad y mayor rendimiento del cultivo, seguido por el tratamiento constituido por la mezcla de las cuatro especies de *Trichoderma* + fungicidas sintéticos y por último el uso de fungicidas sintéticos. Además, se evaluó la susceptibilidad de seis variedades de papa en laboratorio, cinco variedades en invernadero y ocho variedades en campo. Todas las variedades de papa resultaron susceptibles al hongo en cámara húmeda e invernadero, sin embargo, la variedad Fianna mostró la menor susceptibilidad, mientras que en campo las variedades Atlantic, FL1867, FL1869, Alpha y Vivaldi fueron las menos susceptibles. Los resultados de la presente investigación son relevantes debido a que la aplicación de las cuatro especies de *Trichoderma* en diferentes etapas fenológicas del cultivo fue el mejor tratamiento para el manejo de la pudrición blanda de la papa en campo en comparación con la aplicación de fungicidas sintéticos. Por lo anterior, dicha estrategia ayudará a disminuir los costos de producción, a mejorar la calidad y rendimiento de las cosechas de esta hortaliza y a disminuir la emisión de los contaminantes sintéticos al ambiente.

Palabras claves: micelio, antagonismo, producción, calidad.

ABSTRACT

Soft rot of potato caused by *Sclerotium rolfsii* has caused losses of up to 20% in Sonora and Sinaloa. Producers resort to the use of synthetic fungicides as the main tool for the management of this and other fungal diseases. Combinations of strategies have been used as strategies for the proper management of soft rot in other potato producing regions of the world, where the use of *Trichoderma* species stands out. Therefore, in the present investigation, in a first stage, the *in vitro* biological effectiveness of 16 *Trichoderma asperellum* isolates, five *T. asperelloides*, four *T. afroharzianum* and one *T. azevedoi* was determined. These species showed inhibition of mycelial growth, which varied from 21.0 to 75.4% and 23.6 to 77.1% in *S. rolfsii* isolates Scr4 and Scr17, respectively. Regarding hyphal interactions and inhibition of *S. rolfsii* by volatile metabolites, it was found that *Trichoderma* species caused vacuolization, granulation, rolling, adhesion, lysis and penetration in the *S. rolfsii* isolate Scr4, while the inhibition of volatile metabolites produced by the same *Trichoderma* spp. species inhibited the mycelial growth of the same *S. rolfsii* isolate by 26.0 to 81.4 %. In the second stage, the *in vitro* biological effectiveness of nine fungicides against *S. rolfsii* was carried out at concentrations of 0.01, 0.1, 1, 10 and 100 ppm. The fungicides Propineb, Thifluzamide and Propiconazole were the most effective in inhibiting the mycelial growth of the pathogen. The *in vitro* sensitivity of *Trichoderma azevedoi*, *T. afroharzianum*, *T. asperellum* and *T. asperelloides* to 10 fungicides at concentrations of 100, 500, 1000 and 2000 ppm is also considered, where Propineb and Thifluzamide showed the lowest inhibitory effect, although with a differential response to the fungicides at their respective concentrations. In the third stage, the effect of the following treatments on the incidence, severity of the disease and yield of the potato crop in the field was evaluated: a) the use of *T. azevedoi*, *T. afroharzianum*, *T. asperellum* and *T. asperelloides* in combination with synthetic fungicides, b) use of *Trichoderma* species alone and c) use of synthetic fungicides alone, which are applied at different phenological stages of the crop. The plots where the four species of *Trichoderma* were applied showed the lowest incidence, severity of the disease and highest crop yield, followed by the treatment consisting of the mixture of the four species of *Trichoderma* + synthetic fungicides and finally the use of synthetic fungicides. In addition, the susceptibility of six potato varieties was evaluated in the laboratory, five varieties in the greenhouse and eight varieties in the field. All potato varieties were susceptible to the fungus in a humid chamber and greenhouse, however, the Fianna variety showed the lowest susceptibility, while in the field the Atlantic, FL1867, FL1869, Alpha and Vivaldi varieties were the least susceptible. The results of this research are relevant because the application of the four species of *Trichoderma* at different phenological stages of the crop was the best treatment for the management of soft rot of potatoes in the field compared to the application of synthetic fungicides. Therefore, this strategy will help reduce production costs, improve the quality and yield of this vegetable's crops, and reduce the emission of synthetic pollutants into the environment.

Keywords: Mycelium, antagonism, production, quality

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN Y REVISIÓN DE LITERATURA

1.1. INTRODUCCIÓN

La papa (*Solanum tuberosum*) es una hortaliza originaria del sur de los Andes (Luján-Claure, 1996). El cultivo ocupa el sexto lugar en cuanto a producción mundial con 470,409,159 t, obtenidas de 23,514,508 ha, donde China, India, Ucrania, Rusia y Estados Unidos son los principales productores de esta hortaliza (FAO, 2022). México ocupa el lugar 33 con una producción anual de 1,986,1981 t, donde Sonora y Sinaloa son los principales productores con 533,544 t y 403,922 t anuales, de forma respectiva, lo que representa el 49.9 % de la producción nacional, con un valor de producción de 17,426,448,880 (SIAP, 2023).

El cultivo es afectado por factores bióticos y abióticos, donde sobresalen el clima, fertilización, riegos, nematodos, bacterias, virus, hongos, entre otros (Caldiz *et al.*, 1999). La producción y calidad de la papa es afectada por *Sclerotium rolfsii*, este hongo afecta alrededor de 500 especies vegetales agrupadas en 100 familias, donde se incluye al tomate (*Solanum lycopersicum*), pepino (*Cucumis sativus*), cacahuate (*Arachis hypogaea*), papa, entre otros (Kator *et al.*, 2015; Roca *et al.*, 2016; Nandi *et al.*, 2017; Kumar *et al.*, 2018; Paparu *et al.*, 2020; Singh *et al.*, 2021; Meena *et al.*, 2023). La pudrición blanda de tubérculos de papa merma la producción hasta en un 60 % (Haque y Khan, 1977). El hongo se desarrolla con mayor facilidad sobre rastrosos y plantas que se encuentran en suelo arcilloso o arenoso, su crecimiento es favorecido cuando las temperaturas oscilan entre los 15 a 35 °C y el contenido de agua en el suelo debe superar el 30 % (Garibaldi *et al.*, 2007; Dwivedi y Ganesh, 2016; Kumar *et al.*, 2017; Dong *et al.*, 2022).

El hongo tiene hábitos saprofíticos y se encuentra en las regiones tropicales y subtropicales donde se produce esta hortaliza en el mundo; el patógeno limita la producción y calidad de las cosechas; los daños dependen de las condiciones ambientales y susceptibilidad de las variedades vegetales utilizadas (Dwivedi y Ganesh, 2016; Rubayet y Bhuiyan, 2016). En campo, el hongo produce micelio blanco en forma de abanico sobre la base del tallo y superficie del suelo, conforme este

madura se forman los esclerocios, los cuales son de forma esférica de color blanco a café, llegan a medir entre 0.5 - 2.0 mm; estas estructuras de resistencia del hongo le ayudan a mantenerse viable en el suelo durante varios años. Los esclerocios son dispersados por medio del viento, agua, maquinaria, residuos vegetales, suelo y animales (Garibaldi *et al.*, 2007; Kator *et al.*, 2015; Roca *et al.*, 2016).

En campo, se utilizan diferentes estrategias agronómicas para el manejo de la enfermedad, entre ellas sobresalen el control cultural, químico y biológico; esto ha garantizado la disminución de los daños causados por el hongo en los cultivos de frijol, cacahuete y papa (Rubayet y Bhuiyan, 2016). En el caso del control químico, se han evaluado distintas moléculas a diferentes concentraciones de fungicidas para el control de la enfermedad (Das *et al.*, 2014; Suneeta *et al.*, 2017; Yajun *et al.*, 2018; Shirsole *et al.*, 2019; Sekhar *et al.*, 2020). Por otro lado, se han evaluado diferentes agentes de control biológicos como *Bacillus* spp., *Pseudomonas* spp., *Streptomyces* spp. y *Trichoderma* spp., siendo este último uno de los más utilizados (Archana *et al.*, 2020; Hernández *et al.*, 2016; Abo *et al.*, 2021; Martínez *et al.*, 2021).

Por lo anterior, en México se requieren de estudios sustentados sobre el manejo de la enfermedad en campo; por esto, el presente proyecto tiene como objetivo investigar aspectos del manejo de la pudrición blanda de la papa causada por *Sclerotium rolfsii*, lo que permitirá disminuir el inóculo primario del hongo con diferentes enfoques agronómicos, donde predomine el uso de variedades de papa menos susceptibles a la enfermedad y el uso de productos con base en *Trichoderma* tolerantes a fungicidas sintéticos. Esto permitirá mejorar la calidad e incrementar la producción de los tubérculos cosechados, así como disminuir el uso de fungicidas sintéticos.

1.2. REVISIÓN DE LITERATURA

1.2.1. Historia y origen del cultivo de papa

La papa es originaria de las zonas andinas, específicamente entre los países de Bolivia y Perú; cerca del lago Titicaca. Las comunidades Andinas fueron las que se encargaron de cultivar las diferentes variedades de papa silvestres. En Perú se inició la industrialización del tubérculo, donde las empresas americanas se encargaron de producir papas secas. En los países de México, Guatemala, Ecuador y Chile, se encuentran el centro de origen de subespecie tuberosum (Inostroza *et al.*, 2009).

1.2.2. Ubicación taxonómica de la papa

La papa pertenece a la familia Solanaceae donde las especies cultivadas son tetraploides que pertenecen a la especie *Solanum tuberosum* L (cuadro 1-1).

Cuadro 1-1. Clasificación taxonómica de la papa

Super reino	Eucariota
Reino	Viridiplantae
Filum	Streptophyta
Orden	Solanales
Familia	Solanaceae
Genero	<i>Solanum</i>
Especie	<i>Solanum tuberosum</i>

Fuente (NCBI, 2024).

1.2.3. Descripción botánica de la papa

La planta de papa es una herbácea anual de tallo rastrero, semierecto o erecto, con tallos gruesos y leñosos, huecos, con nudos densos, estos son de color verde, rojo o púrpura. Las hojas son compuestas, estas presentan tres a cuatro pares de folíolos, las hojas distribuyen en forma alterna a lo largo del tallo. Las flores son de color blanco, púrpura o en ocasiones rosado; el fruto donde se encuentra la semilla botánica es una baya verde. Las raíces presentan un engrosamiento donde se forman los tubérculos y

se almacenan las reservas de la planta (Figura 1-1) (Pumisacho y Sherwood, 2002; Román y Hurtado, 2002; Inostroza *et al.*, 2009).

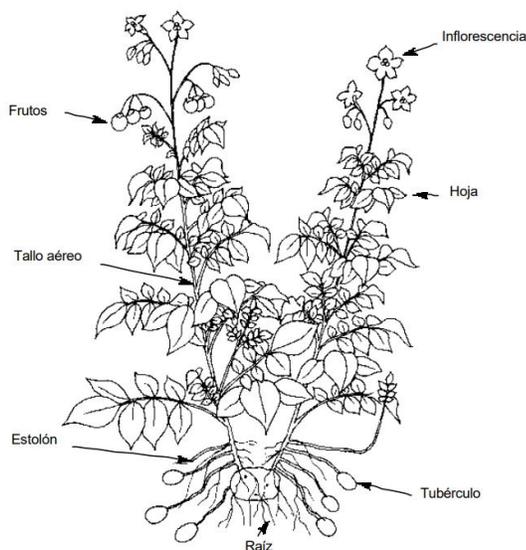


Figura 1-1. Anatomía de una planta de papa (Pumisacho y Sherwood, 2002).

1.2.4. Importancia de la papa

El cultivo de la papa se ubica en el cuarto lugar en el mundo de acuerdo con su producción; el tubérculo es consumido por su alto valor energético y nutricional, por cada 135 g de papa, 27 g son de carbohidratos, 3.2 g de proteínas, 2.1 g de fibras, 0.17 g de grasas, 0.6 mg de vitaminas B y 0.5 mg de vitaminas C (FAO, 2008; Muñoz 2014). Por otro lado, el cultivo de papa tiene importancia económica y social, ya que, desde la preparación de terreno hasta la comercialización de ésta se demandan una gran cantidad de jornales (Coleman *et al.*, 2001).

1.2.5. Superficie y producción de la papa

La producción mundial de papa se aproxima a 470 millones de t, donde China encabeza la lista de países productores con 94 millones de t, seguido de India, Ucrania, Estados Unidos y Rusia con 54 millones, 21 millones y 18 millones de t, de manera respectiva (FAO, 2022).

En México se establecieron 62,440 ha y de las cuales se obtuvieron 1,986,198 t en el año 2023; esta producción satisface la demanda de consumo nacional. En México, la

mayor producción se obtiene de los valles donde se cuenta con sistema de riego, con la agricultura más tecnificada; en estas regiones se establecen alrededor de 41,408 ha; la segunda región la representan los valles altos, donde el cultivo se establece en condiciones de temporal y se establecen 21,032 ha en el año. Los Estados con mayor producción nacional son Sonora, Sinaloa, Estado de México, Veracruz, Puebla y Nuevo León, donde se producen 1,596,961 t, esto representa el 80 % de la producción anual de papa nacional (SIAP, 2023).

1.2.6. Variedades de papa establecidas en México

En México existen diversas variedades de papas comerciales, las cuales son utilizadas en la industria de la fritura y el consumo en fresco; la variedad más importante es la Fianna, ya que esta es la que mayor superficie se establece en el año; otras variedades importantes son: Agata, Atlantic, Alpha, Cesar, FL1867, Orquesta, Vilvaldi, Mundial, entre otras (Luque Sainz, 2011).

1.2.7. Comercialización

La comercialización nacional de la papa está en función de la organización de productores de papa, la región productora, el tamaño de las unidades de producción, así como la infraestructura de almacenaje. Los productores de papa de Sonora y Sinaloa cuentan con las mejores experiencias de comercialización, ya que cumplen con las características descritas (Luque Sainz, 2011).

1.2.8. Condiciones climáticas y edáficas favorables para el cultivo de papa

Las plantas de papa requieren temperaturas entre 20 a 25 °C durante el día y durante la noche las temperaturas adecuadas son entre los 8 y 13 °C para el adecuado crecimiento de los tubérculos. Para el crecimiento óptimo de las plantas y los tubérculos es necesario una variación de 10 °C entre las temperaturas diurnas y nocturnas (Pourrut, 1998). La luz es un factor importante en la producción de carbohidratos, ya que influye en la fotosíntesis; durante dicho proceso se producen los carbohidratos que se almacenan en los tubérculos (Román y Hurtado, 2002; Molina *et al.*, 2004).

El agua es esencial para la absorción de nutrientes, lo que repercute en el crecimiento y producción de la papa. El exceso de humedad en el suelo afecta en el intercambio gaseoso e induce condiciones anaeróbicas, lo que es favorable para el desarrollo de enfermedades; por otro lado, la carencia de agua en el suelo produce deficiencias nutricionales y marchitez, lo que repercute en el desarrollo y producción de la papa (Rubio *et al.*, 2000). Para el desarrollo óptimo del tubérculo se requiere que el suelo presente entre un 60 y 80 % de humedad (Egúsquiza, 2000; Molina *et al.*, 2004). Con respecto al suelo, es esencial que éste tenga buen drenaje para el desarrollo de las plantas y los tubérculos; los suelos arcillosos, arenosos y limosos, con textura liviana y ricos en materia orgánica son los que permiten una buena penetración de las raíces y un crecimiento uniforme de los tubérculos. Suelos con pH entre 5.5 a 6.5 son los ideales para que la planta de papa absorba mejor sus nutrientes (Rubio *et al.*, 2000; Molina *et al.*, 2004).

1.2.9. Principales hongos fitopatógenos que afectan a la papa

Los hongos fitopatógenos son uno de los principales agentes causales de enfermedades, éstos provocan pérdidas importantes en el cultivo de papa. A continuación, se nombran algunas de las enfermedades más importantes que afectan a la planta: tizón temprano (*Alternaria solani*), pudrición seca o marchitez de la planta (*Fusarium* spp.), marchitez de la papa (*Verticillium dahliae*), sarna plateada (*Helminthosporium solani*), costra negra (*Rhizoctonia solani*), el paño de la papa (*Colletotrichum coccodes*), moho blanco (*Sclerotinia sclerotiorum*) y la pudrición blanda (*Sclerotium rolfsii*). Todos estos hongos afectan la calidad y el rendimiento de esta hortaliza (Johnson y Dung, 2010; Atkinson *et al.*, 2011; Roca *et al.*, 2016; Azil *et al.*, 2021; Linyu *et al.*, 2022; Félix *et al.*, 2024).

1.2.10. Generalidades de *Sclerotium rolfsii*

Sclerotium rolfsii está ubicado en la familia Atheliaceae, cuyo teleomorfo es *Athelia rolfsii* (Cuadro 1-2). El hongo produce micelio blanco en forma de abanico, sus hifas son septadas, hialinas de pared celular delgada; *S. rolfsii* produce hifas primarias con un diámetro de hasta 8 µm y con conexiones (fíbula), las que dan lugar a las hifas secundarias y terciarias cuyo diámetro varía de 2.4 a 5.0 µm (Xu *et al.*, 2008). Los

esclerocios se forman por la aglomeración del micelio, los cuales varían de 0.5 a 1.5 mm de diámetro; éstos son esféricos de color blanco, y cuando éstos maduran se tornan color marrón oscuro (Figura 1-2) (Nájera *et al.*, 2018).

Cuadro 1-2. Clasificación taxonómica de *Sclerotium rolfsii*

Super reino	Eucariota
Reino	Fungi
Filum	Basidiomycota
Clase	Agaricomycetes
Orden	Amylocorticiales
Familia	Amylocorticiaceae
Genero	<i>Agroathelia</i>
Especie	<i>Agroathelia rolfsii</i> (<i>S. rolfsii</i>)

Fuente (NCBI, 2024).



Figura 1-2. Morfología colonial de *Sclerotium rolfsii*

Sclerotium rolfsii es un hongo polífago que se encuentra en suelos de las zonas tropicales y subtropicales del mundo, donde se presentan temperaturas cálidas y alta humedad de éstos (Roca *et al.*, 2016; Nandi *et al.*, 2017). Los esclerocios son fuente de inóculo primario para el desarrollo de la enfermedad; cuando se presentan las condiciones ambientales favorables para la germinación de los esclerocios, éstos

producen hifas que penetran el tejido de las plantas como la corona, raíces, bulbos, frutos u hojas. Previo a la penetración del tejido, el hongo produce ácido oxálico y celulasa, lo que causa la muerte del tejido vegetal; los primeros síntomas y signos se observan alrededor de cuatro días después de la infección con el desarrollo de micelio blanco en forma de abanico sobre la base del tallo y superficie del suelo, donde se forman los esclerocios, éstos son dispersados por medio del viento, agua, maquinaria, residuos vegetales, suelo y animales (Garibaldi *et al.*, 2007; Kator *et al.*, 2015; Roca *et al.*, 2016). En su fase sexual *A. rolfsii* produce basidiosporas, lo cual ayuda a producir ciclos secundarios de la enfermedad (Figura 1-3) (Aycock, 1966).

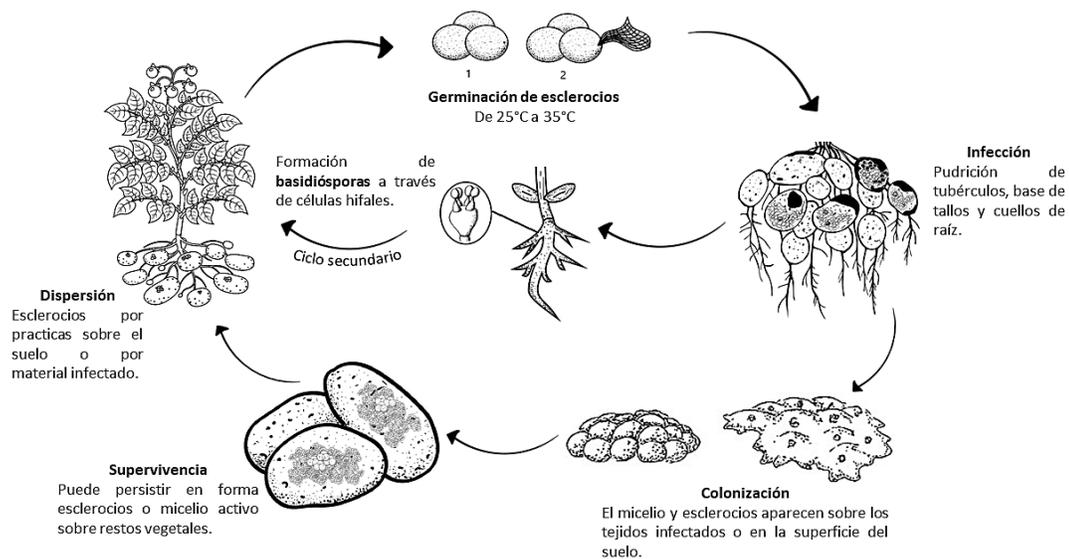


Figura 1-3. Ciclo de vida de *Sclerotium rolfsii* en planta de papa (Pérez-Buelna 2023)

Este hongo afecta a más de 500 especies vegetales pertenecientes a 100 familias de plantas dicotiledóneas y monocotiledóneas; algunas especies susceptibles al hongo son frijol, alfalfa, algodón, arroz, plátano, caña de azúcar, melón, pepino, chile, zanahoria, soya, papa, entre otros (Dwivedi y Prasad, 2016; Roca *et al.*, 2016; Nandi *et al.*, 2017).

1.2.11 Métodos de control de *Sclerotium rolfsii*

S. rolfsii es difícil de controlar debido a su hábito saprofítico, rango de hospedantes y a la formación de esclerocios, los cuales permanecen viables en el

suelo por varios años. Para su manejo se han utilizado diversos productos químicos, prácticas culturales, control biológico o combinaciones de estas medidas de control (Ramírez, 1998).

1.2.11.1. Control cultural

Para el control cultural de la pudrición blanda se consideran distintos factores como lo son: el tipo de suelo del cultivo, variedad a utilizar, fertilización, frecuencia de riego, abonos verdes, exposición solar, labranza, fechas de siembra, etc. (Pino, 1989; Montealegre y Henríquez, 1990, Rubayet *et al.*, 2018). La rotación del cultivo es una práctica agronómica que ayuda a reducir la enfermedad debido a la ausencia del hospedante para el patógeno (Rodríguez *et al.*, 1991).

1.2.11.2. Control químico

Los fungicidas sintéticos son sustancias que utiliza el agricultor en sus cultivos con el propósito de eliminar o prevenir el crecimiento de hongos. Estudios realizados por Pérez-Moreno *et al.* (2009) evaluaron el efecto inhibitorio *in vitro* de cinco fungicidas: Tebuconazol (1.25 g.i.a./L), Tiabendazol y TCMTB (4.0 g.i.a./L), Procimidone e Iprodione (3.33 g.i.a./L) contra cinco aislados de *S. rolfsii* provenientes de tres localidades de Guanajuato, uno de Colima y uno de Morelos en México. Como resultado se obtuvo poca variabilidad en la inhibición de los fungicidas; Tebuconazol y TCMTB inhibieron el crecimiento micelial del patógeno.

Shirsole y colaboradores en el 2019, evaluaron la eficacia *in vitro* de cuatro fungicidas sistémicos (Carbendazim 50% WP, Tricyclozol 75% WP, Hexaconazol 5 % EC Propiconazol 25% EC, Azoxystrobin 35 % EC, Benomilo 50% WP y Tiofanato metílico 70 % WP); cuatro no sistémicos (Mancozeb 75 % WP, Thiram 75 % WS, Oxiclورو de cobre 50WP y Propineb 70 % WP) y seis mezclas (Metalaxyl 8% + Mancozeb 64 %, Tebuconazol 50 %+Trifloxystrobin 25 % WG, Captan 70 %+Hexaconazol 5 % WP, Propiconazol 13.9 % + Difenconazol 13.9 %, Carboxin 37.5 % + Thiram 37.5 % y Carbendazim 12 % + Mancozeb 63 % WP) a diferentes concentraciones: 20, 50, 100, 200 y 500 ppm contra *S. rolfsii in vitro*, por otro lado, estos mismos fungicidas se evaluaron en el tratamiento de semilla en invernadero. En el ensayo *in vitro* se concluyó que Hexaconazol 5 % EC, Propiconazol 25 % EC y

productos combinados Tebuconazol 50 % + Trifloxistrobin 25 % WG, Captan 70 % + Hexaconazol 5 % WP, Propiconazol 13 % + Difenconazol y Carboxin 37,5 % + Thiram 37.5 % mostraron en todas las concentraciones una inhibición del 100 % del patógeno. Sin embargo, los fungicidas Mancozeb 75 % WP, Thiram 75 % WS y Propineb 70 % WP inhibieron solo en la concentración 100 ppm. Por otra parte, los resultados obtenidos en el experimento con tratamiento en la semilla fueron similares.

1.2.11.3. Control biológico

El control biológico de los fitopatógenos se basa en la reducción de la actividad de éstos mediante la aplicación masiva de uno o más microorganismos antagonistas (Cook y Baker, 1983). Entre los agentes de control biológico utilizados para el manejo de la pudrición blanda se encuentran: *Bacillus* spp., *Pseudomonas* spp., *Streptomyces* spp. y diferentes especies de *Trichoderma* spp. (Hernández *et al.*, 2016; Archana *et al.*, 2020; Abo *et al.*, 2021; Martínez *et al.*, 2021). Las diferentes especies del género *Trichoderma* son los agentes de biocontrol más utilizados en la agricultura debido a su gran eficacia contra una variedad significativa de fitopatógenos (Chet,1987). Entre las especies más utilizadas para control biológico se encuentran *T. atroviride*, *T. hamatum*, *T. asperellum* y *T. harzianum* (Hjeljord y Tronsmo 1998).

1.2.12. Generalidades del género *Trichoderma*

Los hongos del género *Trichoderma* pertenecen a la familia Hypocreaceae, tienen una distribución cosmopolita (Cuadro 1-3). Las esporas de estos hongos varían de color amarillo a verde y por lo general se encuentran en el suelo y aire (Djonovic *et al.*, 2006; Schuster y Schmoll, 2010).

Cuadro 1-2. Clasificación taxonómica de *Trichoderma*

Super reino	Eucariota
Reino	Fungi
Filum	Ascomycota
Clase	Sordariomycetes
Orden	Hypocreales
Familia	Hypocreaceae
Genero	<i>Hypocrea</i>
Especie	<i>Hypocrea Lixii</i> (<i>T. harzianum</i>)

Fuente (NCBI, 2024).

Las diferentes especies del género de *Trichoderma* son usadas para el control biológico de fitopatógenos gracias a sus diferentes mecanismos de acción (Fernández, 2001). El hongo compite por espacio, luz y nutrientes (Vineela *et al.*, 2020), también el hongo produce enzimas, proteasas, quitinasas, glucanasas y compuestos volátiles, lo cual le permite hidrolizar la pared celular de los hongos que parasita, éstas provocan la lisis celular del patógeno y evitan la germinación de esclerocios (Marcello *et al.*, 2010; García *et al.*, 2016; Romero-Cortes *et al.*, 2016), los cuales suprimen el desarrollo de los fitopatógenos (Mokhtar y Dehimat, 2012). Por otro lado, *Trichoderma* es considerado parásito de plantas, capaces de producir elicitores que inducen la defensa vegetal contra diferentes fitopatógenos, además promueven la solubilización de nutrientes como el fósforo y propician la síntesis de fitohormonas como las giberelinas o auxinas, también pueden producir ácidos orgánicos que disminuyen el pH del suelo y propician la solubilización de algunos nutrientes (Djonovic *et al.*, 2007; Torres De la Cruz *et al.*, 2015; Sharma *et al.*, 2017).

En el cultivo de papa se ha utilizado *Trichoderma* para el manejo de la pudrición blanda con resultados alentadores (Rubayet y Bhuiyan, 2016). Sangle y colaboradores (2016) evaluaron 13 aislados de *T. hamatum*, 12 de *T. viride*, 10 de *T. harzianum*, tres de *T. reesei*, uno de *T. piluliferum* y uno de *T. virens*, obtenidos de plantas de lentejas (*Lens culinaris*), se estudió la eficacia de inhibición de crecimiento micelial de *S. rolfsii* con la producción de metabolitos volátiles, con resultados variables en la inhibición, donde los aislados de *T. harzianum*, inhibían el crecimiento micelial entre el 35.3 a 89.0 % del patógeno. En el caso de los 12 aislados de *T. viride*, solo dos restringieron el crecimiento en 17.7 y 50.6 %. Por otro lado, Zúñiga y Ceja (2017), evaluaron la capacidad antagónica de un aislado de *Trichoderma* contra *S. cepivorum* y *S. rolfsii* obtenidos de suelo en México, ellos registraron un porcentaje de inhibición del crecimiento micelial 17.4 % y 22.2 %, de forma respectiva. Díaz y colaboradores (2018), evaluaron a *T. virens in vitro* cepa G-41 y *T. asperellum* CSAEGro-1, los cuales inhibieron el 70.7 y 69.0 %, en ese orden. Priyadharcin y colaboradores (2018) evaluaron el antagonismo y producción de metabolitos volátiles de *Trichoderma* contra *S. rolfsii*, los cuales obtuvieron que los aislados *T. harzianum* (TspT), *Trichoderma* sp. (TspK) y *T. viride* 1, inhibieron el crecimiento del micelio de *S. rolfsii*: 81.27, 66.29 y

71.91 % de forma respectiva. Por otro lado, en la prueba de metabolitos volátiles *T. viride* obtuvo un porcentaje de 86.30, *T. harzianum* (75.19 %) y *Trichoderma* sp. (85.19 %).

La ausencia de variedades resistentes en las diferentes especies vegetales a la pudrición blanda ha ocasionado que la enfermedad se maneje con el uso de fungicidas sintéticos como única alternativa, esto ha provocado variación en la susceptibilidad de los aislados de *S. rolfsii* a los diferentes fungicidas (Pérez *et al.*, 2009).

Sekhar y colaboradores (2020) probaron la eficacia de tres especies de *Trichoderma*: *T. harzianum*, *T. viride* y *T. asperellum* y cinco fungicidas: Clorotalonil, Difenconazol, Hexaconazol, Cabrio y Mancozeb a diferentes concentraciones: 250, 500, 750 y 1000 ppm contra *Sclerotium rolfsii* bajo condiciones *in vitro*. Los resultados revelaron que *T. harzianum* inhibió de forma efectiva al patógeno (56.9 %) seguido de *T. viride* (39.7 %) y *T. asperellum* (33.9 %). En la evaluación de fungicidas se probó que Hexaconazol y Mancozeb inhibieron un 93.4% el crecimiento micelial de *S. rolfsii* a 1000 ppm.

Martínez-Martínez y colaboradores en 2020 realizaron pruebas de antagonismo *in vitro* de dos aislados de *T. harzianum* y el complejo de especies de hongos asociadas a la fusariosis (*Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*, *F. solani*, *Macrophomina phaseolina* y *S. rolfsii*) del garbanzo (*Cicer arietinum*) de los Estados: Sonora, Sinaloa, Baja California, Guanajuato, Michoacán y Jalisco, México. Por otro lado, se realizó un experimento en una parcela de garbanzo, el cual consistió en tres tratamientos: 1) testigo sin fertilización, 2) aplicación de nitrógeno, fósforo, urea, y superfosfato triple y 3) aplicación de uno de los aislados de *T. harzianum*. Como resultado en las pruebas de antagonismo se obtuvieron porcentajes de inhibición de 63.1 % y 74.3 % contra *S. rolfsii*. González y colaboradores (2020) encontraron que *Trichoderma ressei* C2A tolera la combinación con Mancozeb a 100 ppm, el hongo es inhibido en un 30 % y cubre el medio de cultivo de la caja Petri en cuatro días, dos días después con respecto al testigo. Manandhar y colaboradores (2020), mencionan que los aliados de *Trichoderma*: Ts, Tv, T22, Th y T69 resultaron compatibles con los productos químicos Propineb y Mancozeb a 50 ppm y 100 ppm. Al lograr el crecimiento al 100 % del hongo

a los siete días en la caja Petri. Arian *et al.* (2022) demostraron que *T. harzianum* tolera a Propiconazol, ya que el crecimiento micelial del hongo fue inhibido un 5.2 % a la concentración de 7.5 ppm y conforme se incrementó la dosis a 56.3 ppm la inhibición del crecimiento micelial fue de 51.7 %.

Zapata y colaboradores (2023) registraron que el crecimiento micelial de *T. koningiopsis* (Th003) con fungicidas Procloraz (1200 ppm), Tiabendazol (900 ppm) y Propiconazol (1250 ppm), inhibieron el crecimiento micelial del hongo en un Procloraz, 100 % y 70 %, de manera respectiva

Rubayet y Bhuiyan (2016) controlaron la pudrición del tallo de la papa causada por *S. rolsfii* mediante el uso de un producto químico, un producto biológico y un extracto vegetal (mezcla de Carboxin, *T. harzianum* y aceite de semilla de mostaza). Además, en dicho tratamiento se obtuvo una incidencia de 5.8 % de la enfermedad, una reducción del 85 % de la misma y un incremento a 23.6 t ha⁻¹ en comparación con el tratamiento testigo, el cual se sembró en campo sin ser inoculadas con *S. rolsfii* y sin ningún tratamiento.

CAPÍTULO 2. ANTAGONISMO, INTERACCIÓN HIFAL Y METABOLITOS VOLÁTILES DE CUATRO ESPECIES DE *Trichoderma in vitro* CONTRA *Sclerotium rolfsii* PROVENIENTES DE PAPA

Gabriel Herrera-Rodríguez¹, Gabriel Antonio Lugo-García¹, Universidad Autónoma de Sinaloa, Colegio de Ciencias Agropecuarias, Facultad de Agricultura del Valle del Fuerte, calle 16 S/N esquina Japaraqui, Juan José Ríos. C.P 81110, El Estero, Sinaloa, México; **María Belén Irazoqui-Acosta², Diana Laura Muñoz-Bojórquez², Sara Elodia Armenta-López²**, Junta Local de Sanidad Vegetal del Valle del Fuerte. Lázaro Cárdenas, 315 Pte. Col. Centro, Los Mochis Sinaloa, CP. 81200, México; **Rubén Félix-Gastélum³, Hugo Beltrán-Peña³, Guadalupe Arlene Mora-Romero³**. Universidad Autónoma de Occidente, Unidad Los Mochis, Departamento de Ciencias Naturales y Exactas, Boulevard Macario Gaxiola y Carretera Internacional S/N Los Mochis, Sinaloa, CP. 81223, México. *Autor de Correspondencia: gabriel_lugo9010@hotmail.com.

RESUMEN

En tubérculos de papa (*Solanum tuberosum* L.) de lotes comerciales en Sonora y Sinaloa, México, se observaron pudriciones de tubérculos causado por el hongo *Sclerotium rolfsii*. El control biológico de fitopatógenos es una herramienta para disminuir el potencial destructivo de estos sin contaminar el ambiente. Los objetivos de la presente investigación fueron a) determinar la efectividad antagónica *in vitro* de 16 aislados de *Trichoderma asperellum*, cinco de *T. asperelloides*, cuatro de *T. afroharzianum* y uno de *T. azevedoi* y b) identificar las interacciones hifales e inhibición de *S. rolfsii* (Scr4 y Scr17) mediante metabolitos volátiles. De las confrontaciones duales, las especies de *Trichoderma* mostraron inhibiciones en el crecimiento micelial de 21.0-75.4 % y 23.6-77.1 % en los aislados Scr4 y Scr17 de *S. rolfsii*, respectivamente. Por otro lado, las interacciones hifales de las mismas especies de *Trichoderma* causaron vacuolización, granulación, enrollamiento, adhesión, lisis y penetración en el patógeno (Scr4). Los metabolitos volátiles producidos por *Trichoderma* spp., inhibieron el crecimiento micelial de *S. rolfsii* de 26.0 % a 81.4 %. Los resultados de la efectividad biológica de *Trichoderma* spp. sobre *S. rolfsii* sientan las bases para el manejo de la enfermedad en campo.

Palabras claves: Antagonista, control biológico, inhibición micelial, metabolitos.

ABSTRACT

Tuber rots caused by the fungus *Sclerotium rolfsii* were observed in potato tubers (*Solanum tuberosum* L.) from commercial plots in Sonora and Sinaloa, Mexico. The use of biological control of phytopathogens constitutes an alternative to reduce the destructive potential of the pathogen without contaminating the environment. The objectives of the present investigation were a) to determine the antagonistic effectiveness *in vitro* of 16 isolates of *Trichoderma asperellum*, five of *T. asperelloides*, four of *T. afroharzianum* and one of *T. azevedoi* and b) to identify the hyphal interactions and inhibition of *S. rolfsii* (Scr4 and Scr17) through volatile metabolites. From the dual confrontations, *Trichoderma* species showed inhibitions in mycelial growth of 21.0-75.4% and 23.6-77.1% in the Scr4 and Scr17 isolates of *S. rolfsii*, respectively. On the other hand, hyphal interactions of the same *Trichoderma* species caused vacuolization, granulation, coiling, adhesion, lysis and penetration into the pathogen (Scr4). Volatile metabolites produced by *Trichoderma* spp. inhibited the mycelial growth of *S. rolfsii* from 26.0% to 81.4%. The results of the biological effectiveness of *Trichoderma* spp. on *S. rolfsii* lay the foundations for managing the disease in the field.

Key words: Antagonist, biological control, mycelial inhibition, metabolites.

2.1. INTRODUCCIÓN

Sclerotium rolfsii es un hongo fitopatógeno presente en el suelo, es el agente causal de la pudrición de los tubérculos de papa; también provoca la pudrición de tallos, raíces, peciolo, hojas y frutos en diversos cultivos. El hongo ha causado pérdidas de hasta 15 % de la producción en el cultivo de papa en Italia (Garibaldi *et al.*, 2007). Los síntomas inician con pudrición seca en la base de tallo; también ocurre necrosis en el tejido vascular, las hojas de las plantas infectadas presentan clorosis, conforme la enfermedad avanza las plantas se marchitan y los tubérculos se pudren. El hongo produce micelio blanco sobre el tejido afectado en forma de abanico, cuando este madura se producen esclerocios, los cuales constituyen la principal fuente de inóculo primario, y se dispersan por medio del agua, residuos vegetales, suelo y animales (Kator *et al.*, 2015; Roca *et al.*, 2016). En Sinaloa, la enfermedad ha sido subestimada por los productores de papa, pero se estima que ésta ha causado pérdidas hasta 20 % de la producción en predios con suelos que retienen alta humedad (arcillosos) y coinciden con el incremento de la temperatura ambiental superiores a los 30 °C; y los daños se incrementan cuando el productor pospone la cosecha y propicia que el hongo incremente el daño a los tubérculos que permanecen en el suelo.

Los fungicidas sintéticos se utilizan para combatir diferentes especies de hongos fitopatógenos, no obstante, la aplicación excesiva de plaguicidas ha ocasionado problemas ambientales y salud humana (Brauer *et al.*, 2019). Por otro lado, para el control de estos patógenos se han utilizado otros métodos con enfoque ecológico, como el uso de agentes de biocontrol, lo cual resulta en una prometedora alternativa (Mishra *et al.*, 2015; Khan *et al.*, 2020). Las diferentes especies de *Trichoderma* son de las más utilizadas como biocontroladores, ya que presentan diferentes mecanismos de acción (competencia por el sustrato, micoparasitismo y antibiosis) que permiten manejar diferentes enfermedades causadas por fitopatógenos (Infante *et al.*, 2009; Adnan *et al.*, 2019, Garrido y Vilela., 2019; Pérez *et al.*, 2020; Asad, 2022). Aun cuando estudios de antagonismo *in vitro* entre especies de *Trichoderma* y *S. rolfsii* en papa son nulos; otros estudios en otros hospedantes se han consignado buen control al utilizar *Trichoderma* spp. como antagonista contra *S. rolfsii* obtenidos de plantas de

tomate (*Solanum lycopersicum* L.), frijol (*Phaseolus vulgaris*), repollo (*Brassica oleracea* L.), betel (*Piper betle* L.), lenteja (*Lens esculenta* L.), garbanzo (*Cicer arietinum* L.), calabaza (*Cucurbita pepo* L.), entre otros (Díaz Nájera *et al.*, 2018; Kushwaha *et al.*, 2018; Chandra Sekhar *et al.*, 2020; Kamel *et al.*, 2020). Estos hongos antagonistas, producen distintos metabolitos secundarios, que activan los mecanismos de defensa, promueven el desarrollo y crecimiento de las plantas; además de inhibir el desarrollo de los patógenos (Lee *et al.*, 2016; Guzmán *et al.*, 2023). Los metabolitos pueden ser volátiles y no volátiles; entre los metabolitos volátiles producidos por el hongo se encuentran el ácido acético, 2-pentilfuran, 6-pentil-2H-piran-2-ona, 2-metil-1-butanol entre otros, los cuales inhiben a *S. rolfssii* (Phoka *et al.*, 2020; Sridharan *et al.* 2020).

En México, *S. rolfssii* ha mostrado altos niveles de incidencia en lotes comerciales de papa de Sonora y Sinaloa, sin embargo, la evaluación de efectividad biológica de las especies de *Trichoderma* contra este fitopatógeno bajo condiciones controladas, invernadero y campo, no se ha determinado, por lo que es importante generar alternativas ecológicas para el manejo de este hongo en el corto plazo. Por lo anterior, los objetivos de este estudio fue determinar la capacidad antagónica *in vitro* de 26 aislados de *Trichoderma* mediante confrontaciones duales, así como, identificar las interacciones hifales y evaluar el efecto de los metabolitos volátiles contra el crecimiento micelial de aislados de *S. rolfssii* obtenidos de suelos sometidos a la siembra de papa en los estados de Sonora y Sinaloa, México. Por lo anterior, se planteó la siguiente hipótesis; al menos una especie de *Trichoderma* provenientes de papa presenta un o más mecanismos de acción *in vitro* contra *Sclerotium rolfssii*.

2.2 MATERIALES Y MÉTODOS

2.2.1 Obtención de aislados

Los 16 aislados de *T. asperellum* (TAM), cinco de *T. asperelloides* (TES), cuatro de *T. afroharzianum* (TAF), uno de *T. azevedoi* (TAI) y dos de *S. rolfssii* (Scr4 y Scr17) utilizados en el estudio. Dichos aislados fueron proporcionados por el banco microbiológico del Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario, la cual pertenece a la Junta Local de Sanidad Vegetal del Valle del Fuerte (JLSVVF). Los aislados se obtuvieron

de diferentes zonas productoras de Sonora y Sinaloa del año 2019 a 2021, las secuencias de los aislados se depositaron en el GenBank, con los códigos OR521159-OR521184 para *Trichoderma* y OR514113 y OR514124 para *Sclerotium rolfsii* (Cuadro 2-1).

Cuadro 2-1. Origen e identificación de aislados de *Sclerotium rolfsii* y especies de *Trichoderma*

Especie/aislado	Año de muestreo	Localidad	Código en Gen Bank
<i>Sclerotium rolfsii</i> /Scr4	2019	Ahome, Sinaloa	OR514113
<i>Sclerotium rolfsii</i> /Scr17	2019	Ahome, Sinaloa	OR514124
<i>T. asperelloides</i> /TES19	2020	Caborca, Sonora	OR521159
<i>T. asperelloides</i> /TES20	2020	Altar, Sonora	OR521160
<i>T. afroharzianum</i> /TAF21	2020	Altar, Sonora	OR521161
<i>T. asperellum</i> /TAM22	2020	Caborca, Sonora	OR521162
<i>T. asperelloides</i> /TES23	2020	Caborca, Sonora	OR521163
<i>T. asperelloides</i> /TES24	2020	Caborca, Sonora	OR521164
<i>T. asperelloides</i> /TES26	2020	Caborca, Sonora	OR521165
<i>T. asperellum</i> /TAM27	2019	Guasave, Sinaloa	OR521166
<i>T. asperellum</i> /TAM30	2019	El Fuerte, Sinaloa	OR521167
<i>T. asperellum</i> /TAM31	2019	Guasave, Sinaloa	OR521168
<i>T. afroharzianum</i> /TAF33	2020	Sinaloa de Leyva, Sinaloa	OR521169
<i>T. asperellum</i> /TAM35	2020	Ahome, Sinaloa	OR521170
<i>T. asperellum</i> /TAM37	2020	Guasave, Sinaloa	OR521171
<i>T. afroharzianum</i> /TAF38	2020	Guasave, Sinaloa	OR521172
<i>T. asperellum</i> /TAM57	2021	Ahome, Sinaloa	OR521173
<i>T. asperellum</i> /TAM59	2021	Guasave, Sinaloa	OR521174
<i>T. asperellum</i> /TAM64	2021	Ahome, Sinaloa	OR521175
<i>T. asperelloides</i> /TES65	2021	Ahome, Sinaloa	OR521176
<i>T. asperellum</i> /TAM67	2021	Ahome, Sinaloa	OR521177
<i>T. asperellum</i> /TAM68	2021	Ahome, Sinaloa	OR521178
<i>T. asperellum</i> /TAM69	2021	Ahome, Sinaloa	OR521179
<i>T. asperellum</i> /TAM70	2021	Ahome, Sinaloa	OR521180
<i>T. azevedoi</i> /TAI73	2021	Ahome, Sinaloa	OR521181
<i>T. asperellum</i> /TAM74	2021	Ahome, Sinaloa	OR521182
<i>T. asperellum</i> /TAF75	2021	Ahome, Sinaloa	OR521183
<i>T. asperellum</i> /TAM76	2020	Caborca, Sonora	OR521184

2.2.2. Evaluación del efecto inhibitorio *in vitro* de 26 aislados de *Trichoderma* spp. contra *Sclerotium rolfsii*

El antagonismo *in vitro* de 26 aislados de cuatro especies de *Trichoderma* de tres días de crecimiento se determinó contra dos aislados de *S. rolfsii* (Scr4 y Scr17) de siete días de crecimiento en papa dextrosa agar (PDA). Se recurrió a la técnica de confrontación dual en el mismo medio de cultivo en cajas Petri de 90 mm de diámetro (Dennis y Webster, 1971). Como fuente inóculo, se tomaron discos de crecimiento micelial de 5 mm de diámetro de cada aislado. El inóculo del hongo, se colocó en un extremo de la caja Petri y el de *Trichoderma* spp. en el extremo opuesto. Los tratamientos se distribuyeron en un diseño completamente al azar con cuatro réplicas, la cuales consistían de cuatro cajas Petri de cada combinación de los hongos. El experimento se desarrolló en dos ocasiones.

Cajas Petri con PDA que contenían cultivos individuales tanto de *S. rolfsii* como de *Trichoderma* sirvieron como testigo, las cajas se incubaron a 25 °C (Pacheco *et al.*, 2016). La capacidad antagónica de *Trichoderma* spp. se determinó mediante la medición del crecimiento micelial, cada 24 horas después de la inoculación hasta cuando *S. rolfsii* cubrió las cajas Petri testigo. La inhibición del crecimiento micelial de *S. rolfsii* se calculó de acuerdo a la ecuación: $I = C - T / C \times 100$, donde: I = Porcentaje de inhibición, C = Crecimiento micelial del patógeno testigo y T = Crecimiento micelial del patógeno en tratamiento Kotasthane y colaboradores (2014). La efectividad biológica de las especies de *Trichoderma* en la inhibición de *Sclerotium rolfsii* se determinó mediante la escala de clases del 1 al 5 de Bell *et al.* (1982) donde: clase 1) *Trichoderma* cubrió por completo la superficie del medio de cultivo, clase 2) *Trichoderma* creció al menos el 65 % del medio, clase 3) *Trichoderma* y *S. rolfsii* crecieron en un 50 % del medio, clase 4) *S. rolfsii* creció al menos el 65 % del medio y clase 5) *S. rolfsii* creció completo sobre la superficie del medio de cultivo.

2.2.3. Interacción hifal de *Trichoderma* spp. contra *Sclerotium rolfsii*

La interacción hifal de 26 aislados de *Trichoderma* spp. contra *S. rolfsii* (Scr4) se evaluó mediante la metodología de cultivos duales (Dennis y Webster, 1971). La observación en microscopio se llevó a cabo al momento del contacto entre los hongos,

de los cuales se tomaron tres muestras de la zona de interacción. Para esto se colocó un fragmento de cinta adhesiva transparente sobre las hifas del patógeno y de *Trichoderma* sp., enseguida la cinta se colocó una gota de lactofenol-azul de algodón en un portaobjetos y se observó al microscopio óptico para identificar vacuolización, granulación, enrollamiento, adhesión, lisis o penetración causados por los aislados (Martínez *et al.*, 2018).

2.2.4. Efecto de metabolitos volátiles de especies de *Trichoderma* con actividad antifúngica contra *S. rolfsii*

Para determinar el efecto inhibitorio de metabolitos volátiles de los 26 aislados de *Trichoderma* contra un aislado de *S. rolfsii* (Scr4), éstos se sembraron en PDA y se incubaron a 25 ± 2 °C por tres y siete días. Discos de PDA de 5 mm diámetro con micelio activo se transfirieron a cajas Petri con el mismo medio de cultivo. El inóculo de *Trichoderma*, se transfirió 24 horas antes que *S. rolfsii*. Enseguida, para confrontar *S. rolfsii* y *Trichoderma* las bases de las cajas Petri se ensamblaron y se sellaron con Parafilm (Rajani *et al.*, 2021). En la parte inferior se ubicó a *Trichoderma* y en la parte superior *S. rolfsii* (Dennis y Webster, 1971; Mokhtar y Dehimat, 2012). Los tratamientos se distribuyeron en un diseño completamente al azar con cuatro réplicas por cada combinación de *S. rolfsii*-*Trichoderma*. El experimento se desarrolló en dos ocasiones. Como testigo se incluyeron cajas Petri con PDA con cultivos individuales de *S. rolfsii* como de *Trichoderma*, las cuales se incubaron a 25 ± 2 °C. El efecto de inhibición de *Trichoderma* spp. se determinó una vez que *S. rolfsii* cubrió el medio de cultivo en el tratamiento testigo sin *Trichoderma* para lo cual se consideró el porcentaje de inhibición del crecimiento del patógeno mediante la fórmula descrita por Kotasthane y colaboradores (2014).

2.2.5. Análisis estadísticos de datos

Los datos sobre inhibición micelial *in vitro* mediante confrontaciones y metabolitos volátiles de los 26 aislados de *Trichoderma* contra dos aislados de *S. rolfsii* se analizaron mediante estadística no paramétrica (Kruskal-Wallis). La separación de medias de inhibición del crecimiento micelial se realizó mediante los procedimientos de Conover (1999) con ($P > 0.05$).

2.3 RESULTADOS

2.3.1. Efecto inhibitorio *in vitro* de aislados de *Trichoderma* spp. sobre *Sclerotium rolfsii*.

Los resultados mostraron variación en el efecto inhibitorio *in vitro* de *S. rolfsii* por los 26 aislados de *Trichoderma* utilizados, ya que inhibieron de forma significativa los dos aislados de *S. rolfsii* (Scr4 y Scr17), con porcentaje de inhibición de 21.0 % a 75.4 % en Scr4 y de 23.6% a 77.1 % en Scr17.

El aislado TAI73 de *Trichoderma azevedoi* mostró el mayor efecto inhibitorio *in vitro* en el crecimiento micelial del aislado Scr4 de *S. rolfsii* (Figura 2-1A) con porcentaje de inhibición de 75.4 %, seguido de los aislados TAM74 (68.9 %), TAM30 (66.6 %), TAF75 (66.0 %), TES65 (65.0 %), TES24 (64.9 %), TAM68 (64.9 %) y TAM37 (64.8 %). Todos los niveles de inhibición se ubicaron en la clase 2, sin diferencias significativas entre estos ($P \leq 0.05$) pero sí la hubo con el resto de los aislados de los *Trichoderma* incluidos en el estudio. En cambio, el aislado TAF33 mostró el menor porcentaje de inhibición (Figura 2-1B) (21.0 %) y correspondió a la clase 4, seguido de TAM70 (56.7 %), TAF21 (57.2 %), TAM76 (57.3 %), TAM57 (57.3 %) y TAM31 (59.0 %), ubicándose todas en la clase 3, sin diferencias significativas entre tratamientos ($P \leq 0,05$) (Cuadro 2-2).

Por otro lado, el aislado de *Trichoderma* TAI73 mostró el mayor nivel de inhibición en el crecimiento micelial de Scr17 con (77.1 %), clase 2, seguido de TAM69 (68.8 %), TES24 (67.9 %) (Figura 2-2A), TAM30 (67.9 %), TES65 (67.3 %), TAF75 (67.0 %), TAM74 (66.4 %), TAM35 (66.2 %) y TAM37 (66.1 %) en clase 2, sin diferencias significativas entre ellos ($P \leq 0,05$) (Cuadro 2-2). En cambio, el aislado de *Trichoderma* TAF33 (Figura 2-2B) (clase 4) con 23.6 % mostró el menor porcentaje de inhibición contra Scr17, seguido de TAF38 (52.8 %), TAM31 (57.4 %), TAM68 (59.8 %), TAM59 (60.1 %), TAM64 (60.3 %) y TES20 (60.3 %) todas en clase 3, sin diferencias significativas entre ellos ($P \leq 0,05$) (Cuadro 2-2).

El aislado de *T. azevedoi* (TAI73) presentó el mayor porcentaje de inhibición del crecimiento micelial *in vitro* del aislado Scr4 de *S. rolfsii*, con 75.4 % de inhibición

(Cuadro 2-2), mientras que el mismo aislado de *Trichoderma* ejerció una inhibición de 77.1% en el aislado Scr17 de *S. rolfsii*; en contraste *T. afroharzianum* (TAF33) tuvo el menor efecto inhibitorio sobre los dos aislados de *S. rolfsii* (Cuadro 2-2). Se observó una marcada variación en el efecto de los aislados de *Trichoderma* sobre la inhibición de *S. rolfsii* con diferencias significativas entre ellos ($P \leq 0,05$) (Cuadro 2-2).

Cuadro 2-2. Antagonismo *in vitro* de 26 aislados de *Trichoderma* spp. contra dos aislados de *S. rolfsii*.

Aislado Scr4 de <i>S. rolfsii</i>			Aislado Scr17 de <i>S. rolfsii</i>		
Aislado de <i>Trichoderma</i>	% de inhibición	Escala	Aislado de <i>Trichoderma</i>	% de inhibición	Escala
Testigo	0.0 a*	5	Testigo	0.0 a*	5
TAF33	21.0 ab	4	TAF33	23.6 ab	4
TAM70	56.7 abc	3	TAF38	52.8 ab	3
TAF21	57.2 abcd	3	TAM31	57.4 abc	3
TAM76	57.3 abcd	3	TAM68	59.8 abc	3
TAM57	57.3 abcd	3	TAM59	60.1 abcd	3
TAM31	59.0 abcde	3	TAM64	60.3 abcd	3
TES26	60.3 bcdef	2	TES20	60.3 abcde	3
TAM67	60.5 cdefg	2	TAF21	60.4 bcde	2
TAF38	60.5 cdefg	2	TES26	60.5 bcde	2
TAM64	60.5 cdefg	2	TAM57	61.9 cdef	2
TAM59	60.9 defgh	2	TAM23	61.9 cdef	2
TAM23	61.9 efghi	2	TAM70	62.6 defg	2
TAM27	62.0 efghi	2	TAM67	63.0 defg	2
TAM22	62.7 fghij	2	TAM22	63.4 efgh	2
TAM69	63.2 fghij	2	TAM27	63.4 efgh	2
TES20	63.3 fghij	2	TAM76	64.7 fghi	2
TES19	63.4 ghijk	2	TES19	65.0 fghi	2
TAM35	63.6 hijk	2	TAM37	66.1 ghij	2
TAM37	64.8 ijkl	2	TAM35	66.2 ghij	2
TAM68	64.9 ijkl	2	TAM74	66.4 ghij	2
TES24	64.9 ijkl	2	TAF75	67.0 hij	2
TES65	65.0 jkl	2	TES65	67.3 hij	2
TAF75	66.0 jkl	2	TAM30	67.9 ij	2
TAM30	66.6 kl	2	TES24	67.9 ij	2
TAM74	68.9 l	2	TAM69	68.8 j	2
TAI73	75.4 l	2	TAI73	77.1 j	2

* Medias con una letra en común en las columnas no son significativamente diferentes ($P > 0.05$), Kruskal-Wallis.

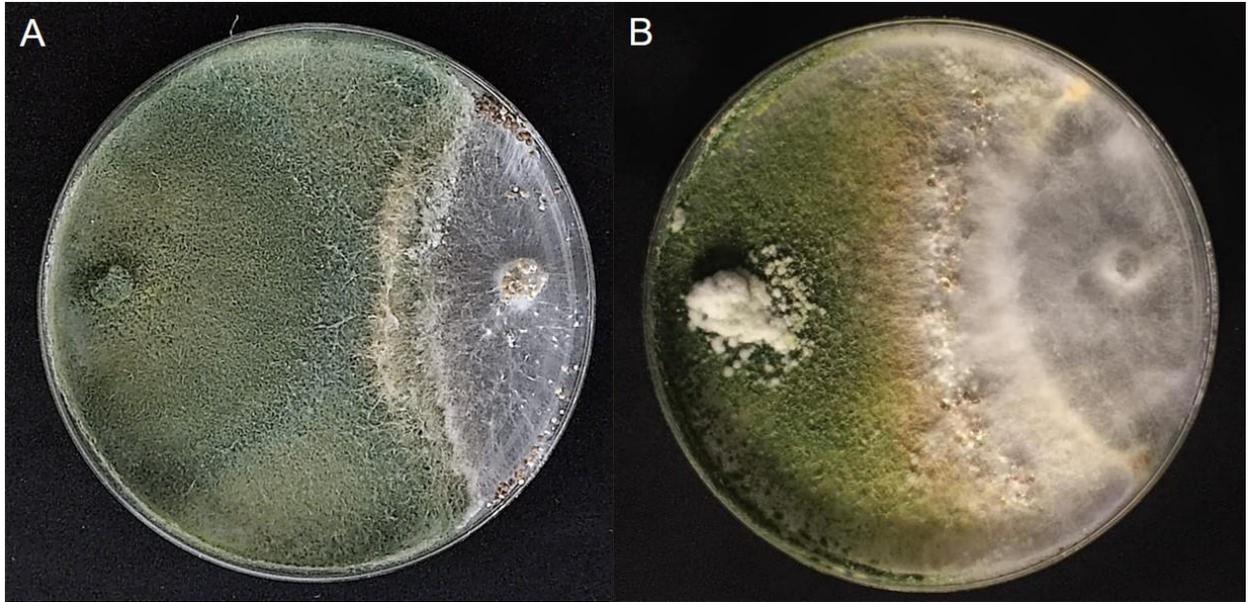


Figura 2-1. Antagonismo *in vitro* de *Trichoderma* (izquierda) contra *Sclerotium rolfsii* (Scr4) (derecha). (A) Aislado de *Trichoderma* TAI73 y (B) TAF33.

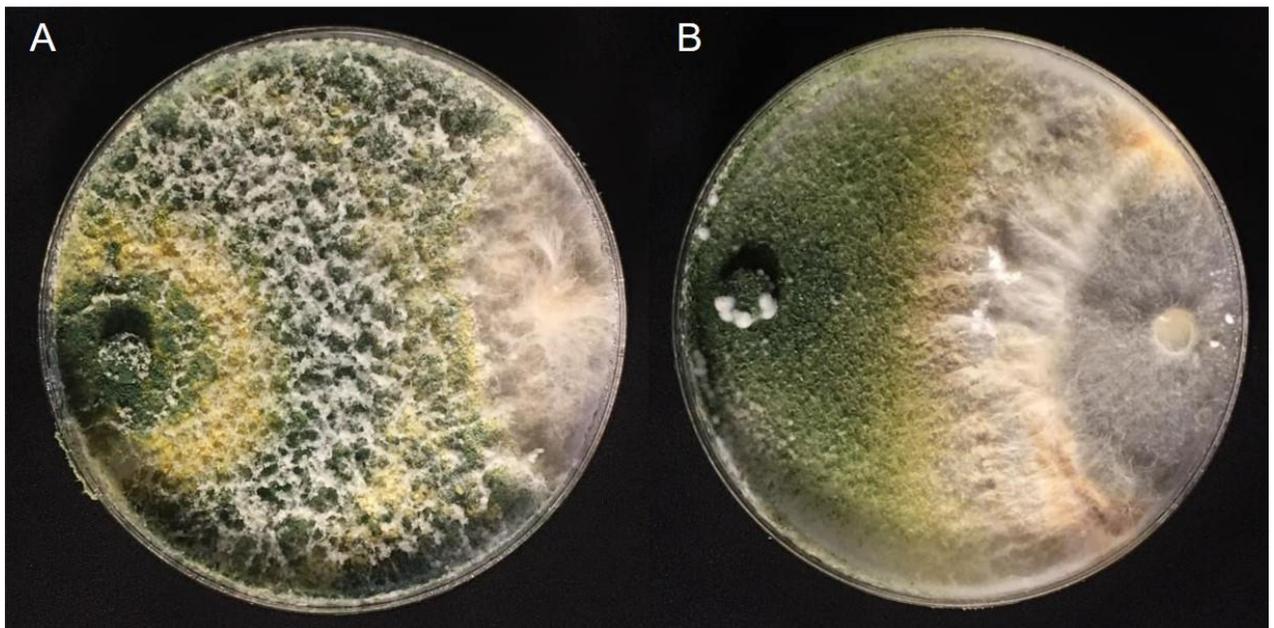


Figura 2-2. Antagonismo *in vitro* de *Trichoderma* (izquierda) contra *Sclerotium rolfsii*. (Scr17) (derecha). (A) Aislado de *Trichoderma* TES24 y (E) *Trichoderma* TAF33.

2.3.2. Determinación de interacciones hifales de *Trichoderma* spp. y *S. rolfsii*

La zona de encuentro hifal entre aislados de *Trichoderma* spp. y *S. rolfsii* (Scr4) mostró varios tipos de interacción hifal; donde predominó la lisis en 23 combinaciones del antagonista y el patógeno (Figura 2-3A), seguido de granulación (Figura 2-3B), adhesión (Figura 2-3C), enrollamiento (Figura 2-3D), vacuolización (Figura 2-3E) y penetración (Figura 2-3F), con 20, 20, 19, 13 y 1 combinaciones, respectivamente. El aislado TES65 de *T. asperelloides* fue el único que penetró las hifas de *S. rolfsii* (Cuadro 2-3, Figura 2-3F). Los aislados de *Trichoderma* spp. TAM37, TAM59, TES65, TAI73 y TAM76 mostraron hasta cinco interacciones al confrontarlo con *S. rolfsii*. Mientras que los aislados TES20, TAF21, TAM23, TES24, TES26, TAM30, TAM31, TAF33, TAM35, TAM57, TAM68, TAM70 y TAF75 del hongo antagónico mostraron tres interacciones (Cuadro 2-3).

Cuadro 2-3. Interacción hifal *in vitro* de 26 aislados de *Trichoderma* spp. y *Sclerotium rolfsii* (Scr4)

Aislado de <i>Trichoderma</i>	Tipos de interacciones hifales					
	Lisis	Granulación	Adhesión	Enrollamiento	Vacuolización	Penetración
TES19	X		X	X	X	
TES20	X	X	X			
TAF21	X		X		X	
TAM22	X	X		X	X	
TAM23	X	X		X		
TES24		X	X	X		
TES26		X	X	X		
TAM27	X	X	X	X		
TAM30	X	X	X			
TAM31	X	X			X	
TAF33	X		X	X		
TAM35	X	X			X	
TAM37	X	X	X	X	X	
TAF38	X	X	X	X		
TAM57	X			X	X	
TAM59	X	X	X	X	X	
TAM64	X	X	X		X	
TES65	X	X	X	X		X
TAM67		X	X	X	X	
TAM68	X		X	X		
TAM69	X	X	X	X		
TAM70	X		X	X		
TAI73	X	X	X	X	X	
TAM74	X	X	X	X		
TAF75	X	X			X	
TAM76	X	X	X	X	X	

Nota: El montaje de la zona de interacción se tiñó con lactofenol-azul en el momento que los hongos interaccionaron sus hifas.

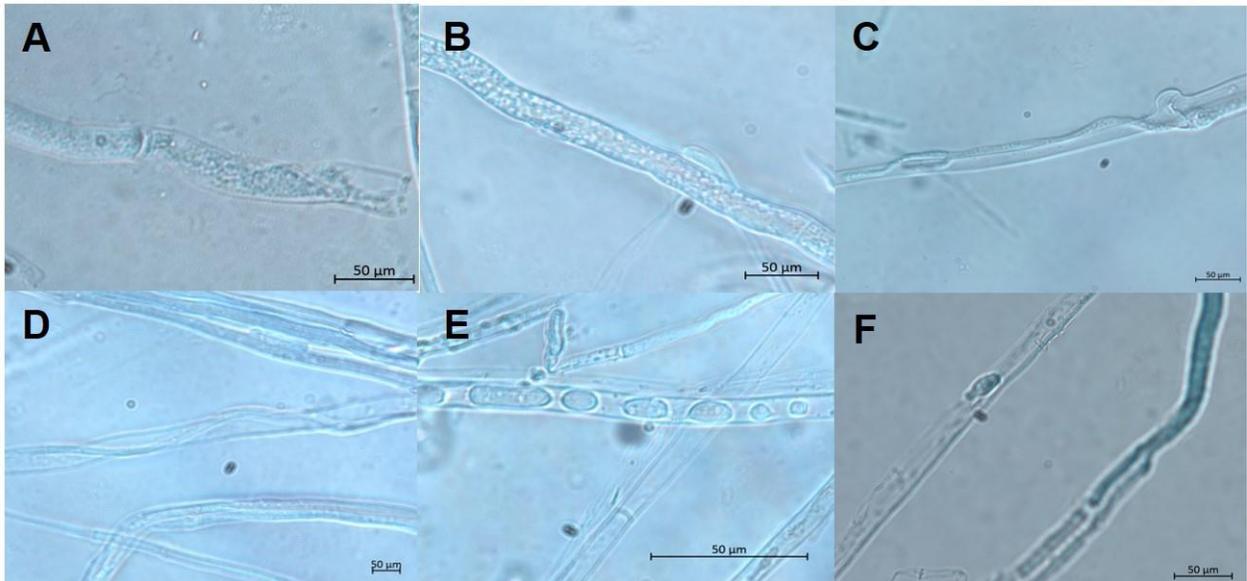


Figura 2-3. Interacciones hifales entre aislados de *Trichoderma* spp. y *Sclerotium rolfsii*. (A) Lisis (TAM67), (B) granulación (TES65), (C) adhesión (TAM69), (D) enrollamiento (TAM59), (E) vacuolización (TAM76) y (F) penetración (TES65).

2.3.3. Efecto inhibitorio *in vitro* de metabolitos volátiles de *Trichoderma* contra *Sclerotium rolfsii*

Los metabolitos volátiles de 26 aislados de *Trichoderma* spp. inhibieron el crecimiento micelial de *S. rolfsii* (Scr4) *in vitro*. El porcentaje de inhibición varió de 26.0 % a 81.4 %.

El mayor porcentaje de inhibición lo ejerció el aislado TAI73 de *Trichoderma azevedoi* con un 81.4 %, mientras que los porcentajes de inhibición de los aislados TAM68 (Figura 2-4A), TES65, TAM74, TAM57, TAF75, TAM70 y TAM37 variaron de 78.2 % a 70.9 %, sin diferencias significativas entre ellos ($P \leq 0,05$) (Cuadro 2-4). Los aislados TAM59, TAM35, TES26, TES19, TAF38, TAM27 y TAM30 (Figura 2-4B), ejercieron una inhibición moderada contra *S. rolfsii* con inhibición de 49.6 a 57.1 %. El aislado TAF33 de *T. afroharzianum* ejerció el menor porcentaje de inhibición equivalente a 26.0 %. La variación del efecto inhibitorio de los aislados de *Trichoderma* se reflejó con diferencias significativas entre aislados ($P \leq 0,05$) (Cuadro 2-4).

Cuadro 2-4. Efecto de metabolitos volátiles de aislados de *Trichoderma* contra *Sclerotium rolfii* Scr4.

Aislado de <i>Trichoderma</i>	% de inhibición
Testigo	00.0 a*
TAF33	26.0 a
TAM59	49.6 ab
TAM35	50.3 ab
TES26	54.1 abc
TES19	55.6 abcd
TAF38	56.3 abcde
TAM27	56.9 abcdef
TAM30	57.1 abcdef
TES20	58.4 bcdefg
TES24	58.7 bcdefg
TAM22	59.5 cdefgh
TAM69	61.4 defghi
TAM23	62.2 efghij
TAM31	62.5 efghij
TAM64	63.0 fghijk
TAM76	65.8 ghijk
TAM67	68.1 hijkl
TAF21	69.2 ijklm
TAM37	70.9 ijklmn
TAM70	72.0 jklmn
TAF75	73.5 klmn
TAM57	73.5 klmn
TAM74	76.3 lmn
TES65	76.3 lmn
TAM68	78.2 mn
TAI73	81.4 n

* Medias con una letra en común en las columnas no son significativamente diferentes (P > 0.05), Kruskal-Wallis

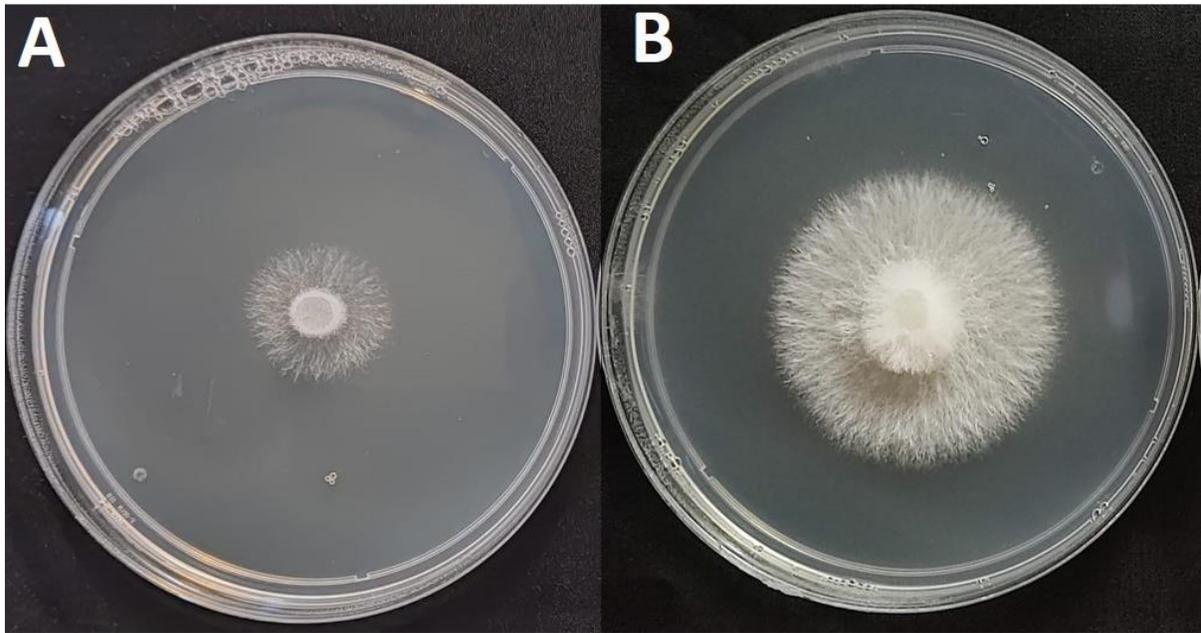


Figura 2-4. Efecto inhibitorio de metabolitos volátiles de *Trichoderma* spp. contra *Sclerotium rolfsii*. Aislado del patógeno *S. rolfsii* (Scr4) expuesto a metabolitos volátiles de *Trichoderma* TAM68 (A) y *S. rolfsii* (Scr4) expuesto a metabolitos volátiles de *Trichoderma* TAM30 (B).

2.4. DISCUSIÓN

En México no existen estudios sobre el uso de diferentes especies de *Trichoderma* en la inhibición del crecimiento micelial de aislados de *Sclerotium rolfsii* que afectan al cultivo de papa, esto se debe a que los productores prefieren el uso diferentes tipos de fungicidas sintéticos para el control de los hongos fitopatógenos, ya que estos tienen un efecto rápido en el control del patógeno. Por otro lado, el uso de *Trichoderma* como agente de control biológico en el cultivo de papa en México es limitado, ya que el excesivo uso de los productos sintéticos inhibe la eficacia de éstos. Los estudios *in vitro* sobre el antagonismo de especies de *Trichoderma* contra *S. rolfsii* reportados en diferentes partes del mundo se han enfocado a otros cultivos. Tales como tomate (Vineela *et al.*, 2020), frijol y calabaza (Kamel *et al.*, 2022) y cacahuate (Safari *et al.*, 2022). En los diferentes estudios encontraron que distintos aislados de *Trichoderma* evaluados presentaron variación en la inhibición del crecimiento micelial de *S. rolfsii*, estos resultados coinciden con los obtenidos en el presente estudio, donde

se encontró que los aislados de *Trichoderma azevedoi*, *T. asperellum*, *T. asperelloides* y *T. afroharzianum* inhiben *in vitro* el crecimiento micelial de *S. rolfsii*; también presentaron variación en la inhibición del patógeno. Por otro lado, algunos estudios indican que algunos aislados de *Trichoderma* presentan capacidad inhibitoria limitada contra *S. rolfsii*; así, Bell y colaboradores (1998) encontraron que 88% de los aislados de *Trichoderma* se ubicaron en las clases 3, 4 y 5, mientras que el 12% se clasificaron en clase 2. Lo que contrasta con los resultados obtenidos en el presente estudio, donde de los 26 aislados de *Trichoderma* contra el aislado Scr4 de *S. rolfsii*, 19 aislados de ellos (73 %) se ubicaron en la clase 2, mientras que para el aislado Scr17 se ubicaron 18 aislados (69.2 %) de *Trichoderma* en la clase 2, esto resulta alentador para las futuras investigaciones ya que la mayoría de los aislados presenta un potencial para su uso como agente de control biológico de *Sclerotium rolfsii*.

Con relación a la interacción hifal, los aislados de *Trichoderma* provocaron vacuolización, granulación, enrollamiento, adhesión, lisis y penetración de la hifa de *S. rolfsii*, lo que provocó la desintegración del micelio de *S. rolfsii*. Estos resultados coinciden con estudios previos (Kotasthane *et al.*, 2014), donde se evaluaron aislados del hongo antagonista y se observó enrollamiento de éste en las hifas de *S. rolfsii* y provocaron lisis del micelio del patógeno y como consecuencia la desintegración de la pared de las células hifales del mismo, así como la disolución del contenido citoplasmático; resultados similares fueron reportados, sobre el efecto de *Trichoderma* contra *S. rolfsii* por (Kamel *et al.*, 2020). Para futuros estudios, será conveniente identificar y evaluar las diferentes enzimas que producen estos aislados de *Trichoderma*, las cuales tienen efecto en la desintegración del micelio de *S. rolfsii*.

La evaluación de los metabolitos orgánicos volátiles producidos por los aislados de *Trichoderma* sobre el crecimiento micelial de *S. rolfsii* muestran que existe diferencias en la inhibición del crecimiento micelial del patógeno y que al menos 10 aislados de *Trichoderma* representados *T. asperellum*, *T. asperelloides*, *T. afroharzianum* y *T. azevedoi*; estos resultados coinciden con los presentados por Sangle *et al.* (2016), donde encontraron que los metabolitos volátiles de dichas especies, variaron en el porcentaje de inhibición micelial de *S. rolfsii*. De igual manera, Amin *et al.* (2010), evaluaron seis aislados de *Trichoderma* contra *S. rolfsii*, estos

presentaron porcentajes de inhibición menores a los obtenidos en el presente estudio (20 % al 40 %). Ruangwong y colaboradores (2021) evaluaron el efecto inhibitorio de *T. asperelloides* TSU1 obtenido de flores de flamenco contra *S. rolfsii*, el cual inhibió el crecimiento micelial de 41.2%, en este estudio identificaron 17 tipos de metabolitos volátiles donde destaca la presencia del feniletanol-2 el cual se usa comercialmente como antifúngica. Sridharan *et al.* (2020) encontraron que *Trichoderma longibrachiatum* EF5 obtenido del cultivo de arroz inhibió a *S. rolfsii* y *M. phaseolina* 57 a 35%, respectivamente, el antagonista provocó alteraciones en las estructuras miceliales, redujo el grosor del micelio y el número de esclerocios en comparación con el patógeno sin presencia del antagonista. Los compuestos volátiles se incluyeron lípidos de prenol (33%), benceno y derivados (22%), hidrocarburos saturados y compuestos órgano oxigenados (11%), hidrocarburos insaturados, naftalenos y derivados de ácidos carboxílicos (6%) y aminoácidos (5%). De acuerdo a estos resultados, en futuros estudios será necesario caracterizar los metabolitos generados por los diferentes aislados de *Trichoderma*, así como determinar el efecto sobre otros microorganismos fitopatógenos que afectan al cultivo de la papa.

En el presente estudio se encontraron aislados con el potencial para el control de *S. rolfsii*, resaltando el aislado TAI73 de *T. azevedoi*, el cual inhibió de manera significativa el crecimiento micelial de *S. rolfsii* en pruebas de confrontación dual. También provocó la vacuolización, granulación enrollamiento, adhesión, penetración y lisis de la hifa *S. rolfsii*. El antagonista produjo metabolitos volátiles los cuales inhibieron el crecimiento micelial *in vitro* del patógeno. Estos resultados abren futuras líneas de investigación relativas a la determinación de la efectividad biológica de *T. azevedoi* en el control de *S. rolfsii* en el cultivo de papa en campo.

CAPÍTULO 3. SENSIBILIDAD *IN VITRO* DE *Sclerotium rolfsii* Y CUATRO ESPECIES DE *Trichoderma*, A FUNGICIDAS DE USO COMÚN EN EL CULTIVO DE PAPA

Gabriel Herrera-Rodríguez, Gabriel Antonio Lugo-García, Universidad Autónoma de Sinaloa, Colegio de Ciencias Agropecuarias, Facultad de Agricultura del Valle del Fuerte, Calle 16 S/N Esquina Japaraqui, Juan José Ríos, El Estero, Sinaloa, México. CP 81110; **María Belén Irazoqui-Acosta, José de Jesús Lara-Flores, Sara Elodia Armenta-López**, Junta Local de Sanidad Vegetal del Valle del Fuerte; Lázaro Cárdenas, 315 Pte. Col. Centro, Los Mochis Sinaloa, México CP 81200; **Rubén Félix-Gastélum***, **Hugo Beltrán-Peña, Guadalupe Arlene Mora-Romero**, Universidad Autónoma de Occidente, Unidad Los Mochis, Departamento de Ciencias Naturales y Exactas, Boulevard Macario Gaxiola y Carretera Internacional S/N Los Mochis, Sinaloa, México. CP 81223. * Autor de Correspondencia: ruben.felix@uadeo.mx.

RESUMEN

La pudrición blanda de tubérculos de papa, causada por *Sclerotium rolfsii* es una enfermedad que se presenta en suelos con altos niveles de humedad y temperaturas superiores a los 30 °C. Los fungicidas sintéticos son la principal herramienta en el control de la enfermedad. En el presente estudio se determinó la efectividad biológica *in vitro* de nueve fungicidas a las concentraciones de 0.01, 0.1, 1, 10 y 100 ppm contra *S. rolfsii*. Los fungicidas Propineb, Tifluzamida y Propiconazol resultaron los más eficaces en la inhibición *in vitro* del patógeno. También se determinó la sensibilidad *in vitro* de *Trichoderma azevedoi*, *T. afroharzianum*, *T. asperellum* y *T. asperelloides* a 10 fungicidas en las concentraciones de 100, 500, 1000 y 2000 ppm, donde Propineb y Tifluzamida mostraron el menor efecto inhibitorio, aunque con una respuesta diferencial a los fungicidas y sus respectivas concentraciones. Estos resultados indican que los fungicidas Propineb y Tifluzamida pueden mezclarse con las especies de *Trichoderma* en mención para el control de la enfermedad en campo.

Palabras claves: control, hongo, esclerocios, pudrición blanda, *Solanum tuberosum*

ABSTRACT

Soft rot of potato tubers, caused by *Sclerotium rolfsii*, is a disease that occurs in soils with high levels of humidity and temperatures above 30 °C. Synthetic fungicides are the main tool in controlling the disease. In the present study, the *in vitro* biological effectiveness of nine fungicides at concentrations of 0.01, 0.1, 1, 10 and 100 ppm against *S. rolfsii* is carried out. The fungicides Propineb, Tifluzamide and Propiconazole were the most effective in inhibiting the pathogen *in vitro*. The *in vitro* sensitivity of *Trichoderma azevedoi*, *T. afroharzianum*, *T. asperellum* and *T. asperelloides* to 10 fungicides at concentrations of 100, 500, 1000 and 2000 ppm are also considered, where Propineb and Tifluzamide showed the lowest inhibitory effect. although with a differential response to fungicides and their respective concentrations. These results indicate that the fungicides Propineb and Tifluzamide can be mixed with the *Trichoderma* species in question to control the disease in the field.

Keywords: control, fungus, sclerotia, soft rot, *Solanum tuberosum*

3.1. INTRODUCCIÓN

El cultivo de papa (*Solanum tuberosum*) ocupa el sexto lugar en producción mundial con 470,409,159 t, obtenidas de 23,514,508 ha; los principales países productores de esta hortaliza son China, India, Ucrania, Rusia y Estados Unidos (FAO, 2022); en México se producen 1,878,976 t por año, donde Sonora con 533,544 t y Sinaloa con 403,922 t al año, lo que representa el 49.9 % de la producción nacional, con un valor de producción de \$7,680,780,000 (SIAP, 2022). El cultivo es afectado por enfermedades que limitan su producción y calidad (Torrance *et al.*, 2020; Singh *et al.*, 2021). La pudrición blanda causada por el hongo *Sclerotium rolfsii* destaca por su importancia; este afecta alrededor de 500 especies vegetales, que se agrupan en 100 familias diferentes, destacando al tomate (*Solanum lycopersicum*), pepino (*Cucumis sativus*), cacahuete (*Arachis hypogaea*), papa, entre otros (Kator *et al.*, 2015; Roca *et al.*, 2016; Kumar *et al.*, 2018; Papanu *et al.*, 2020; Meena *et al.*, 2023). En papa, la pudrición blanda de tubérculos afecta la producción en un 60 %. El hongo presenta hábitos saprofíticos y en el suelo coloniza residuos de cosecha o puede sobrevivir en

forma de esclerocios, los cuales se dispersan por medio del agua, maquinaria, residuos vegetales, suelo y animales (Kator *et al.*, 2015; Roca *et al.*, 2016).

El manejo tradicional de la pudrición blanda de tubérculos mediante fungicidas sintéticos contamina el medio ambiente y afectan a los seres vivos (Widmer, 2019), y su uso continuo genera resistencia en los fitopatógenos, lo que conduce al incremento de concentraciones del fungicida sintético para el manejo de la enfermedad (Ferreira *et al.*, 2020).

En años recientes, han surgido avances relativos a la utilización de estrategias agronómicas para el manejo de enfermedades en diversos cultivos, las cuales son amigables con el ambiente, donde sobresale el uso de hongos como de agentes de control biológico (Rubayet y Bhuiyan 2016; Yassin *et al.*, 2021; Kim *et al.*, 2023).

Los hongos del género *Trichoderma* son los agentes biológicos más estudiados y usados, debido a los buenos resultados en el control de enfermedades fúngicas; esto se debe a la diversidad de mecanismos de acción que poseen (competencia por espacio y nutrientes, micoparasitismo y antibiosis); además, este tipo de hongo antagonista produce metabolitos secundarios que promueven el crecimiento vegetal y activan los mecanismos de defensa de las plantas, e incrementan la producción y calidad de las cosechas (Yao *et al.*, 2023). Los tratamientos con este hongo se direccionan a la semilla, plántulas, agua de riego y al follaje; por otro lado, existen estudios donde se ha comprobado la compatibilidad de *Trichoderma* con fungicidas sintéticos comerciales, para su uso en mezclas en el control de enfermedades fúngicas en diversos cultivos (Manandhar *et al.*, 2020; Arain *et al.*, 2022; Dinkwar *et al.*, 2023).

En México no existen estudios sobre la compatibilidad de especies de *Trichoderma* en mezclas con fungicidas sobre todo dirigidos al control de la pudrición blanda de los tubérculos de papa. Por ello, en el presente trabajo se determinó la efectividad biológica *in vitro* de diferentes concentraciones de fungicidas sintéticos en la inhibición del crecimiento micelial y formación de esclerocios de *S. rolfssii*; así como el efecto *in vitro* de los fungicidas sobre el crecimiento micelial de *Trichoderma afroharzianum*, *T. asperelloides*, *T. asperellum* y *T. azevedoi*. Por lo anterior, se

planteó la siguiente hipótesis; al menos una molécula de fungicida químico afecta el crecimiento micelial y formación de esclerocios de *Sclerotium rolfii* y al menos una especie *Trichoderma* es tolerante a una o más molécula de los fungicidas sintéticos.

3.2. MATERIALES Y MÉTODOS

3.2.1. Obtención de aislados

Se utilizaron los aislados de *S. rolfii* (Scr4) y de *Trichoderma afroharzianum* (TES24), *T. asperelloides* (TAM74), *T. asperellum* (TAF75) y *T. azevedoi* T. (TAI73), proporcionados por el banco microbiológico del Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario de la JLSVVF. Los aislados se obtuvieron de suelo de parcelas comerciales donde se sembró papa en ciclos agrícolas previos en los municipios de Ahome, Sinaloa y Caborca, Sonora, México en 2019, 2020 y 2021 (Cuadro 3-1).

Cuadro 3-1. Especies y aislados de *Trichoderma*, sitio, año de colecta y código en el Gen Bank

Especie/aislado	Localidad	Año de colecta	Código en Gen Bank
<i>Sclerotium rolfii</i> /Scr4	Ahome, Sinaloa/ 25.701944 - 109.043333	2019	OR514113
<i>T. asperelloides</i> /TES24	Caborca, Sonora/31.06666 - 112.338333	2020	OR521164
<i>T. azevedoi</i> /TAI73	Ahome, Sinaloa/25.818885 - 108.956014	2021	OR521181
<i>T. afroharzianum</i> /TAF75	Ahome, Sinaloa/25.491445 - 108.571659	2021	OR521183
<i>T. asperellum</i> /TAM74	Ahome, Sinaloa/ 25.491445 - 108.571659	2021	OR521182

3.2.2. Sensibilidad *in vitro* de *Sclerotium rolfii* a nueve fungicidas sintéticos

En este estudio se evaluó la sensibilidad *in vitro* de un aislado de *S. rolfii* (Scr4) a los siguientes fungicidas: Tifluzamida (Summit Agro México), Tiabendazol (Arysta LifeScience México), Mancozeb (Arysta LifeScience México), Propineb (Bayer Crop Science), Procloraz (Adama, México), Propiconazol (Syngenta Agro), Tolclofos-metil (Valent), Carboxin+Captan (Arysta LifeScience) y Tiofanato de metilo (Arysta LifeScience), contra el crecimiento micelial del hongo de la cepa SrP4 de *S. rolfii*.

Las pruebas se realizaron mediante la técnica de alimento envenenado (Nene y Thapliyal, 1979), en cajas Petri de 90 mm de diámetro, con 20 mL del medio de cultivo Agar Dextrosa Papa (PDA) mezclado con las sustancias de pruebas a las concentraciones: 0.01, 0.1, 1.0, 10 y 100 ppm. Como inóculo se utilizaron discos de PDA de 5 mm de diámetro con crecimiento micelial activo y se transfirieron al centro de la caja Petri. Los tratamientos se distribuyeron en un diseño completamente al azar con arreglo factorial 9x5, con cinco repeticiones, donde el primer factor del arreglo fue cada uno de los nueve fungicidas y el segundo factor correspondió a las cinco concentraciones. Las cajas se sellaron con papel parafilm y se incubaron a 25 ± 2 °C. El tratamiento testigo consistió en cinco cajas Petri con PDA sin fungicida.

La efectividad biológica de los fungicidas sobre el crecimiento micelial de *S. rolfsii*, se determinó mediante la medición del crecimiento radial del micelio cada 24 h, lo cual se inició 24 h después de la siembra y culminó cuando el tratamiento testigo llenó las cajas Petri sin fungicida.

El porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de *S. rolfsii* se calculó de acuerdo con la siguiente ecuación: $I = C - T / C \times 100$, donde: I=Porcentaje de inhibición, C=Crecimiento del patógeno testigo y T=Crecimiento del patógeno en tratamiento (Vincent, 1947). El experimento se desarrolló en dos ocasiones.

3.2.3. Efecto de fungicidas sintéticos sobre la formación de esclerocios de *Sclerotium rolfsii*

Discos de PDA de 5 mm de diámetro con crecimiento micelial activo de *S. rolfsii* se transfirieron a cajas Petri con PDA que contenían fungicidas en las mismas concentraciones descritas en la sección anterior. El diseño de los tratamientos fue completamente al azar con arreglo factorial 9x5, donde el primer factor fueron los nueve fungicidas y el segundo factor correspondió a las cinco concentraciones. El tratamiento testigo consistió en cinco cajas Petri con PDA sin fungicida. El número de esclerocios se determinó a los 21 días después de la siembra. El experimento se desarrolló en dos ocasiones.

3.2.4. Sensibilidad *in vitro* de especies de *Trichoderma* a 10 fungicidas sintéticos

En este estudio se evaluó la sensibilidad *in vitro* de *T. afroharzianum*, *T. asperelloides*, *T. asperellum* y *T. azevedoi* a los fungicidas: Tifluzamida (Summi Agro México), Tiabendazol (Arysta LifeScience México), Mancozeb (Arysta LifeScience México), Propineb (Bayer Crop Science), Procloraz (Adama, México), Propiconazol (Syngenta Agro), Carboxin+Captan (Arysta LifeScience México) y Tiofanato de metilo (Arysta LifeScience), Fluazinam (Syngenta Agro) y TCMTB (Summit Agro México).

El ensayo se realizó con base en la técnica descrita por Nene y Thapliyal (1979), para lo cual se utilizaron cajas Petri de 90 mm de diámetro, con 20 mL de PDA, conteniendo las sustancias de pruebas a las concentraciones: 100, 500, 1000 y 2000 ppm. Como inóculo, se utilizaron discos de PDA de 5 mm de diámetro con crecimiento micelial activo, los cuales se colocaron en el centro de la caja Petri. Los tratamientos se distribuyeron en un diseño experimental completamente al azar con arreglo factorial 4x10x4, donde el primer factor fue en número de especies de *Trichoderma*, el segundo a los diez fungicidas y el tercero a las cuatro concentraciones de fungicidas. Las cajas se sellaron con papel parafilm y se incubaron a 25 ± 2 °C. El tratamiento testigo consistió en cuatro cajas Petri con PDA sin fungicida. El experimento se desarrolló en dos ocasiones.

La efectividad biológica de los fungicidas sobre el crecimiento micelial de las cuatro especies de *Trichoderma*, se determinó mediante la medición del crecimiento radial del micelio cada 24 h lo cual se inició 24 h después de la siembra y culminó cuando cada una de las especies de *Trichoderma* llenó las cajas Petri testigo.

El porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de la especie de *Trichoderma* se calculó de acuerdo con la siguiente formula: $I = C - T / C \times 100$, donde: I=Porcentaje de inhibición, C=Crecimiento del antagonista testigo, T=Crecimiento del antagonista en tratamiento (Vincent, 1947).

3.2.5. Análisis estadísticos de datos

Los datos de inhibición del crecimiento radial y de la producción de esclerocios de *S. rolfsii* en las diferentes concentraciones de los fungicidas se sometieron a ANOVA en el paquete estadístico (SAS 9.0, SAS Institute Inc., North Carolina, EUA). La comparación de medias fue mediante la prueba de Tukey (P=0.05) (Little y Hills,

1973). Los datos sobre la inhibición del crecimiento micelial, de las cuatro especies, de *Trichoderma* por los fungicidas se sometieron a los mismos análisis estadísticos.

3.3. RESULTADOS

3.3.1. Efectividad biológica *in vitro* de fungicidas químicos en la inhibición del crecimiento micelial de *Sclerotium rolfsii*

El análisis de varianza factorial entre fungicidas mostró diferencias significativas ($F=65687.3$, $P \leq 0.0001$). También se reflejaron diferencias significativas ($F=141381$, $P \leq 0.0001$) entre las concentraciones de fungicidas. La interacción de fungicidas y concentraciones de fungicidas también fue significativa ($F=9142.35$, $P \leq 0.0001$), lo que implica una sensibilidad diferencial de *S. rolfsii* a las concentraciones de los fungicidas en estudio (Cuadro 3-2).

Cuadro 3-2. Análisis de varianza factorial del porcentaje de inhibición *in vitro* del crecimiento micelial de *S. rolfsii* a cuatro concentraciones de nueve fungicidas.

Fuente	GL	Suma de cuadrados	Valor de F
Fungicidas	8	174055.4360*	65687.3 ^b
Concentraciones de fungicidas	4	187313.2096*	141381
Fungicidas X concentraciones de fungicidas	32	96900.0220*	9142.35

*El análisis de varianza se efectuó con datos transformados a la forma Arc sin^{-1} usando el tipo III de la suma de cuadrados de los procedimientos de modelos lineares generales (GLM) de SAS. ^b= Efecto significativo a $P \leq 0.0001$.

La inhibición del crecimiento micelial de *S. rolfsii* por los fungicidas Tifluzamida, Propineb y Propiconazol a la concentración de 0.01 ppm varió de 5.7 a 32.7 %, con diferencias significativas ($P < 0.05$) entre tratamientos, mientras que el resto de los fungicidas, a las mismas concentraciones no ejercieron inhibición en el crecimiento micelial del hongo.

La inhibición del crecimiento micelial de *S. rolfsii* por los fungicidas Tifluzamida, Carboxin+Captan, Propiconazol, Propineb, Procloraz y Tiabendazol a las concentraciones 0.1 ppm fue de 6.8 a 78.1 %, con diferencias significativas ($P < 0.05$) entre estos; a su vez los tratamientos fueron significativamente diferentes al efecto del

resto de los fungicidas, donde no ocurrió la inhibición del crecimiento micelial del patógeno (Cuadro 3-3).

Los fungicidas Tifluzamida, Propineb, Propiconazol, Carboxin+Captan, Tolclofos-metil, Procloraz y Tiabendazol, a la concentración de 1 ppm, ejercieron inhibición del crecimiento micelial de 7.1-93.1 %, con diferencias significativas ($P < 0.05$) entre tratamientos; sobresalieron Tifluzamida y Carboxin+Captan en su efectividad biológica, mientras que Mancozeb y Tiofanato de metilo no inhibieron el crecimiento micelial del hongo (Cuadro 3-3).

La concentración de 10 ppm, en todos los fungicidas inhibieron el crecimiento micelial del hongo, resaltando por su eficacia Propiconazol, Carboxin+Captan y Tolclofos-metil, los cuales inhibieron el 100 % del crecimiento micelial, sin diferencias significativas ($P > 0.05$) entre estos tratamientos, pero si las hubo con respecto al resto de los fungicidas donde el crecimiento micelial varió de 6.6 a 92.4 %, donde la Tifluzamida mostró el mayor efecto inhibitorio (Cuadro 3-3).

Fue evidente la inhibición del crecimiento micelial de *S. rolfsii* por los fungicidas Tifluzamida, Propiconazol, Carboxin+Captan, Procloraz y Tolclofos-metil a la concentración de 100 ppm, con inhibición del crecimiento micelial de 93.0 a 100 %, con diferencias significativas ($P < 0.05$) entre estos tratamientos. La inhibición micelial por los fungicidas Propineb, Tiabendazol, Mancozeb y Tiofanato de metilo varió de 8.1 a 75.0 % con diferencias significativas ($P < 0.05$) entre éstos y a su vez con el resto de los fungicidas (Cuadro 3-3).

Cuadro 3-3. Porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de *Sclerotium rolfsii* por nueve fungicidas sintéticos.

Ppm	Porcentaje de inhibición de crecimiento micelial								
	Tif ^z	Prop	Prp	C+C	Prc	Tia	Tol	Man	Tio
0.01	32.7* a**	12.2 b	5.7 c	0.0 d	0.0 d				
0.1	78.1 a	15.0 d	18.2 c	64.2 b	14.0 d	6.8 e	0.0 f	0.0 f	0.0 f
1.0	90.7 b	16.0 e	48.0 d	93.1 a	15.8 e	7.1 f	61.4 c	0.0 g	0.0 g
10	92.4 b	26.9 d	100 a	100 a	33.0 c	17.5 f	100 a	20.7 e	6.6 g
100	93.0 b	41.1 d	100 a	100 a	100 a	20.9 e	100 a	75.0 c	8.1 f

^z Tif =Tifluzamida, Pro = Propineb, Prp= Propiconazol, C+C = Carboxin+Captan, Prc = Procloraz, Tia = Tiabendazol, Tol = Tolclofos-metil, Man = Mancozeb y Tio =Tiofanato de metilo.

*El número en las filas expresa el promedio del porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de *S. rolfsii* por cada uno de los fungicidas.

** Medias con una letra en común en las filas no son significativamente diferentes (P=0.05) al someterse a la prueba de Tukey.

3.3.2. Efecto *in vitro* de fungicidas sintéticos sobre la formación *in vitro* de esclerocios de *Sclerotium rolfsii*

Hubo diferencias significativas (F=2524.74, P≤ 0.0001) en el número de esclerocios de *S. rolfsii* en PDA con los diferentes fungicidas químicos; las cinco concentraciones también mostraron diferencias significativas (F=10146.5, P≤ 0.0001) en la producción de las estructuras de resistencia del hongo; la interacción entre los fungicidas y las concentraciones, también fue significativa (F=642.22, P≤ 0.0001) (Cuadro 3-4).

Cuadro 3-4. Análisis de varianza factorial de formación de esclerocios por *S. rolfsii* en PDA con cinco concentraciones de nueve fungicidas.

Fuente	GL	Suma de cuadrados	Valor de F
Fungicidas	9	386.840642*	2524.74 ^b
Concentraciones de fungicidas	4	1554.645170*	10146.5
Fungicidas X concentraciones de fungicidas	36	98.400870*	642.22

*El análisis de varianza se efectuó con datos transformados a la forma $\sqrt{X + 1}$ usando el tipo III de la suma de cuadrados en el procedimiento GLM de SAS. b= Efecto significativo a P≤ 0.0001.

La producción de esclerocios varió de 157 a 180 por caja Petri en PDA con los diferentes fungicidas en la concentración de 0.01 ppm. El menor número de esclerocios ocurrió en el medio de cultivo con Tifluzamida, Propineb o Procloraz, los cuales no mostraron diferencias ($P=0.05$) entre ellos, pero fueron diferentes al resto de los fungicidas y también al testigo sin fungicida donde se contabilizaron 182 esclerocios por caja Petri (Cuadro 3-5).

A la concentración de 0.1 ppm Tifluzamida y Carboxin+Captan ejercieron el mayor efecto en la inhibición de formación de esclerocios con 147 y 148 de ellos, respectivamente por caja Petri. En el resto de los tratamientos la producción de esclerocios varió de 161 a 171, con diferencias significativas ($P<0.05$) entre ellos (Cuadro 3-5).

Sclerotium rolfsii no formó esclerocios en la concentración de 1 ppm de Tifluzamida, sin embargo, el número de esclerocios por caja Petri varió de 69 a 162 en el medio de cultivo con la misma concentración de los diferentes fungicidas. Hubo diferencias significativas ($P=0.05$) entre estos tratamientos y con el respecto al tratamiento testigo, donde se produjeron 182 esclerocios por caja Petri (Cuadro 3-5).

No se formaron esclerocios en PDA con la concentración de 10 ppm de Tifluzamida, Propineb y Carboxin+Captan, pero si se produjeron en el medio con el resto de los fungicidas a la misma concentración, con diferencias significativas ($P<0.05$) entre tratamientos, donde el número de esclerocios varió de 22 a 146 por caja Petri, la menor eficacia la demostró el Tiabendazol, pues este tratamiento mostró la mayor cantidad esclerocios (Cuadro 3-5).

A la concentración de 100 ppm de Tifluzamida, Procloraz, Propineb, Propiconazol, Carboxin+Captan y Mancozeb inhibieron en su totalidad la formación de esclerocios, en el medio de cultivo, sin diferencias significativas ($P>0.05$) entre tratamientos, pero si las hubo con respecto al número de esclerocios (9 a 132) que se produjeron en el medio con los fungicidas Tolclofos-metil, Tiabendazol y Tiofanato metílico a la misma concentración (Cuadro 3-5).

Cuadro 3-5. Esclerocios de *Sclerotium rolfsii* por caja Petri con PDA adicionado con las diferentes concentraciones con fungicidas

Ppm	Fungicida/número de esclerocios ^a									
	Tif	Prc	Pro	Tol	Prp	C+C	Tia	Man	Tio	Tes
0.01	157 c*	164 cb	164 cb	171 a	173 ab	174 ab	174 ab	178 a	180 a	182 a
0.1	147c	162 cb	163 abc	164 abc	171 ab	148 c	167 ab	161 cb	162 cb	182 a
1	0 e	92 c	69 d	148 b	162 b	93 c	161 b	78 d	148 b	182 a
10	0g	75 d	0 g	30 e	129 c	0 g	146 b	22 f	131 c	182 a
100	0 d	0 d	0 d	9 c	0 d	0 d	132 b	0 d	129 b	182 a

^z Tif =Tifluzamida, Prc = Procloraz, Pro = Propineb, Tol = Tolclofos-metil, Prp= Propiconazol, C+C = Carboxin+Captan, TC = TCMTB, Tia = Tiabendazol, Man = Mancozeb, Flu = Fluazinam, Tio =Tiofanato de metilo y Testigo sin fungicida.

^a Esclerocios en PDA con diferentes concentraciones de fungicidas a los 21 días después de la siembra

* Medias con una letra en común en las filas no son significativamente diferentes (P=0.05) de acuerdo al procedimiento de Tukey.

3.3.3. Sensibilidad *in vitro* de cuatro especies de *Trichoderma* a diez fungicidas sintéticos

En el análisis de varianza factorial, las cuatro especies de *Trichoderma* mostraron diferencias significativas en el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial (F=9576.97, P≤ 0.0001). Las especies del hongo presentaron una respuesta diferencial a los fungicidas incluidos en el presente estudio; de igual forma, los diez fungicidas mostraron diferencias significativas (F=177350, P≤ 0.0001) en la inhibición de las especies del hongo. También hubo diferencias significativas (F=24772.8, P≤ 0.0001) entre las concentraciones. La interacción entre los diez fungicidas y sus cuatro respectivas concentraciones también fue significativa (F=5208, P≤ 0.0001); de manera similar, la interacción de las especies de *Trichoderma* y los diez fungicidas también resultó significativas (F=4212.90, P≤ 0.0001). La interacción entre las especies de *Trichoderma* y las cuatro concentraciones de los fungicidas evaluadas arrojó diferencias significativas (F=1173.88, P≤ 0.0001). Por último, la interacción especies de *Trichoderma* X fungicidas X concentraciones de fungicidas también fue significativa (1211.06, P≤ 0.0001) (Cuadro 3-6).

Cuadro 3-6. Análisis de varianza factorial del porcentaje de inhibición *in vitro* del crecimiento micelial de cuatro especies de *Trichoderma* por cuatro concentraciones de diez fungicidas

Fuente	GL	Suma de cuadrados	Valor de F
Especies de <i>Trichoderma</i>	3	4044.8603*	9576.97 ^b
Fungicidas	9	74904.1540*	177350
Concentraciones de fungicidas	3	10462.8481*	24772.8
Fungicidas X concentraciones de fungicidas	27	2199.9104*	5208.70
Especies de <i>Trichoderma</i> X fungicidas	27	1779.3305*	4212.90
Especies de <i>Trichoderma</i> X concentraciones de fungicidas	9	495.7913*	1173.88
Especies de <i>Trichoderma</i> X fungicidas x concentraciones de fungicidas	81	511.4926*	1211.06

*El análisis de varianza se efectuó con datos transformados a la forma Arc sen^{-1} usando el tipo III de la suma de cuadrados de los procedimientos de modelos lineales generales (GLM) de SAS. b= Efecto significativo a $P \leq 0.0001$.

Los fungicidas Propineb y Tifluzamida a la concentración de 100 ppm no ejercieron inhibición *in vitro* del desarrollo micelial de *T. azevedoi* (Figura 3-1 A y B); el resto de los fungicidas ejercieron inhibición del desarrollo micelial de 30.8 a 100 %, con diferencias significativas entre tratamientos ($P < 0.05$). *T. azevedoi* mostró sensibilidad a 2000 ppm, particularmente en el caso de Propineb. Al incrementar las concentraciones de 500 a 2000 ppm, ocurrió una marcada inhibición del desarrollo micelial por Tifluzamida, Mancozeb y Carboxin+Captan, pero sin inhibir el desarrollo micelial en forma total, excepto en el caso de Carboxin+Captan a las concentraciones de 1000 y 2000 ppm. En contraste, Fluazinam (Figura 3-1 C) y resto de los fungicidas inhibieron el desarrollo micelial de *T. azevedoi* de 88.9 a 100 %, con diferencias significativas ($P < 0.05$) entre tratamientos (Cuadro 3-7).

Al igual que en *T. azevedoi*, *T. afroharzianum* no mostró sensibilidad a Propineb a las concentraciones de 100 (Figura 3-1 D), 500 y 1000 ppm, pero si mostró sensibilidad a 2000 ppm. La inhibición del crecimiento micelial de *T. afroharzianum* se incrementó de manera gradual al incrementar las concentraciones de los fungicidas

Tifluzamida, Mancozeb, Caboxin+Captan y Fluazinam, pero se mostró un 100 % de inhibición del crecimiento micelial cuando el hongo se sembró en PDA con las diferentes concentraciones del resto de los fungicidas, incluyendo la concentración 100 ppm de Propiconazol que inhibió el 100 % del crecimiento micelial (Figura 3-1 E).

Los fungicidas Propineb (Figura 3-1 F) y Tifluzamida a la concentración de 100 y 500 ppm no ejercieron efecto inhibitorio *in vitro* sobre el crecimiento micelial de *T. asperellum*; el hongo sólo presentó sensibilidad a la concentración de 1000 y 2000 ppm de ambos fungicidas; en cambio, Mancozeb y Carboxin+Captan ejercieron inhibición del crecimiento micelial de 36.7 a 92.2 %. El resto de los fungicidas ejerció inhibición *in vitro* de 95.0 al 100 % independientemente de sus concentraciones, como es el caso del Tiabendazol inhibió el 100% del crecimiento micelial a la concentración de 100 ppm (Cuadro 3-7; Figura 3-1 G).

El crecimiento micelial de *T. asperelloides* fue inhibido por las diferentes concentraciones de todos los fungicidas. Los fungicidas Propineb, Tifluzamida (Figura 3-1 H) y Mancozeb redujeron el crecimiento micelial 54.9 a 80.0 %; la mezcla de Carboxin+Captan a la concentración de 100 ppm inhibió el crecimiento micelial 23.2 %; pero la misma combinación de fungicidas a las concentraciones de 500, 1000 y 2000 ppm inhibió el crecimiento micelial un 100 % (Figura 3-1 I); resultados similares se observaron cuando se utilizaron las mismas concentraciones del resto de los fungicidas donde la inhibición del crecimiento micelial varió de 94.6 a 100 % (Cuadro 3-7).

Cuadro 3-7. Porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de *T. azevedoi*, *T. afroharzianum*, *T. asperellum* y *T. asperelloides* por diez fungicidas sintéticos

ppm		Porcentaje de inhibición de crecimiento micelial									
		Pro ²	Tif	Man	C+C	Flu	TC	Prp	Prc	Tia	Tio
<i>T. azevedoi</i>	100	0.0 e	0.0 e	30.8 d	73.0 c	88.9 b	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a
	500	0.0 e	33.4 e	53.0 d	90.4 c	90.7 b	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a
	1000	0.0 e	54.8 d	56.5 c	100 a	92.2 b	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a
	2000	58.0 e	78.9 c	66.4 d	100 a	93.9 b	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a
<i>T. afroharzianum</i>	100	0.0 g	63.3 e	37.3 f	82.2 d	92.1 c	97.3 b	100 a	100 a	100 a	100 a
	500	0.0 f	69.6 d	54.2 e	85.5 c	92.9 b	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a
	1000	0.0 f	82.0 d	57.4 e	87.8 c	94.3 b	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a
	2000	88.6 c	87.0 c	73.4 d	97.0 b	95.5 b	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a
<i>T. asperellum</i>	100	0.0 e	0.0 e	36.7 d	43.7 c	95.0 b	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a
	500	0.0 e	0.0 e	42.8 d	78.3 c	97.0 b	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a
	1000	36.2 f	47.4 d	45.9 e	87.6 c	97.8 b	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a
	2000	38.5 f	73.7 d	48.2 e	92.2 c	98.5 b	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a
<i>T. asperelloides</i>	100	54.9 e	58.0 c	57.3 d	23.2 f	94.6 b	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a
	500	56.3 d	58.7 c	58.6 c	100 a	96.1 b	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a
	1000	58.1 e	69.4 c	62.0 d	100 a	97.1 b	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a
	2000	61.1 e	80.0 c	68.3 d	100 a	97.8 b	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a

²Pro = Propineb, Tif =Tifluzamida, Man = Mancozeb, C+C = Carboxin+Captan, Flu = Fluazinam, TC = TCMTB, Prp= Propiconazol, Prc = Procloraz, Tia = Tiabendazol y Tio =Tiofanato de metilo.

*El número en las filas expresa el promedio del porcentaje de inhibición del crecimiento micelial *T. azevedoi*, *T. afroharzianum*, *T. asperellum* y *T. asperelloides* por cada uno de los fungicidas.

** Medias con una letra en común en las filas no son significativamente diferentes (P=0.05) Tukey.

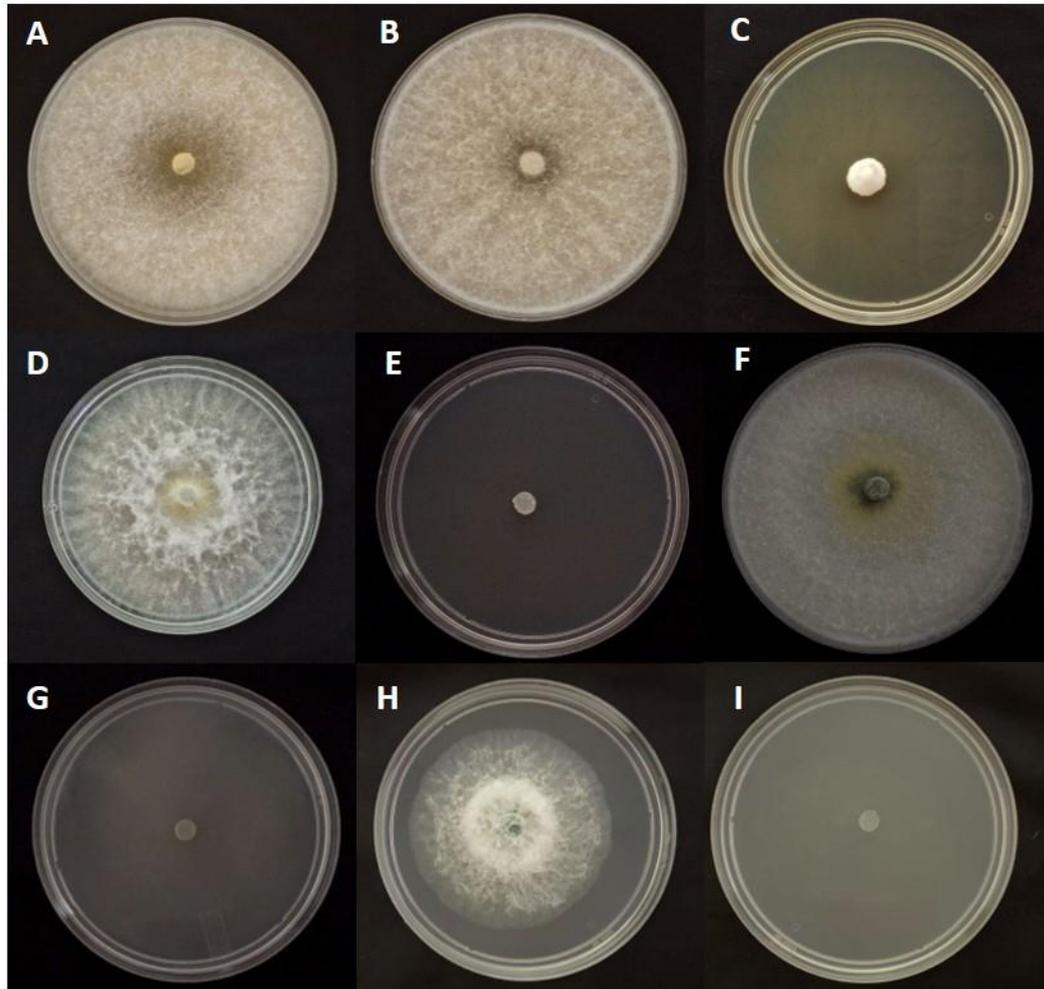


Figura 3-1. Inhibición del crecimiento micelial de cuatro especies de *Trichoderma* por fungicidas sintéticos. A. *T. azevedoi*-Propineb 100 ppm; B. *T. azevedoi*-Tifluzamida 100 ppm; C. *T. azevedoi*-Fluazinam 100 ppm; D. *T. afroharzianum*-Propineb 100 ppm; E. *T. afroharzianum*-Propiconazol 100 ppm; F. *T. asperellum*-Propineb 100 ppm; G. *T. asperellum*-Tiabendazol 100 ppm; H. *T. asperelloides*-Tifluzamida 100 ppm; I. *T. asperelloides*- TCMTB 100 ppm.

3.4. DISCUSIÓN

En el presente estudio Tifluzamida ejerció un mayor efecto *in vitro* sobre el crecimiento micelial de *S. rolfsii* en las cinco concentraciones estudiadas; aun cuando no existen estudios de referencia sobre el efecto de este fungida sobre la inhibición *in vitro* del crecimiento micelial del hongo, estudios en China indicaron que el mismo fungicida tiene efecto preventivo contra la pudrición blanda en *Dendrobium officinale* (Yajun *et al.*, 2018).

De igual manera, Propineb inhibió el crecimiento micelial del hongo, lo que coincide con estudios previos donde se utilizó la concentración de 100 ppm de dicho fungicida (Shirsole *et al.*, 2019), el cual inhibió el 75.4 % del crecimiento micelial de *S. rolfsii* obtenido de garbanzo (*Cicer arietinum*) en la india; por otro lado, Vikram *et al.* (2023) evaluaron la misma molécula a 150 ppm e inhibió 17.7 % el crecimiento micelial del hongo de plantas de trigo en el mismo país, lo cual contrasta con los resultados del presente estudio. Por otro lado, Mancozeb mostró inhibición del fitopatógeno a la concentración de 100 ppm, lo que coincide con Shirsole y colaboradores en (2019), quienes encontraron que este fungicida inhibió el crecimiento del hongo en un 100 % a la misma concentración; mientras que Vikram *et al.* (2023) encontraron que el fungicida a 50, 20 y 150 ppm, inhibió el crecimiento micelial del hongo en un 57.0 y 100 %, en forma respectiva; en cambio Das *et al.* (2014) consignaron una inhibición de 20.0 % a 100 ppm, lo que contrastó con Chandra *et al.* (2020), quienes registraron que el mismo fungicida a 250 ppm inhibió 6.3 % del crecimiento micelial del hongo proveniente de plantas de tomate en la India. En este estudio la mezcla Carboxin+Captan inhibió totalmente a *S. rolfsii* a las concentraciones de 10 y 100 ppm, lo que contrastó con los resultados de Das *et al.* (2014), quienes determinaron que Carboxin en mezcla con Tiram, inhibió el crecimiento del hongo en un 86.4 y 100.0 %, respectivamente, a las mismas dosis, lo que podría deberse a una sinergia al combinar ambas moléculas.

Propiconazol ejerció efecto inhibitorio del patógeno comparable con resultados consignados por Das *et al.* (2014) quienes evaluaron a 1, 10 y 100 ppm de dicha molécula, lo que inhibió un 27.2, 55.5 y 88.0 %, respectivamente, del crecimiento de

S. rolfsii aislado de plantas de berenjena (*Solanum melongena*) en la India; resultados similares fueron obtenidos por Prasad *et al.* (2017) en el mismo país, quienes encontraron que este mismo fungicida inhibió el 100 % del crecimiento micelial del hongo obtenido de plantas de tomate a la concentración de 150 ppm. Lo que contrasta con los resultados de Das *et al.* (2014) quienes indicaron que el fungicida no inhibió al crecimiento micelial del patógeno a 1, 10 y 50 ppm, pero si inhibió (19.4 %) a la concentración de 100 ppm, lo que coincide con los resultados del presente estudio.

Con relación a la producción de esclerocios por *S. rolfsii* en PDA, Tifluzamida, Procloraz, Propineb, Propiconazol, Carboxin+Captan y Mancozeb inhibieron la formación de esclerocios a la concentración de 100 ppm, lo cual contrastó con los fungicidas del grupo de los Benzimidazoles (Tiabendazol y Tiofanato de metilo). Estudios previos indican que el Tiabendazol a la concentración de 4,000 ppm inhibió la formación de esclerocios de *S. rolfsii* obtenidos de plantas de cebolla, chile, tomate y cebada (Pérez-Moreno *et al.*, 2009), lo que coincide con nuestros resultados ya que la disminución en la formación de esclerocios estuvo relacionada con el incremento de las concentraciones del fungicida. Por otra parte, estudios adicionales indicaron que la evaluación *in vitro* de Mancozeb a 2,000 ppm redujo de 545 a 272 esclerocios de *S. rolfsii* obtenidos de plantas de berenjena en Bangladesh (Siddique *et al.*, 2016), dichos resultados contrastan con lo obtenido en el presente estudio, ya que a 100 ppm se inhibió completamente la producción de esclerocios, lo cual indica variabilidad en la sensibilidad del hongo a esta molécula. Los resultados del presente estudio sugieren que Tifluzamida, Procloraz, Propineb, Propiconazol, Carboxin+Captan y Mancozeb pueden reducir la producción de esclerocios *in vitro*, lo que indica que estos fungicidas muestran potencial para la disminución de dichas estructuras en campo.

Los fungicidas Propineb, Tifluzamida y Mancozeb mostraron el menor efecto en el crecimiento micelial de *T. azevedoi*, *T. afroharzianum*, *T. asperellum* y *T. asperelloides*, respuesta diferencial de estas especies a los fungicidas y a sus respectivas concentraciones. En general, *T. azevedoi*, y *T. afroharzianum* mostraron el menor efecto inhibitorio por las diferentes concentraciones de Propineb. Estos resultados concuerdan con los señalados por Manandhar *et al.* (2020) quienes, en Nepal, determinaron que *T. harzianum* y el aislado T22 *in vitro* a 100 ppm no se

inhibieron por Propineb, mientras que *T. asperellum*, *T. viride* y el aislado T69 fue inhibido en un 13.1, 28.7 y 0.8 %, respectivamente; estos aislados se obtuvieron de la rizosfera de hortalizas en Nepal. Estos mismos autores registraron que Mancozeb a 100 ppm inhibió un 10.8, 16.2, 28.3, 31.2 y 46.6 %, a *T. harzianum*, *T. viride*, *T. asperellum*, T22 y T69, respectivamente, lo que contrasta con los hallazgos de González *et al.* (2020), quienes registraron que *Trichoderma reesei* no fue inhibido a 100 ppm.

En el presente estudio Propiconazol inhibió el 100 % del crecimiento micelial de las cepas de *Trichoderma* a concentración de 100 ppm. En contraste, Zapata y colaboradores (2023), encontraron que después de cinco días del inicio del estudio, el mismo fungicida a 1.25 mL/L⁻¹ inhibió 31.0 % el crecimiento micelial de *T. koningiopsis* (Tri-cotec® WG en Colombia). Esto mismos autores registraron que Fluazinam inhibió 39.6 % a las dosis de 1 mL /L⁻¹, lo que contrasta con lo obtenido en este estudio, ya que la inhibición del crecimiento micelial de las cuatro especies de *Trichoderma* varió de 88.9 a 98.5 %. También registraron que Procloraz y el Tiabendazol inhibieron completamente el crecimiento micelial, lo cual también coincide con nuestros resultados.

La diferencia en la sensibilidad de los aislados de *S. rolfsii* y las especies de *Trichoderma* a los diferentes fungicidas evaluadas en este estudio y comparadas con otros trabajos de investigación podría deberse al uso constante de los fungicidas en los diferentes cultivos, donde la exposición del hongo a estos productos varía de acuerdo a manejo agronómico de la especie vegetal y a través del tiempo el hongo se adapta a altas dosis de fungicidas sintéticos, para el manejo de la enfermedad (Pérez-Moreno *et al.*, 2009; Chaparro *et al.*, 2011).

Los resultados del presente estudio abren nuevas líneas de investigación relacionadas con estudios de efectividad de los fungicidas a nivel de invernadero y campo; en este sentido, se debe determinar la efectividad de las moléculas que resultaron eficientes en la inhibición *in vitro* del patógeno. También se debe de evaluar la etapa fenológica del cultivo más adecuada, así como la concentración y el número

de aplicaciones para el manejo de la pudrición blanda del tubérculo de papa causada por *S. rolfsii* en campo.

La combinación de las especies de *Trichoderma* con los fungicidas Tifluzamida y Propineb y el efecto *in vitro* de éstos contra *S. rolfsii* representa una opción para el productor en el control de la pudrición blanda del tubérculo de papa. Este enfoque se ha practicado para el control de esta enfermedad en el cultivo de papa (Rubayet y Bhuiyan, 2016). Futuros proyectos deberían de orientarse hacia la disminución de la concentración de los fungicidas al mezclarse con especies antagónicas de *Trichoderma*, con el objetivo de reducir la contaminación del medio ambiente y sobre todo la de los tubérculos.

CAPÍTULO 4. CONTROL BIOLÓGICO DE LA PUDRICIÓN BLANDA DE LA PAPA CAUSADA POR *Sclerotium rolfsii*, MEDIANTE EL USO DE ESPECIES DE *Trichoderma* Y BÚSQUEDA DE VARIEDADES de PAPA RESISTENTES

RESUMEN

La pudrición blanda de la papa causada por *Sclerotium rolfsii* provoca pérdidas del 20 % en Sonora y Sinaloa. Para el manejo eficiente de esta enfermedad se requiere cambiar de estrategia ya que solo se utiliza el control químico; sin embargo, en México es necesario contar con otras medidas para el control de la enfermedad. Por lo anterior, en el presente estudio se evaluaron el uso de *Trichoderma azevedoi*, *T. afroharzianum*, *T. Asperellum* y *T. asperelloides*, el uso de fungicidas sintéticos y la combinación de estos dos manejos sobre el efecto en la incidencia, severidad de la enfermedad y rendimiento del cultivo de papa. Además, se evaluó la susceptibilidad de seis variedades de papa en laboratorio, cinco variedades en invernadero y ocho variedades en campo. Las cuatro especies de *Trichoderma* fue el mejor tratamiento donde se presentó la menor incidencia, severidad y mayor rendimiento del cultivo, seguido por el tratamiento de la mezcla de las cuatro especies de *Trichoderma* + fungicidas sintéticos y por último el uso de fungicida sintético, dichos tratamientos se aplicaron en diferentes etapas fenológicas del cultivo. Por otro lado, todas las variedades de papa fueron susceptibles al hongo en cámara húmeda e invernadero, donde la variedad Fianna fue la menos susceptible, mientras que en campo la variedad Orquesta fue la más susceptible. Los resultados sugieren que la aplicación conjunta de las aplicación de las especies de *Trichoderma* solo o en combinación con fungicidas sintéticos durante el tratamiento de los tubérculos, siembra de estos y diferentes riegos y el uso de las variedades de papa menos susceptibles disminuirán los daños ocasionados por la pudrición blanda en el cultivo; aunado a esto, dicha estrategia bajará los costos de producción, mejorará la calidad, producción y disminuirá la emisión de los contaminantes sintéticos al ambiente.

Palabras claves: Fitopatógeno, control, producción, calidad,

ABSTRACT

Soft rot of potato caused by *Sclerotium rolfsii* causes losses of 20 % in Sonora and Sinaloa. For the efficient management of this disease, it is necessary to change the strategy since only chemical control is used; However, in Mexico it is necessary to have other measures for the control of the disease. Therefore, in the present study the use of *Trichoderma azevedoi*, *T. afroharzianum*, *T. Asperellum* and *T. asperelloides*, the use of synthetic fungicides and the combination of these two managements on the effect on the incidence, severity of the disease and yield of the potato crop are evaluated. In addition, the susceptibility of six potato varieties in the laboratory, five varieties in the greenhouse and eight varieties in the field were evaluated. The four species of *Trichoderma* were the best treatment where the lowest incidence, severity and highest crop yield occurred, followed by the treatment of the mixture of the four species of *Trichoderma* + synthetic fungicides and finally the use of synthetic fungicide, these treatments were applied at different phenological stages of the crop. On the other hand, all potato varieties were susceptible to the fungus in humid chamber and greenhouse, where the Fianna variety was the least susceptible, while in the field the Orquesta variety was the most susceptible. The results suggest that the joint application of the applications of the *Trichoderma* species alone or in combination with synthetic fungicides during the treatment of the tubers, planting of these and different irrigations and the use of the less susceptible potato varieties will reduce the damage caused by soft rot in the crop; In addition to this, this strategy will reduce production costs, improve quality, production and decrease the emission of synthetic pollutants to the environment.

Keywords: Phytopathogen, control, production, quality.

4.1. INTRODUCCIÓN

La papa (*Solanum tuberosum* L.) es uno de los alimentos de mayor demanda en el mundo, su producción mundial fue de 470 millones t en 2022 (FAO, 2022). En México se establecieron 62,440 ha, de las cuales se cosecharon 1,986,1981 t con un valor de producción de 17,426,448,880 de pesos (SIAP, 2023).

El principal factor que limita la producción del cultivo son las enfermedades fúngicas donde sobresalen la marchitez y pudrición seca de tubérculos (*Fusarium* spp), el paño de la papa (*Colletotrichum coccodes*), marchitez de la papa (*Verticillium dahliae*), sarna plateada (*Helminthosporium solani*), costra negra de la papa (*Rhizoctonia solani*), moho blanco (*Sclerotinia sclerotiorum*) y pudrición blanda de la papa (*Sclerotium rolfsii*) entre otros (Johnson y Dung, 2010; Atkinson *et al.*, 2011; Roca *et al.*, 2016; Azil *et al.*, 2021; Linyu *et al.*, 2022; Félix *et al.*, 2024).

Sclerotium rolfsii, afecta alrededor de 500 especies de plantas donde se incluye la papa (Roca *et al.*, 2016; Nandi *et al.*, 2017). El hongo causa lesiones de color marrón oscuro en la base del tallo, donde produce micelio blanco en forma de abanico y esclerocios; conforme la enfermedad avanza, la planta presenta amarillamiento de las hojas inferiores, marchitez, hasta causar la muerte de ésta (Daami *et al.*, 2012); en tubérculos, el hongo causa lesiones hundidas color marrón, donde se produce pudrición blanda, conforme la enfermedad avanza el hongo invade todo el interior del tubérculo donde produce los esclerocios; la enfermedad provoca la disminución de la producción hasta un 60 % (Haque y Khan, 1977; Daami *et al.*, 2012).

El hongo coloniza residuos vegetales en el suelo y sobrevive en forma de esclerocios, los cuales se dispersan por medio del viento, agua, maquinaria, residuos vegetales, suelo y animales (Kator *et al.*, 2015; Roca *et al.*, 2016). Estas estructuras de resistencia permanecen en el suelo durante años y germinan cuando se presentan temperaturas entre los 15 a 35 °C y alta humedad en el suelo, para después iniciar el proceso de infección sobre el tejido vegetal (Dong *et al.*, 2022).

El uso de fungicidas químicos como única estrategia de control de la pudrición blanda en papa no es la adecuada, ya que *S. rolfsii* puede desarrollar resistencia a

estos productos (Pérez-Moreno *et al.*, 2009; Song *et al.*, 2024); por lo cual, se recomienda un manejo integrado de la enfermedad. La resistencia genética ha sido una opción en el manejo de *S. rolfsii* en alfalfa, pimiento, cacahuate y tomate; sin embargo, en el cultivo de papa no se han encontrado variedades resistentes, pero si variedades menos susceptibles a la enfermedad (Flores-Moctezuma *et al.*, 2006; Daami *et al.*, 2012). Por otro lado, el manejo integrado de la pudrición blanda de la papa mediante el uso de mezcla de *Trichoderma harzianum*, aceite de semilla de mostaza y el fungicida Carboxin ha sido satisfactorio en Indonesia (Rubayet y Bhuiyan, 2016).

En México no existen estudios sustentados en el manejo integrado de la pudrición blanda en el cultivo de papa; en el presente estudio se evaluó la susceptibilidad de variedades de papa a *S. rolfsii*, así como el efecto de los tratamientos con base en la mezcla de cuatro especies de *Trichoderma*, fungicidas sintéticos y la combinación de estos dos métodos de manejo sobre la incidencia, severidad de la enfermedad y el rendimiento del cultivo de papa en campo. Por lo anterior, se planteó la siguiente hipótesis; la pudrición blanda del tubérculo de papa se puede manejar con el uso de especies de *Trichoderma*, productos químicos y al menos una variedad de papa.

4.2 MATERIALES Y MÉTODOS

4.2.1. Obtención de aislados

Los aislados de *S. rolfsii* (Scr4) y *T. afroharzianum* (TES24), *T. asperelloides* (TAM74), *T. asperellum* (TAF75) y *T. azevedoi* T. (TAI73), se obtuvieron del banco microbiológico del Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario de la JLSVVF, ubicada en Ahome, Sinaloa. Los aislados se recolectaron en suelos los municipios de Ahome, Sinaloa y Caborca, Sonora, México en 2019, 2020 y 2021 donde se ha sembrado papa durante varios ciclos agrícolas en (Cuadro 4-1).

Cuadro 4-1. Especies de hongos fitopatógenos y antagonicos incluidos en el presente estudio

Especie/aislado	Localidad/ Coordenadas	Año de colecta	Código en Gen Bank
<i>Sclerotium rolfsii</i> /Scr4	Ahome, Sinaloa/ 25.701944 - 109.043333	2019	OR514113
<i>T. asperelloides</i> /TES24	Caborca, Sonora/31.06666 - 112.338333	2020	OR521164
<i>T. azevedoi</i> /TAI73	Ahome, Sinaloa/25.818885 - 108.956014	2021	OR521181
<i>T. afroharzianum</i> /TAF75	Ahome, Sinaloa/25.491445 - 108.571659	2021	OR521183
<i>T. asperellum</i> /TAM74	Ahome, Sinaloa/ 25.491445 - 108.571659	2021	OR521182

4.2.2. Evaluación de *Trichoderma* spp., fungicidas sintéticos y su combinación sobre el manejo de la pudrición blanda del tubérculo de papa en campo

El estudio se estableció en un predio comercial de 15 ha con el suelo de tipo de franco-arcilloso (pH 7.2) infestado de manera natural por *S. rolfsii*, donde en años previos ocurrió una incidencia del 10 % de pudrición blanda en los tubérculos de papa. Dos experimentos se establecieron el 5 de diciembre de 2021 y el segundo experimento el 18 de noviembre de 2022, para cosechar en marzo cuando las temperaturas máximas alcanzan 30 °C, la cual favorece el desarrollo de la enfermedad. Tubérculos semilla variedad FL2027 libres de la enfermedad se sembraron en este estudio. Las parcelas experimentales se fertilizaron de acuerdo con las recomendaciones para productores en la región (Santos *et al.*, 2016).

Los tratamientos consistieron en el establecimiento de tres distintos manejos de la enfermedad en el cultivo: a) *Trichoderma* spp., b) fungicidas sintéticos y c) *Trichoderma* spp.+fungicidas sintéticos. Los tratamientos se distribuyeron en franjas con nueve réplicas; donde el primer tratamiento fue la mezcla de las cuatro especies de *Trichoderma*, las cuales se asperjaron a las dosis de 5.0 L ha⁻¹ (1.6 x 10⁷ U.F.C./mL) al momento de la siembra. Las mismas especies se aplicaron a la dosis de 2.5 L ha⁻¹ mediante los riegos por aspersión (cinco riegos) con un intervalo de 20 días entre estos. El segundo tratamiento consistió en el uso de fungicidas sintéticos, el cual consistió en nebulizar 5 L Mancozeb (400 g de i.a./L) al 8%, para 4 toneladas de tubérculo semilla, los cuales se aplicaron al tubérculo semilla previo a la siembra con

equipo de nebulización. Después, a inicio de floración se asperjó 0.5 L ha⁻¹ de Fluazinam (500 g de i.a./L), más dos aspersiones adicionales cada diez días con el mismo fungicida y a la misma dosis; además, se asperjaron 3 L ha⁻¹ de Tolclofos metil (750 g de i.a./L) a los 80 y 95 días mediante el sistema de riego por aspersión. El tercer tratamiento consistió en la combinación de las especies de *Trichoderma* y los fungicidas a las dosis aquí indicadas. Cada tratamiento cubrió una superficie de 5.0 ha, con 59 surcos de 942 m de longitud y una separación de 90 cm entre surcos. Para determinar la eficacia de los tratamientos contra la pudrición blanda se consideraron los dos surcos centrales de cada unidad experimental, para disminuir la interferencia entre tratamientos de las parcelas.

Para determinar la efectividad biológica de los tratamientos en el control de la enfermedad, al momento de la cosecha, en cada tratamiento se hicieron 9 secciones de 2 m de longitud de las cuales se cosecharon los tubérculos, los cuales se lavaron y secaron; se registró el peso de los tubérculos en cada punto de muestreo de cada repetición.

La incidencia y severidad de la enfermedad de los tubérculos cosechados se calculó de acuerdo con lo descrito en el apartado de susceptibilidad de diferentes variedades de papa a *S. rolfsii* en condiciones de invernadero.

4.2.3. Evaluación de diferentes variedades de papa a *Sclerotium rolfsii* en condiciones de laboratorio

El aislado Scr4 de *S. rolfsii* se transfirió a Papa Dextrosa Agar (PDA) e incubó a 28 °C por 7 días. Los tubérculos de las vars. Atlantic, Fianna, FL1869, FL2027, FL1867 y Orquesta se lavaron y desinfectaron con hipoclorito de sodio al 3% durante 5 minutos, enseguida se lavaron tres veces con agua destilada estéril. Doce tubérculos de cada variedad se colocaron en cámaras húmedas. A cuatro tubérculos de cada variedad se les hizo una lesión superficial de 5 mm de diámetro, donde se colocó un disco de PDA de 5 mm de diámetro con crecimiento activo del hongo de 7 días de edad; a cuatro tubérculos adicionales se les colocó un disco con micelio, pero sin lesión. Como testigo se incluyeron ocho tubérculos; a los que se les realizó una lesión de 5 mm de diámetro y se les sobrepuso un disco de PDA de las mismas dimensiones; los otros cuatro

tubérculos permanecieron intactos y sobre ellos se colocó un disco de PDA. Los tratamientos con cuatro repeticiones se distribuyeron en un arreglo completamente al azar y se incubaron a 28 °C por 8 días. El experimento se realizó dos veces con una semana de diferencia entre estos.

La evaluación de la susceptibilidad de los tubérculos de las variedades a *S. rolfsii* se realizó a los ocho días después de la inoculación, para lo cual, se pesaron de manera individual los tubérculos (W_i), después se pesó el tejido con pudrición (W_f). El porcentaje de pudrición blanda se cuantificó mediante el procedimiento descrito por Bourne *et al.* (1981) y Hildenbrand y Ninnemann, (1994):

$$\text{Porcentaje de Pudrición (\%)} = ((W_i - W_f) / W_i) \times 100$$

4.2.4. Susceptibilidad de diferentes variedades de papa a *Sclerotium rolfsii* en condiciones de invernadero

La producción de esclerocios de *S. rolfsii* se realizó en bolsas de polietileno de alta densidad a la cual se le agregaron 750 g de olote molido previamente humedecido; el sustrato se esterilizó dos veces a 121°C por 30 min. Las bolsas se enfriaron y cada una se inoculó con cinco discos de PDA de 5 mm con crecimiento de *S. rolfsii* de 7 días de edad y se incubaron a 27°C por 15 días. Macetas de plástico con 10 kg de suelo estéril apto para el cultivo de papa. Al suelo en cada maceta se le agregaron de manera homogénea 120 esclerocios de *S. rolfsii*.

Tubérculos de las vars. Atlantic, Fianna, FL1869, FL2027 y FL1867 se desinfectaron con NaClO al 0.5% durante 5 minutos, se enjuagaron con agua destilada en tres ocasiones. Los tratamientos se distribuyeron en un diseño completamente al azar. Un tubérculo semilla brotado de papa de cada variedad se sembró por maceta con cuatro repeticiones. En los ensayos se incluyeron testigos con suelo no infestado en cada una de las variedades. Las plantas se fertilizaron una vez cada 15 días con 5 g de triple 17, los riegos se realizaron de acuerdo con su demanda hídrica de las plantas. Durante los experimentos, las temperaturas variaron de 20 a 37°C. Para

determinar los niveles de susceptibilidad de las variedades, los tubérculos se cosecharon 12 semanas después de la siembra.

La severidad de la enfermedad sobre los tubérculos en las distintas variedades de papa se realizó mediante la escala del 0 a 4, de acuerdo con la estimación del porcentaje de la superficie de cada tubérculo con pudrición causada por el hongo. Donde 0= tubérculo sin síntomas, 1=1-10%, 2= 11-20%, 3=21-40%, 4=41-59% y 5 60-100%. El porcentaje de severidad de la enfermedad en los tubérculos de las diferentes variedades se determinó mediante el uso de la fórmula de (Townsend y Heuberger 1943):

$$\% \text{ de severidad de la enfermedad} = \frac{\sum ni.vi}{V N} \times 100$$

Donde: ni= valor de la categoría, vi= número de tubérculos que entran en esa categoría, V= valor de la categoría más alta y N= número de tubérculos en la muestra.

4.2.5. Incidencia y severidad de pudrición blanda causada por *Sclerotium rolfsii* en campos comerciales de papa en Sonora y Sinaloa, México

La evaluación de incidencia de pudrición blanda de tubérculos de papa se llevó a cabo al momento de la cosecha en 66 campos comerciales en el norte de Sinaloa y en 17 de Sonora, en tres ciclos agrícolas otoño e invierno (2021, 2022 y 2023). En cada predio se recolectaron, 20 tubérculos al azar en cinco puntos de cada predio de las variedades Alpha, Atlantic, Fianna, FL1867, FL1869, FL2027, Orquesta y Vivaldi (Cuadro 4-2). En el laboratorio, los tubérculos se lavaron con agua corriente y se secaron a temperatura ambiente.

Cuadro 4-2. Variedades, sitio y año de recolección de tubérculos de papa en campos comerciales en Sonora y Sinaloa

Variedad	Sitio de muestreo	Coordenadas	Fecha de muestreo
Fianna	Ej. Plan de Guadalupe, Sinaloa	25.7840000 -108.8765010	2021
Fianna	Ejido Flores Magón, Sinaloa	25.7132900 -109.0162600	2021
Fianna	Ejido 5 de mayo, Sinaloa	25.8655200 -108.9365340	2021
Fianna	Ejido La Arrocera, Sinaloa	25.8264930 -109.9278940	2021
Fianna	Ejido Santa Rosa, Sinaloa	25.8611960 -108.9629820	2021
Fianna	Ejido Santa Rosa, Sinaloa	25.8220098 -108.8951750	2021
FL2027	Ejido La Arrocera, Sinaloa	25.8334990 -108.9288840	2021
FL1867	Ejido Compuertas, Sinaloa	25.8515870 -108.9997080	2021
FL2027	Ejido Louisiana, Sinaloa	25.8008280 -109.0562240	2021
Fianna	Ejido Santa Rosa, Sinaloa	25.8719270 -108.8670660	2021
Fianna	Ejido Plan de Ayala, Sinaloa	25.7704820 -109.0427640	2021
Fianna	Ejido Santa Rosa, Sinaloa	25.8488450 -108.8651280	2021
Atlantic	Ejido Santa Rosa, Sinaloa	25.8548040 -108.8861480	2021
Fianna	Ejido Primero de Mayo, Sinaloa	25.7775310 -108.8742840	2021
Orquesta	Ejido La Arrocera, Sinaloa	25.7955390 -108.8738850	2021
Fianna	Ejido La Arrocera, Sinaloa	25.7934270 -108.9024110	2021
Atlantic	Ejido Santa Rosa, Sinaloa	25.8715870 -108.8630130	2021
Fianna	Ejido Mochis, Sinaloa	25.8141810 -109.0468120	2021
FL2027	Ejido Campo 35, Sinaloa	25.8704830 -108.9018910	2021
Fianna	El Teroque, Sinaloa	25.8605790 -108.9602030	2021
Fianna	Ejido Taxtes, Sinaloa	25.9032130 -108.9084100	2021
Fianna	Ejido Jiquilpan, Sinaloa	25.7879140 -108.9247280	2021
Fianna	Ejido Benito Juárez, Sinaloa	25.7761150 -109.0392390	2021
Fianna	Ejido Flores Magón, Sinaloa	25.7384110 -109.0059030	2021
Fianna	Ejido El 19, Sinaloa, Sinaloa	25.9253440 -108.8105700	2021
Fianna	Ejido 9 de diciembre, Sinaloa	25.7445720 -109.0136180	2021
Fianna	Ejido Mochis, Sinaloa	25.8239980 -109.0270190	2021
Fianna	Ejido Constancia, Sinaloa	25.8862620 -108.8543500	2021
Fianna	Ejido Santa Rosa, Sinaloa	25.8715870 -108.8630130	2021
FL2027	Ejido 2 de abril, Sinaloa	25.7221680 -108.9678610	2021
Fianna	Ejido 5 de mayo, Sinaloa	25.8315420 -108.9556010	2021
Alpha	Ejido La Arrocera, Sinaloa	25.8346270 -108.8580820	2021
Fianna	Ejido Constancia, Sinaloa	25.9458190 -108.8150950	2021
Fianna	Ejido Plan de San Luis, Sinaloa	25.7742470 -109.0722910	2021
Vivaldi	Ejido 20 de noviembre, Sinaloa	25.7408270 -108.9540310	2021
Fianna	Ejido Louisiana, Sinaloa	25.7912690 -109.0560840	2021
Atlantic	Ejido Plan de San Luis, Sinaloa	25.768479 -109.0473630	2021
Orquesta	Campo 19, Sinaloa	25.900662 -108.8636250	2021

Continuación cuadro 4-2

Fianna	Louisiana, Sinaloa	25.8129650 -109.0438460	2022
Fianna	Plan de Ayala, Sinaloa	25.7688900 -109.0450430	2022
Fianna	Plan de Ayala, Sinaloa	25.7780720 -109.0355910	2022
Fianna	9 de Diciembre, Sinaloa	25.7381420 -109.0232690	2022
FL1869	Ruiz Cortines, Sinaloa	25.7219480 -108.7386090	2022
FL1867	Ruiz Cortines, Sinaloa	25.7132770 -108.7738180	2022
FL2027	Zona Industrial, Sinaloa	25.7808340 -108.9059290	2022
Fianna	Ruiz Cortines, Sinaloa	25.7245330 -108.7521510	2022
Fianna	Ruiz Cortines, Sinaloa	25.7245330 -108.7521510	2022
FL1867	Ruiz Cortines, Sinaloa	25.6596560 -108.7604520	2022
FL2027	Campo 35, Sinaloa	25.8301040 -108.8680480	2022
Atlantic	El Capuli, Sinaloa	25.8842920 -108.8289480	2022
Fianna	El Capuli, Sinaloa	25.8901190 -108.8307800	2022
Fianna	Cerillos, Sinaloa	25.8724280 -108.8801950	2022
Fianna	Campo 35, Sinaloa	25.8595180 -108.8682700	2022
Fianna	Juan José Ríos, Sinaloa	25.7773740 -108.8594360	2022
Fianna	Campo 35, Sinaloa	25.8315620 -108.9043040	2022
Fianna	Louisiana, Sinaloa	25.8207090 -109.0811150	2022
Fianna	Cerillos, Sinaloa	25.8500440 -108.8799200	2022
Fianna	Cerillos, Sinaloa	25.8761840 -108.8941870	2022
Fianna	9 de Diciembre, Sinaloa	25.7460840 -109.0209960	2022
Fianna	Ejido Mochis, Sinaloa	25.8236500 -109.0353690	2022
Fianna	Albergue Santa rosa, Sinaloa	25.7974160 -108.8963240	2022
Fianna	Plan de Ayala, Sinaloa	25.7580730 -109.0388480	2022
Fianna	Ejido Mochis, Sinaloa	25.8197020 -109.0613400	2022
Fianna	Primero de Mayo, Sinaloa	25.7787660 -108.9199140	2022
FL2027	Primero de Mayo, Sinaloa	25.7810570 -108.9255590	2022
Fianna	El Estero, Sinaloa	25.7821270 -108.8690560	2022
Orquesta	Plan de San Luis, Sinaloa	25.7614343 -109.0729434	2022
Orquesta	Caborca, Sonora	30.9375080 -111.967640	2023
Fianna	Caborca, Sonora	30.918985 -111.915403	2023
Orquesta	Caborca, Sonora	31.060360 -111.842066	2023
Orquesta	Caborca, Sonora	30.575723 -112.372858	2023
Orquesta	Caborca, Sonora	31.010752 -112.045171	2023
FL-1867	Caborca, Sonora	30.921463 -111.995328	2023
FL-1867	Caborca, Sonora	31.005640 -112.035805	2023
FL-1867	Caborca, Sonora	30.728576 -112.071323	2023
Orquesta	Caborca, Sonora	31.069011 -112.359809	2023
Fianna	Caborca, Sonora	30.971615 -111.814959	2023
Fianna	Caborca, Sonora	30.989654 -111.933815	2023
Fianna	Caborca, Sonora	30.921463 -111.995328	2023
Fianna	Caborca, Sonora	30.918459 -111.915401	2023

Continuación cuadro 4-2			
Fianna	Caborca, Sonora	31.123086 -112.227412	2023
Fianna	Caborca, Sonora	30.955782 -111.871367	2023
Fianna	Caborca, Sonora	30.548782 -112.264823	2023

La incidencia y severidad de la enfermedad en los tubérculos cosechados se estimó como se describe en el experimento sobre susceptibilidad de diferentes variedades de papa a *S. rolfsii* en condiciones de invernadero.

4.2.6. Análisis estadístico de datos

Los datos de porcentaje de severidad de la enfermedad en las diferentes variedades a nivel de laboratorio, invernadero y producción en las parcelas que recibieron los diferentes tratamientos se sometieron a ANOVA en el paquete estadístico (SAS 9.0 SAS Institute Inc., North Carolina, EUA). La comparación de medias fue mediante la prueba de Tukey (P=0.05) (Little y Hills, 1973).

4.3 RESULTADOS

4.3.1. Efecto de *Trichoderma* spp., fungicidas sintéticos y su combinación sobre el manejo de la pudrición blanda del tubérculo de papa en campo

La incidencia, severidad de la enfermedad y rendimiento en campo varió de 0.9-4.6 %, 0.2-0.8 % y de 44 a 49 t ha⁻¹, de forma respectiva. La severidad de los tratamientos con base en la mezcla de las cuatro especies de *Trichoderma* y el tratamiento de *Trichoderma* spp.+fungicidas sintéticos fue de 0.2 y 0.3 %, de manera respectiva, sin diferencias significativas entre estos (P >0.05), mientras que la severidad en el tratamiento de fungicidas sintéticos fue de 0.8 % con diferencias significativas (P<0.05) con respecto a los tratamientos anteriores. Por otro lado, los mejores rendimientos del experimento se presentaron en el tratamiento con base en la mezcla de las cuatro especies de *Trichoderma* y en el tratamiento de las *Trichoderma* spp.+fungicidas sintéticos, las cuales variaron de 0.2-0.3 %, de manera respectiva (Cuadro 4-3).

Cuadro 4-3. Efecto de cuatro especies de *Trichoderma* spp., fungicidas sintéticos y su combinación de ambos sobre la incidencia, severidad y rendimiento del cultivo de papa en campo

Manejo	Incidencia ^x (%)	Severidad ^x (%)	Rendimiento ^x (t ha ⁻¹)
<i>Trichoderma</i> spp.	0.9	0.2 a*	49 a
<i>Trichoderma</i> spp.+fungicidas sintéticos	2.2	0.3 a	46 ab
Fungicidas sintéticos	4.6	0.8 b	44 b

^xLas medias de las variables consideradas para determinar la efectividad biológica de los tratamientos indican el promedio de dos ciclos agrícolas.

* Medias con una letra en común en las columnas no son significativamente diferentes (P=0.05) Tukey.

4.3.2. Susceptibilidad de variedades de papa a *Sclerotium rolfsii* en condiciones de laboratorio

Los tubérculos de las variedades de papa mostraron variación en los porcentos de pudrición blanda con dos métodos de inoculación (Figura 4-1 a, b, c y d). Los tubérculos inoculados presentaron síntomas similares a los observados en campo (Figura 4-1 a). En el caso de la inoculación con lesión el porcentaje de pudrición varió de 3.1 a 11.9 %, con diferencias significativas (P<0.05) entre las variedades. La variedad Orquesta presentó el mayor porcentaje de pudrición con 11.9 % con diferencias significativas (P<0.05) con el resto de las variedades, seguido de FL1867, FL2027, FL1869 8.2, 7.1 y 6.9%, sin diferencias significativas (P>0.05) entre éstas. Por otro lado, las variedades Atlantic (Figura 1 a) y Fianna son las que presentaron menor pudrición con 4.6 y 3.1 %, de forma respectiva, con diferencias significativas (P<0.05) entre estas variedades. Mientras que en los tubérculos de las mismas variedades sin lesión la pudrición varió de 0.5 a 1.2 %, con diferencias significativas (P<0.05) entre las variedades. La variedad Orquesta también fue la que presentó el mayor porcentaje de pudrición con 1.2 % seguido de FL1867 con 0.5% con diferencias significativas (P<0.05) entre ellas y el resto de las variedades. Mientras, las variedades FL2027, FL1869 y Atlantic (Figura 4-1 c) no presentaron pudrición, sin diferencias significativas (P>0.05) entre ellas (Cuadro 4-4).

Cuadro 4-4. Porcentaje de pudrición blanda en tubérculos de papa en la variedad Orquesta, FL2027, FL1867, FL1869 y Atlantic en cámara húmeda.

Tratamientos	Porcentaje de severidad	
	Con lesión	Sin lesión
Orquesta con inóculo	11.9 a*	1.2 a
FL1867 con inóculo	8.2 b	0.5 b
FL2027 con inóculo	7.1 b	0.0 c
FL1869 con inóculo	6.9 b	0.0 c
Atlantic con inóculo	4.6 c	0.0 c
Fianna con inóculo	3.1 d	0.0 c
Orquesta sin inóculo	0.0 e	0.0 c
FL1867 sin inóculo	0.0 e	0.0 c
FL1869 sin inóculo	0.0 e	0.0 c
FL2027 sin inóculo	0.0 e	0.0 c
Atlantic sin inóculo	0.0 e	0.0 c
Fianna sin inóculo	0.0 e	0.0 c

* Medias con una letra en común en las columnas no son significativamente diferentes (P=0.05) Tukey.

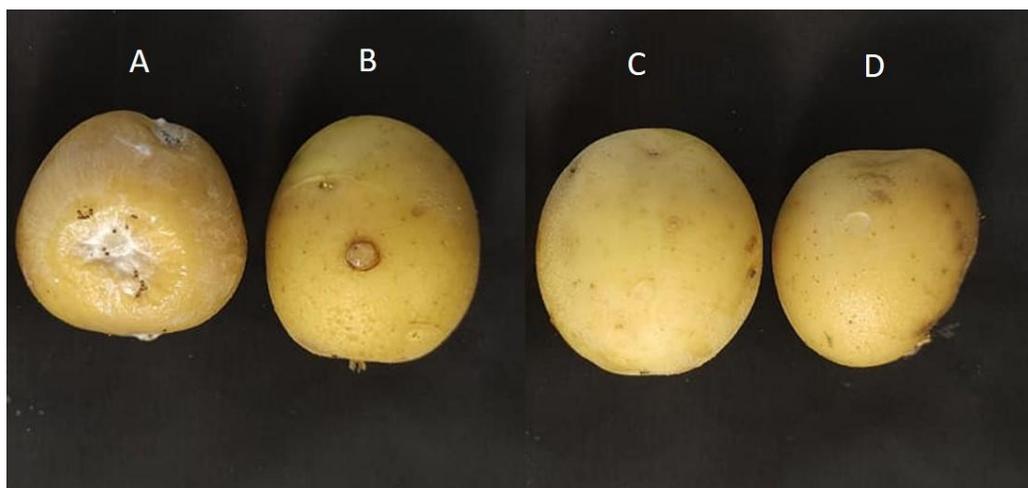


Figura 4-1. Patogenicidad *Sclerotium rolfsii* sobre de tubérculos de papa variedad Atlantic con dos métodos de inoculación. a) tubérculo con lesión e inóculo de *S. rolfsii*; b) tubérculo con lesión con disco de PDA sin inóculo; c) tubérculo sin lesión sin inóculo de *S. rolfsii* y d) tubérculo sin lesión con disco de PDA sin inóculo

4.3.3. Susceptibilidad de variedades de papa a *S. rolfsii* en invernadero

Las plantas que se desarrollaron sobre el suelo infestado presentaron lesiones color café oscuro en la parte basal del tallo, las hojas basales se tornaron amarillas, conforme pasaron los días éstas se marchitaron. Sobre las lesiones se observó un crecimiento micelial algodonoso blanco donde se desarrollaron esclerocios de color blanco y marrón (Figura 2 a). Por otra parte, los tubérculos obtenidos en una misma planta presentaron variaciones en la pudrición, donde se presentaron tubérculos sanos y otros con pudrición total de estos, en los cuales se observó micelio blanco sobre los cuales se desarrolló esclerocios (Figura 4-2 b). Los esclerocios del hongo sobre la base del tallo y el suelo se presentaron a los 60 días después de establecer el experimento. Los síntomas descritos fueron similares a los que se presentaron en campo.



Figura 4-2. Pudrición de tallos y tubérculo de papa causados por *Sclerotium rolfsii* en invernadero. a) Pudrición de tallos con crecimiento micelial y esclerocios y b) tubérculo de papa sano (derecha) y pudrición de tubérculo de papa con crecimiento micelial y esclerocios (izquierda).

La susceptibilidad de las variedades de papa en invernadero fue variable en cuanto a los porcentajes de pudrición. Los tubérculos presentaron los mismo síntomas y signos descritos en la sección de las cámaras húmedas. El porcentaje de pudrición varió de 6.3 a 39.8%, con diferencias significativas ($P < 0.05$) entre las variedades evaluadas y

sus testigos sin inóculo. La variedad Fianna fue la menos susceptible, la cual presentó un 6.3% de severidad con diferencias significativas ($P < 0.05$) con el resto de las variedades, seguida por la variedad Atlantic y FL2027 sin diferencias significativas ($P > 0.05$) entre ellas y por último la variedad FL1867 con un 39.8 % de severidad, con diferencias significativas ($P < 0.05$) con el resto de las variedades.

Cuadro 4-5. Sensibilidad de variedades de papa a *Sclerotium rolfsii* en invernadero

Tratamientos	% de pudrición
Testigo Fianna	0 d*
Testigo FL1867	0 d
Testigo FL2027	0 d
Testigo Atlantic	0 d
Fianna + inóculo	6.3 c
Atlantic + inóculo	25.5 b
FL2027 + inóculo	33.6 ab
FL1867 + inóculo	39.8 a

* Medias con una letra en común en las columnas no son significativamente diferentes ($P = 0.05$) Tukey.

4.3.4. Incidencia y severidad de *Sclerotium rolfsii* en cultivos de papa en Sonora y Sinaloa, México

En los campos, se observó variabilidad en los porcentajes de pudrición porcentajes de avance de la pudrición blanda. Los síntomas iniciales de podredumbre blanda en campo se observaron con mayor frecuencia en el estolón del tubérculo, estos consistían en lesiones irregulares con hundimientos y pudriciones de consistencia blanda, mismas que generaron una depresión en la epidermis. En campo se encontraron tubérculos de papa podridos en su totalidad (Figura 4-3), los cuales presentaban un micelio de color blanco algodonoso y formación de esclerocios (Figura 4).

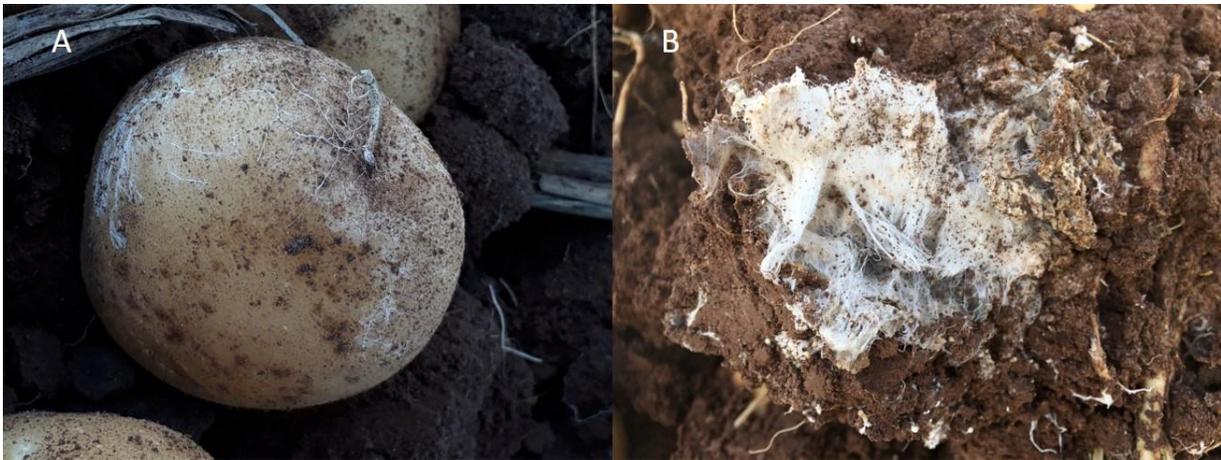


Figura 4-3. Tubérculos de papa infectado con *S. rolfsii*. a) Estolón con pudrición y crecimiento micelial de *S. rolfsii* y b) Pudrición total de tubérculo con desarrollo de micelio y esclerocios de *S. rolfsii*.

En campo, la variedad de papa más susceptible fue la Orquesta, se encontró un predio de ocho muestreados con incidencia del 30.0% y severidad del 3.4%, seguida de la variedad Fianna con un 7.0% de incidencia máxima y severidad del 1.6%, por último, en la FL2027 se encontró un predio de siete muestreados con 1.0% de incidencia y 0.2% de severidad: En las variedades Atlantic, FL1867, FL1869, Alpha y Vivaldi no se encontraron tubérculos afectados por *S. rolfsii* durante los muestreos de los campos (Cuadro 4-6).

Cuadro 4-6. Evaluación de la susceptibilidad de las variedades de papa a *Sclerotium rolfsii* en campos comerciales de Sonora y Sinaloa

Variedades	Campos muestreados	Campos con presencia de la enfermedad	Incidencia (%)	Severidad (%)
Orquesta	8.0	1.0	30.0	3.4
Fianna	55.0	15.0	0 - 7.0	0-1.6
FL2027	7.0	1.0	1.0	0.2
Atlantic	4.0	0	0	0
FL1867	6.0	0	0	0
FL1869	1.0	0	0	0
Alpha	1.0	0	0	0
Vivaldi	1.0	0	0	0
TOTAL	83	17		

4.4 DISCUSIÓN

Con relación al manejo de la enfermedad en campo, los resultados indican que lo mayores rendimientos y niveles de sanidad se observaron, cuando se aplicaron la mezcla de las cuatro especies de *Trichoderma* o la combinación de *Trichoderma* spp.+Fungicidas sintéticos; aun cuando los fungicidas sintéticos ejercieron control sobre la enfermedad su eficacia fue menor en el incremento de la producción y control de la enfermedad. Los resultados obtenidos por Rubayet y Bhuiyan (2016) en Bangladesh, son similares a los observados en el presente estudio donde se incluyó la mezcla de *Trichoderma* spp.+ fungicidas sintéticos.

La menor incidencia y daños en los tubérculos cosechados por pudrición blanda pueden deberse a los diferentes mecanismos de acción de las especies de *Trichoderma*, los cuales suprimen el crecimiento de las distintas especies de los hongos fitopatógenos (Altomare *et al.*, 1999;), así como la inducción de resistencia vegetal (Altomare *et al.*, 2008). Por otro lado, el mayor rendimiento en el cultivo de papa se asocia al menor daño del fitopatógeno, así como a la producción de fitohormonas y los diferentes compuestos orgánicos que producen las especies de *Trichoderma* que ayudan a solubilizar rocas de fosfato Fe_2O_3 , MnO_2 y Zn (Tyskiewicz *et al.*, 2022).

En la presente investigación todas las variedades de papa que se siembran en Sonora y Sinaloa, fueron susceptibles a la pudrición blanda causada por *S. rolfssii* en condiciones de laboratorio, con variación en susceptibilidad entre variedades. Estos resultados coinciden con los de Daami-Remadi y colaboradores (2012) quienes evaluaron 11 variedades de papa contra *S. rolfssii*, donde la variedad Tango fue la más susceptible, mientras que la variedad Aprinda fue la que presentó el menor porcentaje de pudrición blanda. En el presente estudio, se observó variación de acuerdo con el método de inoculación; en el procedimiento donde se hicieron heridas todas variedades resultaron susceptibles, mientras que en los tubérculos donde no se realizaron heridas, no todas las variedades fueron susceptibles.

De igual manera, los resultados sobre la susceptibilidad de las variedades de papa a la pudrición blanda, cuando las plantas crecieron en suelo infestado con *S.*

rolfsii en condiciones de invernadero y los tubérculos no se hirieron, las variedades mostraron una susceptibilidad al patógeno, similar a lo observado en los experimentos de laboratorio, donde los tubérculos se hirieron previo a la inoculación.

En invernadero, los porcentajes de pudrición fueron mayores a los registrados en laboratorio, lo cual se podría deber a que las condiciones de temperatura en invernadero variaron entre los 20 y 37 °C, lo cual favorece el desarrollo de la enfermedad y debido a que en estas condiciones el periodo entre la inoculación y la evaluación de la susceptibilidad fue de 12 semanas después de la siembra, mientras que la duración del periodo experimental en el laboratorio fue de 8 días.

Por otro lado, el peridermo intacto es una barrera natural que juega un papel importante para evitar la penetración y la subsecuente infección por parte del patógeno; las características de este varían entre una variedad y otra; por lo anterior, se infiere que la variabilidad en la pudrición blanda de los tubérculos de las diferentes variedades de papa evaluadas y el método de inoculación evaluados en el presente estudio está dada por la presencia del peridermo y las características de este en cada variedad (Morris *et al.*, 1986; Kumar y Idit, 2022).

En lo relativo a la evaluación de la susceptibilidad de variedades de papa, a la pudrición blanda, se inspeccionaron 83 campos comerciales durante la cosecha, la variedad Orquesta presentó una incidencia del 30% de la enfermedad, lo cual coincide con estudios previos donde la variedad Monalisa en Italia, presentó un 15% de pérdidas (Garibaldi *et al.*, 2007). Por otro lado, Remesal *et al.* (2012) describieron que el garbanzo y girasol presentan susceptibilidad alta y el algodón, chile, tomate y sandía, resistencia moderada y que brócoli, melón, maíz, y trigo fueron resistentes a *S. rolfsii*. Por otro lado, Martínez y colaboradores (2015) encontraron al tomate silvestre resistente a *S. rolfsii*. Ranmteke y colaboradores (2024) encontraron variedades de soya con susceptibilidad alta y otras variedades de soya con resistencia moderada a *S. rolfsii*. Shirsole y colaboradores (2018) registraron variedades de garbanzo con susceptibilidad alta y resistencia moderada al hongo en campo. Por otro lado, los daños registrados en este estudio, coincidieron con el manejo agronómico del cultivo inadecuado realizado por los productores de papa, en los cuales establecieron la

variedad más susceptible en suelo pesado y fechas de siembras tardías; también, el último riego se aplicó al final del ciclo del cultivo muy cercano a la cosecha; además de que hubo retraso en la época de cosecha en el mes de mayo y la temperatura alcanzó 30° C, lo cual favoreció el desarrollo de la enfermedad. Daami-Remadi *et al.* (2007) reportaron en Túnez la pudrición blanda de tubérculo de papa en almacenamiento, las cuales presentaban crecimiento micelial de color blanco en forma de abanico, de donde se aisló a *S. rolfsii*, de igual manera Garibaldi *et al.* (2007) en el norte de Italia y Roca *et al.* (2016) en España reportaron los mismo síntomas y signos sobre tubérculos de papa, los cuales fueron similares a los observados sobre los tubérculos de papa cosechados en invernadero del presente estudio.

Los resultados del presente estudio son relevantes y abren nuevas líneas de investigación sobre estudios de efectividad biológica de las diferentes especies de *Trichoderma* solas o en combinación con fungicidas sintéticos contra diferentes especies de fitopatógenos, no solo contra la enfermedad pudrición blanda causadas por *S. rolfsii*, si no por otros fitopatógenos que afectan al cultivo de la papa, tales como diferentes especies de *Fusarium*, *Colletotrichum coccodes*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*, entre otros.

El uso de las especies de *Trichoderma* incluidas en este estudio para el manejo de diferentes enfermedades causadas por diferentes hongos fitopatógenos no sólo ayudará a incrementar la calidad y rendimientos del cultivo, sino que también contribuirá a la disminución de los costos de producción del cultivo y uso de fungicidas sintéticos, los cuales contaminan aire, suelo, agua y afectan la salud de animales y humanos. Por otro lado, el uso de la variedad Fianna como la más tolerante a la pudrición blanda de la papa en combinación con especies de *Trichoderma* y la combinación de fungicidas sintéticos permite un enfoque integrado.

CAPÍTULO 6. CONCLUSIONES GENERALES

Dieciséis aislados de *T. asperellum* (TAM), cinco de *T. asperelloides* (TES), cuatro de *T. afroharzianum* (TAF) y uno de *T. azevedoi* (TAI) mostraron variación en la inhibición del crecimiento micelial de dos aislados de *S. rolfsii* (Scr4 y Scr17). Además, los aislados de *Trichoderma* presentaron diferentes interacciones hifales (vacuolización,

granulación enrollamiento, adhesión, lisis y penetración) sobre el patógeno (Scr4). Los metabolitos volátiles producidos por los aislados de *Trichoderma*, mostraron variación en la inhibición en el crecimiento micelial del mismo aislado del patógeno. El presente estudio conduce hacia nuevas líneas de investigación sobre estudios de efectividad biológica de *Trichoderma* spp. contra *S. rolfsii* agente causal de la pudrición blanda de la papa. Este enfoque innovador contribuirá a la disminución en el uso de fungicidas sintéticos para el manejo de la enfermedad, lo que a su vez disminuirá la contaminación del medio ambiente.

Tifluzamida y Propineb presentaron la mayor efectividad biológica *in vitro* en el crecimiento micelial y formación de esclerocios de *S. rolfsii*. Los mismos fungicidas fueron compatibles con *T. azevedoi*, *T. afroharzianum*, *T. asperellum* y *T. asperelloides*. El hecho de que los mismos fungicidas presenten diferentes mecanismos de acción contra *S. rolfsii* y también muestren compatibilidad con las especies de *Trichoderma*, muestra una pauta para que los productores utilicen los fungicidas en mezcla con las especies de *Trichoderma* para el control de la pudrición blanda del tubérculo de papa causadas por *S. rolfsii* en campo.

El manejo de la pudrición blanda en el cultivo de papa mediante el uso de tubérculos semilla de variedades menos susceptible en conjunto con diferentes especies de *Trichoderma* y fungicidas sintéticos es una opción viable para el manejo integrado de *S. rolfsii* en campo, lo cual ayudará disminuir la producir tubérculos libres de fungicidas sintéticos.

CAPÍTULO 7. LITERATURA CITADA

- Abo, G., A. Ahmed, M. Saleh, M. Darwish y M. Abdel. 2021. Aplicación de formulaciones bioamigables de *Streptomyces cellulosae* Actino 48 productor de quitinasa para el control de enfermedades transmitidas por el suelo en maní causadas por *Sclerotium rolfsii*. *Journal of Fungi*. 7 (3): 167.
- Adnan, M., W. Islam, A. Shabbir, K. Khan, H. Ghramh, H. Chen and L. Gou-Dong. 2019. Plant defense against fungal pathogens by antagonistic fungi with *Trichoderma* in focus. *Microbial Pathogenesis*. 129: 7-18.
- Altomare, C., W. A., Norvell, T. Bjorkman and G. C. Harman 1999. Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant growth promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai 1. *Applied Environmental and Microbiology*. 65: 2926-2933.
- Amin, F., K., Razdan, F. Mohiddin, K. Bhat and A. Sheikh. 2010. Effect of volatile metabolites of *Trichoderma* species against seven fungal plant pathogens *in vitro*. *Journal of Phytology*. 2: 34–37.
- Arain, U., M. Dars, A. Ujjan, H. Bozdar, A. Rajput and S. Shahzad. 2022. Compatibility of myco-fungicide isolate (*Trichoderma harzianum* Rifai) with fungicides and their *in-vitro* synergism assessment. *Pakistan Journal of Phytopathology*. 34 (2). 147-155.
- Archana, J., L. Rajendran, S. Manoranjitham, K. Santhana, M. Paravisavan and P. Karthikeyan. 2020. Culture-dependent analysis of seed bacterial endophyte, *Pseudomonas* spp. EGN 1 against the stem rot disease (*Sclerotium rolfsii* Sacc.) in groundnut. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*. 30: 119.
- Asad S. A. 2022. Mechanisms of action and biocontrol potential of *Trichoderma* against fungal plant diseases-A review. *Ecological Complexity*. 49: 100978.
- Atkinson, D., M. K. Thornton, and J. S. Miller 2011. Development of *Rhizoctonia solani* on stems, stolons and tubers of potato II. efficacy of chemical applications. *American Journal Potato Research*. 88: 96–103.

- Aycock, R. 1966. Stem rot and other diseases caused by *Sclerotium rolfsii* or the status of Rolf's fungus after 70 years. North Carolina Agricultural Experiment Station Technical Bulletin. 174: 202.
- Azil, N., E., Stefańczyk, S. Sobkowiak, C. Saliha, B. Houda, S. Jadwiga. 2021. Identification and pathogenicity of *Fusarium* spp. associated with tuber dry rot and wilt of potato in Algeria. *European Journal Plant Pathology*. 159: 495–509.
- Bell, D. K., H. D. Wells and C. R. Markham. 1982. *In vitro* antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. *Phytopathology*. 72: 379-382.
- Bourne, W. F., D. C. McCalmont and R. L. Wastie. 1981. Assessing potato tubers for susceptibility to bacterial soft rot (*Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*). *Potato Research*. 24: 409-415.
- Brauer, V. S., C. P. Rezende, A. M. Pessoni, R. G. De Paula, K. S. Rangappa, S. C. Nayaka, V. K. Gupta, F. Almeida. 2019. Antifungal agents in agriculture: friends and foes of public health. *Biomolecules*. 9 (10): 521.
- Caldiz, D. O., O. H. Caso, G. Vater and L. V. Fernandez. 1999. The potential for production of high quality seed potatoes in Tierra del Fuego Island, Argentina. *Potato Research*. 42: 9-23.
- Chandra Sekhar, J., J. P. Mishra, R. Prasad, V. P. Reddy, S. Kumar, A. Thakur and P. Joginder. 2020. Isolation and *in vitro* evaluation of biocontrol agents, fungicides and essential oils against stem blight of tomato caused by *Sclerotium rolfsii* (Curzi) C.C Tu and Kimber. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 9 (3): 700-705.
- Chaparro, A. L. Carvajal and S. Orduz. 2011. Fungicide tolerance of *Trichoderma asperelloides* and *T. harzianum* strains. *Agricultural sciences*. 2: 301-307.
- Chet, I. 1987. *Trichoderma* – application, mode of action, and potential as a biocontrol agent of soilborne plant pathogenic fungi. En: Chet I (ed), Innovative Approaches to Plant Disease Control. John Wiley and Sons, New York, 147-160.

- Coleman, W. K., D. J. Donnelly and S. E. Coleman. 2001. Potato microtubers as research tools: a review. *American Journal of Potato Research*. 78: 47-55.
- Conover, W. J. 1999. Practical nonparametric statistics. New York: John Wiley and Sons, Inc. <https://es.scribd.com/document/440028505/W-J-Conover-Practical-Nonparametric-Statistics-3rd-Wiley-1999-compressed-pdf>
- Cook, R. J. and K. F. Baker. 1983. The nature and practice of biological control of plant pathogens. *The American Phytopathological Society*. 539: 36.
- Daami-Remadi, M., H. Jabnoun-Khiareddine, A. Sdiri and M. El Mahjoub. 2012. Comparative reaction of potato cultivars to *Sclerotium rolfsii* assessed by stem rot and tuber decay severity. *Pest Technology*. 6 (1): 54-59.
- Daami-Remadi, M., H. Jabnoun-Khiareddine, F. Ayed, K. Hibar and M. Mahjoub. 2007. First report of *Sclerotium rolfsii* causing atypical soft rot on potato tubers in Tunisia. *Tunisian Journal of Plant Protection* 2: 59-62 pp.
- Das, N. C., B. K. Dutta and D. C. Ray. 2014. Potential of some fungicides on the growth and development of *Sclerotium rolfsii* Sacc. *in vitro*. *International Journal of Scientific and Research Publications*. 4 (12).
- Dennis, C. and J. Webster. 1971. Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma*, III Hyphal interactions. *Transactions British Mycological Society, Cambridge*. 57 (3): 363-369.
- Díaz-Nájera, J. F., J. Sahagún-Castellanos, M. Vargas-Hernández, S. Ayvar-Serna, O. G. Alvarado-Gómez, C. Villanueva-Verduzco and M. Acosta-Ramos. 2018. Diagnosis and integrated management of fruit rot in *Cucurbita argyrosperma*, caused by *Sclerotium rolfsii*. *Plant Pathology Journal*. 34 (3): 171–181.
- Dinkwar, G, V. Yadav, A. Kumar, S. Nema and S. Mishra. 2023. Compatibility of fungicides with potent *Trichoderma* isolates. *International Journal of Plant and Soil Science*. 35 (18): 1934-1948.
- Djonovic, S., M. J. Pozo, L. J. Dangott, C. R. Howell, and C. M. Kenerley. 2006. Sm1, a proteinaceous elicitor secreted by the biocontrol fungus *Trichoderma virens*

- induces plant defense responses and systemic resistance. *Molecular Plant Microbe Interaction*. 19: 838–853
- Djonovic, S., W. A. Vargas, M. V. Kolomiets, M. Horndeski, A. Wiest, and C. M. Kenerley. 2007. A proteinaceous elicitor Sm1 from the beneficial fungus *Trichoderma virens* is required for induced systemic resistance in maize. *Plant Physiology*. 145: 875-889
- Dwivedi, S. K. and Prasad, Ganesh. 2016. Integrated management of *Sclerotium rolfsii*: an overview. *European Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*. 3 (11): 137-146
- FAO. (2008). Año internacional de la papa. En línea. <http://www.fao.org/potato2008/es/lapapa/origenes.html>.
- FAO. 2022. FAOSTAT. Cultivos. <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL> (Consultado, agosto 2024).
- Félix-Gastélum, R., G. Herrera-Rodríguez, N. Ávila-Alistac, and E. León. 2024. *Sclerotinia sclerotiorum* en frijol y papa en Sinaloa: Etiología, epidemiología y alternativas de manejo. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 42 (3): 29.
- Fernández, L. O. 2001. Microorganismos antagonistas para el control fitosanitario. *Manejo Integrado de Plagas*. 62: 96-100.
- Ferreira, F., A. Herrmann, C. Calabrese, F. Bello, D. Vázquez and M. Musumeci. 2020. Effectiveness of *Trichoderma* strains isolated from the rhizosphere of citrus tree to control *Alternaria alternata*, *Colletotrichum gloeosporioides* and *Penicillium digitatum* A21 resistant to pyrimethanil in post-harvest oranges (*Citrus sinensis* L. (Osbeck)). *Journal of Applied Microbiology*. 129 (3): 712–727.
- Flores-Moctezuma, S. E., R. Montes-Belmont, A. Jiménez-Pérez and R. Nava-Juárez. 2006. Pathogenic diversity of *Sclerotium rolfsii* isolates from Mexico, and potential control of southern blight through solarization and organic amendments. *Crop Protection*. 25 (3): 195-201.

- García-Espejo, C. N., M. M. Mamani-Mamani, G.A. Chávez-Lizárraga and M.T. Álvarez-Aliaga. 2016. Evaluación de la actividad enzimática del *Trichoderma inhamatum* (BOL-12 QD) como posible biocontrolador. *Journal of the Selva Andina Research Society*. 7 (1): 20-32.
- Garibaldi, A., G. Gilardi and M. L. Gullino. 2007. First report of southern blight incited by *Sclerotium rolfsii* on potato (*Solanum tuberosum*) in Northern Italy. *Plant Disease*. 90 (8): 1114-1114.
- Garrido, M. y N. Vilela. 2019. Capacidad antagónica de *Trichoderma harzianum* frente a *Rhizoctonia*, *Nakatea sigmoidea* y *Sclerotium rolfsii* y su efecto en aislados nativos de *Trichoderma* aisladas de cultivos de arroz. *Scientia Agropecuaria*. 10 (2): 199-206.
- González, M., F. Magdama, L. Galarza, D. Sosa and C. Romero. 2020. Evaluation of the sensitivity and synergistic effect of *Trichoderma reesei* and mancozeb to inhibit under *in vitro* conditions the growth of *Fusarium oxysporum*. *Communicative and Integrative Biology*. 13: 160-169.
- Guzmán, G. P., A. Kumar, S. De los Santos Villalobos, C. F. I. Parra, M. M. C. Orozco, A. E. Fadiji, S. Hyder, O. O. Babalola and G. Santoyo. 2023. *Trichoderma* species: our best fungal allies in the biocontrol of plant diseases- a review. *Plants*. 12 (3): 432.
- Haque, S. and A. A. Khan. 1977. A study of the differences in susceptibility of some potato varieties to *Sclerotium* wilt. *J. Bang. Agril. Sci.* 1: 89-92.
- Hernández, M., K. Malagón y J. Pacheco. 2016. Efecto antagónico de *Bacillus subtilis* Q11 contra el hongo fitopatógeno *Sclerotium rolfsii*. *Revista de Ciencias de la Salud*. 3 (6): 28-30.
- Hildenbrand, S. and H. Ninnemann. 1994. Kinetics of phytoalexin accumulation in potato tubers of different genotypes infected with *Erwinia carotovora* ssp. *Atroseptic*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. 44: 335-347.

- Hjeljord, L., and A. Tronsmo, 1998. *Trichoderma* and *Gliocladium* in biological control: an overview. En: Harman GE, Kubicek CP (Eds.), *Trichoderma and Gliocladium*. Taylor and Francis Inc., London, pp. 131-152.
- Infante, D., B. Martínez, N. González y Y. Reyes. 2009. Mecanismos de acción de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos. *Revista Protección Vegetal*. La Habana 24 (1): 14-21.
- Inostroza, F. J., Méndez L. P. y Lorena S. T. 2009. Botánica y morfología de la papa. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. no. 193. Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.14001/7281> (Consultado: 7 de septiembre de 2023).
- Kamel, SF, Farag A, Ramadan AA and Tarek A. 2020. Bio-control potentials of *Trichoderma* spp. against *Sclerotium rolfsii* the causative of root and crown rot in tomato, common bean and cabbage. *Egyptian Journal of Phytopathology* 48: 122-136.
- Kator, L, Y. Zakki and D. Ona. 2015. *Sclerotium rolfsii*; causative organism of southern blight, stem rot, white mold and sclerotia rot disease. *Annals of Biological Research* 6 (11): 78-89.
- Khan, R. A. A., S. Najeeb, S. Hussain, B. Xie and Y. Li. 2020. Bioactive secondary metabolites from *Trichoderma* spp. against phytopathogenic fungi. *Microorganisms*. 8 (6): 817.
- Kim, S., Y. Lee, K. Balaraju and Y. Jeon. 2023. Evaluation of *Trichoderma atroviride* and *Trichoderma longibrachiatum* as biocontrol agents in controlling red pepper anthracnose in Korea. *Frontiers in Plant Science*. 14: 1201875.
- Kotasthane, A., T. Agrawal, R. Kushwah and O. V. Rahatkar. 2014. *In vitro* antagonism of *Trichoderma* spp. against *Sclerotium rolfsii* and *Rhizoctonia solani* and their response towards growth of cucumber, bottle gourd and bitter gourd. *European Journal of Plant Pathology*. 141: 523-543.
- Kumar, P., and I. Ginzberg. 2022. Potato periderm development and tuber skin quality. *Plants*. 11 (6): 2099.

- Kumar, R., A. Ghatak and A. Bhagat 2018. Assessing fungicides for seedling protection of cucumber to collar rot disease caused by *Sclerotium rolfsii*. *International Journal Plant Protection*.11(1):10–17.
- Kumar, R., A. Ghatak and A. P. Bhagat. 2017. Exploration of *Sclerotium rolfsii* adapting high temperature regime in successive generation. *Indian Journal of Ecology*. 44 (5): 402-406.
- Kushwaha, S. K., S. Kumar, and B. Chaudhary. 2018. Efficacy of *Trichoderma* against *Sclerotium rolfsii* causing collar rot disease of lentil under *in vitro* conditions. *Journal of Applied and Natural Science* 10 (1): 307 – 312.
- Lee, S., M. Yap, G. Behringer, R. Hung, and J. W. Bennett. 2016. Volatile organic compounds emitted by *Trichoderma* species mediate plant growth. *Fungal Biology and Biotechnology* 3 (1):1–14.
- Linyu, Zh., L. Li, Y. Zheng, Y. Zhou, Y. Zeng, W. Zhu and F. Chen. 2022. First report of black dot caused by *Colletotrichum coccodes* on potato in the tibet autonomous region of China. *Plant Disease* .106:10, 2746.
- Little, T. M. and F. J. Hills. 1973. *Agricultural Experimentation Design and Analysis*. John Wiley and Sons. New York, USA. 350p
- Luján-Claure, C. 1996. Historia de la papa. Origen, culturas andinas. Establecimiento de tres hechos. *Papas colombianas*. 17-26.
- Manandhar, R., D. Timila, S. Karkee and S. Baidya 2020. Compatibility study of *Trichoderma* isolates with chemical fungicides. *The Journal of Agriculture and Environment*. 21: 9-18.
- Marcello, C. M., A. S. Steindorff, S. P. Silva, R. N. Silva, L. A. M. Bataus, and C. J. Ulhoa. 2010. Expression analysis of the exo- β -1,3- glucanase from the mycoparasitic fungus *Trichoderma asperellum*. *Microbiological Research*. 165: 75-81.
- Martínez, J., F. Camacho, Y. Bojórquez, B. Sánchez, J. Cordero, C. Romero, R. Félix, y G. Mora. 2021. Efecto inhibitorio de bacterias antagónicas contra *Sclerotium*

rolfsii, agente causal del tizón sureño del frijol común. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 39 (1): 207.

Martínez, P. H. Y., C. J. A. Torres, H.R. Rodríguez, S. J. A. López, D.B. Estrada, and H. E. Osorio 2018. Identification and evaluation of secondary metabolites by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) in native strains of *Trichoderma* species. *African Journal of Biotechnology* 17:1162-1171.

Martínez-Martínez, T. O., B. Z. Guerrero-Aguilar, V. Pecina-Quintero, P. Rivas-Valencia, E. González-Pérez y J. G. Angeles-Núñez. 2020. Antagonismo de *Trichoderma harzianum* contra la fusariosis del garbanzo y su efecto biofertilizante. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 11 (5): 1135- 147.

Martínez-Ramírez, J. L., E. R. Guzmán, C.M. Duran-Martínez, J. V. Navarro, Alcocer E. L. and G. C. Abascal. 2015. Selection for resistance to *Sclerotium rolfsii* in accessions of *Solanum lycopersicum* var. cerasiforme in western Mexico. *Acta Horticulturae*. 1069:71-76.

Meena, P.N., A.K. Meena and C. Ram 2023. Morphological and molecular diversity in *Sclerotium rolfsii* Sacc., infecting groundnut (*Arachis hypogaea* L.). *Discover Agriculture* 1(3).

Mishra, S. A. Singh, C. Keswani, A. Saxena, B. K. Sarma, and H. B. Singh. 2015. Harnessing plant-microbe interactions for enhanced protection against phytopathogens. 111-125. In: Arora NK (ed). *Plant microbe symbiosis applied facets*. Springer, New Delhi.

Mokhtar, H. and D. Aid. 2012. Antagonism capability *in vitro* of *Trichoderma harzianum* against some pathogenic fungi. *Agric. Biol. J. N. Am.* 3 (11): 452-460.

Molina, J., S.Boarnege-Mairena, B. Lesbia-Aguilar. 2004. Guía MIP en el cultivo de papa. 1ra edición. INTA Nicaragua. <https://cenida.una.edu.ni/relectronicos/RENH10M722.pdf>

Montealegre, J. and J. Henríquez. 1990. Posibilidades de control integrado de *Sclerotium rolfsii* Sacc. Mediante hongos del género *Trichoderma* y fungicidas. *Revista Fitopatología*. Universidad de Chile 25 (2): 68-74

- Morris, S. C., M. R. Forbes-Smith, and F. M. Scriven. 1989. Determination of optimum conditions for suberization, wound periderm formation, cellular desiccation and pathogen resistance in wounded *Solanum tuberosum* tubers. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. 35 (2): 177-190.
- Muñoz, M. 2014. Composición y aportes nutricionales de la papa. Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria. 2 p.
- Nájera, J. F. D., J. S. Castellanos, M. V. Hernández, S. A. Serna, O. G. A. Gómez, C. V. Verduzco, M. A. Ramos. 2018. Diagnosis and integrated management of fruit rot in *Cucurbita argyrosperma*, caused by *Sclerotium rolfsii*. *Plant Pathology Journal*. 34:171-181.
- Nandi, S., S. Hembaram, A. Adhikari, B.K. Tiwari and Dutta S. 2017. Host Infection beyond the Traditional Range of *Sclerotium (Athelia) rolfsii* with *Physalis minima*. *Bioinformation* 13(10):333-338.
- Nene, Y. L. and P. N. Thapliyal. 1979. Fungicides in plant disease control. Third edition, Oxford and IBH Publishing Co. PVT. LTD, New Delhi, India. 691.
- Pacheco, K. R., B.S. Viscardi, T. M. Vasconcelos, G. A. Moreira, H. M. Vale and L. E. Blum. 2016. Efficacy of *Trichoderma asperellum*, *T. harzianum*, *T. longibrachiatum* and *T. reesei* against *Sclerotium rolfsii*. *Biosci. J., Uberlândia*. 32 (2): 412-421.
- Paparu, P., A. Acur, F. Kato, C. Acam, J. Nakibuule, A. Nkuboye, S. Musoke and C. Mukankusi. 2020. Morphological and pathogenic characterization of *Sclerotium rolfsii*, the causal agent of southern blight disease on common bean in Uganda. *Plant Disease*. 104: 2130-2137.
- Pérez Buelna G.M. 2024. Efectividad biológica de aislados de *Trichoderma* contra *Sclerotium rolfsii* en cultivos de papa (*Solanum tuberosum* L.) var. Fianna en invernadero. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de Occidente. 41pp.
- Pérez, A., M. Pérez, M., Martínez, H. Rollhaise y M. Blengini. 2020. Selección de aislamientos de *Trichoderma* spp. *in vitro* como potenciales biofungicidas para el control de *Rhizoctonia solani* Kühn en la papa. *Agriscientia*. 37 (2): 21–33.

- Pérez-Moreno, L., J. J. Villalpando-Mendiola, C. Castañeda-Cabrera y R. Ramírez-Malagón. 2009. Sensibilidad *in vitro* de *Sclerotium rolfsii* Saccardo, a los fungicidas comúnmente usados para su combate. *Revista Mexicana de Fitopatología* 27:11-17.
- Phoka, N., N. Suwannarach, S. Lumyong, S. I. Ito, K. Matsui, S. Arikrit and A. Sunpapao. 2020. Role of volatiles from the endophytic fungus *Trichoderma asperelloides* PSU-P1 in biocontrol potential and in promoting the plant growth of *Arabidopsis thaliana*. *Journal Fungi* 6:341.
- Pino, M. 1989. Evaluación de la problemática fitopatológica del cultivo del tomate en la zona de influencia del sistema de riego Cariaco. *Fitopatología Venezolana* 2(2): 51.
- Pourrut, L. 1998. Los climas del Ecuador: fundamentos explicativos. Documentos de Investigación N° 4. Centro ecuatoriano de Información Geográfica y ORSTOM. https://horizon.documentation.ird.fr/exl-doc/pleins_textes/divers11-10/21848.pdf.
- Prasad, M., B. Sagar, G. Devi and S. Rao 2017. *In vitro* evaluation of fungicides and biocontrol agents against damping off disease caused by *Sclerotium rolfsii* on tomato. *International Journal of Pure Applied Bioscience* 5 (4): 1247-1257.
- Priyadharcini, M., R. Akila, M. Mini, N. Rajinimala and R. Kannan. 2018. Exploration of *Trichoderma* spp. as an effective biocontrol agents against the Sclerotial wilt caused by *Sclerotium rolfsii* Sacc. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 7 (8): 1672-1682.
- Pumisacho, M., and S. Sherwood (2002). El cultivo de la papa en Ecuador. Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias.
- Rajani, P., C. Rajasekaran, M. M. Vasanthakumari, S.B. Olsson, G. Ravikanth, and R. Shaanker. 2021. Inhibition of plant pathogenic fungi by endophytic *Trichoderma* spp. through mycoparasitism and volatile organic compounds. *Microbiological Research* 242:26595.

- Ramírez, R. 1998. Control de *Sclerotium rolfsii* Sacc con fungicidas y humus. Universidad del Zulia. 534-544.
- Ramteke, R., L. S., Rajput, and V. Nataraj. 2024. Evaluation of soybean genotypes for resistance to collar rot (*Sclerotium rolfsii*) under field and glasshouse condition. *Tropical plant pathology*. 49:714–725.
- Remesal, E., R. Jordán-Ramírez, R. M. Jiménez-Díaz, J. A. Navas-Cortés. 2012. Mycelial compatibility groups and pathogenic diversity in *Sclerotium rolfsii* populations from sugar beet crops in Mediterranean-type climate regions. *Plant Pathology*. 61: 4.
- Roca, L. F., M. C. Raya, F. Luque, C. A. Brisach, J. Romero and A. Trapero. 2016. First Report of *Sclerotium rolfsii* causing soft rot of potato tubers in Spain. *The American Phytopathological Society*. 100 (12): 2535-2535.
- Rodríguez, K. R., D. G. Robertson, L. Wells and P. S. King. 1991. Soybean peanut rotations for management of *Meloidogyne arenaria* and *Sclerotium rolfsii*. *Nematropica*. 21 (2): 147-154 pp.
- Román C. M. and G. Hurtado. Cultivo de las papas 2002. Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal. En: <http://www.fao.org/docrep/s8270s/s8270s01.htm>
- Romero-Cortes, T., P. A. López-Pérez, M. Ramírez Lepe y J. A. Cuervo-Parra. 2016. Modelado cinético del micoparasitismo por *Trichoderma harzianum* contra *Cladosporium cladosporioides* aislado de frutos de cacao (*Theobroma cacao*). *Chilean Journal of Agricultural and Animal Science, ex Agro-Ciencia* 31(3): 32-45.
- Ruangwong, O. U., P. Wonglom, N. Suwannarach, J. Kumla, N. Thaochan, P. Chomnunti, Pitija K, and A. Sunpapao. 2021. Volatile organic compound from *Trichoderma asperelloides* TSU1: Impact on plant pathogenic fungi. *Journal Fungi* 7:187.

- Rubayet, M. T. and M. K. A. Bhuiyan. 2016. Integrated management of stem rot of potato caused by *Sclerotium rolfsii*. *Bangladesh Journal Plant Pathology* 32 (12): 7-14.
- Rubio, C., O. A., G. J. A. Rangel; L. R. Flores, G. J. V. Magallanes, H. C. Díaz, Q. T. E. Zavala, P. A. Rivera, H. M. Cadena, R. R. Rocha, T. C. Ortiz, D. H. López, V. M. Díaz, y T. A. Paredes. 2000. Manual para la producción de papa en las sierras y valles altos del centro de México. Libro Técnico No. 1. División Agrícola. INIFAP. México. 38 p.
- Safari, M. M. R., M. Farokhzad, B. Kaviani, D. Kulus. 2022. Endophytic fungi as potential biocontrol agents against *Sclerotium rolfsii* Sacc. the causal agent of peanut white stem rot disease. *Cells* 11: 2643.
- SAGARPA-ASERCA. 1998. Papa y cebada. Revista Claridades Agropecuarias. México DF. 40 pp.
- Sangle, U., S. Kumar and J. Mishra. 2016. Effect of volatile metabolites released by different *Trichoderma* spp on the growth of pathogen *Sclerotium rolfsii* and effect on sclerotia germination. the bioscan an international quarterly journal of life sciences. 11 (4): 2811-2816.
- Santos-Cervantes, M. E., R. Félix-Gastelum, G. Herrera-Rodríguez, M. G. Espinoza-Mancillas, A. G. Mora Romero and N. E. Leyva-López. 2017. Characterization, Pathogenicity and Chemical Control of *Streptomyces acidiscabies* Associated to Potato Common Scab. *American Journal Potato Research*. 94: 14–25.
- Schuster, Andre and Schmoll, Monika. 2010. Biology and biotechnology of *Trichoderma*. *Applied microbiology and biotechnology*. 87:787-99.
- Sekhar, J. C., M. J. Prakash, R. Prasad, R. V. Pulla, S. Kumar, A. Thakur and J. Pal. 2020. Isolation and *in vitro* evaluation of biocontrol agents, fungicides and essential oils against stem blight of tomato caused by *Sclerotium rolfsii* (Curzi) C.C Tu & Kimber. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 9 (3): 700-705.

- Sharma, V., R. Salwan, and P. N. Sharma. 2017. The comparative mechanistic aspects of *Trichoderma* and probiotics: scope for future research. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 100:84-96.
- Shirsole, S. S., N. Khare, N. Lakpale and A. S. Kotasthane. 2019. Evaluation of fungicides against *Sclerotium rolfsii* Sacc. incitant of collar rot of chickpea. *The Pharma Innovation Journal*. 8 (12): 310-316.
- Shirsole, S.S., N. Khare, N. Lakpale, and A. Kotasthane. 2018. Detection of Resistant Sources against Collar Rot of Chickpea Caused by *Sclerotium rolfsii* Sacc. Under Field Conditions. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 7: 502-505. 10.20546/ijcmas.2018.701.059.
- SIAP. 2023. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>. (Consultado marzo 2023).
- Siddique, M., A. Faruq, M. Mazumder, M. O. Khaiyam and M. Islam. 2016. Evaluation of some fungicides and bio-agents against *Sclerotium rolfsii* and foot and root rot disease of eggplant (*Solanum melongena* L.). *The Agriculturists*. 14: 92.
- Singh, B., V. Bhardwaj, K. Kaur, S. Kukreja and U. Goutam. 2021. Potato periderm is the first layer of defense against biotic and abiotic stresses: a review. *Potato Research*. 64: 131–146.
- Sridharan, A., and S. Thankappan, G. Karthikeyan, and U. Sivakumar. 2020. Comprehensive profiling of the VOCs of *Trichoderma longibrachiatum* EF5 while interacting with *Sclerotium rolfsii* and *Macrophomina phaseolina*. *Microbiological Research*. 236:126436.
- Suneeta, P., A. A. K. Eraivan and S. Nakkeeran. 2017. Evaluation of *Trichoderma* spp. and Fungicides in the management of collar rot of berbera incited by *Sclerotium rolfsii*. *Journal of Pure and Applied Microbiology*. 11 (2): 1161-116.
- Torrance, L. and M. Talianksy. 2020. Potato Virus Y emergence and evolution from the Andes of South America to become a major destructive pathogen of potato and other solanaceous crops worldwide. *Viruses*. 12 (12): 1430.

- Torres-De la Cruz, M., C.F. Ortiz-García, C. Bautista-Muñoz, J.A. Ramírez-Pool, N. Ávalos-Contreras, S. Cappello-García, *et al.*, 2015. Diversidad de Trichoderma en el agroecosistema cacao del estado de Tabasco, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 86:947-961.
- Townsend, G. R. and J. W. Heuberger. 1943. Methods for estimating losses caused by diseases in fungicide experiments. *Plant Dis Reporter*. 27 (17): 340-343.
- Tyskiewicz, R., A. Nowak, E. Ozimek and J. Jaroszek-Sciseł. 2022. *Trichoderma*: The current status of its application in agriculture for the biocontrol of fungal phytopathogens and stimulation of plant growth. *International Journal Molecular Science*. 23: 2329.
- Vikram, Kumar S, L. Ashwarya and Patel. 2023. Efficacy of Various Fungicides and Herbicides for the Management of Wheat Foot Rot Disease. *International Journal of Plant & Soil Science*. 35 (19): 1066-173.
- Vincent, J. M. 1947. Distortion of fungi hyphae in the presence of certain inhibitors. *Nature*. 159: 850.
- Vineela, D. R. S., S. K. Beura, A. Dhal and S. K. Swain. 2020. Efficacy of bio-agents, botanicals, organic amendments against groundnut pathogens *Sclerotium rolfsii* and *Aspergillus niger in-vitro*. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 9 (3): 1206-1210.
- Widmer, T. 2019. Compatibility of *Trichoderma asperellum* isolates to selected soil fungicides. *Crop Protection* 120: 91-96.
- Yajun, H., S. Huiming, D. Pei, G. Lifeng, X. Yong and W. Hanrong. 2018. Efficacy evaluation of 16% validamycin thyfluzamide SC against *Sclerotium rolfsii* in *Dendrobium officinale* Kimura *et al.* migo. *Plant diseases and Pests*. 9 (1): 41-42.
- Yao X., H. Guo, K. Zhang, M. Zhao, J. Ruan and J. Chen. 2023. *Trichoderma* and its role in biological control of plant fungal and nematode disease. *Frontier in Microbiology*. 14:116055.

- Yao, X., H. Guo, K. Zhang, M. Zhao, J. Ruan and J. Chen. 2023. *Trichoderma* and its role in biological control of plant fungal and nematode disease. *Frontiers in Microbiology*. 14:1160551.
- Yassin, M., F. Mostafa and A. Al-Askar. 2021. *In vitro* antagonistic activity of *Trichoderma harzianum* and *T. viride* strains compared to carbendazim fungicide against the fungal phytopathogens of *Sorghum bicolor* (L.) Moench. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*. 31(1): 1-9.
- Zapata, Y. and B. Botina 2023. Efecto de coadyuvantes, fungicidas e insecticidas sobre el crecimiento de *Trichoderma koningiopsis* Th003. *Revista Mexicana de Fitopatología* 41(3): 412-433.
- Zúñiga, M. and L. F. Ceja-Torres. 2017. *In vitro* antagonism of *Trichoderma harzianum* on *Sclerotium cepivorum* Berk. and *S. rolfsii* Sacc., causal agents of onion rot. *hyton-international. Journal of Experimental Botany*. 86 (1): 7-13.