



**BUAP**

**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA  
INSTITUTO DE CIENCIAS  
CENTRO DE AGROECOLOGÍA  
MAESTRIA EN MANEJO SOSTENIBLE DE AGROECOSISTEMAS**

**Control biológico de *Fusarium solani* resistente a fungicidas con cepas de *Trichoderma* spp.: Una alternativa agroecológica para el cultivo de fresa en Puebla, México.**

**TESIS**

**Que para obtener el grado de**

**MAESTRA EN MANEJO SOSTENIBLE DE AGROECOSISTEMAS**

**PRESENTA:**

**I.A. ALBA CRUZ CORONEL**

**DIRECTOR DE TESIS:**

**DR. JOSÉ FILOMENO CONTRADO PARAGUIRRE LEZAMA**

**CO-DIRECTOR:**

**DR. OMAR ROMERO ARENAS**

**ASESORES:**

**DR. JOSÉ ANTONIO RIVERA TAPIA**

**DRA. OLGA SANTIAGO TRINIDAD**

**REVISOR EXTERNO:**

**DRA. YESENIA PACHECO HERNÁNDEZ**

Febrero, 2022.

## Contenido

1. INTRODUCCIÓN .....	3
2. MARCO DE REFERENCIA .....	4
3. JUSTIFICACIÓN .....	18
4. OBJETIVOS .....	19
4.1 Objetivo general .....	19
4.2 Objetivos particulares.....	19
5. HIPÓTESIS .....	19
6. METODOLOGÍA.....	19
6.1 Identificación a nivel molecular de <i>Fusarium solani</i> .....	20
6.2 Determinación de la patogenicidad de <i>Fusarium solani</i> en plantas de fresa ( <i>Fragaria x ananassa</i> ).....	21
6.3 Evaluación del porcentaje de inhibición de <i>Fusarium solani</i> a diferentes concentraciones de fungicidas de síntesis química.....	22
6.4 Evaluación de la resistencia <i>in vitro</i> a fungicidas de las cepas de <i>Trichoderma</i> spp. .....	25
6.5 Evaluación <i>in vitro</i> del antagonismo ejercido por cepas de <i>Trichoderma</i> spp., frente al fitopatógeno <i>Fusarium solani</i> .....	28
6.6 Evaluación <i>in vitro</i> del antagonismo ejercido por cepas de <i>Trichoderma</i> spp., frente al fitopatógeno <i>Fusarium solani</i> en presencia de fungicidas.....	29
7. RESULTADOS .....	30
7.1 Caracterización a nivel molecular de <i>Fusarium solani</i> .....	30
7.2 Determinación de la patogenicidad de <i>Fusarium solani</i> en plantas de fresa ( <i>Fragaria x ananassa</i> ).....	31
7.3 Evaluación del porcentaje de inhibición de <i>Fusarium solani</i> a diferentes concentraciones de fungicidas de síntesis química.....	33
7.4 Evaluación de la resistencia <i>in vitro</i> a fungicidas de las cepas de <i>Trichoderma</i> spp. .....	40
7.5 Evaluación <i>in vitro</i> del antagonismo ejercido por cepas de <i>Trichoderma</i> spp., frente al fitopatógeno <i>Fusarium solani</i> .....	57
7.6 Evaluación <i>in vitro</i> del antagonismo ejercido por cepas de <i>Trichoderma</i> spp., frente al fitopatógeno <i>Fusarium solani</i> en presencia de fungicidas.....	59
8. CONCLUSIONES.....	72
9. RECOMENDACIONES .....	73
10. REFERENCIAS .....	74
Anexo 1. ....	91

## 1. INTRODUCCIÓN

Los hongos fitopatógenos son causantes de graves daños a los cultivos (Shi *et al.*, 2020), más de 10 000 especies de hongos son responsables de una plétora de enfermedades de plantas (Sood *et al.*, 2020). *Fusarium* es uno de los grupos más importantes de hongos fitopatógenos conocidos en la agricultura, una evaluación de la lista de enfermedades de los cultivos agrícolas y hortícolas de la Sociedad Americana de Fitopatología encuentra que 83 de 108 especies de plantas tienen una o más enfermedades de *Fusarium* que afectan a su producción (Summerell, 2019). Tradicionalmente, su manejo se realiza mediante el uso de agroquímicos con efectos biocidas (Vinchira-Villarraga y Moreno-Sarmiento, 2019). Sin embargo, se debe resaltar la resistencia que generan a estos compuestos (Carmona y Sautua, 2017), al obligar a los patógenos a sufrir mutaciones genéticas que finalmente, se atribuyen a la selección de biotipos resistentes (Sood *et al.*, 2020). Además, su uso impacta negativamente al ambiente y por ende a la capacidad productiva del suelo. Adicional a ello, la concientización y la preocupación de los consumidores por los residuos de plaguicidas en los productos alimenticios está desafiando a los productores de frutas y hortalizas a minimizar los residuos de plaguicidas sin aumentar los riesgos de producción (Rabolle *et al.*, 2006).

Desde esta perspectiva, la agroecología permite entender la problemática agrícola en términos holísticos (Gutiérrez *et al.*, 2008), la preocupación central hoy es la sostenibilidad de la agricultura (Altieri y Nicholls, 2000). Por lo tanto, lo que se busca es la sustitución de prácticas convencionales por alternativas sostenibles (Gliessman *et al.*, 2007). De este modo, la producción será menos perjudicial para el ambiente, a la vez que se reducirán los costos para los productores y los consumidores (Abountiolas *et al.*, 2018). Dicha sustitución debe realizarse paulatinamente para obtener un proceso de transición exitoso.

Con base en lo anterior, y en reemplazo del control químico de patógenos, el control biológico ha sido una práctica novedosa empleada para mantener la salud de un cultivo; este puede ser realizado mediante la introducción masiva de antagonistas, razas no patógenas u otros organismos benéficos (Sarandón y Flores, 2014). Un organismo ampliamente utilizado es el hongo *Trichoderma* spp. cuya versatilidad, adaptabilidad y fácil manipulación ha permitido su uso (Fernández-Larrea, 2001), este género ha demostrado su

capacidad antagónica contra hongos patógenos de diversos cultivos, como: tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill), ante *Phythium ultimum* y *Phytophthora capsici* (Uddin *et al.*, 2018), soya (*Glycine max* L.) frente a *Fusarium* sp., *Cercospora kikuchii* y *Phakopsora pachyrhizi* (Cruz-Triana *et al.*, 2017), pepino (*Cucumis sativus* L.) atacando a *Pseudoperonospora cubensis* (Alvarado-Aguayo *et al.*, 2019) y tomate cherry (*Solanum lycopersicum* L.) versus *Fusarium oxysporum* (Vargas-Inciarte *et al.*, 2019).

No obstante, para incorporar productos biológicos en el manejo de un cultivo, es imprescindible conocer su sensibilidad a los agroquímicos que se emplearán, con el fin de conservar su capacidad controladora y establecer medidas para su uso eficiente (Guerrero y Arias, 2012; Martínez *et al.*, 2013).

Por lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue, comprobar la patogenicidad de *Fusarium solani* en plantas de fresa. Determinar la resistencia del patógeno y las cepas antagonistas (*Trichoderma konigiopsis*, *T. asperellum*, *T. hamatum* y *T. harzianum*) a fungicidas utilizados en el cultivo de fresa (*Fragaria x ananassa*). Constatar la capacidad antagónica frente al patógeno *Fusarium solani* en presencia y ausencia de fungicidas para determinar si el control biológico y químico pueden ser empleados en conjunto en el proceso de transición a un manejo del cultivo sin el uso de productos de síntesis química, como una alternativa para minimizar el uso de estos compuestos.

## **2. MARCO DE REFERENCIA**

### **2.1 Fresa (*Fragaria x ananassa*)**

#### **2.1.1 Generalidades**

La fresa cultivada de mayor importancia corresponde a *Fragaria x ananassa*, la cual es resultado de una hibridación accidental entre *F. chiloensis* y *F. virginiana* que surgió a mediados del siglo XVII cuando se plantaron en Francia plantas de *F. chiloensis* procedentes de Chile junto a *F. virginiana* de la costa este de Estados Unidos (Hancock *et al.*, 2008).

Categoría taxonómica (Integrated Taxonomic Information system [ITIS], 2021).

Reino: *Plantae*

División: *Tracheophyta*

Subdivisión: *Spermatophytina*

Clase: *Magnoliopsida*

Orden: *Rosales*

Familia: *Rosaceae*

Género: *Fragaria L.*

Especie: *Fragaria x ananassa* (Weston) Duchesne ex Rozier

La planta es de tipo herbáceo, en tanto el sistema radicular es fasciculado y se compone de raíces y raicillas. Es pequeña, de no más de 50 cm de altura, con numerosas hojas originadas en una corona o rizoma muy corto que se encuentra a nivel del suelo y constituye la base de crecimiento de la planta. Las flores son blancas, organizadas en cimas y tienen cáliz de 5 piezas hendidas, 5 pétalos redondeados y numerosos estambres y pistilos. El fruto es resultado de la agregación de muchos carpelos secos diminutos sobre un receptáculo pulposo hipertrofiado; es rojo, tienen un sabor dulce y presenta un aroma característico (SAGARPA, 2017).

Las altas temperaturas y los días largos (más de 12 horas de luz) provocan crecimiento vegetativo excesivo; las bajas temperaturas y días cortos inducen la floración. La zona apta para producción de frutas se ubica entre 1,300 y 2,000 msnm. Prefiere suelos equilibrados, ricos en materia orgánica, aireados, bien drenados, pero con cierta capacidad de retención de agua (SAGARPA, 2017).

### **2.1.2 Importancia a nivel mundial y nacional**

Los principales países productores de fresa son China, Estados Unidos de América, México, Turquía y Egipto, los cuales en conjunto aportan más del 70% del volumen total de la producción de fresa en el mundo, en tanto que, los principales países exportadores son España, Estados Unidos de América, México, Países Bajos y Bélgica, destacando México como tercer productor y exportador de fresa en el mundo (Ramírez *et al.*, 2020).

En México hasta el año 2019 la superficie sembrada y cosechada fue de 17,170.49 ha y 16,761.49 ha respectivamente, con una producción de 95,707,117.02 t. Son 14 los estados productores, entre los que destacan Jalisco, Tlaxcala y Michoacán, que en conjunto

producen el 99.69% del total nacional, seguidos por Baja California y Guanajuato y con una menor aportación México, Aguascalientes, Baja California Sur, Zacatecas, Puebla, Oaxaca, Morelos, Chihuahua y Veracruz (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera [SIAP], 2021).

En el estado de Puebla la superficie sembrada y cosechada fue de 20.87 ha y la producción ascendía a 351.52 t, que representaba el 0.00036% a nivel nacional, situándolo en la undécima posición (SIAP, 2021).

Es importante mencionar que las tasas de crecimiento positivas y altas de la producción y exportación mundial de los principales países productores, reflejan que el cultivo de fresa se encuentra en expansión y es competitivo (Bustamante *et al.*, 2020; González *et al.*, 2019; Ramírez *et al.*, 2020). Además, Sánchez-Gómez *et al.* (2019) señala que México destaca en la exportación de productos hortofrutícolas entre los que se encuentra la fresa y, resalta que esta actividad seguirá siendo una fuente importante del Producto Interno Bruto del sector agrícola. De ahí la importancia de mantener la producción y calidad del producto.

El consumo de fresas ha atraído la atención por sus propiedades biológicas, como las actividades antioxidantes, cardioprotectora, anticancerígena, antiinflamatoria, antidiabética, antimetabólica, antiobesidad, neuroprotectora y antimicrobiana, relacionadas con los beneficios para la salud humana (Afrin *et al.*, 2016), debido a que es una fuente importante de vitaminas y minerales (Tabla 1) (USDA, 2015).

**Tabla 1.** Composición nutricional de la fresa (*Fragaria x ananassa*)

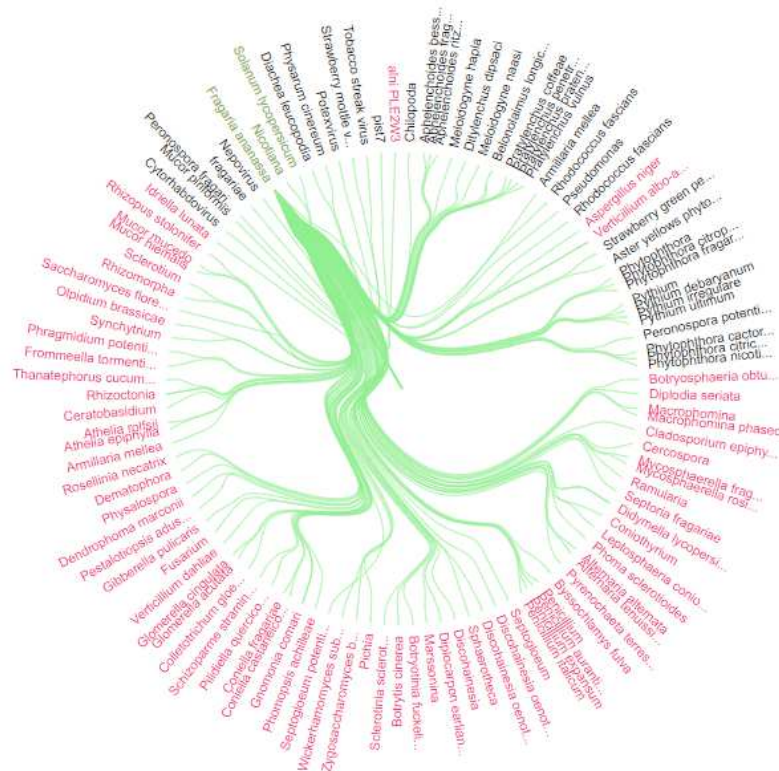
Contenido (Por 100 g de porción comestible)					
		Minerales		Vitaminas	
Agua	90.95 g	Calcio (Ca)	16 mg	Vitamina C	58.8 mg
Energía	32 kcal	Hierro (Fe)	0.41 mg	Tiamina	0.024 mg
Proteína	0.67 g	Magnesio (Mg)	13 mg	Riboflavina	0.022 mg
Lípidos	0.30 g	Fosforo (P)	24 mg	Niacina	0.386 mg
Ceniza	0.40 g	Potasio (K)	153 mg	Ácido pantoténico	0.125 mg
Carbohidratos	7.68 g	Sodio (Na)	1 mg	Vitamina B-6	0.047 mg
Fibra	2.00 g	Zinc (Zn)	0.14 mg	Ácido fólico	24 µg
Azúcar (total)	4.89 g	Cobre (Cu)	0.048 mg	Colina	5.7 mg
Sacarosa	0.47 g	Manganeso (Mn)	0.386 mg	Betaína	0.2 mg
Glucosa	1.99 g	Selenio (Se)	0.4 µg	Vitamina A	1 µg
Fructosa	2.44 g			Beta caroteno	7 µg

<b>Contenido (Por 100 g de porción comestible)</b>			
Almidón	0.04 g	Vitamina A, IU	12 IU
		Luteína y zeaxantina	26 µg
		Vitamina E (α-tocoferol)	0.29 mg
		β-tocoferol	0.01 mg
		λ-tocoferol	0.08 mg
		Δ-tocoferol	0.01 mg
		α-tocotrienol	0.01 mg
		Vitamina K (filoquinona)	2.2 µg

Considerando lo anterior, la fresa es una de las berries de mayor consumo tanto en fresco como en sus formas procesadas (Giampieri *et al.*, 2014) es materia prima popular para la industria alimentaria, empleándose para la producción de mermeladas, jugos o concentrados que posteriormente forman parte del proceso de producción de yogures, gelatinas, batidos, helados, dulces o licores (Will y Krüger, 1999).

### **2.1.3 Patógenos del cultivo**

Las enfermedades de la fresa afectan gravemente el rendimiento agronómico de la planta y provocan pérdidas económicas importantes (Mirmajlessi *et al.*, 2015). Por consiguiente, uno de los principales retos en el desarrollo del cultivo comercial de fresa, e incluso poscosecha de la fruta, es el manejo de enfermedades fúngicas, seguido por problemas bacterianos, de nemátodos y muy pocos ocasionados por virus, atacando a diversas partes de la planta como raíz, hojas, fruto, flores y corona (Figura 1) (Cano, 2013; Global Biotic Interactions [GloBi], 2021).



**Figura 1.** Patógenos de *Fragaria x ananassa*.

Fuente: <https://www.globalbioticinteractions.org/es/browse.html?interactionType=pathogenOf&resultType=json&sourceTaxon=fragaria>

Son distintos, los hongos patógenos que pueden provocar enfermedades, por mencionar algunos: *Calonectria fragariae* (Lopes *et al.*, 2018), *Pilidium concavum* (Lopes *et al.*, 2010), *Botrytis cinerea* (Kamaruzzaman *et al.*, 2018), *Colletotrichum acutatum*, *C. gloeosporioides* (El Kaissoumi *et al.*, 2018; Garrido *et al.*, 2008), *Rhizoctonia* spp. (Fang *et al.*, 2013), *Pestalotiopsis* sp. (Morales-Mora *et al.*, 2019). Además, entre los patógenos de este cultivo, se encuentran aquellos que afectan a la raíz y que finalmente, pueden llegar a causar la muerte de la planta y, en consecuencia, perdidas en la producción del fruto, entre estos se encuentra *Fusarium* sp., causante del marchitamiento.

### 2.1.3.1 Marchitamiento por *Fusarium solani*

Los síntomas del marchitamiento vascular se manifiestan en las hojas de plantas infectadas o en partes de las mismas, éstas pierden su turgencia, se debilitan, adquieren una tonalidad que va del verde claro al amarillo verdoso, decaen, se marchitan, se tornan amarillas y finalmente mueren. Las hojas marchitas pueden estar extendidas o bien enrollarse. Los retoños tiernos y jóvenes también se marchitan y mueren. Los cortes

transversales que se hacen en tallos y ramitas infectados muestran varias zonas café decoloradas dispuestas en forma de un anillo completo o interrumpido que consta de tejidos vasculares decolorados. En los vasos xilémicos de tallos, raíces y otros órganos infectados puede haber micelio y esporas del hongo (Agrios, 2020). Cuando se examinan los tejidos internos de las coronas, los tejidos vasculares y corticales son de color marrón oscuro a marrón anaranjado. Los tejidos internos de las raíces principales también pueden estar descoloridos y ser de color marrón oscuro. El estrés ambiental y otros factores pueden hacer que la enfermedad se desarrolle con mayor rapidez y gravedad. Estos factores pueden ser los siguientes: condiciones meteorológicas extremas, en particular las altas temperaturas, estrés hídrico por riego insuficiente o saturación prolongada en la zona de las raíces, malas condiciones del suelo, presión de plagas como los ácaros (Koike y Gordon, 2015).

#### **2.1.3.1.1 Clasificación taxonómica (EPPO, 2021a).**

Reino: Fungi

Filo: Ascomycota

Clase: Sordariomycetes

Orden: Hypocreales

Familia: Nectriaceae

Género: *Fusarium*

El género *Fusarium* es un grupo de hongos filamentosos ampliamente distribuidos en el suelo y las plantas. La taxonomía para este género es bastante compleja y ha sufrido diversos cambios desde las primeras descripciones hechas por Link en 1803. Al microscopio, la fiálide es generalmente fina, con forma de botella; simple o ramificada; cortas o largas; monofialídica (que emergen esporas de un poro de la fiálide) o polifialídica (de varios poros). Los macroconidios presentan forma de media luna, hialinos y septados (Tapia y Amaro, 2014).

Las especies de *Fusarium* son causantes de una gran cantidad de enfermedades en cultivos de todo el mundo y generan importantes pérdidas económicas (Villa-Martínez *et al.*, 2015). El tipo de enfermedades inducidas es variado al igual que su severidad y pueden

incluir pudriciones de raíces o tallos, canchales, marchitamientos, pudriciones de frutos o semillas y enfermedades de las hojas (Leslie y Summerell, 2006).

Este género afecta al cultivo de fresa, mostrando una amplia distribución en zonas productoras del territorio nacional. Mariscal-Amaro *et al.* (2017), aislaron de tejidos de raíz y corona hongos del género *Fusarium*, *Alternaria* y *Rhizoctonia*, siendo *Fusarium* el más frecuente, específicamente la especie *Fusarium oxysporum*. Esta especie también fue reportada por Juárez-Becerra *et al.* (2021) y Bárcenas-Santana *et al.* (2019) en el estado de Morelos como agente causal de enfermedad. En Puebla, Morales-Mora *et al.* (2020) aislaron de la corona de plantas de fresa con síntomas de marchitez a *Fusarium* sp. Por su parte, Pastrana *et al.* (2014) realizaron un primer reporte de *F. solani* como causante de enfermedad en plantas de fresa en España, y recientemente Villarino *et al.* (2019) tanto en viveros como en campos de producción; también fue reportado por Mehmood *et al.* (2017) en Pakistán, en Irán, Ayoubi y Soleimani (2016) e Italia Manici *et al.* (2005); en México existen pocos reportes de este patógeno (Ceja-Torres *et al.*, 2008).

#### **2.1.3.1.2 Control del patógeno**

##### **2.1.3.1.2.1 Control químico**

El método tradicional de control contra los hongos patógenos son los plaguicidas químicos (Gu *et al.*, 2019), aun cuando estos agentes constituyen un grupo de sustancias altamente tóxicas cuya persistencia en el ambiente conlleva graves problemas ecológicos. Esto ha supuesto un grave problema para el tratamiento de muchas enfermedades, ocasionando tanto el aumento de las dosis de fungicidas empleadas como el uso de compuestos menos específicos que afectan también, entre otros, a los microorganismos beneficiosos para las plantas (p. ej., micorrizas, rizobacterias). Por ello la tendencia actual es la de reducir significativamente el uso de estos compuestos en la agricultura (Pallás *et al.*, 2008). Para el control de enfermedades de la fresa, las medidas actuales de control implican repetidas aplicaciones de fungicidas que pueden afectar la calidad del fruto y la salud de los consumidores (Abountiolas *et al.*, 2018).

Si bien, en México no contamos con información accesible al público sobre el nombre, tipo y cantidad de cada plaguicida autorizado que se aplica (Bejarano, 2017), de acuerdo con García *et al.* (2018) se puede identificar a los fungicidas con los ingredientes

activos Mancozeb, Benomilo, Clorotalonil y Captan como los de mayor uso en el país. Cabe mencionar que los tres primeros se ubican dentro de la Lista de Plaguicidas Altamente Peligrosos utilizados en México, además de encontrarse prohibido su uso en 1, 33 y 3 países respectivamente, el Captan si bien no se encuentra en dicha lista, también se ha prohibido su uso en 6 países (Bejarano, 2017).

En los sistemas de producción de fresa en los municipios de Zacatlán, Huejotzingo, Cholula y Atlixco del estado de Puebla e Ixtenco, en Tlaxcala los plaguicidas empleados con mayor frecuencia son los clasificados como poco probable de presentar riesgo agudo en uso normal, seguidos de los moderadamente peligrosos. Según la clasificación de peligrosidad de la Organización Mundial de la Salud, destacando que en los sistemas de cultivo suelo bajo invernadero e hidropónico en invernadero el porcentaje de utilización de plaguicidas químicos eran del 70 y 80% respectivamente. Mientras que en los sistemas hidropónicos y suelo acolchado a campo abierto disminuye hasta un 50 y 40% respectivamente (Salazar *et al.*, 2017), lo que indica el uso aún elevado de estos compuestos.

El impacto negativo que generan los fungicidas no se limita al suelo y agua, este se extiende hasta seres vivos como lombrices (Amossé *et al.*, 2020), anfibios (Acquaroni *et al.*, 2021) y seres humanos, por exposición ocupacional o proximidad a fumigaciones agrícolas (Richardson *et al.*, 2019; Tao *et al.*, 2020) y el consumo de alimentos con residuos de estos compuestos (Kwon *et al.*, 2021).

Cabe resaltar, que, en el cultivo, diversos autores reportan la presencia de residuos de fungicida en el fruto, de acuerdo con Benítez-Díaz *et al.* (2015) en fresa (*Fragaria x ananassa*) se han encontrado residuos de plaguicidas entre los que se encuentra el fungicida Mancozeb con dosis de  $23 \pm 4 \text{ mg kg}^{-1}$ , cifra que supera por 2.3 veces los límites máximos de residuos establecidos por la Unión Europea, dichos residuos son directamente ingeridos por el consumidor del fruto. Así mismo, Abountiolas *et al.* (2018) registraron residuos de Captan, Fludioxonil, Penthiopyrad, Cyprodinil en variedades de fresa “Festival” y “Florida Radiance” en sistemas de producción convencional y con uso reducido de fungicidas, encontrando que en este último sistema las cantidades de fungicidas registradas eran menores. En todos los casos las dosis de este fungicida se encuentran dentro de los límites

permitidos por la USEPA (United States Environmental Protection Agency). Rabolle *et al.* (2006) reportan también la presencia de residuos de fungicidas empleados para el control del *Botrytis cinerea* siendo estos: Pyrimethanil, Fenhexamid y Tolyfluanid, cuyos residuos no superaron los límites máximos de residuos establecidos en Dinamarca. Montaña y Guerrero (2001), reportan también residuos de Captan en el fruto con un rango de concentraciones de 0.46 a 2.8 mg kg<sup>-1</sup>; valores que estuvieron por debajo de los límites máximos de residuos en fresa según Codex Alimentarius. La presencia de Clorotalonil también fue reportada por Stensvand y Christiansen (2000) en fresas cultivadas en invernadero.

Otro aspecto para considerar, es la resistencia que generan los hongos patógenos a estos compuestos químicos (Muiño *et al.*, 2007). Cabello y González (1992) reportaron que los hongos en suelos pueden tolerar la aplicación de fungicidas a dosis recomendadas en condiciones de campo, observando que en los primeros 15 días de aplicación de los fungicidas Benomil y Mancozeb individualmente y en conjunto afectaron a diversas especies, no obstante, a los 30 días lograron recolonizar el suelo. Así mismo encontraron que las especies *Aspergillus foetidus*, *A. fumigatus* y *Trichoderma koningii* eran tolerantes a tratamientos con Benomil a diferencia de *Aspergillus flavus*, *A. foetidus*, *Fusarium oxysporum*, *Gliocadium roseum* y *Rhizopus stolonifer* que lo eran a Mancozeb.

La resistencia a los fungicidas se ha relacionado con la mutación del gen  $\beta$ -tubulina; Liu *et al.* (2019) analizaron aislados de *Botrytis cinerea* encontrando que el 74.4% eran resistentes a los Benzimidazoles, los cuales tenían mutaciones en dicho gen, en los codones 198 (E198A, E198V, E198K ) y 200 (F200Y), siendo el E198A el que tuvo una mayor frecuencia con un 81.9%. Por otro lado Sautua *et al.* (2019) reportaron que los aislados de *Botrytis cinerea* con resistencia a Carbendazim presentaban una mutación puntual del gen  $\beta$ -tubulina en el codón 198 (E198A), en contraste los resistentes a Procymidone presentaban dos mutaciones puntuales del gen de la histidina quinasa en las posiciones 369 (Q369P) y 373 (N373S). Así mismo, Gu *et al.* (2019) aplicaron segmentos de  $\beta$ -tubulina a hongos patógenos, encontrando que uno de los segmentos les confería sensibilidad al Carbendazim. De igual forma para aislados de *C. gloeosporioides* la resistencia a

Benzimidazoles se asoció con una mutación puntual en el codón 198 y 200, ambos del gen *β-tubulina* (Lin *et al.*, 2016).

#### **2.1.3.1.2.1.1 Captan**

Ingrediente activo (i.a.): Captan ( $C_9H_8Cl_3NO_2S$ ) que corresponde a una Dicarboximida, es un miembro de los Isoindoles, un compuesto organoclorado, un compuesto organosulfurado y un fungicida ftalimida (National Center for Biotechnology Information [NCBI], 2021b), fungicida de amplio espectro y actividad multisitio, se degrada a la sustancia reactiva tiofosgeno, tóxico para las células fungicas, como resultado de la hidrólisis, así como de la reacción química en presencia de grupos tiol (Arce *et al.*, 2010), que reduce la actividad enzimática y respiración celular, dificulta el crecimiento y desarrollo micelial e inhibe la germinación de esporas (Scariot *et al.*, 2017). La persistencia del tratamiento varía de 5 a 20 días, que puede reducirse con lluvia continua (NCBI, 2021b).

Es utilizado para controlar enfermedades de cultivos frutales, ornamentales y hortícolas, entre los que se encuentran: chícharo, chile, tomate, mango, manzano, vid, zanahoria, etc. En fresa su uso está recomendado para el tratamiento de la mancha o peca de la hoja ocasionada por *Mycosphaerella fragariae* y moho gris por (*Botrytis cinerea*). Así mismo, dentro de campo de actividad también se encuentra a *Fusarium* sp. causante de la fusariosis o pudrición radical (NCBI, 2021b).

#### **2.1.3.1.2.1.2 Mancozeb**

El ingrediente activo: Mancozeb ( $C_4H_6N_2S_4Mn-C_4H_6N_2S_4Zn$ ) (NCBI, 2021d) es un ditiocarbamato, con actividad fungicida preventiva que actúa por contacto, su modo de acción es multisitio, interfiere con los grupos sulfhidrilos de enzimas de los procesos bioquímicos de las células fúngicas (Yang *et al.*, 2019); el efecto sobre estos tiene como resultado la inhibición de la germinación de esporas (Gullino *et al.*, 2010).

Se considera poco persistente en el suelo con una vida media de 1 a 7 días. Se degrada de forma rápida y espontánea en etilenotiourea (ETU) en presencia de agua y oxígeno, ésta puede persistir durante un período de 5 a 10 semanas (FAO, 2022).

En fresa se recomienda su uso para el tratamiento de peca de la hoja ocasionada por *Mycosphaerella fragariae* y en su campo de acción también se encuentra el hongo *Fusarium* sp. causante de la fusariosis, pudrición radical y marchitez. Su uso en cultivos es amplio, pudiéndose aplicar en frutas, frutos secos, verduras y plantas ornamentales, como: algodón, apio, cacahuate, avena, cebada, espárrago, etc. contra diversos patógenos de dichos cultivos (NCBI, 2021d).

En el cultivo de fresa es utilizado en sistemas de producción hidropónico en invernadero y en suelos con acolchado plástico a campo abierto de acuerdo con Salazar *et al.* (2017).

#### **2.1.3.1.2.1.3 Clorotalonil**

Ingrediente activo: Clorotalonil ( $C_8Cl_4N_2$ ) (NCBI, 2021c) es un aromático policlorado. Es un fungicida no sistémico, de amplio espectro, causa el retraso en el crecimiento del micelio y la inhibición de la germinación de las esporas (United States Environmental Protection Agency [US EPA], 1999). La toxicidad para las células fúngicas se debe a la unión del Clorotalonil con los grupos sulfhidrilo de las proteínas celulares, su modo de acción se ha atribuido a su capacidad para unirse al glutatión (GHS) celular, también es capaz de unirse e inhibir la gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa (GAPDH), enzima necesaria para la glucólisis. Se considera poco persistente, variando de 6 a 43 días. (Briggs *et al.*, 2002; Caux *et al.*, 2015).

Dentro de su amplio campo de actividad se encuentran la Fusariosis, pudrición radical y marchitez ocasionada por *Fusarium* sp., y su aplicación está recomendada para diversos cultivos como son: apio, cacahuate, calabaza, cebolla, ajo, etc. Salazar *et al.* (2017) reportan su uso en el cultivo de fresa en el sistema de cultivo en suelo bajo condiciones de invernadero.

#### **2.1.3.1.2.1.4 Benomil**

Ingrediente activo, benomilo ( $C_{14}H_{18}N_4O_3$ ), es un miembro de la clase de los benzimidazoles. Es un fungicida foliar que se utiliza para controlar una amplia gama de ascomicetos y hongos imperfectos causantes de enfermedades en cultivos de campo, hortalizas, plantas ornamentales, césped y árboles. Es un potente inhibidor de la síntesis de

ADN en los hongos. (NCBI, 2021a). Se considera altamente persistente, su vida media es de hasta 12 meses.

#### **2.1.3.1.2.2 Control biológico**

El control biológico se define como un método de gestión de enfermedades utilizando enemigos naturales (Barrat *et al.*, 2018), es una forma importante de controlar las enfermedades en plantas ocasionadas por hongos, especialmente para patógenos transmitidos por el suelo (Nofal *et al.*, 2021).

En comparación con los plaguicidas químicos, el biocontrol es una mejor opción para un manejo sostenible, debido a que reduce el riesgo para la salud humana y ambiente (Ab Rahman *et al.*, 2018).

##### **2.1.3.1.2.2.1 *Trichoderma* spp.**

###### **2.1.3.1.2.2.1.1 Clasificación taxonómica (EPPO, 2021b).**

Reino: Fungi

Filo: Ascomycota

Clase: Sordariomycetes

Orden: Hypocreales

Familia: *Hypocreaceae*

Género: *Trichoderma*

Las especies de *Trichoderma* han sido estudiadas durante más de 70 años como antagonistas de hongos fitopatógenos (Campanioni *et al.*, 2019), se caracterizan por ser hongos saprófitos, que sobreviven en suelos con diferentes cantidades de materia orgánica, las cuales son capaces de descomponerla y en determinadas condiciones pueden ser anaerobios facultativos, lo que les permite mostrar una mayor plasticidad ecológica. Las especies de *Trichoderma* se encuentran presentes en todas las latitudes, desde las zonas polares hasta las ecuatoriales. Esta distribución tan amplia y su plasticidad ecológica están estrechamente relacionadas con la alta capacidad enzimática que poseen para degradar sustratos, un metabolismo versátil y una resistencia a inhibidores microbianos (Infante *et al.*, 2009).

La mayoría de las colonias de *Trichoderma* en su inicio tienen color blanco, que se tornan a verde oscuro o amarillento, con esporulación densa. El micelio es ralo en su mayoría, y visto al microscopio es fino, los conidióforos son ramificados, parecen un árbol pequeño. Los mismos se presentan como penachos compactados que forman anillos con un sistema de ramas irregulares de manera piramidal. Éstos terminan en fiálides donde se forman las esporas asexuales o conidios, de gran importancia para la identificación taxonómica a nivel de especies. Los conidios aseguran las generaciones del hongo durante gran parte del período vegetativo de las plantas. Son haploides y su pared está compuesta por quitina y glucanos. Además de los conidióforos, los conidios se pueden producir sobre fiálides que emergen directamente del micelio (Infante *et al.*, 2009).

*Trichoderma* spp., presenta diversos mecanismos de acción frente a fitopatógenos, entre estos se encuentran: antibiosis, competencia (por espacio y nutrientes), micoparasitismo, desactivación de enzimas de los patógenos y otros. Además, se han identificado nuevos mecanismos con los cuales *Trichoderma* ejerce su acción como antagonista y colonizador de las raíces, como son: aceleración del desarrollo del sistema radicular que posibilita la tolerancia al estrés por parte de la planta, solubilización y absorción de nutrientes inorgánicos, estimulación del crecimiento vegetal e inducción de resistencia (Martínez *et al.*, 2013).

Se ha demostrado, además, que *Trichoderma* spp. tiene actividad antagónica contra aquellos patógenos que presentan resistencia a fungicidas; Yassin *et al.* (2021) en condiciones *in vitro* mostraron la eficacia de *T. harzianum* y *T. viride* contra *Curvularia lunata*, *Fusarium chlamydosporum*, *F. incarnatum*, *F. proliferatum*, *Macrophomina phaseolina* y *Exserohilum rostratum* patógenos del sorgo, resaltando que estos últimos presentaron resistencia al fungicida Carbendazim.

La posibilidad de generar un efecto sinérgico con la aplicación de fungicidas y antagonistas biológicos, como *Trichoderma* spp. también ha sido reportada por diversos autores. En casos en los que el control biológico por sí solo a veces no es suficiente para erradicar o reducir los propágulos de los patógenos, los métodos de integración entre los agentes de control biológico y los fungicidas podrían ser eficaces (Abd-El-Khair *et al.*, 2019).

Terrero *et al.* (2018) reportan la compatibilidad de especies de *Trichoderma* con los fungicidas Azoxistrobina e Hidróxido de cobre, encontrando que con el primero se tiene mayor compatibilidad, alcanzando incluso un valor de 88.6% con *T. ovalisporum*, mientras que con el segundo apenas se alcanza un 59.3%. Los mismos autores reportan que el óxido de cobre inhibe en un 100% el crecimiento de las especies evaluadas. Así mismo Ruano-Rosa *et al.* (2018) emplearon *Trichoderma* spp. y el fungicida Fluazinam a bajas concentraciones (0.01 y 0.05 mg L<sup>-1</sup>) para el control de *R. necatrix* encontrando que la aplicación de los tres aislados de forma individual inhibieron significativamente el crecimiento del patógeno respecto al control, además, al aplicarse en conjunto con el fungicida, en el caso de la cepa de *T. atroviride* (CH101), mostró mayor efectividad que los tratamientos en los que se utilizaron de manera individual, alcanzado un 36% de inhibición; la aplicación del fungicida *in vivo* también mejoró el efecto individual del antagonista en plantas de aguacate. Wang *et al.* (2005) registraron un mayor control de la pudrición de raíz ocasionada por *Fusarium* sp. así como la sobrevivencia de plántulas de equinácea con la combinación de *Trichoderma* y Fludioxonil.

Lorito *et al.* (1994) mostraron la sinergia entre la endoquitinasa de *Trichoderma harzianum* en conjunto con fungicidas sintéticos contra *B. cinerea*, observando que el nivel de sinergismo parece incrementar cuando se combinan toxinas que tienen sitios de acción primarios asociados a la membrana, en comparación con aquellos con sitios de acción múltiples o citoplasmáticos. Abd-El-Khair *et al.* (2019) reportan que la incidencia de damping-off y de la podredumbre de la raíz causada por *Fusarium solani* y *F. oxysporum* en frijol bajo condiciones de campo, disminuyeron con la combinación de tiofanato de metilo con *Trichoderma* spp. comparado con aplicaciones individuales de ellos, cabe resaltar que *Trichoderma* tuvo un mejor desempeño que el fungicida en el control de ambas enfermedades. Así mismo, en conjunto mejoraron el crecimiento e indujeron una mayor producción de enzimas de defensa en las plantas (peroxidasa, polifenoloxidasas y quitinasa) comparado con su uso individual.

#### **2.1.3.1.2.2.1.2 *Trichoderma* spp. en el cultivo de fresa**

Se ha demostrado la capacidad de biocontrol de diversos patógenos usando *Trichoderma* spp. en el cultivo de fresa (Tabla 2.).

**Tabla 2.** Uso de *Trichoderma* spp. en el cultivo de fresa

<b>Cepa</b>	<b>Patógeno</b>	<b>Efecto</b>	<b>Autores</b>
<i>T. harzianum</i> <i>T. lignorum</i>	<i>B. cinerea</i>	Disminución de la incidencia y severidad de la enfermedad y mejora en la calidad de los frutos.	Merchán-Gaitán <i>et al.</i> (2014).
<i>T. harzianum</i> <i>T. viride</i> <i>T. virinis</i> <i>T. koningii</i>	<i>F. solani</i> <i>R. solani</i> <i>Phytium sp.</i>	<i>Trichoderma</i> spp., redujeron significativamente el crecimiento del área de los tres patógenos, redujeron la incidencia y severidad de la enfermedad, incrementaron el peso fresco y seco de las plantas de fresa además de incrementar la actividad de enzimas peroxidasa y quitinasa de las mismas.	Abd-El-Kareem <i>et al.</i> (2019).

En el cultivo de fresa, Lombardi *et al.* (2020) demostró el efecto benéfico en el ácido harzianico, 6-pentil- $\alpha$ -pirona y la hidrofobina, metabolitos de *Trichoderma harzianum* y *T. longibrachiatum* respectivamente sobre el crecimiento y rendimiento del cultivo y en rasgos relacionados con la calidad del fruto.

*Trichoderma harzianum*, *T. viride*, *T. koningii* y *T. hamatum* se encuentran entre las especies más destacadas de este género con efectos beneficiosos en el control de hongos fitopatógenos y las de mayor aplicación en el desarrollo de la agricultura sostenible (Campanioni *et al.*, 2019).

### 3. JUSTIFICACIÓN

El hongo patógeno *Fusarium solani* es causante de enfermedades en diversos cultivos, entre, ellos, el de fresa, sin embargo, su control se realiza principalmente con la aplicación de fungicidas sintéticos, los cuales pueden inducir la resistencia del patógeno y además causar un impacto negativo al ambiente. De ahí que se busque controlar mediante cepas de *Trichoderma* spp. con capacidad antagonista y que además presenten resistencia a fungicidas empleados en el control de enfermedades del cultivo, lo que permitirá su uso

dentro de un programa integral de manejo de la enfermedad en el cultivo, que permita la transición hacia la disminución y/o eliminación del uso de fungicidas.

#### **4. OBJETIVOS**

##### **4.1 Objetivo general**

Evaluar la capacidad de control biológico de cuatro cepas de *Trichoderma* spp. contra el fitopatógeno *Fusarium solani* resistentes a fungicidas *in vitro*.

##### **4.2 Objetivos particulares**

1. Caracterizar a nivel molecular la cepa de *Fusarium solani*.
2. Evaluar la patogenicidad de *Fusarium solani* en plantas de fresa (*Fragaria x ananassa*).
3. Evaluar la resistencia *in vitro* de *Fusarium solani* a diferentes concentraciones de fungicidas sintéticos.
4. Evaluar la resistencia *in vitro* de *Trichoderma konigiopsis*, *T. asperellum*, *T. hamatum* y *T. harzianum* a diferentes concentraciones de fungicidas sintéticos.
5. Evaluar el antagonismo *in vitro* de *Trichoderma konigiopsis*, *T. asperellum*, *T. hamatum* y *T. harzianum* contra *Fusarium solani*.
6. Evaluar el antagonismo *in vitro* de *Trichoderma konigiopsis*, *T. asperellum*, *T. hamatum* y *T. harzianum* contra *Fusarium solani* a diferentes concentraciones de fungicidas sintéticos.

#### **5. HIPÓTESIS**

Las cepas de *Trichoderma* spp. presentarán resistencia a los fungicidas y actuarán como antagonistas de *Fusarium solani* ejerciendo el control biológico del mismo.

#### **6. METODOLOGÍA**

El presente trabajo se desarrolló en el Laboratorio 204 Hongos Comestibles y Patología Vegetal, Ecocampus Valsequillo, de la Benémrita Universidad Autónoma de Puebla, ubicado en el Edificio VAL 1, Km 1.7 Carretera a San Baltazar Tetela, San Pedro Zacachimalpa, Puebla, Puebla.

## 6.1 Identificación a nivel molecular de *Fusarium solani*.

Se extrajo ADN de conidios, conidióforos y micelio de los aislados obtenidos con características morfológicas asociadas a *F. solani*, mediante el método CTAB 2% (Rivera-Jiménez *et al.*, 2018). Para la amplificación se utilizó los cebadores de las regiones del espaciador transcrito interno (ITS por sus siglas en inglés) con los iniciadores ITS5 e ITS4 (White *et al.*, 1990) y confirmado mediante la secuenciación de una parte del gen del factor de elongación de traducción-1 alfa (EF-1 $\alpha$ ) utilizando los cebadores EF1 y EF2 (Villarino *et al.*, 2019). Los productos de PCR amplificados se verificaron mediante electroforesis en un gel de agarosa al 1.5 % (Seakem, CA, USA). Posteriormente se purificaron y ligaron en pGEM T-Easy Vector (Promega) y se enviaron para secuenciación directa desde ambas direcciones a la compañía pública de biotecnología Macrogen ubicada en la ciudad de Seúl, Corea del Sur. Las secuencias se ensamblaron y editaron utilizando SeqMan (DNAStar, Madison, WI, EE. UU.) y se compararon con secuencias establecidas en el GenBank <sup>TM</sup> utilizando el algoritmo Blast.

Las alineaciones de secuencia ITS y EF-1 $\alpha$  fueron realizadas en el software MEGAX (Kumar *et al.*, 2018; Stecher *et al.*, 2020) utilizando el Algoritmo CLUSTALW (Thompson *et al.*, 1994) refinado con MUSCLE (Edgar, 2004) y editado manualmente. La historia evolutiva se infirió utilizando el método de máxima verosimilitud y el modelo de Tamura-Nei (Tamura y Nei, 1993) generado a partir de las secuencias ITS-TEF concatenadas, aplicando algoritmos Neighbour-Join y BioNJ a una matriz de distancias por pares estimadas utilizando el modelo Tamura-Nei. El análisis involucró 10 secuencias de nucleótidos concatenadas (Tablas 3 y 4). Hubo un total de 2363 posiciones en el conjunto de datos final por 1000 pseudorreplacados de datos bootstrap de máxima verosimilitud.

**Tabla 3. Accesos ITS**

<b>Cepa</b>	<b>No. Acceso</b>	<b>Identidad (%)</b>	<b>Pares de bases</b>	<b>País</b>
SVY-402-1	KJ437436	100.00	937	EU
GuangX17	KY785014	100.00	539	China
CB24 4	MN637861	100.00	531	China
MJ	MH300474	100.00	1078	España
MY	MH300482	100.00	1078	España
MS	MH300452	100.00	1078	España
MRC 2635	MH582403	100.00	999	India
MRC 2805	MH582404	100.00	999	India
NRRL 52778	JF740931	100.00	1004	Syria
Esm3	KJ936621	100.00	954	Colombia

**Tabla 4. Accesos EF-1 $\alpha$** 

<b>Cepa</b>	<b>No. Acceso</b>	<b>Identidad (%)</b>	<b>Pares de bases</b>	<b>País</b>
SVY-402-1	KM044428	100.00	630	EU
GuangX17	KY785024	99.85	725	China
CB24 4	MN650097	100.00	715	China
MJ	MH300509	99.85	672	España
MY	MH300517	99.85	672	España
MS	MH300523	99.85	672	España
MRC 2635	MH582423	100.00	680	India
MRC 2805	MH582424	100.00	680	India
NRRL 52778	JF740846	100.00	1001	Syria
Esm3	JX465113	100.00	632	Colombia

## **6.2 Determinación de la patogenicidad de *Fusarium solani* en plantas de fresa (*Fragaria x ananassa*).**

Para evaluar la patogenicidad se aplicaron los postulados de Koch que establecen: 1. El patógeno debe encontrarse asociado con la enfermedad en todas las plantas enfermas que se examinen, 2. El patógeno debe aislarse y desarrollarse en un cultivo puro en medios

nutritivos y se deben escribir sus características, 3. El patógeno que se desarrolle en un cultivo puro debe ser inoculado en plantas sanas de la misma variedad o especie en que apareció la enfermedad y debe producir la misma enfermedad en las plantas inoculadas y 4. El patógeno debe aislarse una vez más en un cultivo puro y sus características deben corresponder a las anotadas en el segundo punto (Agrios, 2020).

Cincuenta plantas de fresa variedad “Camino Real” proporcionadas por agricultores locales fueron transplantadas en macetas de plástico de 1 L, utilizando como sustrato una mezcla de Peatmoss y Agrolita (1:1 v/v) previamente esterilizada. Se realizó la inoculación de la cepa identificada como “MA-FC120” mediante aspersion directa con una concentración de  $1 \times 10^5$  conidios  $\text{mL}^{-1}$  (Morales-Mora *et al.*, 2019). Las plantas se mantuvieron en condiciones de invernadero (25°C y 70% de humedad relativa).

Se realizó el monitoreo diario de las plantas inoculadas, para el registro de síntomas de la enfermedad. Posteriormente, la corona y raíces de las plantas que presentaron síntomas se cortaron en secciones de 1 x 1 cm, esterilizándolas con hipoclorito de sodio al 1% por un periodo de 30 segundos, posteriormente se enjuagaron tres veces con agua estéril. Los fragmentos se colocaron en placas de Petri con medio PDA, incubándose en condiciones de oscuridad por un periodo de 11 días (Miguel-Ferrer *et al.*, 2021), finalmente, se realizó la observación del aislamiento para la identificación de características morfológicas.

### **6.3 Evaluación del porcentaje de inhibición de *Fusarium solani* a diferentes concentraciones de fungicidas de síntesis química.**

#### **6.3.1 Procedencia de material biológico**

La cepa de *Fusarium solani* (MA-FC120) fue proporcionada por el laboratorio 204 de Hongos Comestibles y Patología Vegetal de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, de plantas con síntomas asociados al género *Fusarium*, aisladas de tejido vegetal con pudrón en tallo y raíz de una parcela de cultivo de fresa var. “Camino Real” durante la producción verano-otoño 2020, ubicada en la comunidad de Analco de Ponciano Arriaga (Santa Cruz Analco), municipio de San Salvador el Verde, Estado de Puebla, México.

Los fungicidas cuyos ingredientes activos corresponden a Captan, Mancozeb, Clorotalonil y Benomil fueron adquiridos a través de una comercializadora de insumos agrícolas ubicada en el municipio de Puebla, todos en presentación de polvo humectable.

### 6.3.2 Evaluación del porcentaje de inhibición

La evaluación del porcentaje de inhibición de los fungicidas sobre la cepa de *Fusarium solani* se realizó en tres concentraciones (Anexo 1), con un total de 13 tratamientos, incluyendo el control (Tabla 5.).

**Tabla 5.** Identificación de tratamientos de *Fusarium solani* en medio adicionado con fungicidas.

Tratamientos	Fungicida (i.a.)	Concentración (mg L <sup>-1</sup> )
TF0	Agua destilada	0
TF1, TF2, TF3	Captan	450, 900, 1350
TF4, TF5, TF6	Mancozeb	600, 1200, 1800
TF7, TF8, TF9	Clorotalonil	450, 900, 1350
TF10, TF11, TF12	Benomil	250, 500, 750

Se preparó medio de cultivo a base de agar papa-dextrosa disuelto en agua destilada, esterilizado en autoclave a 121 °C a 15 lb por 15 minutos, se dejó enfriar, posteriormente se añadieron las soluciones del fungicida a las diferentes concentraciones, para el control se adicionó agua estéril, el medio fue vertido en cajas Petri de 90 x 15 mm, una vez gelificado se colocaron discos de 0.5 cm de diámetro del patógeno *Fusarium solani*. Se procedió a incubar las placas a una temperatura de 28 °C en oscuridad, durante 10 días. Por cada concentración y el control se tuvieron tres repeticiones, en un diseño experimental completamente al azar.

Se registró el diámetro del crecimiento micelial cada 12 horas con un Vernier digital (CD-6 Mitutoyo), en dos direcciones, hasta que el control cubrió el 100% de la caja Petri. Para estimar la velocidad de crecimiento (cm d<sup>-1</sup>), se empleó la función de crecimiento lineal.

$$y = mx + b$$

Donde:

y = es la distancia

m = pendiente

x = es el tiempo

b = el factor constante.

Para calcular el porcentaje de inhibición del crecimiento se aplicó la fórmula de Sundar *et al.*, 1995.

$$PI = \frac{(X-Y)}{X} \times 100$$

Dónde:

PI = Porcentaje de inhibición

X=Diámetro de la colonia en placa control

Y=Diámetro de la colonia en placa tratada

La toxicidad de cada fungicida fue determinada con los porcentajes de inhibición obtenidos, para lo cual se utilizó la escala de clasificación establecida por la Organización Internacional de Lucha Biológica (OILB) (Castellanos *et al.*, 2015), indicada en la Tabla 6.

**Tabla 6.** Escala de clasificación de toxicidad establecida por la OILB.

Inhibición del crecimiento (%)	Clasificación
<30	Inofensivo
30-75	Ligeramente tóxico
75-90	Moderadamente tóxico
>90	Tóxico

El análisis estadístico se realizó con el software IBM SPSS Statistics versión 25, con un diseño factorial completamente al azar. Los datos de porcentaje de inhibición fueron transformados aplicando la corrección un arco-coseno angular  $\sqrt{x+1}$  para normalizar los datos, posteriormente se analizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA MULTIVARIANTE) con el modelo cuadrático de respuesta en función del porcentaje de inhibición, tasa de desarrollo ( $\text{mm h}^{-1}$ ) y velocidad de crecimiento ( $\text{mm día}^{-1}$ ) para determinar las diferencias estadísticas significativas entre tratamientos, con el siguiente modelo matemático:

$$I_{ij} = \mu + t_i + \varepsilon_{ij}$$

Donde:

$I_{\gamma j}$ = Valor de la variable de respuesta de la unidad experimental asociada al  $\gamma$ -ésimo tratamiento,  $j$ -ésima repetición;

$\mu$  corresponde al promedio general de la variable de respuesta en el experimento;

$t_i$  es el efecto del  $\gamma$ -ésimo tratamiento;

$\epsilon_{ij}$  es el error de la unidad experimental asociada con el  $\gamma$ -ésimo tratamiento;

$j$ -ésima repetición;

$\gamma$  es igual a 1, 2, 3,4 ... 13;

$j$  es igual a 1, 2, 3.

I: Variable bajo estudio (Porcentaje de inhibición).

#### **6.4 Evaluación de la resistencia *in vitro* a fungicidas de las cepas de *Trichoderma* spp.**

##### **6.4.1 Procedencia de material biológico y químico**

Las cepas *Trichoderma konigiopsis*, *T. asperellum* y *T. hamatum*. fueron proporcionadas por la Dra. Petra Andrade Hoyos, aisladas de suelos con producción de aguacate (*Persea americana*) y *T. harzianum* por el Dr. Omar Romero Arenas del Laboratorio 204 Hongos Comestibles y Patología Vegetal de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Todas las cepas se encuentran secuenciadas y registradas en la base de datos del National Center of Biological Information (NCBI), cuyos identificadores se indican en la Tabla 7.

**Tabla 7.** Identificación de cepas de *Trichoderma* spp.

<b>Especies de <i>Trichoderma</i></b>	<b>Número de acceso (identificador)</b>	<b>Procedencia</b>
<i>T. konigiopsis</i> T-K11	MK791648	Jalisco, México
<i>T. asperellum</i> T-AS1	MK778890	Hidalgo, México
<i>T. hamatum</i> T-A12	MK791650	Veracruz, México
<i>T. harzianum</i> TH-4	MK779064	Puebla, México

Los fungicidas cuyos ingredientes activos corresponden a Captan, Mancozeb, Clorotalonil y Benomil fueron adquiridos a través de una comercializadora de insumos agrícolas ubicada en el municipio de Puebla, todos en presentación de polvo humectable.

#### 6.4.2 Evaluación de la resistencia de *Trichoderma spp.* a fungicidas

Para determinar la capacidad de resistencia de *Trichoderma spp.* a los fungicidas se evaluaron dos variables, el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial y el porcentaje de esporulación. Se establecieron 52 tratamientos con cuatro repeticiones (Tabla 8).

**Tabla 8.** Identificación de tratamientos de *Trichoderma spp.* en medio adicionado con fungicidas.

Tratamientos	Fungicida (i.a.)	Concentración (mg L <sup>-1</sup> )	Cepa
Ta0	Agua	0	<i>T. asperellum</i>
Th0	Agua	0	<i>T. hamatum</i>
Thr0	Agua	0	<i>T. harzianum</i>
Tk0	Agua	0	<i>T. konigiopsis</i>
Ta1, Ta2, Ta3	Captan	450, 900, 1350	<i>T. asperellum</i>
Ta4, Ta5, Ta6	Mancozeb	600, 1200, 1800	
Ta7, Ta8, Ta9	Clorotalonil	450, 900, 1350	
Ta10, Ta11, Ta12	Benomil	250, 500, 750	
Th1, Th2, Th3	Captan	450, 900, 1350	<i>T. hamatum</i>
Th4, Th5, Th6	Mancozeb	600, 1200, 1800	
Th7, Th8, Th9	Clorotalonil	450, 900, 1350	
Th10, Th11, Th12	Benomil	250, 500, 750	
Thr1, Thr2, Thr3	Captan	450, 900, 1350	<i>T. harzianum</i>
Thr4, Thr5, Thr6	Mancozeb	600, 1200, 1800	
Thr7, Thr8, Thr9	Clorotalonil	450, 900, 1350	
Thr10, Thr11, Thr12	Benomil	250, 500, 750	

El medio de cultivo utilizado fue agar papa-dextrosa, esterilizado en autoclave a 121 °C a 15 lb de presión durante 15 minutos, se dejó enfriar y se añadieron las soluciones de cada uno de los fungicidas para obtener las concentraciones indicadas en la Tabla 8, para el

tratamiento control se adicionó agua estéril. Posteriormente el medio fue vertido en cajas Petri de 90 x 15 mm, una vez gelificado se colocaron discos de 5 mm de diámetro de cada una de cepas de *Trichoderma* spp. de 5 días de edad. Por cada concentración y el control se realizaron cuatro repeticiones. Las placas se incubaron a una temperatura de 27 °C en oscuridad.

Se registró el diámetro del crecimiento micelial diario, hasta que el control alcanzó a cubrir el 100% de la caja de Petri. Para calcular el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial se aplicó la fórmula planteada por Sundar *et al.* (1995).

De igual forma se determinó la toxicidad en función de los porcentajes de inhibición obtenidos, con base en la escala de clasificación establecida por la OILB utilizada por Castellanos *et al.* (2015).

Para medir el efecto de cada uno de los fungicidas sobre la capacidad de formación de esporas, se tomaron discos de 0.5 cm de cada una de las cepas provenientes de los medios con fungicidas y control, se colocaron en 2 mL de agua estéril con Tween 80 al 0.01%. Se preparó una suspensión de esporas, llevando la solución a 10 ml de volumen final con agua estéril, la solución se colocó en tubos de ensayo de 160 x 20 mm. Cada tubo se colocó en el agitador Vortex durante 30 segundos y se procedió al conteo de conidios (conidios mL<sup>-1</sup>) en la cámara de Neubauer. Se calculó cuanto representa el porcentaje de esporulación para cada tratamiento de fungicida en relación con el control (Castellanos *et al.*, 2015).

Para conocer la compatibilidad de cada fungicida sobre las cepas de *Trichoderma* spp., se aplicó la siguiente fórmula (Castellanos *et al.*, 2015):

$$T = \frac{20(CV) + 80(ESP)}{100}$$

*Donde:*

T=Valor corregido para la clasificación del producto.

CV=Porcentaje de crecimiento vegetativo del tratamiento con relación al testigo.

ESP=Porcentaje de esporulación del tratamiento con relación al testigo.

Los valores de T se clasificaron según la escala establecida por Alves *et al.*, 1998.

**Tabla 9.** Escala de toxicidad establecida por Alves *et al.*, 1998.

0 a 30	Muy tóxico
31 a 45	Tóxico
46 a 60	Moderadamente tóxico
>60	Compatible

El diseño del experimento fue completamente al azar con cuatro repeticiones. Los datos fueron analizados mediante un análisis de varianza, normalizando previamente los datos, y aplicando la prueba Tukey para la comparación de medias ( $p \leq 0.05$ ).

### **6.5 Evaluación *in vitro* del antagonismo ejercido por cepas de *Trichoderma* spp., frente al fitopatógeno *Fusarium solani*.**

Para la evaluación del antagonismo de las cepas de *Trichoderma* spp., frente a *Fusarium solani* se evaluó la competencia por nutrientes y espacio mediante la técnica de cultivo dual (Guigón-López *et al.*, 2010). Para ello se preparó medio de cultivo papa-dextrosa-agar (PDA), se procedió a su esterilización en autoclave a 121 °C y 15 lb de presión, se vertió en cajas de Petri de 90 x 15 mm. Una vez gelificado se colocaron discos de 5 mm del micelio del antagonista y del fitopatógeno en los extremos de la caja de Petri a una distancia entre ellos de 6 cm, para el control se sembró separadamente el fitopatógeno sin el antagonista. Se efectuaron las mediciones del crecimiento del micelio cada 8 horas.

Se calculó el porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) con la siguiente fórmula (Ezziyyani *et al.*, 2004):

$$\text{PICR} = \frac{(R1-R2)}{R1} * 100$$

Dónde:

R1: Diámetro del patógeno testigo

R2: Diámetro del patógeno en enfrentamiento

Finalmente, para determinar el grado de antagonismo se empleó la Escala planteada por Bell *et al.* (1982) y utilizada por Garrido y Vilela (2019) (Tabla 10).

**Tabla 10.** Grado de antagonismo, escala planteada por Bell *et al.* (1982).

<b>Grado</b>	<b>Capacidad antagónica</b>
1	<i>Trichoderma</i> coloniza el 100% de la superficie del medio y crece sobre el fitopatógeno
2	<i>Trichoderma</i> coloniza dos terceras partes de la superficie del medio de cultivo y limita el crecimiento del fitopatógeno.
3	<i>Trichoderma</i> y el fitopatógeno colonizan cada uno la mitad de la superficie, ningún hongo domina.
4	El fitopatógeno coloniza dos terceras partes de la superficie del medio y limita el crecimiento de <i>Trichoderma</i> spp.
5	El fitopatógeno coloniza el 100% de la superficie del medio y crece sobre <i>Trichoderma</i> spp.

Se desarrolló el experimento con cuatro repeticiones, el análisis estadístico de datos se realizó aplicando un análisis de varianza, previa normalización de datos y una prueba de comparación de medias Tukey ( $p \leq 0.05$ ).

#### **6.6 Evaluación *in vitro* del antagonismo ejercido por cepas de *Trichoderma* spp., frente al fitopatógeno *Fusarium solani* en presencia de fungicidas.**

Para evaluar la capacidad antagónica de las cepas de *Trichoderma* spp. en presencia de fungicidas se utilizó medio de cultivo agar papa-dextrosa adicionado con las soluciones de fungicidas para alcanzar las concentraciones indicadas en la Tabla 5. Consecutivamente se vertió el medio en cajas de Petri para su gelificación. Se tomaron discos de 5 mm de *Trichoderma* spp. y *Fusarium solani*, colocándolos frente a frente a una distancia de 6 cm. Se realizaron cuatro replicas por cada tratamiento.

El cálculo del porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) se calculó utilizando la fórmula empleada por Ezziyyani *et al.* (2004). Finalmente, para determinar el grado de antagonismo se empleó la Escala planteada por Bell *et al.* (1982).

Se desarrolló el experimento con un arreglo completamente al azar con cuatro repeticiones, el análisis estadístico de datos, previa normalización de datos se realizó mediante un análisis de varianza y una prueba de comparación de medias Tukey ( $p \leq 0.05$ ) y la prueba T de student ( $p \leq 0.05$ ).

## 7. RESULTADOS

### 7.1 Caracterización a nivel molecular de *Fusarium solani*.

La secuencia de regiones ITS amplificadas (551 pares de bases) y confirmado mediante el factor de elongación EF-1 $\alpha$  (686 pares de bases) aclaró que la mayor homogeneidad fue del 100% de identidad con *F. solani* para la región ITS y una identidad entre el 100 y 99.85% con *F. solani* para el factor de elongación EF-1 $\alpha$  (Tabla 3 y 4), datos obtenidos en la base de datos de nucleótidos Gen Bank del Centro Nacional de Información Biotecnológica.

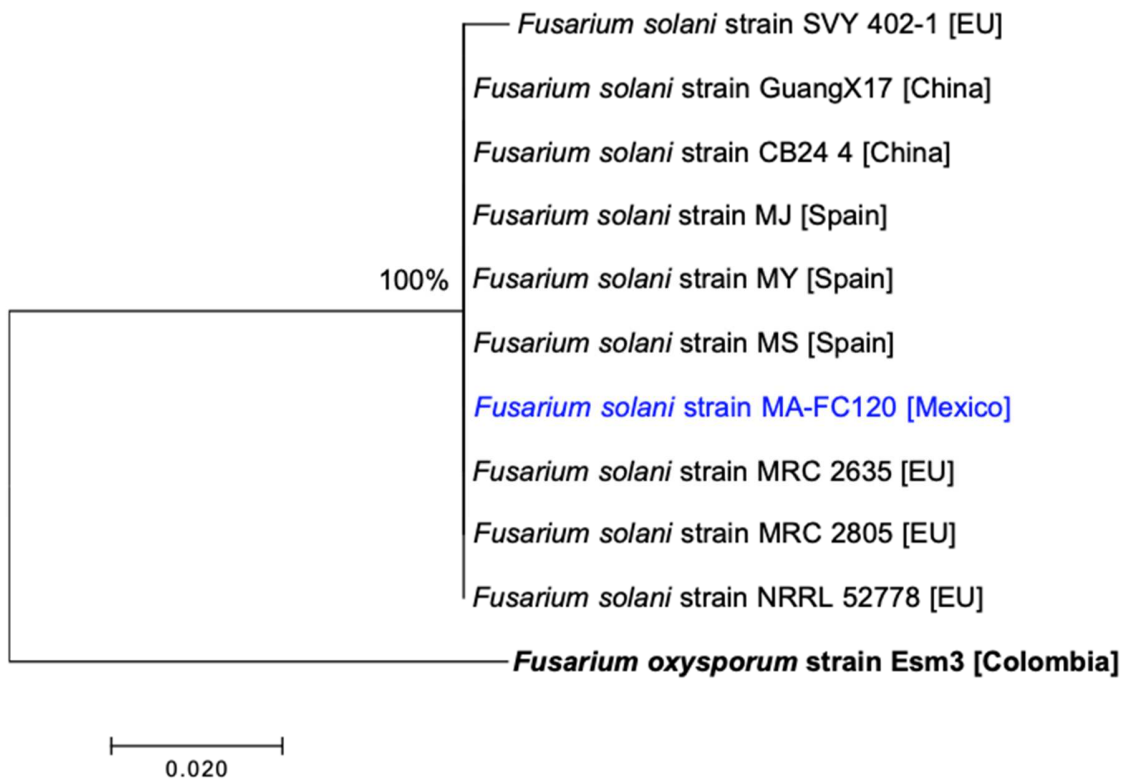
#### Secuencia ITS

```
CGTTTTCCCTTTATACGTGGGTAAGGTCTGAGGTCGTAAGTTGGGTGTTTTACGGCATGG
CCGCGCCGCTCTCCAGTTGCGAGGTGTTAGCTACTACGCAATGGAAGCTGCGGGCGGGACCG
CCACTGTATTTGAGGGACGGCGTGTGCCACAGGGGGCTTCCGCCGATCCCCAACGCCAGG
CCCGGGGGCCTGAGGGTTGTAATGACGCTCGAACAGGCATGCCCGCCAGAATACTGGCGG
GCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCGATGATCACTGAATTCTGCAATTCACACTTATCCG
ATTTGCTGCGTTCATCGATGCCAGAGCCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTTAATTTA
TTTGCTTGTACTCAGAAAAACATTATAAAAAACAGAGTTAGGGGTCCTCTGGCGGGGGCG
GCCCCGTTGTTACAGGGCCGCTGTTCCCGCCGAAGCAACGTTTTAGGTATGTTACAGGGTT
GATGAGTTGTATAACTCGGTAATGATCCCTCCGCAGCCCCCCCCCCCCCAAGAGAAAG
```

#### Secuencia EF-1

```
TTCCTCGGTAAGTCAAACCCTCATCGCGATCTGCTTATCTCGGGTCGTGGAACCCCGCCGGC
ATCTCGGGCGGGGTATTCATCATTCACTTCATGCTGACAATCATCTACAGACCGGTCCTTG
ATCTACCAGTGCGGTGGTATCGACAAGCGAACCATCGAGAAGTTGAGAAGGTTGGTGAC
ATCTCCCCCGATCGCGCCTTGCTATCCACATCGAATTCGCCGTCGAATTCCTCCCTCGCG
ATACGCTCTGCGCCGCTTCTCCCGAGTCCCAAATTTTTGCGGTCCGACCGTAATTTTTTTT
GGTGGGGCATTACCCCGCCACTCGGGCGACGTTGGACAAAGCCCTGATCCCTGCACACAA
AAACACCAAATCCTCTTGGCGCGCATCATCACGTGGTTCACGACAGACGTAACCGGTCCA
ACAATAGGAAGCCGCTGAGCTCGGTAAGGGTTCCTTCAAGTACGCTGGGTCTTGACAAG
CTCAAGGCCGAGCGTGAGCGTGGTATCACCATCGACATTGCCCTCTGGAAGTTGAGACTC
CCCGCTACTATGTCACCGTCATTGGTATGTTGCTGTCACCTCTCTCACACATGCTCACCCT
AACAATCAACAGACGCCCCCGCCACCGTGACTTCATCAAGAACATGCGGGGGGGTTTTT
CACACAAAA
```

En análisis filogenético por el método de máxima verosimilitud basado en el modelo Kimura-2 generado a partir de las secuencias ITS- EF-1 $\alpha$  concatenadas (Figura 2), distinguiendo a la cepa MA-FC120 como *Fusarium solani*.



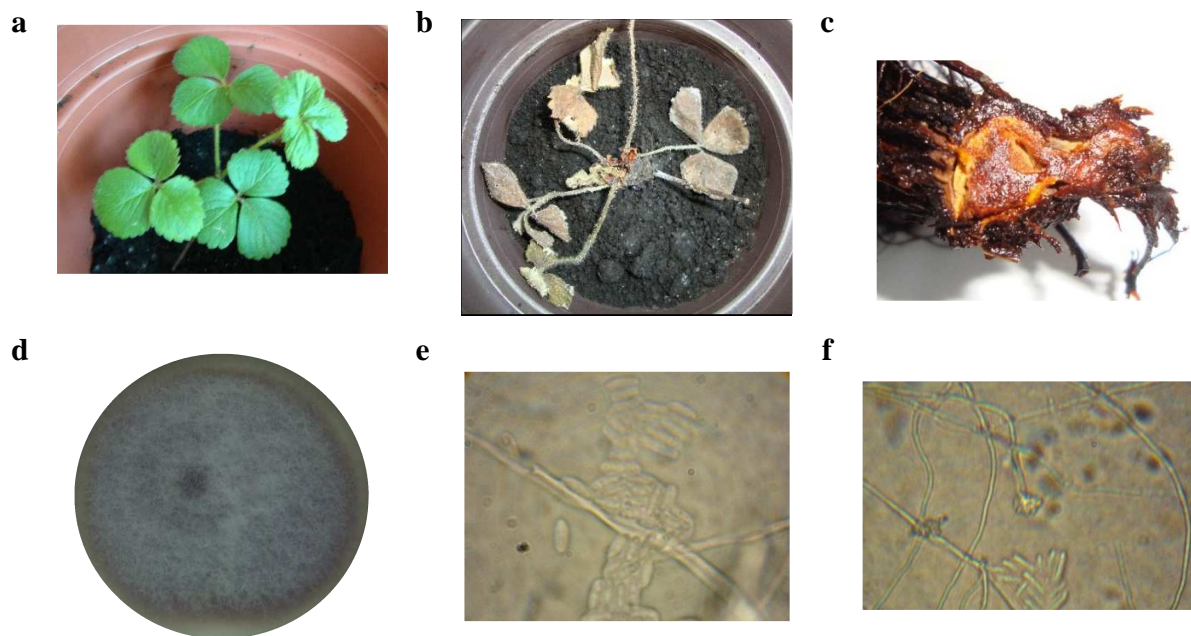
**Figura 2.** Análisis filogenético por el método de máxima verosimilitud basado en el modelo Kimura-2 generado a partir de las secuencias ITS-EF-1 $\alpha$  concatenadas. Se utilizó *Fusarium oxysporum* como grupo externo. Las cepas MA-FC120 obtenidas en este estudio se muestran en azul.

Tanto las características morfológicas que corresponden a las reportadas por Leslie y Summerell (2006), Mehmood *et al.* (2017) y Šišić *et al.* (2018) de la cepa MA-FC120 y los resultados de la identificación molecular con los marcadores moleculares ITS y EF-1 $\alpha$ , mismos que fueron utilizados por Kurt *et al.* (2020) para confirmar la identidad de *F. solani* que se asoció con la pudrición de la raíz de los cítricos en la región del Mediterráneo oriental de Turquía.

## 7.2 Determinación de la patogenicidad de *Fusarium solani* en plantas de fresa (*Fragaria x ananassa*).

Se comprobó la patogenicidad del aislado *Fusarium solani*, cumpliendo con los postulados de Koch, la cepa produjo síntomas típicos de secadera, marchitamiento y pudrición de raíz 20 días posteriores a la inoculación. Se observó marchitez ascendente,

perdida de turgencia y marchitez vascular generalizada, ocasionado finalmente la muerte de toda la planta a los 45 días después de la inoculación; en las plantas control no se observó síntoma alguno. Los aislados provenientes de la raíz y corona, concordaron con las características morfológicas de la cepa inoculada, macroscópicamente, se observó micelio aéreo abundante, de color blanco; en el reverso de la placa, la coloración del medio de cultivo se tornó violeta; a nivel microscópico, se observó la presencia de macroconidios y microconidios (Figura 3).



**Figura 3.** Patogenicidad de *Fusarium solani*: a. Planta control, b. Planta inoculada, c. Raíz, d. Crecimiento en placa, e. Macroconidios, f. Microconidos.

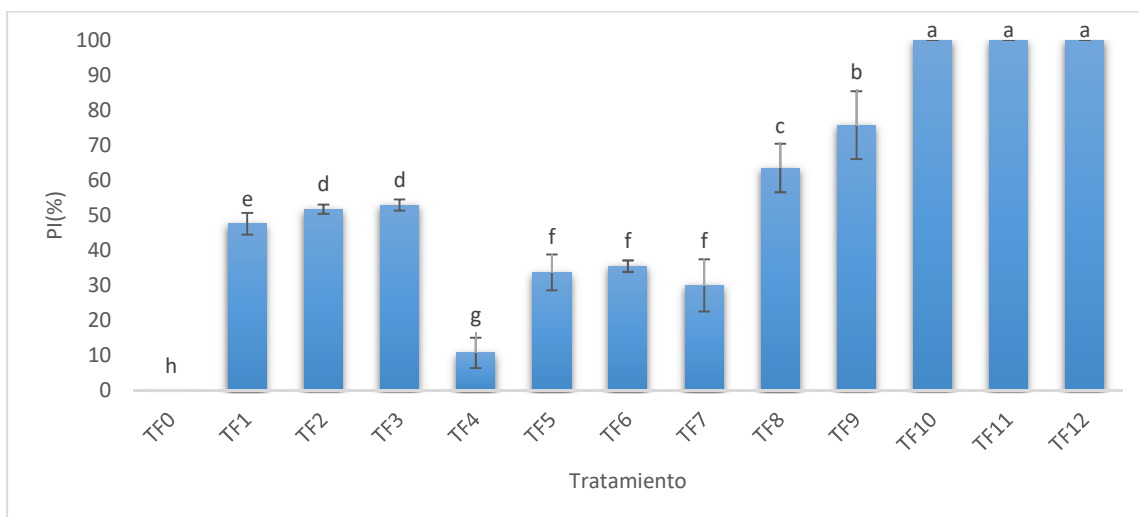
Los resultados obtenidos concuerdan con lo reportado con Villarino *et al.* (2019) quienes constataron la patogenicidad de *F. solani*, que ocasionó síntomas visibles como amarillamiento de las hojas adultas, marchitamiento y muerte de las plantas, los mismos síntomas en los test de patogenicidad fueron reportados por Hassan y Chang (2022). Así mismo de acuerdo con Robledo-Buriticá *et al.* (2017) *F. solani* se concentra en el área del collar causando pudrición y posteriormente la muerte de la planta.

### 7.3 Evaluación del porcentaje de inhibición de *Fusarium solani* a diferentes concentraciones de fungicidas de síntesis química.

Todos los tratamientos mostraron diferencias estadísticas significativas respecto al control. Los tratamientos en los que se obtuvo un menor porcentaje de inhibición del patógeno fueron aquellos en los que se empleó el i.a. Mancozeb, la menor concentración alcanzó el 10.73% de inhibición del patógeno, mostrando diferencias estadísticas significativas con los otros dos tratamientos (1200 y 1800 mg L<sup>-1</sup>) en los que se empleó este i. a. los cuales obtuvieron un 33.68 y 35.46% de inhibición no habiendo diferencias estadísticas significativas entre ellos.

En el caso del i.a. Captan, los porcentajes de inhibición se ubican dentro del rango del 47 al 52%, es este caso, el tratamiento con una concentración de 450 mg L<sup>-1</sup>, presentó diferencias estadísticas significativas con los otros dos tratamientos (900 y 1350 mg L<sup>-1</sup>), por otro lado, entre estos dos no hubo diferencias estadísticas significativas. Respecto al i.a. Clorotalonil, a la menor concentración se obtuvo una inhibición que no superó el 30%, en contraste, a 900 y 1350 mg L<sup>-1</sup> está alcanzó valores que superaron el 60%, presentando así diferencias estadísticas significativas entre los tres tratamientos.

Finalmente, el fungicida Benomil destacó del resto por inhibir en un 100% el crecimiento de *Fusarium solani* en las tres concentraciones empleadas (Figura 4).



**Figura 4.** Porcentaje de inhibición del crecimiento micelial (PI) de *Fusarium solani* en medio adicionado con fungicidas.

\*Letras iguales no muestran diferencias estadísticas significativas,  $p \leq 0.05$ .

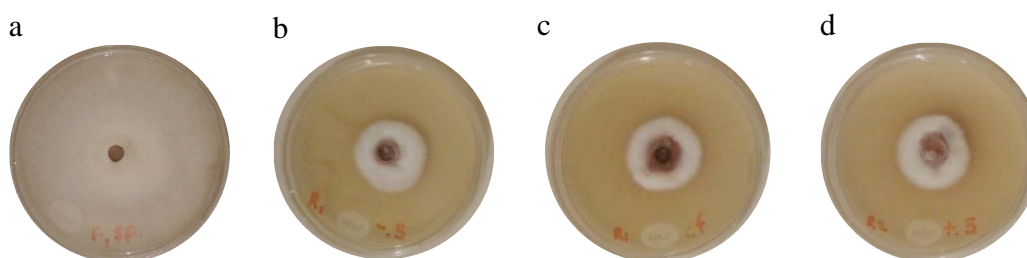
### 7.3.1 Captan

La tasa de desarrollo y velocidad de crecimiento disminuyeron al aumentar la concentración del fungicida, tras 10 días de inoculación no se presentaron diferencias estadísticas significativas entre ellos, sin embargo, si la hubo respecto al control, el cual obtuvo una velocidad de crecimiento de 6.7104 mm día<sup>-1</sup> (Tabla 11, Figura 5).

**Tabla 11.** Crecimiento micelial de *Fusarium solani* con la aplicación de Captan.

Tratamiento	Tasa de desarrollo* (mm h <sup>-1</sup> )	Velocidad de crecimiento* (mm día <sup>-1</sup> )
TF0	0.2873±0.0082 <sup>d</sup>	6.7104±0.0888 <sup>g</sup>
TF1	0.1557±0.0008 <sup>bc</sup>	3.5296±0.0833 <sup>d</sup>
TF2	0.1426±0.0077 <sup>bc</sup>	3.2432±0.1408 <sup>d</sup>
TF3	0.1366±0.0030 <sup>bc</sup>	3.1600±0.0806 <sup>d</sup>

\*Medias con la misma letra no muestran diferencias estadísticas significativas. Prueba de Tuckey, p≤0.05.



**Figura 5.** Crecimiento micelial en medio adicionado con Captan de *Fusarium solani*: a. TF0, b. TF1, c. TF2, d. TF3.

En las concentraciones evaluadas y de acuerdo con la Escala de clasificación de la OILB, el fungicida Captan resultó ser Ligeramente Tóxico, al tener porcentajes de inhibición que van del 47.54 al 52.90% (Tabla 12).

**Tabla 12.** Toxicidad de Captan sobre *Fusarium solani*.

Cepa	450 mg L <sup>-1</sup>	900 mg L <sup>-1</sup>	1350 mg L <sup>-1</sup>
<i>Fusarium solani</i>	Ligeramente tóxico	Ligeramente tóxico	Ligeramente tóxico

En condiciones *in vitro* Ayvar-Serna *et al.* (2021) observaron que, a una concentración de 0.044 g, este fungicida inhibió en un 100% el crecimiento micelial de *F. solani* agente causal de la pudrición de raíz en jitomate. Mientras que, Shah *et al.* (2018) reportaron que con una concentración de 1000  $\mu\text{g mL}^{-1}$  inhibió el 75.90% del crecimiento micelial del patógeno. En ambos casos los resultados fueron valores superiores a los obtenidos.

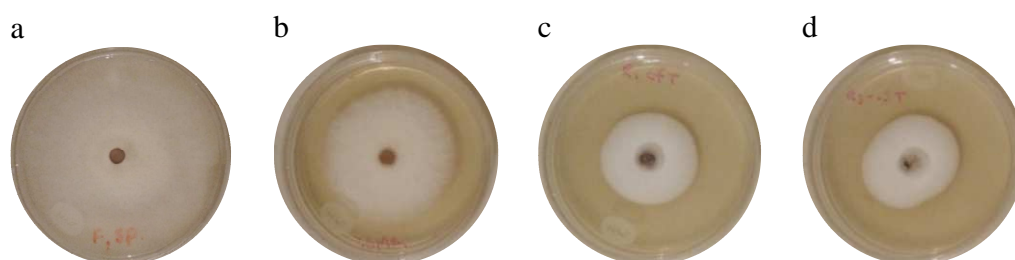
### 7.3.2 Mancozeb

En los tratamientos en los que se utilizó Mancozeb, las tasas de desarrollo y velocidad de crecimiento fueron superiores a las obtenidas con el resto de los fungicidas, el tratamiento con la concentración de 600  $\text{mg L}^{-1}$  permitió un mejor desarrollo del patógeno, mostrando así diferencias estadísticas significativas respecto a las otras dos concentraciones empleadas (Tabla 13, Figura 6).

**Tabla 13.** Crecimiento micelial de *Fusarium solani* con la aplicación de Mancozeb.

Tratamiento	Tasa de desarrollo* ( $\text{mm h}^{-1}$ )	Velocidad de crecimiento* ( $\text{mm día}^{-1}$ )
TF0	$0.2873 \pm 0.0082^d$	$6.7104 \pm 0.0888^g$
TF4	$0.2632 \pm 0.0076^d$	$5.9992 \pm 0.0847^f$
TF5	$0.1658 \pm 0.0114^c$	$4.4512 \pm 0.3004^e$
TF6	$0.1648 \pm 0.0011^c$	$4.3376 \pm 0.0237^e$

\*Medias con la misma letra no muestran diferencias estadísticas significativas. Prueba de Tuckey,  $p \leq 0.05$ .



**Figura 6.** Crecimiento micelial en medio adicionado con Mancozeb de *Fusarium solani*: a. TF0, b. TF4, c. TF5, d. TF6.

Mancozeb, a la concentración de 600 mg L<sup>-1</sup>, resultó ser inofensivo, al inhibir únicamente en un 10.73% el crecimiento de *F. solali*, para el resto fue ligeramente tóxico con porcentajes del 33.68 y 35.46% (Tabla 14).

**Tabla 14.** Toxicidad de Mancozeb sobre *Fusarium solani*.

Cepa	600 mg L <sup>-1</sup>	1200 mg L <sup>-1</sup>	1800 mg L <sup>-1</sup>
<i>Fusarium solani</i>	Inofensivo	Ligeramente tóxico	Ligeramente tóxico

Da Silva *et al.* (2014) reportaron que Mancozeb inhibió en un 42.5% el crecimiento de *F. solani* en condiciones *in vitro*, por otro lado, Kumar *et al.* (2020) registraron el 84.1% de inhibición del crecimiento micelial de esta misma especie, quien era causante de la pudrición de la raíz en papaya, ambos estudios presentaron valores superiores a los obtenidos en este trabajo. Sin embargo, estos concuerdan con los reportados por Andrabi *et al.* (2011), quienes informan que este fungicida a una concentración de 500 ppm inhibió en un 70.94% el crecimiento de *F. solani* causante de la pudrición de raíz en garbanzo, siendo similar al resultado de este trabajo considerándose como ligeramente tóxico en la escala de clasificación de la OILB.

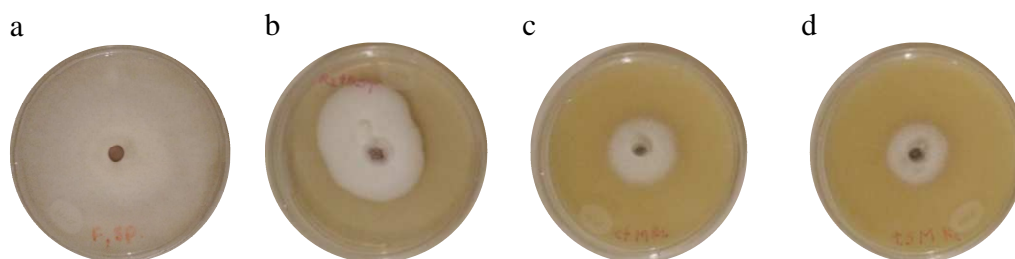
### 7.3.3 Clorotalonil

En los tratamientos en los que se utilizó Clorotalonil a las concentraciones de 900 y 1350 mg L<sup>-1</sup> el crecimiento micelial disminuyó significativamente obteniendo porcentajes de inhibición que superaron el 60%, presentando por lo tanto tasas de desarrollo y velocidad de crecimiento menores respecto al tratamiento de menor concentración (Tabla 15, Figura 7).

**Tabla 15.** Crecimiento micelial de *Fusarium solani* con la aplicación de Clorotalonil.

Tratamiento	Tasa de desarrollo* (mm h <sup>-1</sup> )	Velocidad de crecimiento* (mm día <sup>-1</sup> )
TF0	0.2873±0.0082 <sup>d</sup>	6.7104±0.0888 <sup>g</sup>
TF7	0.1427±0.0279 <sup>bc</sup>	4.7025±0.7000 <sup>e</sup>
TF8	0.0961±0.0223 <sup>b</sup>	2.4399±0.5936 <sup>c</sup>
TF9	0.0923±0.0244 <sup>b</sup>	1.6305±0.5031 <sup>b</sup>

\*Medias con la misma letra no muestran diferencias estadísticas significativas. Prueba de Tuckey, p≤0.05.



**Figura 7.** Crecimiento micelial en medio adicionado con Clorotalonil de *Fusarium solani*:  
a. Control, b. TF7, c. TF8, d. TF9.

Con porcentajes de inhibición de 29.95, 63.48 y 75.70% la toxicidad de Clorotalonil sobre *F. solani* se clasifica como inofensivo a la concentración de 450 mg L<sup>-1</sup> (Tabla 16), mientras que a las concentraciones mayores como ligeramente y moderadamente tóxico respectivamente.

**Tabla 16.** Toxicidad de Clorotalonil en *Fusarium solani*.

Cepa	450 mg L <sup>-1</sup>	900 mg L <sup>-1</sup>	1350 mg L <sup>-1</sup>
<i>Fusarium solani</i>	Inofensivo	Ligeramente tóxico	Moderadamente tóxico

Dwivedi y Singh (2015) empleando este pesticida inhibieron en un 82.34% el desarrollo de *F. solani* patógeno aislado de la raíz del cultivo de berenjena, valor similar al obtenido en este trabajo, al catalogarse como moderadamente tóxico de acuerdo a la clasificación de la OILB en la concentración más alta. Por otro lado, Bhaliya y Jadeja (2014) informaron que la podredumbre de la raíz de cilantro causado por *F. solani* fue controlada por este fungicida en un 72.52%. Madhusndhan *et al.* (2010) para *F. solani*, agente causante de la pudrición de raíz en naranja dulce, registraron un 62.82% de inhibición de crecimiento micelial, con una concentración de 250 ppm, valores similares a los reportados en la presente investigación, considerado ligeramente toxico en la escala de clasificación de la OILB para una concentración de 900 mg L<sup>-1</sup>.

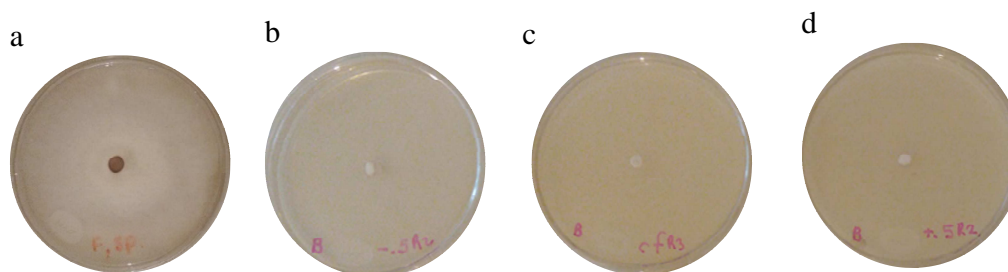
#### 7.3.4 Benomil

El fungicida Benomil limitó por completo el crecimiento de *Fusarium solani* observándose que aún a la menor concentración empleada (250 mg L<sup>-1</sup>) no hubo crecimiento del micelio de este hongo tras 10 días de inoculación (Tabla 17, Figura 8).

**Tabla 17.** Crecimiento micelial de *Fusarium solani* con la aplicación de Benomil.

Tratamiento	Tasa de desarrollo* (mm h <sup>-1</sup> )	Velocidad de crecimiento* (mm día <sup>-1</sup> )
TF0	0.2873±0.0082 <sup>b</sup>	6.7104±0.0888 <sup>b</sup>
TF10	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>
TF11	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>
TF12	0.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>a</sup>

\*Medias con la misma letra no muestran diferencias estadísticas significativas. Prueba de Tuckey, p≤0.05.



**Figura 8.** Crecimiento micelial en medio adicionado con Benomil de *Fusarium solani*: a. Control, b. TF10, c. TF11, d. TF12.

El ingrediente activo Benomil, resultó ser el de mayor toxicidad para *F. solani* al clasificarse como Tóxico a las tres concentraciones evaluadas, siendo el único de los fungicidas empleados en exhibir ese efecto en el patógeno (Tabla 18).

**Tabla 18.** Toxicidad de Benomil sobre *Fusarium solani*.

Cepa	250 mg L <sup>-1</sup>	500 mg L <sup>-1</sup>	750 mg L <sup>-1</sup>
<i>Fusarium solani</i>	Tóxico	Tóxico	Tóxico

Herrera *et al.* (2011) reportan que a dosis de 500 ppm de este fungicida se obtuvo un 100.00% de efectividad inhibiendo completamente el crecimiento de *Fusarium solani*. Recientemente, Asadboland *et al.* (2021) informaron los efectos de inhibición en un 76% sobre el crecimiento micelial de *F. solani* (IRAN 11C) con 0.1 g mL<sup>-1</sup> de este fungicida en condiciones *in vitro*. Así mismo, Kordali *et al.* (2016) también obtuvieron el 100% de inhibición *in vitro*, con una concentración de 1 mg mL<sup>-1</sup>, Dorugade *et al.* (2015) observaron que en condiciones *in vitro* el fungicida a 100 ppm inhibió el 100% de crecimiento micelial

de *F. solani* (Fs-3), agente causante de la pudrición de raíz en la batata de pata de elefante, valores similares a los reportados en la presente investigación, considerado toxico en la escala de clasificación de la OILB para las tres concentraciones utilizadas concordando así con los resultados obtenidos en los estudios mencionados previamente.

El análisis ANOVA MULTIVARIANTE para el modelo cuadrático de superficie de respuesta, arrojó diferencias estadísticas altamente significativas (Tabla 19). El valor del Modelo para F= 523.500 (Tratamientos), 0.310 (Tasa de Desarrollo) y 330.807 (Velocidad de Crecimiento), que implica un modelo altamente significativo para el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial (PI) *in vitro*. En comparación con el control, todos los tratamientos inhibieron el crecimiento del patógeno, sin embargo, el fungicida Benomil, fue el de mejor desempeño, al registrar el 100% de inhibición del patógeno desde los primeros días de inoculación en las tres dosis evaluadas, presentando diferencias estadísticas significativas respecto al resto de los fungicidas.

**Tabla 19.** Modelo cuadrático de superficie de respuesta para las diferentes concentraciones de fungicidas sobre la tasa de desarrollo, la velocidad de crecimiento y el porcentaje de inhibición de crecimiento micelial (PI) de *F. solani in vitro*.

Origen		Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	p
Modelo corregido	X <sub>1</sub> =Tratamientos	523.500 <sup>a</sup>	26	20.135	10.738	0.001
	X <sub>2</sub> = Tasa de Desarrollo	.310 <sup>b</sup>	26	0.012	202.898	0.001
	X <sub>3</sub> = Velocidad de Crecimiento	330.807 <sup>c</sup>	26	12.723	133.673	0.001
Intersección	X <sub>1</sub>	782.759	1	782.759	417.471	0.001
	X <sub>2</sub>	0.621	1	0.621	10580.715	0.001
	X <sub>3</sub>	477.343	1	477.343	5015.036	0.001
PI(%)	X <sub>1</sub>	523.500	26	20.135	10.738	0.001
	X <sub>2</sub>	0.310	26	0.012	202.898	0.001
	X <sub>3</sub>	330.807	26	12.723	133.673	0.001
Error	X <sub>1</sub>	22.500	12	1.875		
	X <sub>2</sub>	0.001	12	5.874E-05		
	X <sub>3</sub>	1.142	12	0.095		
Total	X <sub>1</sub>	1950.000	39			
	X <sub>2</sub>	0.937	39			
	X <sub>3</sub>	782.328	39			
Total corregido	X <sub>1</sub>	546.000	38			
	X <sub>2</sub>	0.311	38			

	X <sub>3</sub>	331.949	38			
a. R al cuadrado = 0.959 (R al cuadrado ajustada = 0.870)						
b. R al cuadrado = 0.998 (R al cuadrado ajustada = 0.993)						
c. R al cuadrado = 0.997 (R al cuadrado ajustada = 0.989)						

En general, las variaciones encontradas en la tolerancia de *Fusarium solani* a los diferentes fungicidas concuerda con lo reportado por Fraç *et al.* (2016) quienes encontraron diferencias en el crecimiento del micelio de cepas de *Fusarium* sp. dependiendo del tipo de fungicida, concentración y tiempo de acción.

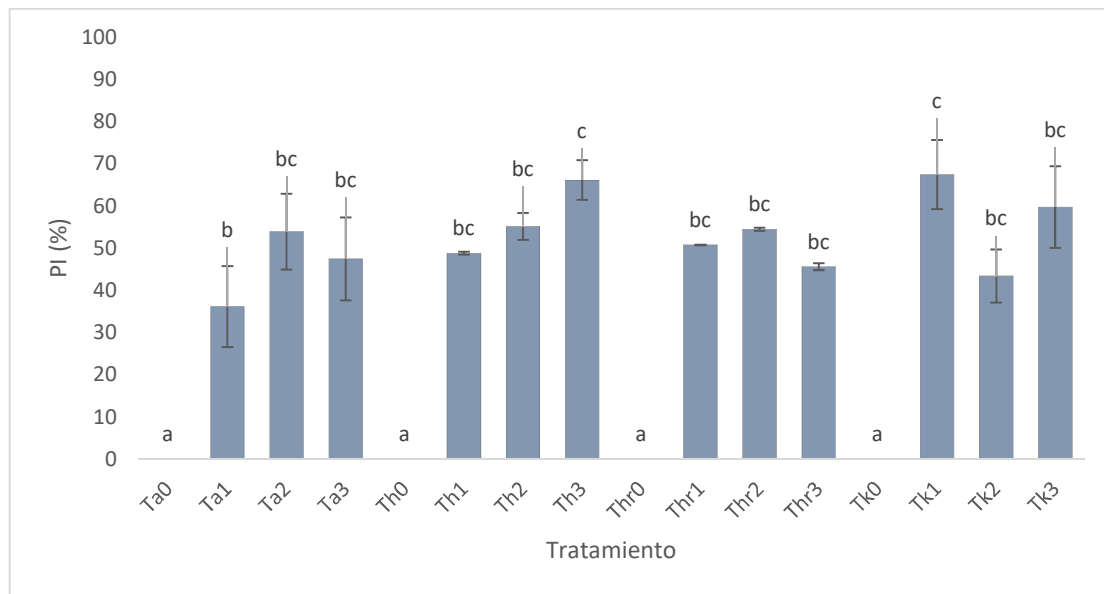
#### **7.4 Evaluación de la resistencia *in vitro* a fungicidas de las cepas de *Trichoderma* spp.**

##### **7.4.1 Evaluación del porcentaje de inhibición, toxicidad y compatibilidad.**

###### **7.4.1.1 Captan**

El menor porcentaje de inhibición se obtuvo con la cepa de *Trichoderma asperellum* a la concentración de 450 mg L<sup>-1</sup> alcanzando un valor de 36.24%, este tratamiento presenta diferencias estadísticas significativas con aquellos que obtuvieron un mayor valor que corresponden a *T. hamatum* a 1350 mg L<sup>-1</sup> con el 66.16% y *T. konigiopsis* a 450 mg L<sup>-1</sup> con 67.48%. En el resto de los tratamientos no hay diferencias estadísticas significativas entre ellos, y, además, comparten grupo con los que obtuvieron mayor y menor porcentaje de inhibición (Figura 9 y 10).

En el caso de los tratamientos en los que se empleó *Trichoderma hamatum* el porcentaje de inhibición incrementó conforme aumentaba la concentración del fungicida, en el resto de los tratamientos no se observó el mismo comportamiento.

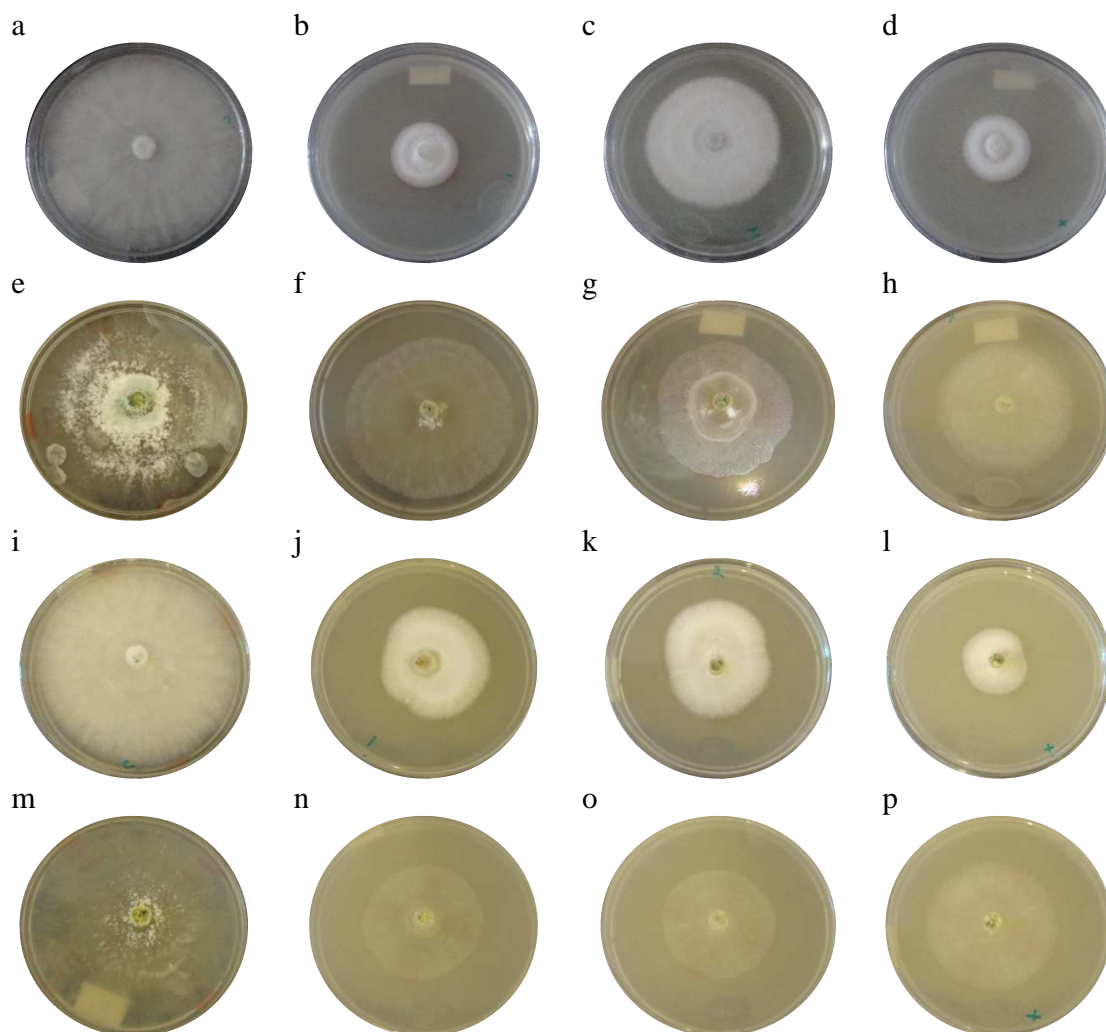


**Figura 9.** Porcentaje de inhibición del crecimiento micelial (PI) de *Trichoderma* spp. en medio adicionado con Captan.

\*Letras iguales no muestran diferencias estadísticas significativas,  $p \leq 0.05$ .

Bhale y Rajkonda (2015) reportan a concentraciones de 100 a 600  $\mu\text{g mL}^{-1}$  el crecimiento radial de *Trichoderma harzianum* dentro del rango de los 57 a 3 mm, mientras que a 700  $\mu\text{g mL}^{-1}$  el hongo no presentó crecimiento.

Maheshwary *et al.* (2020), a concentraciones de 500, 1000, 1500 y 2000 ppm de Captan (50% WP) registraron para una cepa de *Trichoderma asperellum* porcentajes de inhibición de 51.10, 75.92, 86.66 y 93.70% respectivamente.



**Figura 10.** Crecimiento micelial en medio adicionado con Captan de *T. konigiopsis*: a. Tk0, b. Tk1, c. Tk2, d. Tk3; *T. asperellum*, e. Ta0, f. Ta1, g. Ta2, h. Ta3; *T. hamatum*, i. Th0, j. Th1, k. Th2, l. Th3 y *T. harzianum*, m. Thr0, n. Thr1, o. Thr2, p. Thr3.

Los valores obtenidos para las tasas de desarrollo y velocidad de crecimiento se conformaron tres grupos (Tabla 20), el grupo con un mayor valor en ambas variables corresponde a aquellos tratamientos en los que no se adicionó fungicida, encontrando diferencias estadísticas significativas con el resto de los tratamientos. El tratamiento Ta1 fue el que obtuvo la mayor tasa de desarrollo y velocidad de crecimientos dentro de los tratamientos con el fungicida, mientras que el menor corresponde a Tk1, habiendo diferencias estadísticas significativas entre ellos, sin embargo, en ambos casos no hay diferencias estadísticas significativas con el resto de los tratamientos.

**Tabla 20.** Crecimiento *Trichoderma* spp. con la aplicación de Captan.

Tratamiento	Tasa de desarrollo* (mm h <sup>-1</sup> )	Velocidad de crecimiento* (mm día <sup>-1</sup> )
Ta0	0.9779±0.0528 <sup>c</sup>	24.9210±1.3487 <sup>c</sup>
Ta1	0.6086±0.0604 <sup>b</sup>	15.8754±1.8419 <sup>b</sup>
Ta2	0.4359±0.0636 <sup>ab</sup>	11.5986±1.7202 <sup>ab</sup>
Ta3	0.4991±0.0738 <sup>ab</sup>	13.2024±2.0175 <sup>ab</sup>
Th0	1.0222±0.0273 <sup>c</sup>	26.8260±0.7387 <sup>c</sup>
Th1	0.5228±0.0153 <sup>ab</sup>	10.5228±2.3765 <sup>ab</sup>
Th2	0.4575±0.0297 <sup>ab</sup>	11.2764±0.8496 <sup>ab</sup>
Th3	0.3496±0.0567 <sup>ab</sup>	8.5752±1.1896 <sup>ab</sup>
Thr0	0.9750±0.0000 <sup>c</sup>	25.2000±0.0277 <sup>c</sup>
Thr1	0.4797±0.0009 <sup>ab</sup>	12.3240±0.1192 <sup>ab</sup>
Th2	0.4438±0.0036 <sup>ab</sup>	11.7408±0.0222 <sup>ab</sup>
Thr3	0.5297±0.0081 <sup>ab</sup>	13.7676±0.1102 <sup>ab</sup>
Tk0	1.0222±0.0273 <sup>c</sup>	26.5500±0.6210 <sup>c</sup>
Tk1	0.3334±0.0893 <sup>a</sup>	8.2848±1.9268 <sup>a</sup>
Tk2	0.5735±0.0511 <sup>ab</sup>	14.4372±1.3988 <sup>ab</sup>
Tk3	0.4179±0.1093 <sup>ab</sup>	10.6992±2.8233 <sup>ab</sup>

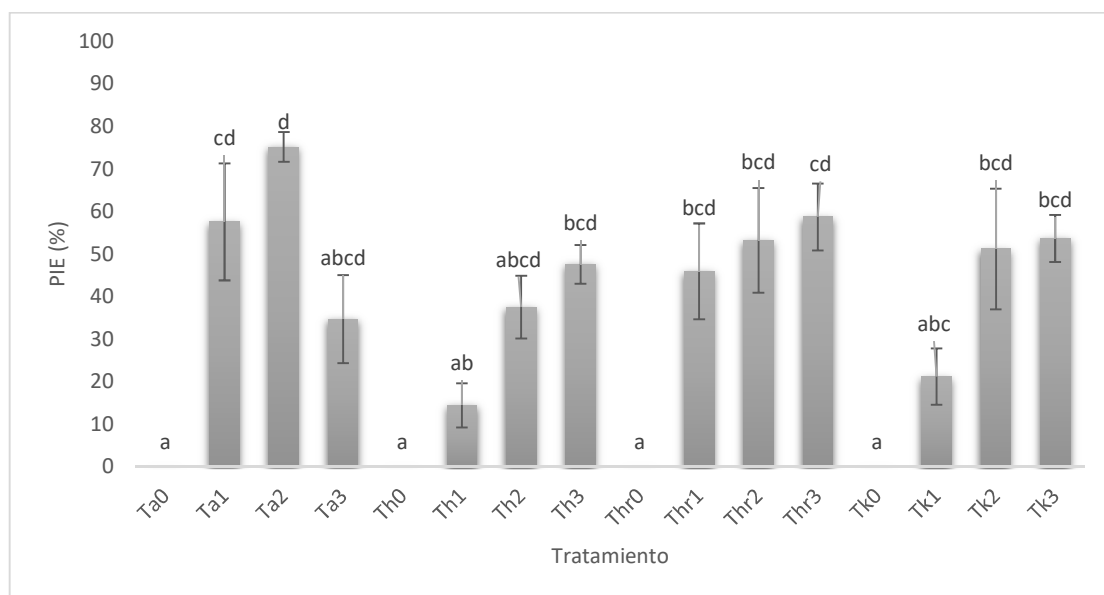
\* Medias con la misma letra no muestran diferencias estadísticas significativas. Prueba de Tuckey, p≤0.05.

Todos los tratamientos establecidos, sin importar la concentración, se ubican como Ligeramente tóxicos de acuerdo con la Escala de clasificación establecida por la Organización Internacional de Lucha Biológica, al encontrarse los porcentajes de inhibición dentro del rango del 30 al 75% (Tabla 21.)

**Tabla 21.** Toxicidad de Captan en *Trichoderma* spp.

Cepa	450 mg L <sup>-1</sup>	900 mg L <sup>-1</sup>	1350 mg L <sup>-1</sup>
<i>Tk</i>	Ligeramente tóxico	Ligeramente tóxico	Ligeramente tóxico
<i>Ta</i>	Ligeramente tóxico	Ligeramente tóxico	Ligeramente tóxico
<i>Th</i>	Ligeramente tóxico	Ligeramente tóxico	Ligeramente tóxico
<i>Thr</i>	Ligeramente tóxico	Ligeramente tóxico	Ligeramente tóxico

En lo que respecta a la inhibición del porcentaje de esporulación, ésta aumento conforme incrementó la concentración del fungicida en los tratamientos en los que se utilizaron las cepas de *Trichoderma hamatum*, *T. konigiopsis* y *T. harzianum*, mientras que con *T. asperellum*, se registró una menor inhibición a la máxima concentración utilizada con un 34.65%, no encontrando diferencias estadísticas significativas con los tratamientos en los que no se añadió fungicida y con Th1, Tk1 quienes registraron valores de 14.41 y 21.16% respectivamente (Figura 11).



**Figura 11.** Porcentaje de inhibición de la esporulación (PIE) de *Trichoderma* spp. en medio adicionado con Captan.

\*Letras iguales no muestran diferencias estadísticas significativas,  $p \leq 0.05$ .

Finalmente, al relacionar los valores del crecimiento micelial y la esporulación de cada una de las cepas, *Trichoderma konigiopsis*, *T. harzianum* y *T. asperellum* exhibieron compatibilidad, las dos primeras a la concentración de 450 mg L<sup>-1</sup> y la última a 1350 mg L<sup>-1</sup> (Tabla 22).

**Tabla 22.** Compatibilidad de *Trichoderma* spp. con el fungicida Captan.

Cepa	450 mg L <sup>-1</sup>	900 mg L <sup>-1</sup>	1350 mg L <sup>-1</sup>
<i>Tk</i>	Compatible	Moderadamente tóxico	Moderadamente tóxico
<i>Ta</i>	Moderadamente tóxico	Muy tóxico	Compatible
<i>Th</i>	Compatible	Moderadamente tóxico	Moderadamente tóxico
<i>Thr</i>	Moderadamente tóxico	Moderadamente tóxico	Moderadamente tóxico

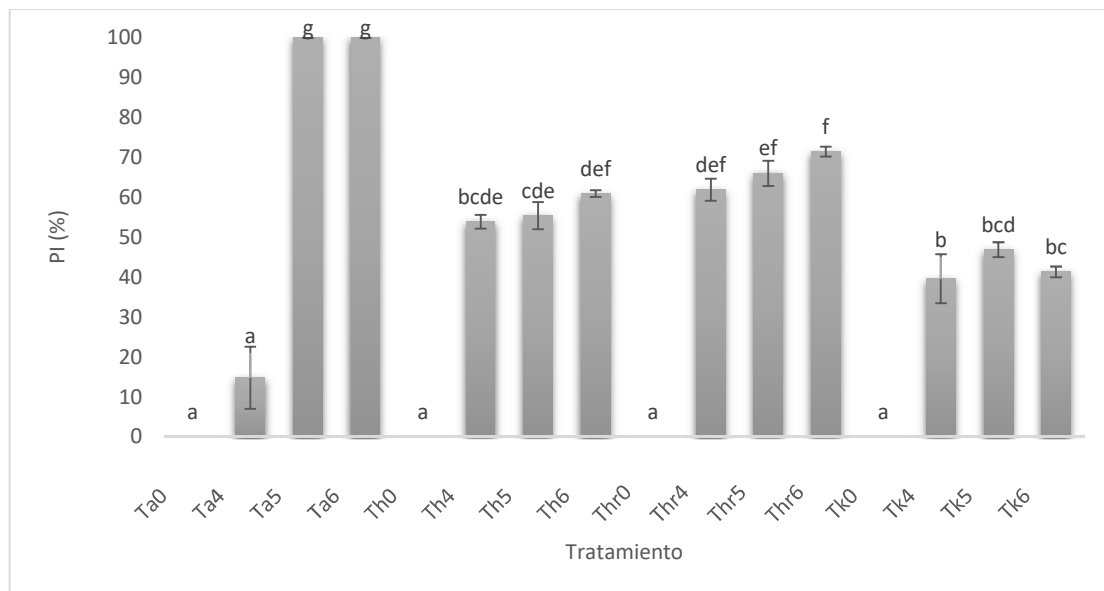
#### 7.4.1.2 Mancozeb

A la concentración de 600 mg L<sup>-1</sup> la cepa que obtuvo un mayor crecimiento micelial fue *Trichoderma konigiopsis*. Los resultados obtenidos para *T. harzianum* a 600 mgL<sup>-1</sup> concuerdan con lo reportado por Wedajo (2015), quien obtuvo con el fungicida Sancozeb (i.a. Mancozeb-80%) un diámetro de 30.0 mm, así mismo reporta un valor de 44.3 mm a la misma concentración para el fungicida Curzate (Mancozeb 64% + Cymoxanil 8%) donde el crecimiento del micelio podría deberse a la combinación de los ingredientes activos que contiene; a una concentración de 1000 ppm registra valores de 19 y 23.3 mm respectivamente, que es cercano al valor obtenido de 22.0 mm a una concentración de 1200 mgL<sup>-1</sup>, dicha autora reporta que conforme aumentaba la concentración de los fungicidas disminuía el porcentaje de compatibilidad de ambos fungicidas con *T. harzianum*, misma situación se observó con los resultados obtenidos en este trabajo. Castellanos *et al.* (2015) manifiestan para *T. harzianum* porcentajes de inhibición de 36, 48 y 52% para concentraciones de 500, 1000 y 2000 mg L<sup>-1</sup>, que son menores a los obtenidos que superan el 60% en las tres concentraciones evaluadas, mientras que Bhale y Rajkonda (2015), para *T. harzianum* registraron diámetros dentro del rango de 72 a 19 mm, a concentraciones de 1000 a 7000 µg mL<sup>-1</sup>, observando que al aumentar la concentración, disminuía el crecimiento radial, finalmente a 8000 µg mL<sup>-1</sup>, se inhibió en su totalidad el crecimiento del hongo, además, en comparación a *Trichoderma viride*, *T. koningii*, *T. pseudokoningii* y *T. virens*, *T. harzianum* presentó una mayor resistencia al fungicida.

García (2019) reportó un valor de 72% de inhibición a las 120 horas para el aislamiento de *Trichoderma* USTA-Tri004, a una concentración de 2.0 mg L<sup>-1</sup>. Por otro lado, a concentraciones de 100, 200 y 300 ppm *T. asperellum* exhibió 100% de

compatibilidad con el fungicida Mancozeb (Manjunath *et al.*, 2017), mientras que Nandini *et al.* (2018), a 0.05, 0.1 y 0.2% de este fungicida registraron una inhibición del 19.75, 55.55 y 83.33% respectivamente para la cepa de *T. viride*. Maheshwary *et al.* (2020), a concentraciones de 500, 1000, 1500 y 2000 ppm de Mancozeb (80% WP) registraron para *T. asperellum* porcentajes de inhibición del 0.0, 4.81, 10.74 y 12.59% respectivamente.

Soesanto *et al.* (2018) observaron que las colonias de *Trichoderma* spp. no presentaron coloración verde en los tratamientos en los que se adicionó Mancozeb, lo que se relacionó con una baja producción de conidios, esto, después de tres días de incubación, la inhibición del crecimiento se presentó en un rango de 29.81 a 43.18%.



**Figura 12.** Porcentaje de inhibición del crecimiento micelial (PI) de *Trichoderma* spp. en medio adicionado con Mancozeb.

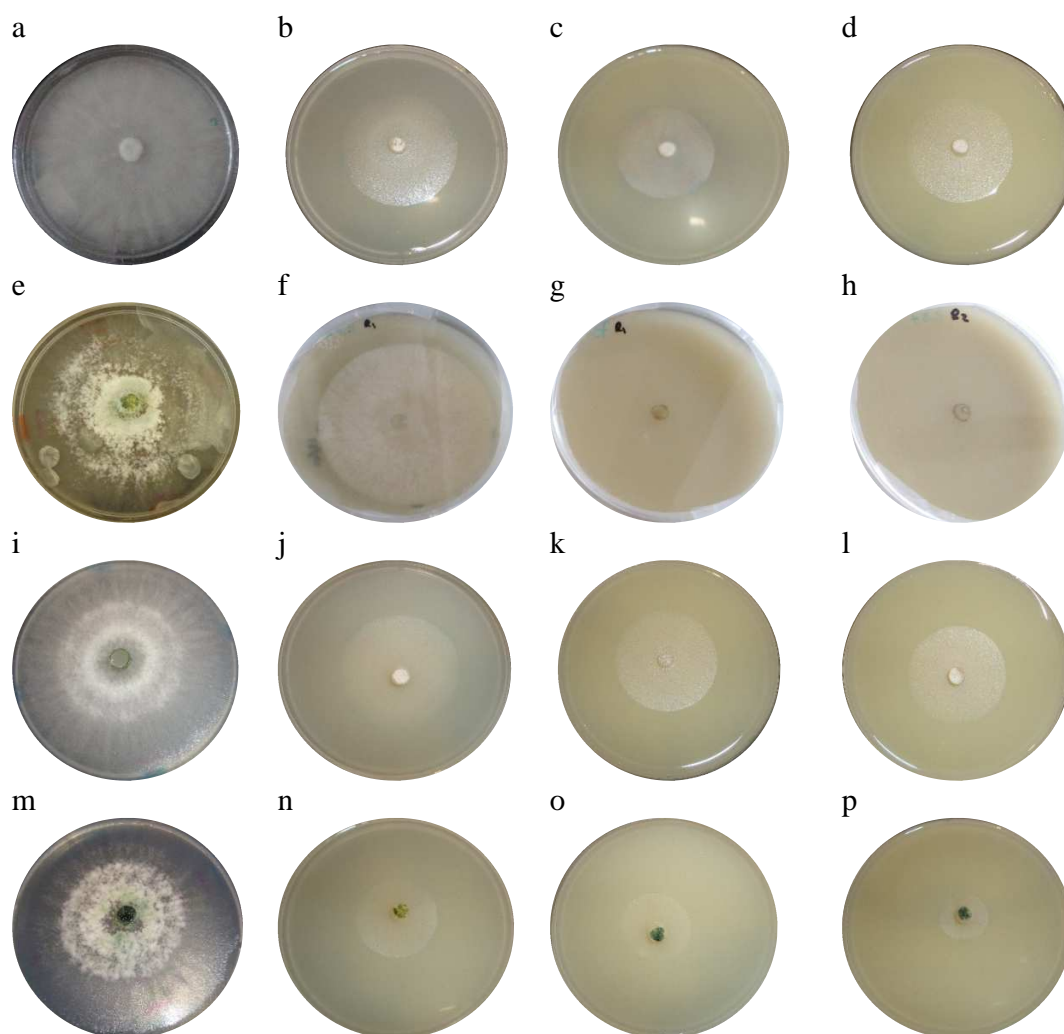
\*Letras iguales no muestran diferencias estadísticas significativas,  $p \leq 0.05$ .

La tasa de desarrollo y la velocidad de crecimiento de *Trichoderma asperellum*, *T. hamatum* y *T. harzianum* disminuyeron al aumentar la concentración de Mancozeb. Los tratamientos Tk4, Tk5 y Tk6, en los que se utilizó *T. konigiopsis*, no presentaron diferencias estadísticas significativas respecto al control respecto a la velocidad de crecimiento diaria, destacando sobre el resto de las cepas (Tabla 23).

**Tabla 23.** Crecimiento *Trichoderma* spp. con la aplicación de Mancozeb.

Tratamiento	Tasa de desarrollo* (mm h <sup>-1</sup> )	Velocidad de crecimiento* (mm día <sup>-1</sup> )
Ta0	1.0833±0.0000 <sup>a</sup>	27.2520±0.0901 <sup>f</sup>
Ta4	0.9236±0.0842 <sup>a</sup>	13.4400±6.7896 <sup>bcde</sup>
Ta5	0.0000±0.0000 <sup>e</sup>	0.0000±0.0000 <sup>a</sup>
Ta6	0.0000±0.0000 <sup>e</sup>	0.0000±0.0000 <sup>a</sup>
Th0	0.9673±0.0387 <sup>a</sup>	22.3698±0.1616 <sup>ef</sup>
Th4	0.4445±0.0028 <sup>bcd</sup>	10.9686±0.4626 <sup>bcd</sup>
Th5	0.4353±0.0512 <sup>bcd</sup>	10.4034±0.8212 <sup>b<sup>c</sup></sup>
Th6	0.3631±0.0080 <sup>bcd</sup>	8.9448±0.2008 <sup>ab</sup>
Thr0	0.9479±0.0782 <sup>a</sup>	19.5462±0.2587 <sup>def</sup>
Thr4	0.3359±0.0350 <sup>bcd</sup>	7.7562±0.6082 <sup>ab</sup>
Thr5	0.2941±0.0134 <sup>cd</sup>	6.6648±0.3092 <sup>ab</sup>
Thr6	0.2324±0.0102 <sup>de</sup>	5.2620±0.2747 <sup>ab</sup>
Tk0	0.8802±0.0677 <sup>a</sup>	18.7920±0.6021 <sup>cdef</sup>
Tk4	0.5430±0.0992 <sup>b</sup>	13.2438±1.6617 <sup>bcd</sup>
Tk5	0.4316±0.0150 <sup>bcd</sup>	11.0202±0.3125 <sup>bcd</sup>
Tk6	0.4772±0.0110 <sup>bc</sup>	11.8980±0.2594 <sup>bcd</sup>

\* Medias con la misma letra no muestran diferencias estadísticas significativas. Prueba de Tuckey, p≤0.05.



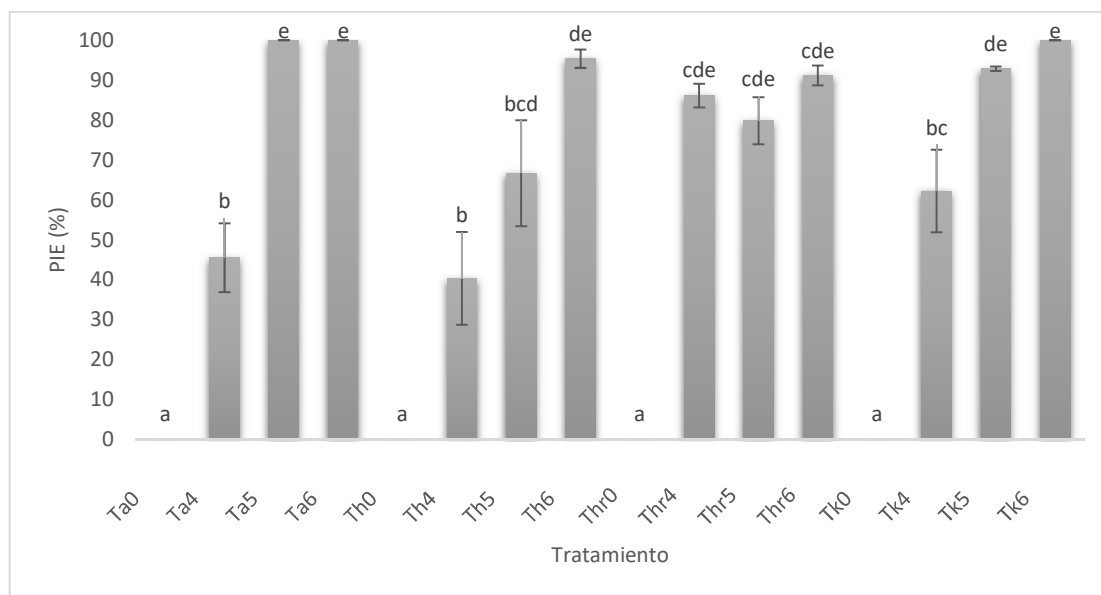
**Figura 13.** Crecimiento micelial en medio adicionado con Mancozeb de *T. konigiopsis*: a. Tk0, b. Tk4, c. Tk5, d. Tk6; *T. asperellum*: e. Ta0, f. Ta4, g. Ta5, h. Ta6; *T. hamatum*: i. Th0, j. Th4, k. Th5, l. Th6; *T. harzianum*: m. Thr0, n. Thr4, o. Thr5, p. Thr6.

A las tres concentraciones empleadas Mancozeb resultó ser ligeramente tóxico para *T. konigiopsis*, *T. hamatum* y *T. harzianum*, con porcentajes dentro del rango de 14.74 al 71.4%, mientras que, para *T. asperellum* a 600 mg L<sup>-1</sup> se clasificó como inofensivo y como tóxico a 1200 y 1800 mg L<sup>-1</sup> (Tabla 24.). En el caso de *T. harzianum* concuerda con lo obtenido por Castellanos *et al.* (2015) que a concentraciones dentro del rango de 500 a 1800 mg L<sup>-1</sup> el mismo fungicida se clasificó como ligeramente tóxico. García (2019) a la concentración de 2.0 mg L<sup>-1</sup> lo clasifica como ligeramente tóxico.

**Tabla 24.** Toxicidad de Mancozeb en *Trichoderma* spp.

Cepa	600 mg L <sup>-1</sup>	1200 mg L <sup>-1</sup>	1800 mg L <sup>-1</sup>
<i>Tk</i>	Ligeramente tóxico	Ligeramente tóxico	Ligeramente tóxico
<i>Ta</i>	Inofensivo	Tóxico	Tóxico
<i>Th</i>	Ligeramente tóxico	Ligeramente tóxico	Ligeramente tóxico
<i>Thr</i>	Ligeramente tóxico	Ligeramente tóxico	Ligeramente tóxico

En los tratamientos con *Trichoderma asperellum*, *T. hamatum* y *T. konigiopsis* el porcentaje de esporulación fue menor al aumentar la concentración. TA4, TH4, TK4 y TH5 fueron los que obtuvieron un menor porcentaje de inhibición, con valores de 40.4, 45.5, 62.3 y 66.7% respectivamente, no obstante, presentan diferencias estadísticas significativas con los tratamientos en los que no se añadió el fungicida. En el caso de *T. harzianum* Castellanos *et al.* (2015) reportan un valor de 57.89% de inhibición de la esporulación respecto al control a concentraciones de 500, 1000 y 2000 mg L<sup>-1</sup>, el cual se mantiene constante, caso contrario a lo conseguido en este trabajo, ya que en el caso de esta cepa la concentración se mantuvo variable (Figura 14). Por otro lado, Soesanto *et al.* (2018) registraron un 88.6% de inhibición de la densidad de conidios cuando se utilizó este fungicida, siendo el pesticida que afectó en mayor medida en comparación a otros empleados en el mismo estudio.



**Figura 14.** Porcentaje de inhibición de la esporulación (PIE) de *Trichoderma* spp. en medio adicionado con Mancozeb.

\*Letras iguales no muestran diferencias estadísticas significativas,  $p \leq 0.05$ .

En relación a la compatibilidad de las cepas con el fungicida, el único tratamiento en el que se observó compatibilidad fue en el que se empleó *Trichoderma asperellum* a la concentración de  $600 \text{ mg L}^{-1}$ . La concentración con la que las cuatro cepas exhibieron menor compatibilidad fue de  $1800 \text{ mg L}^{-1}$  (Tabla 25). Castellanos *et al.* (2015) reporta para *T. harzianum* la compatibilidad como Moderadamente tóxica (Tabla 25).

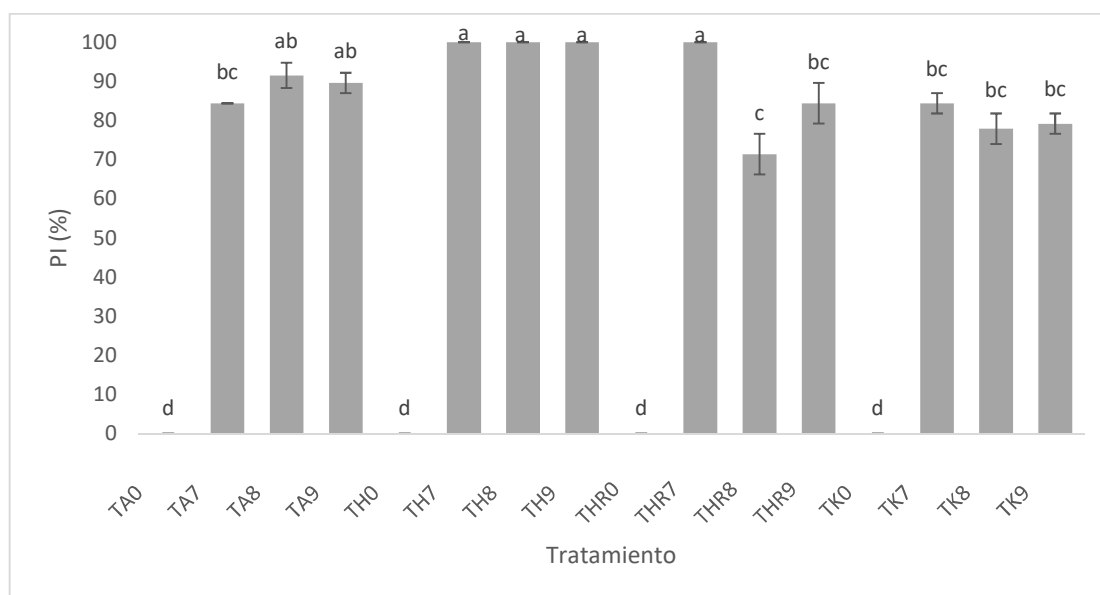
**Tabla 25.** Compatibilidad de *Trichoderma* spp. con el fungicida Mancozeb.

Cepa	$600 \text{ mg L}^{-1}$	$1200 \text{ mg L}^{-1}$	$1800 \text{ mg L}^{-1}$
<i>Tk</i>	Tóxico	Muy tóxico	Muy tóxico
<i>Ta</i>	Compatible	Muy tóxico	Muy tóxico
<i>Th</i>	Moderadamente compatible	Tóxico	Muy tóxico
<i>Thr</i>	Muy tóxico	Muy tóxico	Muy tóxico

#### 7.4.1.3 Clorotalonil

La inhibición del crecimiento del micelio de las cepas de *Trichoderma* en la mayoría de los tratamientos superó el 70% (Figura 15), la cepa menos afectada fue *T. harzianum* a la concentración de  $900 \text{ mg L}^{-1}$ , con un 71.43% de inhibición; en cambio *T.*

*hamatum* no presentó crecimiento micelial en las tres concentraciones. García (2019) reporta el 88.1% de inhibición para *Trichoderma* spp. aunque, a una concentración de 1.0 mg L<sup>-1</sup> a las 120 horas de crecimiento. El comportamiento de *T. asperellum* concuerda con lo indicado por Widmer (2019) quien, reporta que cepas de *T. asperellum* presentaron comportamiento variable a concentraciones de 62, 10 y 1 ppm, al obtenerse que las cepas 06-287, 07-66 y 04-22, exhibieron mayor crecimiento a la concentración de 62 ppm que a 10 ppm, en tanto que, el resto de las cepas aumentaron su crecimiento al disminuir la concentración; para *T. kongiopsis* observó que al disminuir la concentración aumentó el crecimiento de la cepa, a 62 y 10 ppm, no supero el 20% de crecimiento respecto al control, mientras que a 1 ppm se alcanzó el 80%. Entre tanto, Kosanović *et al.* (2015) encontraron que concentraciones menores a 0.19 mg L<sup>-1</sup>, no afectaron el crecimiento de cepas de *Trichoderma*, a diferencia de aquellas superiores a 0.75 mg L<sup>-1</sup> las cuales inhibieron significativamente el crecimiento de la mayoría de los aislados evaluados, así mismo destacan que *T. harzianum* T54 fue la más sensible al Clorotalonil.



**Figura 15.** Porcentaje de inhibición del crecimiento micelial (PI) de *Trichoderma* spp. en medio adicionado con Clorotalonil.

\*Letras iguales no muestran diferencias estadísticas significativas,  $p \leq 0.05$ .

La velocidad de crecimiento y tasa de desarrollo también disminuyeron en comparación con los tratamientos en los que no se adicionó el fungicida, en todos los casos se presentaron diferencias estadísticas significativas respecto a las cepas control (Tabla 26).

**Tabla 26.** Crecimiento *Trichoderma* spp. con aplicación de Clorotalonil.

<b>Tratamiento</b>	<b>Tasa de desarrollo* (mm h<sup>-1</sup>)</b>	<b>Velocidad de crecimiento* (mm día<sup>-1</sup>)</b>
Ta0	1.0694±0.00 <sup>a</sup>	27.2520±0.1560 <sup>a</sup>
Ta7	0.1667±0.00 <sup>bc</sup>	4.1496±0.0504 <sup>bc</sup>
Ta8	0.0903±0.0347 <sup>cd</sup>	2.2500±1.0500 <sup>cd</sup>
Ta9	0.1111±0.0278 <sup>cd</sup>	3.0504±0.6504 <sup>cd</sup>
Th0	1.0694±0.00 <sup>a</sup>	28.1040±0.00 <sup>a</sup>
Th7	0.00±0.00 <sup>d</sup>	0.00±0.00 <sup>d</sup>
Th8	0.00±0.00 <sup>d</sup>	0.00±0.00 <sup>d</sup>
Th9	0.00±0.00 <sup>d</sup>	0.00±0.00 <sup>d</sup>
Thr0	1.0694±0.00 <sup>a</sup>	28.1040±0.00 <sup>a</sup>
Thr7	0.00±0.00 <sup>d</sup>	0.00±0.00 <sup>d</sup>
Thr8	0.3056±0.0556 <sup>b</sup>	7.2996±1.1004 <sup>b</sup>
Thr9	0.1667±0.0556 <sup>bc</sup>	4.0500±1.4508 <sup>bc</sup>
Tk0	1.0694±0.00 <sup>a</sup>	27.5520±0.5520 <sup>a</sup>
Tk7	0.1667±0.0278 <sup>bc</sup>	4.2000±0.6000 <sup>bc</sup>
Tk8	0.2361±0.0417 <sup>bc</sup>	5.9004±1.1004 <sup>bc</sup>
Tk9	0.2222±0.0278 <sup>bc</sup>	5.7996±0.3996 <sup>bc</sup>

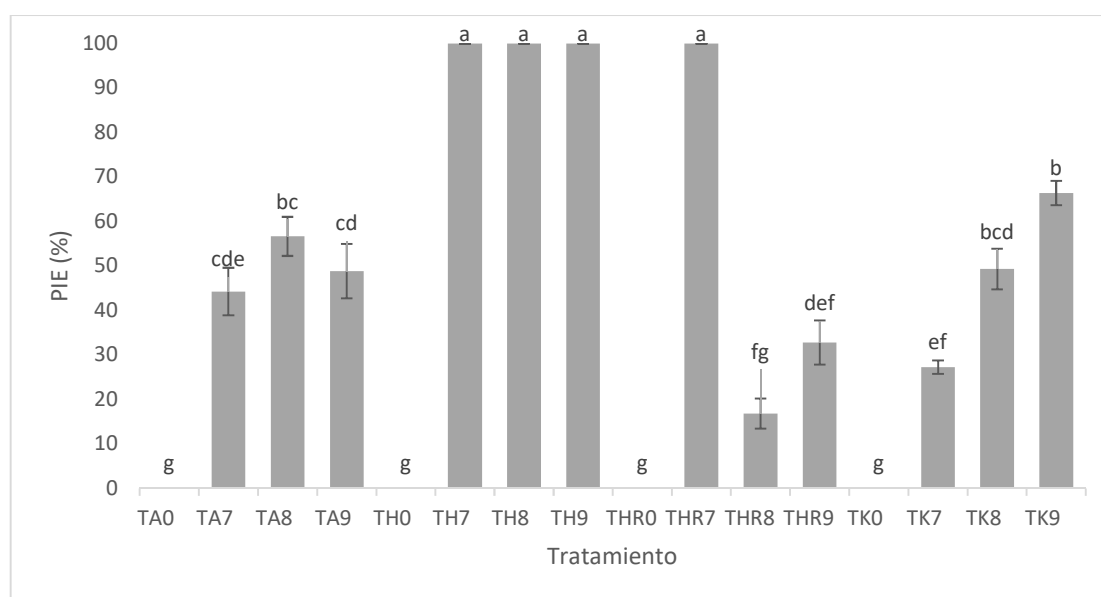
\* Medias con la misma letra no muestran diferencias estadísticas significativas. Prueba de Tuckey,  $p \leq 0.05$ .

Por los porcentajes de inhibición obtenidos y basados en la Escala de clasificación establecida por la OILB, la toxicidad para las cepas fue distinta, resultando que para *Trichoderma konigiopsis* el fungicida resultó ser moderadamente tóxico en las tres concentraciones mientras que para *T. hamatum* fue tóxico en los tres casos (Tabla 27). García (2019) indica que este ingrediente activo se clasifica como moderadamente tóxico a una concentración de 1.0 mg L<sup>-1</sup> a las 120 horas de crecimiento.

**Tabla 27.** Toxicidad de Clorotalonil en *Trichoderma* spp.

Cepa	450 mg L <sup>-1</sup>	900 mg L <sup>-1</sup>	1350 mg L <sup>-1</sup>
<i>Tk</i>	Moderadamente tóxico	Moderadamente tóxico	Moderadamente tóxico
<i>Ta</i>	Moderadamente tóxico	Tóxico	Moderadamente tóxico
<i>Th</i>	Tóxico	Tóxico	Tóxico
<i>Thr</i>	Tóxico	Ligeramente tóxico	Moderadamente tóxico

El porcentaje de esporulación obtenido en los tratamientos, en todos los casos se vio disminuido respecto al control, en el caso de *Trichoderma konigiopsis* está disminuyó conforme aumentó la concentración de fungicida, en el caso de *T. asperellum* y *T. harzianum* no se observó el mismo comportamiento, *T. hamatum* fue la más afectada al haberse inhibido en un 100%, esto debido a que no hubo crecimiento del micelio (Figura 16).



**Figura 16.** Porcentaje de inhibición de esporulación (PIE) de *Trichoderma* spp. en medio adicionado con Clorotalonil.

\*Letras iguales no muestran diferencias estadísticas significativas,  $p \leq 0.05$ .

Tanto el crecimiento del micelio y el porcentaje de esporulación finalmente en conjunto dan como resultado que *Trichoderma konigiopsis* y *T. harzianum*, en medio

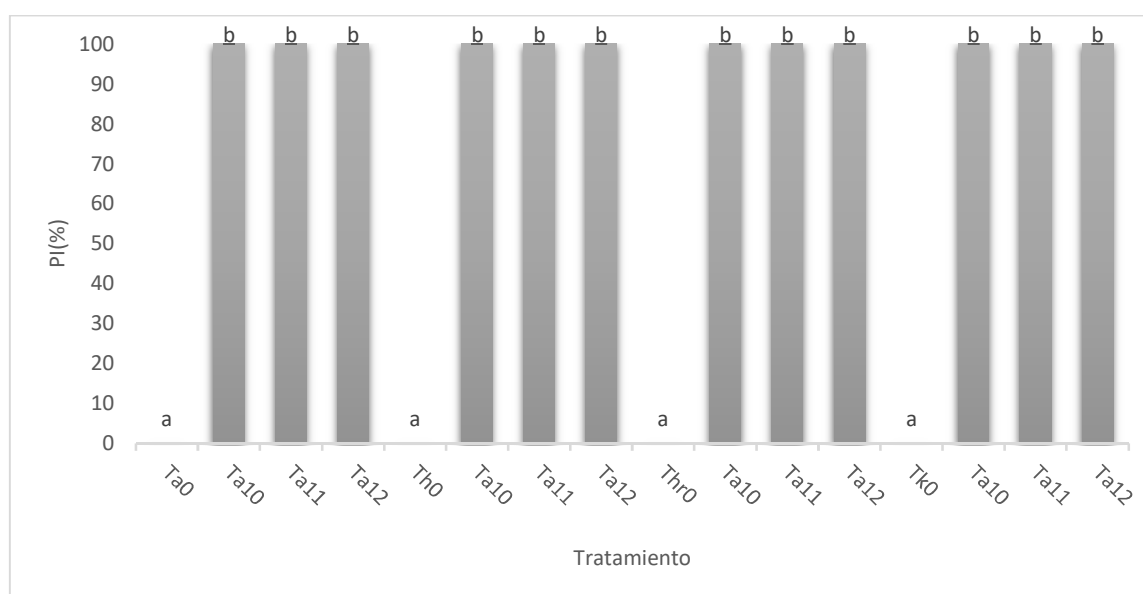
adicionado con Clorotalonil a 600 y 1200 mg L<sup>-1</sup> respectivamente resultaron compatibles (Tabla 28).

**Tabla 28.** Compatibilidad de *Trichoderma* spp. con el fungicida Clorotalonil.

Cepa	600 mg L <sup>-1</sup>	1200 mg L <sup>-1</sup>	1800 mg L <sup>-1</sup>
<i>Tk</i>	Compatible	Tóxico	Muy tóxico
<i>Ta</i>	Moderadamente tóxico	Tóxico	Tóxico
<i>Th</i>	Muy tóxico	Muy tóxico	Muy tóxico
<i>Thr</i>	Muy tóxico	Compatible	Moderadamente tóxico

#### 7.4.1.4 Benomil

La inhibición del crecimiento del micelio de todas las cepas de *Trichoderma* spp. a las tres concentraciones evaluadas se presentó en un 100% (Figura 17 y Tabla 29) en consecuencia, no hubo esporulación de ninguna de las cepas evaluadas.



**Figura 17.** Porcentaje de inhibición del crecimiento micelial (PI) de *Trichoderma* spp. en medio adicionado con Benomil.

\*Letras iguales no muestran diferencias estadísticas significativas,  $p \leq 0.05$ .

**Tabla 29.** Crecimiento *Trichoderma* spp. con aplicación de Clorotalonil.

Tratamiento	Tasa de desarrollo* (mm h <sup>-1</sup> )	Velocidad de crecimiento* (mm día <sup>-1</sup> )
Ta0	1.0694±0.00 <sup>a</sup>	27.2520±0.1560 <sup>b</sup>
Ta10	0.00±0.00 <sup>b</sup>	0.00±0.00 <sup>c</sup>
Ta11	0.00±0.00 <sup>b</sup>	0.00±0.00 <sup>c</sup>
Ta12	0.00±0.00 <sup>b</sup>	0.00±0.00 <sup>c</sup>
Th0	1.0694±0.00 <sup>a</sup>	28.1040±0.00 <sup>a</sup>
Th10	0.00±0.00 <sup>b</sup>	0.00±0.00 <sup>c</sup>
Th11	0.00±0.00 <sup>d</sup>	0.00±0.00 <sup>c</sup>
Th12	0.00±0.00 <sup>d</sup>	0.00±0.00 <sup>c</sup>
Thr0	1.0694±0.00 <sup>a</sup>	28.1040±0.00 <sup>a</sup>
Thr10	0.00±0.00 <sup>b</sup>	0.00±0.00 <sup>c</sup>
Thr11	0.00±0.00 <sup>b</sup>	0.00±0.00 <sup>c</sup>
Thr12	0.00±0.00 <sup>b</sup>	0.00±0.00 <sup>c</sup>
Tk0	1.0694±0.00 <sup>a</sup>	27.5520±0.5520 <sup>ab</sup>
Tk10	0.00±0.00 <sup>b</sup>	0.00±0.00 <sup>c</sup>
Tk11	0.00±0.00 <sup>b</sup>	0.00±0.00 <sup>c</sup>
Tk12	0.00±0.00 <sup>b</sup>	0.00±0.00 <sup>c</sup>

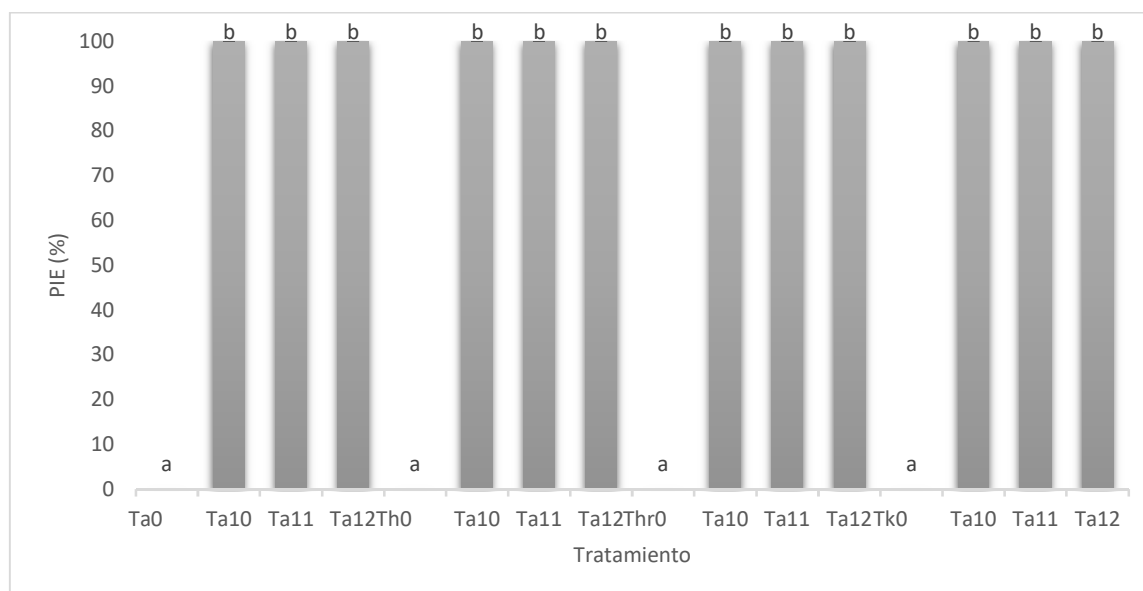
\* Medias con la misma letra no muestran diferencias estadísticas significativas. Prueba de Tuckey, p≤0.05.

Dado que Benomil inhibió en un 100% el crecimiento del micelio de cada una de las cepas evaluadas, esté fungicida se clasifica como tóxico a las tres concentraciones utilizadas (Tabla 30).

**Tabla 30.** Toxicidad de Benomil en *Trichoderma* spp.

Cepa	250 mg L <sup>-1</sup>	500 mg L <sup>-1</sup>	750 mg L <sup>-1</sup>
<i>Tk</i>	Tóxico	Tóxico	Tóxico
<i>Ta</i>	Tóxico	Tóxico	Tóxico
<i>Th</i>	Tóxico	Tóxico	Tóxico
<i>Thr</i>	Tóxico	Tóxico	Tóxico

Como consecuencia de la inhibición del crecimiento del micelio de las cepas de *Trichoderma* no hubo esporulación, resultanto por lo tanto la inhibición en un 100% de la esporulación (Figura 18) de todas las cepas en las tres concentraciones empleadas.



**Figura 18.** Porcentaje de inhibición de la esporulación (PIE) de *Trichoderma* spp. en medio adicionado con Benomil.

\*Letras iguales no muestran diferencias estadísticas significativas,  $p \leq 0.05$ .

Es así que, al no haber crecimiento micelial y por ende esporulación de las cepas de *Trichoderma* se clasifica como muy tóxico de acuerdo con la escada establecida por Alves *et al.* (1998), (Tabla 31).

**Tabla 31.** Compatibilidad de *Trichoderma* spp. con el fungicida Benomil.

Cepa	600 mg L <sup>-1</sup>	1200 mg L <sup>-1</sup>	1800 mg L <sup>-1</sup>
<i>Tk</i>	Muy tóxico	Muy tóxico	Muy tóxico
<i>Ta</i>	Muy tóxico	Muy tóxico	Muy tóxico
<i>Th</i>	Muy tóxico	Muy tóxico	Muy tóxico
<i>Thr</i>	Muy tóxico	Muy tóxico	Muy tóxico

Khan y Shahzad (2007) reportaron que Benomil inhibió el crecimiento de *Trichoderma harzianum* cuando fue usado a 100, 1000 y 10000 ppm, y permitió su crecimiento a concentraciones de 1 y 10 ppm, lo que concuerda con los resultados

obtenidos en el presente trabajo, además, esta especie mostró mayor inhibición comparada con *T. pseudokoningii* y *T. longibrachiatum*, las cuales mostraron crecimiento en las concentraciones superiores a 100 ppm. Este género ha mostrado resistencia a Benomil, por ejemplo, Togashi *et al.* (1998) reportaron la resistencia de *T. harzianum* proveniente de una sala de cultivo de *Lentinula edodes*, cuya desinfección se realizaba con Benzimidazol, lo que sugiere como causa del desarrollo de tolerancia al Benomilo.

Maheshwary *et al.* (2020), a concentraciones de 5, 25, 50 y 100 ppm de fungicidas sistémicos (Metalaxyl, Azoxystrobin, Tebuconazole, Propiconazole y Carbendazim) registraron un 0% de inhibición con el primero, en tanto que con los tres últimos un 100% para *Trichoderma asperellum* en cada una de las concentraciones, finalmente para Azoxystrobin la inhibición incrementó al aumentar la concentración.

### 7.5 Evaluación *in vitro* del antagonismo ejercido por cepas de *Trichoderma* spp., frente al fitopatógeno *Fusarium solani*.

El antagonismo de las cepas de *Trichoderma* ejercido contra *Fusarium solani* mediante la evaluación de la competencia por espacio y nutrientes nos indica que las cuatro cepas empleadas inhibieron más allá del 60% el crecimiento del patógeno (Tabla 32); *T. hamatum* presentó un mayor porcentaje de inhibición alcanzando el 67.51% mientras que *T. harzianum* fue la menor con un 64.70%, sin embargo, no hay diferencias estadísticas significativas entre las cuatro cepas empleadas, lo que nos indica que todas ellas son una opción viable para el control biológico del patógeno.

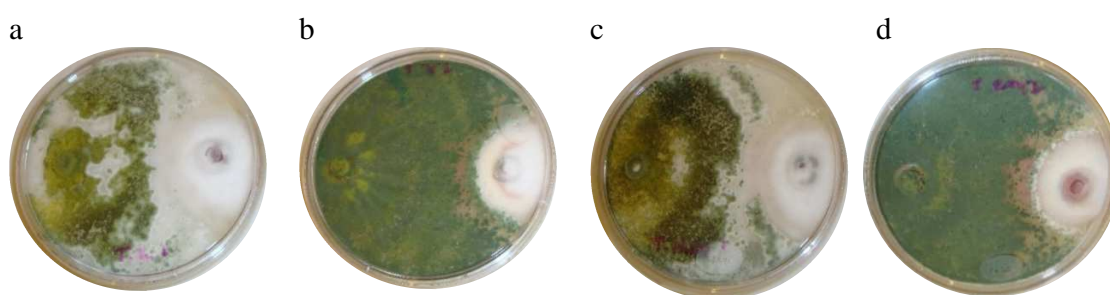
**Tabla 32.** Porcentaje de inhibición del crecimiento radial *Trichoderma* spp. vs *Fusarium solani*.

Tratamiento	PICR*
<i>T. konigiopsis</i>	66.21 ± 1.73 <sup>a</sup>
<i>T. asperellum</i>	65.34 ± 1.36 <sup>a</sup>
<i>T. hamatum</i>	67.51 ± 0.49 <sup>a</sup>
<i>T. harzianum</i>	64.70 ± 1.02 <sup>a</sup>

\* Medias del porcentaje de inhibición con la misma letra no muestran diferencias estadísticas significativas. Prueba de Tuckey, p≤0.05.

Respecto al grado de antagonismo de acuerdo a la Escala establecida por Bell *et al.* (1982), todos los tratamientos se ubicaron en el Grado 2, en la que *Trichoderma* coloniza dos terceras partes de la superficie del medio de cultivo y limita el crecimiento del fitopatógeno

En la Figura 19 se muestra el crecimiento a los 11 días de establecido el experimento. A los 4 días las cuatro cepas de *Trichoderma* tuvieron contacto con la cepa de *Fusarium* sp., finalmente, a los 11 días todas las cepas antagonistas rodearon al patógeno.



**Figura 19.** Antagonismo de *Trichoderma* sp. vs. *Fusarium* sp. a. *T. konigiopsis* b. *T. asperellum*, c. *T. hamatum* y d. *T. harzianum*.

Abd-El-Kareem *et al.* (2019) reportan la reducción del 92.1% del área de crecimiento para *F. solani* empleando *Trichoderma harzianum*. Andrade *et al.* (2019) reportan un PICR de 92.68% para *T. asperellum* contra *F. oxysporum* valor que es mayor al obtenido en este trabajo. Manjunath *et al.* (2017) obtuvieron un 26.27% de PICR para *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, con *T. asperellum* la cual a los 6 días parasitó al patógeno. Para el control de *F. solani* Pastrana *et al.* (2016) obtuvieron un valor de PICR de 39% con *T. asperellum* sin observarse sobrecrecimiento en el patógeno, además, al aplicar en condiciones de invernadero y campo la cepa redujo el impacto de la pudrición de la raíz en plantas de fresa causada por el patógeno.

El-Hassan *et al.* (2013) empleando a *Trichoderma hamatum* obtuvieron buenos resultados en el control de *F. oxysporum*, su capacidad antagónica se mostró al inhibir el crecimiento del patógeno mediante mecanismos de antibiosis, micoparasitismo y competencia por espacio y nutrientes. Magar *et al.* (2020) con cepas de *T. asperellum*, *T.*

*harzianum*, *T. hamatum*, *T. koningii* y *T. virens* para el control de *F. oxysporum* f. sp. *cicerei* obtuvieron porcentajes de inhibición de 60.74, 84.07, 82.59, 77.40 y 72.22 % respectivamente; en el caso de la cepa *T. asperellum* el resultado es similar al obtenido en el presente trabajo, mientras que *T. harzianum* y *T. hamatum* exhibieron una mejor capacidad antagonista en comparación a las cepas empleadas en el presente trabajo.

Bhale y Rajkonda (2015), encontraron que especies de *Trichoderma* inhibieron el crecimiento micelial de *F. oxysporum* f. sp. *spinaciae*, entre dichas especies *T. harzianum* alcanzó un porcentaje del 66.6% de inhibición del patógeno, en comparación con *T. virens*, *T. pseudokoningii* y *T. viride* que inhibieron en un 70, 62.2 y 55.55% respectivamente.

Patil *et al.* (2015) empleando cepas de *Trichoderma viride*, *T. harzianum*, *T. pseudokoningii* y *T. koningii*, registraron porcentajes de inhibición de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cicerei* del 80.1% con *T. viride*, seguido de *T. koningii* (64.0%), *T. harzianum* (62.4%), en el caso de esta última especie fue similar al resultado obtenido.

## **7.6 Evaluación *in vitro* del antagonismo ejercido por cepas de *Trichoderma* spp., frente al fitopatógeno *Fusarium solani* en presencia de fungicidas.**

### **7.6.1 Captan**

El tratamiento con el cual se obtuvo un mayor porcentaje de inhibición del crecimiento radial corresponde al DTA1, en el cual la cepa antagonista corresponde a *Trichoderma asperellum* en medio adicionado con 450 mg L<sup>-1</sup> del fungicida, encontrando diferencias estadísticas significativas respecto al control que alcanzó un valor de 65.34%, en cambio, no se observaron diferencias con el tratamiento control de *T. hamatum* que alcanzó un valor de 67.51%. Se observó distinto comportamiento entre las cepas empleadas como antagonistas; con *T. konigiopsis* y *T. hamatum* se alcanzó un mayor PICR a la concentración de 900 mg L<sup>-1</sup>, mientras que *T. asperellum* como se mencionó líneas arriba lo hizo a 450 mg L<sup>-1</sup> y finalmente *T. harzianum* a 1350 mg L<sup>-1</sup>, no obstante, no hay diferencias estadísticas significativas entre ellas.

En los tratamientos con *Trichoderma konigiopsis* el PICR máximo fue de 67.37% sin diferencias estadísticas significativas dentro del mismo grupo; los tratamientos con *T. asperellum* en medio adicionado con el fungicida superaron al control con diferencias

estadísticas significativas respecto a éste, siendo el valor más alto de 76.33%; *T. hamatum* no presentó diferencias estadísticas significativas en el mismo grupo con un valor máximo de PICR de 71.11%. Finalmente *T. harzianum* en los tratamientos DTHR1, DTHR2 y DTHR3 no presentaron diferencias estadísticas significativa. Por el contrario, si las hubo respecto a DTH0 que destacó por ser el tratamiento con el menor PICR. En el caso de los tratamientos con *T. harzianum* el PICR aumentó conforme aumento la concentración del fungicida; aquellos con *T. konigiopsis* y *T. hamatum* el PICR aumentó únicamente en las dos primeras concentraciones, a la concentración mayor empleada el PICR disminuyó, por ultimo *T. asperellum* a la concentración de 450 mg L<sup>-1</sup> aumentó respecto al control, teniendo un efecto sinérgico entre ambos controladores. No obstante, disminuyó y nuevamente aumentó en las siguientes concentraciones empleadas (Tabla 33). Lo anterior puede atribuirse a un fenómeno de hórmesis, en el cual el efecto en bajas concentraciones de un material tóxico estimula al organismo objetivo (Escudero *et al.*, 2009).

**Tabla 33.** Porcentaje de inhibición de *Trichoderma* spp. vs. *Fusarium solani* en medio adicionado con Captan.

Tratamiento	Diámetro (mm)		PICR*	Escala Bell		
	Patógeno	Antagonista				
<i>T. konigiopsis</i>	DTK0	Control	26.33±1.20 <sup>b</sup>	56.50±1.04 <sup>ab</sup>	66.21±1.73 <sup>ab</sup>	2
	DTK1	450 mg L <sup>-1</sup>	26.13±2.33 <sup>ab</sup>	57.13±1.98 <sup>ab</sup>	66.29±2.50 <sup>ab</sup>	2
	DTK2	900 mg L <sup>-1</sup>	25.25±1.38 <sup>ab</sup>	57.75±1.38 <sup>ab</sup>	67.37±1.30 <sup>abc</sup>	2
	DTK3	1350 mg L <sup>-1</sup>	27.25±2.26 <sup>b</sup>	55.50±2.40 <sup>ab</sup>	64.84±2.32 <sup>a</sup>	2
<i>T. asperellum</i>	DTA0	Control	27.00±0.58 <sup>b</sup>	52.83±2.92 <sup>a</sup>	65.34±1.36 <sup>ab</sup>	2
	DTA1	450 mg L <sup>-1</sup>	18.38± 2.10 <sup>a</sup>	61.25±0.25 <sup>ab</sup>	76.33±2.32 <sup>c</sup>	2
	DTA2	900 mg L <sup>-1</sup>	21.00±1.06 <sup>ab</sup>	61.00±1.06 <sup>ab</sup>	72.84±1.08 <sup>abc</sup>	2
	DTA3	1350 mg L <sup>-1</sup>	20.38±1.34 <sup>ab</sup>	60.88±0.31 <sup>ab</sup>	73.68±1.34 <sup>abc</sup>	2
<i>T. hamatum</i>	DTH0	Control	25.33±0.33 <sup>ab</sup>	58.00±0.58 <sup>ab</sup>	67.51±0.49 <sup>abc</sup>	2
	DTH1	450 mg L <sup>-1</sup>	24.50±2.02 <sup>ab</sup>	58.63±1.97 <sup>ab</sup>	68.37±2.19 <sup>abc</sup>	2
	DTH2	900 mg L <sup>-1</sup>	22.38±1.60 <sup>ab</sup>	60.50±1.34 <sup>ab</sup>	71.11±1.63 <sup>abc</sup>	2
	DTH3	1350 mg L <sup>-1</sup>	23.75±2.25 <sup>ab</sup>	58.63±2.13 <sup>ab</sup>	69.19±3.16 <sup>abc</sup>	2
<i>T. harzianum</i>	DTHR0	Control	27.50±0.29 <sup>b</sup>	55.83±0.44 <sup>a</sup>	64.70±1.02 <sup>a</sup>	2
	DTHR1	450 mg L <sup>-1</sup>	21.50±0.20 <sup>ab</sup>	61.38±0.24 <sup>ab</sup>	72.15±0.32 <sup>abc</sup>	2
	DTHR2	900 mg L <sup>-1</sup>	19.63±0.85 <sup>ab</sup>	63.13±0.88 <sup>b</sup>	74.58±1.11 <sup>bc</sup>	2
	DTHR3	1350 mg L <sup>-1</sup>	19.38±1.25 <sup>ab</sup>	59.88±2.31 <sup>ab</sup>	74.82±2.00 <sup>bc</sup>	2

\*Medias con la misma letra no muestran diferencias estadísticas significativas. Prueba de Tuckey, p<0.05.

Referente a la velocidad de crecimiento los tratamientos DTK0, DTA0, DTH0 y DTHR0 en los que no se adicionaron fungicidas exhibieron los mayores valores, resaltando

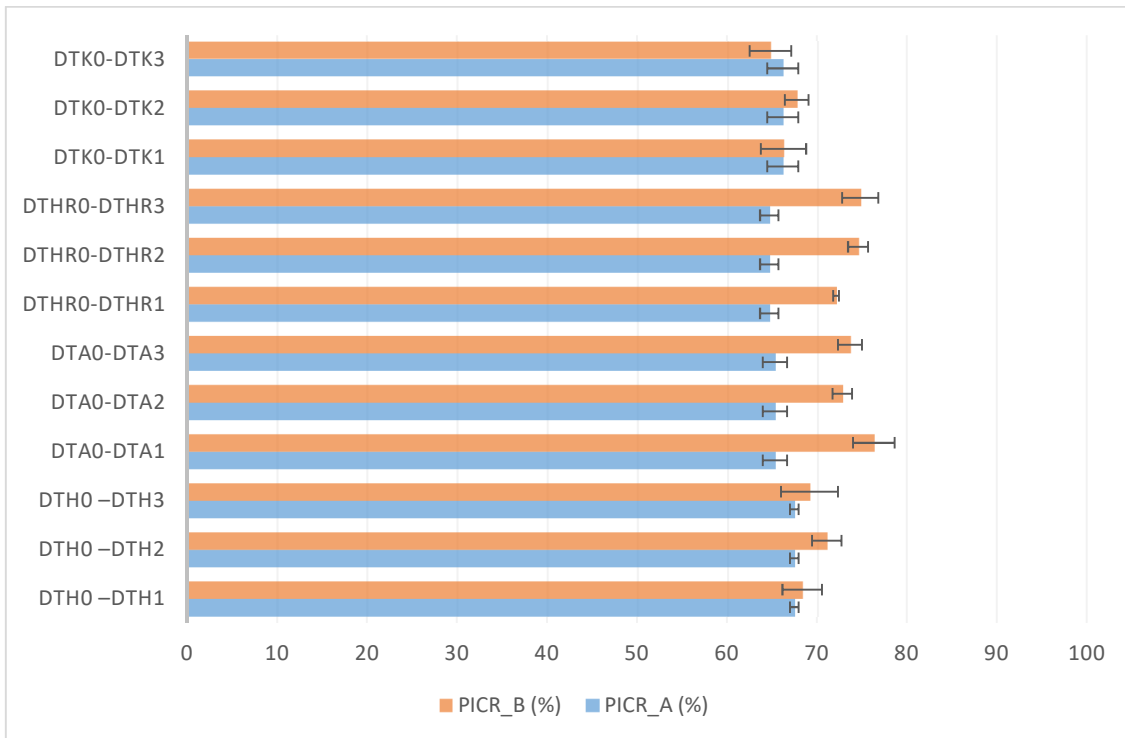
que únicamente *Trichoderma harzianum* a las tres concentraciones del fungicida logró desarrollarse sin presentar diferencias estadísticas significativas respecto a los tratamientos control, situación similar con *T. asperellum* al no haber diferencias en los tratamientos DTA0, DTA1, DTA2 y además con DTK0 (Tabla 34).

**Tabla 34.** Crecimiento de *Trichoderma* spp. y *Fusarium solani* en Captan.

Tratamiento	Patógeno		Antagonista	
	Tasa de desarrollo (mm/h)	Velocidad de crecimiento (mm/h)	Tasa de desarrollo (mm/h)	Velocidad de crecimiento (mm/h)
DTK0	0.2185±0.0230 <sup>cd</sup>	0.2175±0.0186 <sup>b</sup>	0.5243±0.0230 <sup>gh</sup>	0.5526±0.0208 <sup>ef</sup>
DTK1	0.1470±0.0217 <sup>abcd</sup>	0.1519±0.0138 <sup>ab</sup>	0.3577±0.0110 <sup>abcde</sup>	0.3669±0.0237 <sup>bcd</sup>
DTK2	0.1112±0.0060 <sup>abc</sup>	0.1111±0.0065 <sup>a</sup>	0.2912±0.0149 <sup>ab</sup>	0.2934±0.0225 <sup>ab</sup>
DTK3	0.1142±0.0097 <sup>abc</sup>	0.1629±0.0464 <sup>ab</sup>	0.2612±0.0169 <sup>a</sup>	0.2587±0.0260 <sup>a</sup>
DTA0	0.2115±0.0056 <sup>bcd</sup>	0.2410±0.0180 <sup>b</sup>	0.4599±0.0281 <sup>efgh</sup>	0.4899±0.0246 <sup>def</sup>
DTA1	0.1037±0.0140 <sup>a</sup>	0.0995±0.0088 <sup>a</sup>	0.4416±0.0188 <sup>defg</sup>	0.3986±0.0196 <sup>bcd</sup>
DTA2	0.1282±0.0072 <sup>abcd</sup>	0.1097±0.0022 <sup>a</sup>	0.4514±0.0258 <sup>defgh</sup>	0.4045±0.0269 <sup>cde</sup>
DTA3	0.1093±0.0054 <sup>abc</sup>	0.1006±0.0099 <sup>a</sup>	0.4023±0.0215 <sup>bcd</sup>	0.3830±0.0273 <sup>bcd</sup>
DTH0	0.2125±0.0076 <sup>bcd</sup>	0.2220±0.0229 <sup>b</sup>	0.5552±0.0328 <sup>h</sup>	0.5827±0.0239 <sup>f</sup>
DTH1	0.1307±0.0185 <sup>abcd</sup>	0.1307±0.0127 <sup>ab</sup>	0.3535±0.0084 <sup>abcde</sup>	0.3534±0.0134 <sup>bcd</sup>
DTH2	0.1107±0.0188 <sup>a</sup>	0.0984±0.0068 <sup>a</sup>	0.3438±0.0212 <sup>abcd</sup>	0.3365±0.0077 <sup>abc</sup>
DTH3	0.1141±0.0142 <sup>ab</sup>	0.1040±0.0108 <sup>a</sup>	0.3270±0.0283 <sup>abc</sup>	0.3153±0.0179 <sup>abc</sup>
DTHR0	0.2344±0.0030 <sup>d</sup>	0.2623±0.0026 <sup>b</sup>	0.5295±0.0046 <sup>gh</sup>	0.5658±0.0045 <sup>ef</sup>
DTHR1	0.1422±0.0018 <sup>abcd</sup>	0.1343±0.0152 <sup>ab</sup>	0.4860±0.0021 <sup>fgh</sup>	0.4819±0.0378 <sup>def</sup>
DTHR2	0.0988±0.0069 <sup>a</sup>	0.1111±0.0122 <sup>a</sup>	0.3937±0.0242 <sup>bcd</sup>	0.4200±0.0350 <sup>cdef</sup>
DTHR3	0.1113±0.0064 <sup>abc</sup>	0.1400±0.0062 <sup>ab</sup>	0.4315±0.0367 <sup>cdefg</sup>	0.5473±0.0052 <sup>ef</sup>

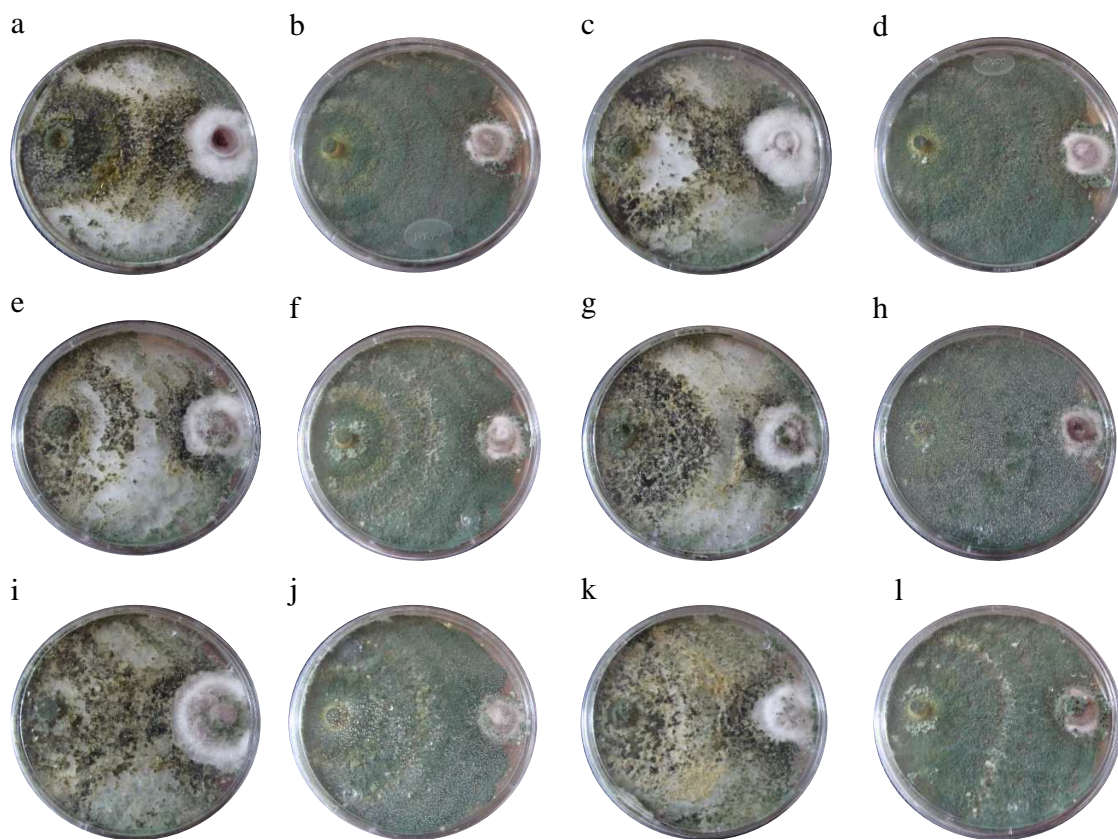
Medias con la misma letra no muestran diferencias estadísticas significativas. Prueba de Tuckey,  $p < 0.05$ .

Con el análisis de datos mediante la T de student ( $p \leq 0.05$ ) (Figura 21), se determinó que, en todos los tratamientos en los que se empleó Captan, el PICR incrementó, sin embargo, conjuntamente con el uso de *T. asperellum* y *T. harzianum* se registraron diferencias significativas respecto al uso individual de las cepas, superando el 70% de inhibición del patógeno, por otro lado, con *T. hamatum* y *T. konigiopsis* no se registraron diferencias significativas; solamente en el tratamiento con *T. konigiopsis* y Captan a 1350 mg L<sup>-1</sup> el PICR del patógeno disminuyó sin presentar diferencias significativas si lo comparamos con el uso de la cepa sola.



**Figura 20.** Porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) de *Fusarium solani*  
 A: Control biológico vs B: Control biológico + Control químico (Captan)

En la Figura 20, se muestran las cepas de *Trichoderma* a los 11 días de crecimiento en medio adicionado con Captan a las concentraciones de 450, 900 y 1350 mg L<sup>-1</sup>. En la Escala de Bell, el grado de antagonismo se ubicó en el grado 2.



**Figura 21.** Crecimiento de cepas de *Trichoderma* spp. en medio adicionado con Captan 450 mg L<sup>-1</sup>: a. *T. konigiopsis*, b. *T. asperellum*, c. *T. hamatum*, d. *T. harzianum*; Captan 900 mg L<sup>-1</sup>: e. *T. konigiopsis*, f. *T. asperellum*, g. *T. hamatum*, h. *T. harzianum*; Captan a 1350 mg L<sup>-1</sup>: i. *T. konigiopsis*, j. *T. asperellum*, k. *T. hamatum*, l. *T. harzianum*.

Peláez-Álvarez *et al.* (2016) reportan que el uso de una dosis de 0.1 g L<sup>-1</sup> de Captan en conjunto con *Trichoderma asperellum* (T8a) incrementaron la inhibición de *C. gloeosporioides*, comparado con su uso individual, alcanzando un porcentaje de inhibición del 99% del patógeno.

### 7.6.2 Mancozeb

El mayor valor para el PICR en el medio adicionado con Mancozeb se obtuvo en el tratamiento DTHR4, pero únicamente presenta diferencias estadísticas significativas con DTK4, que obtuvo el menor valor con un 62.46%. En los tratamientos en los que se utilizó la misma cepa de *Trichoderma* no hubo diferencias estadísticas significativas entre ellos.

En los tratamientos con *Trichoderma konigiopsis* se obtuvo un mayor valor de PICR en el tratamiento sin fungicida; en tratamientos con *T. asperellum* el mejor se registró en DTA4; con *T. hamatum* fue DTH5 y para *T. harzianum* resultó ser DTHR5, a su vez, en todos los casos no hubo diferencias estadísticas significativas entre grupos (Tabla 35).

**Tabla 35.** Porcentaje de inhibición de *Trichoderma* spp. vs. *Fusarium solani* en medio adicionado con Mancozeb.

	Tratamiento		Diámetro (mm)		PICR	Escala Bell
			Patógeno	Antagonista		
<i>T. konigiopsis</i>	DTK0	Control	26.33±1.20 <sup>ab</sup>	56.50±1.04 <sup>abc</sup>	66.21±1.73 <sup>abc</sup>	2
	DTK4	600 mg L <sup>-1</sup>	29.00±0.58 <sup>b</sup>	41.50±6.64 <sup>a</sup>	62.46±0.15 <sup>a</sup>	2
	DTK5	1200 mg L <sup>-1</sup>	27.25±1.18 <sup>ab</sup>	55.38±1.38 <sup>abc</sup>	64.76±1.09 <sup>abc</sup>	2
	DTK6	1800 mg L <sup>-1</sup>	28.75±1.05 <sup>b</sup>	53.90±0.99 <sup>abc</sup>	62.81±0.82 <sup>ab</sup>	2
<i>T. asperellum</i>	DTA0	Control	27.00±0.58 <sup>ab</sup>	52.83±2.92 <sup>abc</sup>	65.34±1.36 <sup>abc</sup>	2
	DTA4	600 mg L <sup>-1</sup>	24.25±0.85 <sup>ab</sup>	59.25±1.03 <sup>c</sup>	68.56±1.40 <sup>c</sup>	1
	DTA5	1200 mg L <sup>-1</sup>	26.13±0.66 <sup>ab</sup>	57.00±0.58 <sup>abc</sup>	66.16±0.91 <sup>abc</sup>	1
	DTA6	1800 mg L <sup>-1</sup>	24.75±0.75 <sup>ab</sup>	58.00±0.71 <sup>abc</sup>	67.93±1.14 <sup>abc</sup>	1
<i>T. hamatum</i>	DTH0	Control	25.33±0.33 <sup>ab</sup>	58.00±0.58 <sup>abc</sup>	67.51±0.49 <sup>abc</sup>	2
	DTH4	600 mg L <sup>-1</sup>	26.38±1.03 <sup>ab</sup>	58.25±1.36 <sup>bc</sup>	65.88±1.00 <sup>abc</sup>	2
	DTH5	1200 mg L <sup>-1</sup>	24.75±0.75 <sup>ab</sup>	58.00±0.71 <sup>bc</sup>	67.96±0.85 <sup>abc</sup>	2
	DTH6	1800 mg L <sup>-1</sup>	26.50±0.96 <sup>ab</sup>	56.50±0.96 <sup>abc</sup>	65.72±0.82 <sup>abc</sup>	2
<i>T. harzianum</i>	DTHR0	Control	27.50±0.29 <sup>ab</sup>	55.83±0.44 <sup>abc</sup>	64.70±1.02 <sup>abc</sup>	2
	DTHR4	600 mg L <sup>-1</sup>	23.50±1.19 <sup>a</sup>	41.50±7.79 <sup>ab</sup>	69.60±1.27 <sup>c</sup>	2
	DTHR5	1200 mg L <sup>-1</sup>	24.63±1.81 <sup>ab</sup>	58.38±1.81 <sup>bc</sup>	68.21±1.80 <sup>bc</sup>	2
	DTHR6	1800 mg L <sup>-1</sup>	25.25±0.14 <sup>ab</sup>	57.75±0.14 <sup>abc</sup>	67.28±0.60 <sup>abc</sup>	2

Medias con la misma letra no muestran diferencias estadísticas significativas. Prueba de Tuckey,  $p \leq 0.05$ .

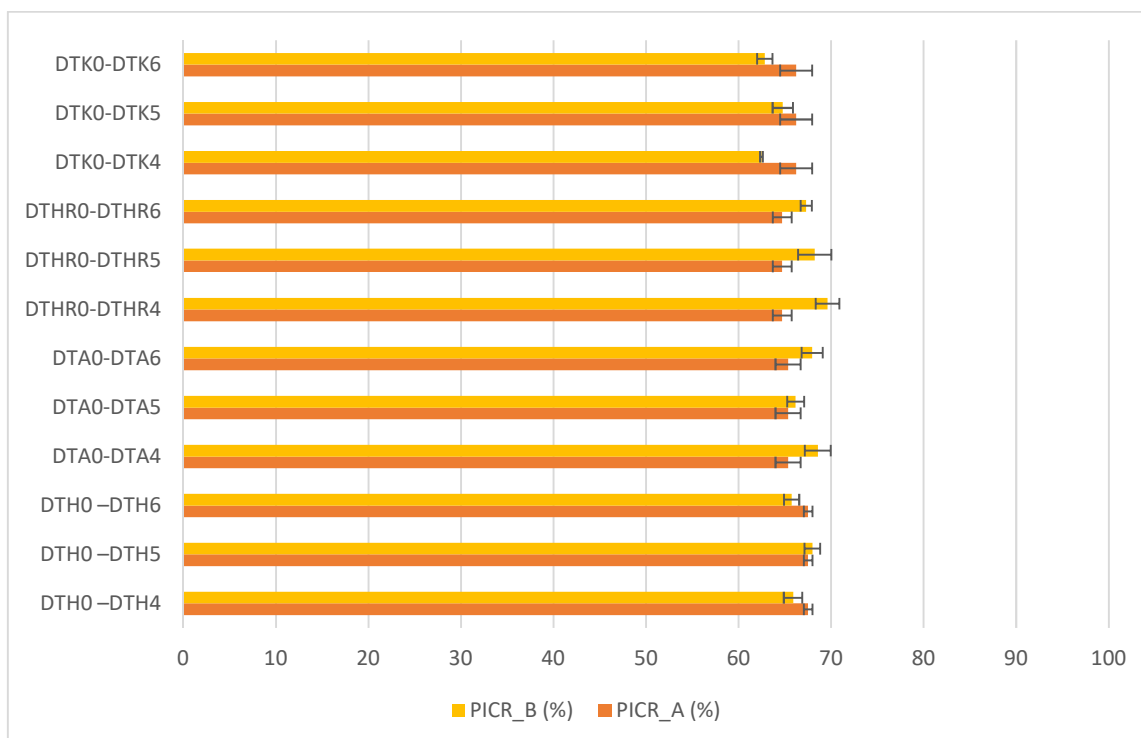
Los tratamientos en los que no se agregó fungicida exhibieron una mayor velocidad de crecimiento, destacando DTH0 con una velocidad de 0.5827 mm h<sup>-1</sup> compartiendo grupo únicamente con los tratamientos DTA4, DTA5 y DTHR4 (Tabla 36).

**Tabla 36.** Crecimiento de *Trichoderma* spp. y *Fusarium solani* en Mancozeb.

Tratamiento	Patógeno		Antagonista	
	Tasa de desarrollo (mm h <sup>-1</sup> )	Velocidad de crecimiento (mm h <sup>-1</sup> )	Tasa de desarrollo (mm h <sup>-1</sup> )	Velocidad de crecimiento (mm h <sup>-1</sup> )
DTK0	0.2185±0.0230 <sup>bc</sup>	0.2175±0.0186 <sup>bcd</sup>	0.5243±0.0230 <sup>e</sup>	0.5526±0.0208 <sup>ef</sup>
DTK4	0.1664±0.0126 <sup>abc</sup>	0.1850±0.0119 <sup>abcd</sup>	0.2527±0.0499 <sup>a</sup>	0.3490±0.0170 <sup>ab</sup>
DTK5	0.1446±0.0113 <sup>ab</sup>	0.1652±0.0138 <sup>abcd</sup>	0.3260±0.0116 <sup>abc</sup>	0.3407±0.0218 <sup>ab</sup>
DTK6	0.1484±0.0082 <sup>abc</sup>	0.1607±0.0094 <sup>abcd</sup>	0.3066±0.0182 <sup>ab</sup>	0.3149±0.0282 <sup>a</sup>
DTA0	0.2115±0.0056 <sup>bc</sup>	0.2410±0.0180 <sup>cd</sup>	0.4599±0.0281 <sup>de</sup>	0.4899±0.0246 <sup>def</sup>
DTA4	0.1512±0.0077 <sup>abc</sup>	0.1715±0.0088 <sup>abcd</sup>	0.4285±0.0295 <sup>cde</sup>	0.4731±0.0340 <sup>cdef</sup>
DTA5	0.1626±0.0110 <sup>abc</sup>	0.1656±0.0056 <sup>abcd</sup>	0.3992±0.0171 <sup>bcde</sup>	0.4324±0.0210 <sup>bcdef</sup>
DTA6	0.1419±0.0092 <sup>ab</sup>	0.1590±0.0094 <sup>abcd</sup>	0.3798±0.0126 <sup>abcde</sup>	0.4118±0.0115 <sup>abcde</sup>
DTH0	0.2125±0.0076 <sup>bc</sup>	0.2220±0.0229 <sup>bcd</sup>	0.5552±0.0328 <sup>e</sup>	0.5827±0.0239 <sup>f</sup>
DTH4	0.1651±0.0151 <sup>abc</sup>	0.1579±0.0223 <sup>abc</sup>	0.4076±0.0094 <sup>bcde</sup>	0.4094±0.0095 <sup>abcde</sup>
DTH5	0.1411±0.0054 <sup>ab</sup>	0.1394±0.0081 <sup>ab</sup>	0.3786±0.0050 <sup>abcde</sup>	0.3845±0.0177 <sup>abcd</sup>
DTH6	0.1479±0.0099 <sup>abc</sup>	0.1543±0.0148 <sup>abc</sup>	0.3529±0.0038 <sup>abcd</sup>	0.3620±0.0123 <sup>abc</sup>
DTHR0	0.2344±0.0030 <sup>c</sup>	0.2623±0.0026 <sup>d</sup>	0.5295±0.0046 <sup>e</sup>	0.5658±0.0045 <sup>ef</sup>
DTHR4	0.1469±0.0163 <sup>ab</sup>	0.1572±0.0212 <sup>abc</sup>	0.2877±0.0636 <sup>abc</sup>	0.4643±0.0181 <sup>cdef</sup>
DTHR5	0.1316±0.0179 <sup>a</sup>	0.1350±0.0282 <sup>a</sup>	0.3517±0.0042 <sup>abcd</sup>	0.3834±0.0092 <sup>abcd</sup>
DTHR6	0.1296±0.0132 <sup>a</sup>	0.1311±0.0095 <sup>a</sup>	0.3375±0.0335 <sup>abcd</sup>	0.3629±0.0409 <sup>abc</sup>

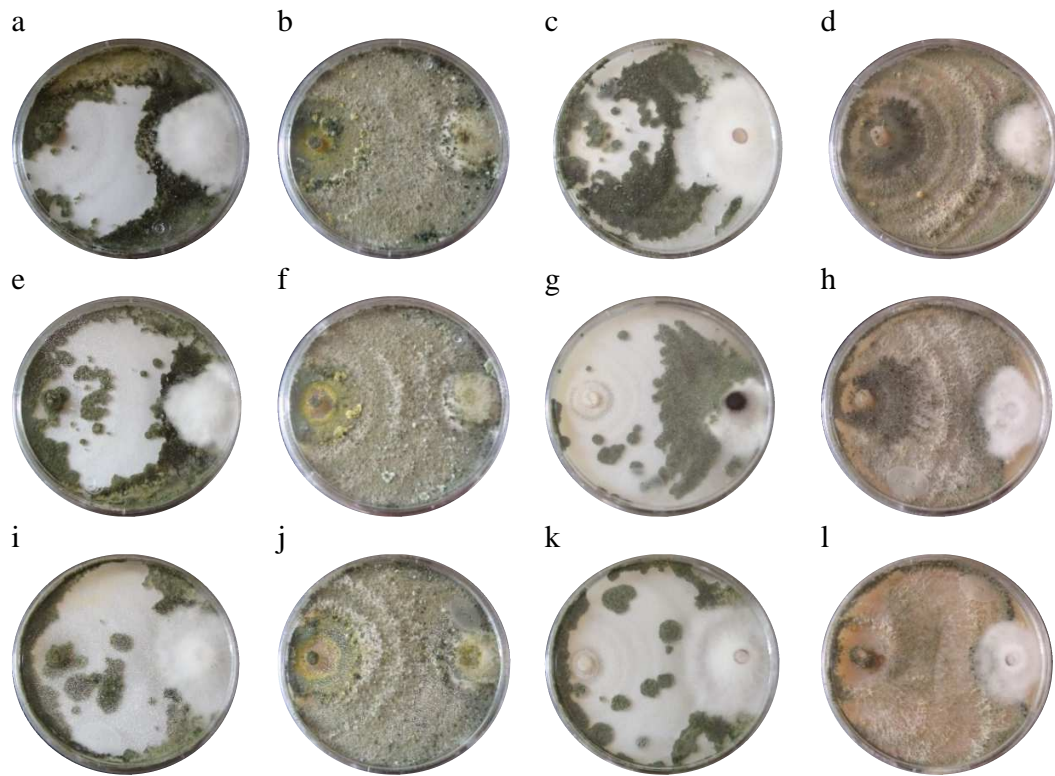
Medias con la misma letra no muestran diferencias estadísticas significativas. Prueba de Tuckey,  $p \leq 0.05$ .

De la prueba T de student, obtenemos que, en conjunto el uso de Mancozeb con *T. hamatum* incrementó el PICR del patógeno a la concentración de 1200 mg L<sup>-1</sup>, a 600 y 1800 mg L<sup>-1</sup> el PICR disminuyó, en los tres casos sin diferencias estadísticas significativas respecto al uso individual del controlador biológico. Con *T. asperellum* y *T. harzianum* el PICR incrementó en los seis tratamientos, presentando diferencias significativas únicamente con *T. harzianum* a 600 y 1800 mg L<sup>-1</sup>. En el caso de *T. konigiopsis* el valor del porcentaje de inhibición del patógeno disminuyó al adicionar este fungicida en las tres concentraciones (Figura 22).



**Figura 22.** Porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) de *Fusarium solani*  
 A: Control biológico vs B: Control biológico + Control químico (Mancozeb)

En el medio adicionado con Mancozeb, el grado de antagonismo alcanzado por *T. asperellum* a las concentraciones de 600, 1200 y 1800 mg L<sup>-1</sup> fue el grado 1, en tanto, que el resto de las cepas solo alcanzó el grado 2 (Figura 21).



**Figura 23.** Crecimiento de cepas de *Trichoderma* spp. en medio adicionado con Mancozeb 600 mg L<sup>-1</sup>: a. *T. konigiopsis*, b. *T. asperellum*, c. *T. hamatum*, d. *T. harzianum*; Mancozeb 1200 mg L<sup>-1</sup>: e. *T. konigiopsis*, f. *T. asperellum*, g. *T. hamatum*, h. *T. harzianum*; Mancozeb 1800 mg L<sup>-1</sup>: i. *T. konigiopsis*, j. *T. asperellum*, k. *T. hamatum*, l. *T. harzianum*.

González *et al.* (2020) reportan que el uso de la cepa *T. reesei* C2A en combinación con Mancozeb a una concentración de 0.1 mg L<sup>-1</sup> mejoró la capacidad micoparasitica sobre *F. oxysporum* aproximadamente por un 36% comparada con el control, situación que concuerda con los resultados obtenidos con la cepa de *T. asperellum* en este trabajo al poder sobrecrecer sobre *Fusarium solani*.

### 7.6.3 Clorotalonil

Los tratamientos en los que no se adicionó el fungicida presentaron un mayor PICR, todas las cepas de *Trichoderma* presentaron valores menores de PICR respecto a su control, en cambio, *T. konigiopsis* en los tratamientos DTK7 y DTK8 no presentaron diferencias estadísticas significativas con *T. asperellum* y *T. harzianum* en los tratamientos control. La

cepa que mostró menor antagonismo fue *T. harzianum* alcanzando un 29.71% de PICR y grado de antagonismo 4 (Tabla 37).

**Tabla 37.** Porcentaje de inhibición de *Trichoderma* spp. vs. *Fusarium solani* en medio adicionado con Clorotalonil.

Tratamiento			Diámetro (mm)		PICR	Escala Bell
	Patógeno	Antagonista				
<i>T. konigiopsis</i>	DTK0	Control	26.33±1.20 <sup>a</sup>	56.50±1.04 <sup>fg</sup>	66.21±1.73 <sup>f</sup>	2
	DTK7	450 mg L <sup>-1</sup>	34.88±1.90 <sup>bcd</sup>	47.63±1.77 <sup>de</sup>	54.91±1.96 <sup>de</sup>	3
	DTK8	900 mg L <sup>-1</sup>	34.50±1.43 <sup>bcd</sup>	48.25±1.61 <sup>def</sup>	55.38±1.26 <sup>de</sup>	3
	DTK9	1350 mg L <sup>-1</sup>	39.00±2.35 <sup>cde</sup>	44.00±2.35 <sup>cd</sup>	49.62±2.24 <sup>cd</sup>	3
<i>T. asperellum</i>	DTA0	Control	27.00±0.58 <sup>ab</sup>	52.83±2.92 <sup>def</sup>	65.34±1.36 <sup>ef</sup>	2
	DTA7	450 mg L <sup>-1</sup>	50.75±1.59 <sup>efg</sup>	31.00±0.89 <sup>abc</sup>	34.35±0.97 <sup>abc</sup>	4
	DTA8	900 mg L <sup>-1</sup>	52.13±2.89 <sup>g</sup>	28.75±1.80 <sup>ab</sup>	32.62±2.94 <sup>a</sup>	4
	DTA9	1350 mg L <sup>-1</sup>	52.00±1.22 <sup>efg</sup>	27.13±1.21 <sup>a</sup>	32.70±0.68 <sup>ab</sup>	4
<i>T. hamatum</i>	DTH0	Control	25.33±0.33 <sup>a</sup>	58.00±0.58 <sup>g</sup>	67.51±0.49 <sup>f</sup>	2
	DTH7	450 mg L <sup>-1</sup>	39.00±1.21 <sup>cde</sup>	43.88±1.20 <sup>cd</sup>	49.52±1.22 <sup>cd</sup>	3
	DTH8	900 mg L <sup>-1</sup>	40.00±2.20 <sup>cdef</sup>	42.88±2.29 <sup>cd</sup>	48.05±3.65 <sup>bcd</sup>	3
	DTH9	1350 mg L <sup>-1</sup>	39.88±1.59 <sup>cdef</sup>	43.13±1.59 <sup>cd</sup>	48.38±1.88 <sup>bcd</sup>	3
<i>T. harzianum</i>	DTHR0	Control	27.50±0.29 <sup>abc</sup>	55.83±0.44 <sup>efg</sup>	64.70±1.02 <sup>ef</sup>	2
	DTHR7	450 mg L <sup>-1</sup>	41.50±2.19 <sup>def</sup>	41.00±2.56 <sup>bcd</sup>	46.33±2.36 <sup>bcd</sup>	3
	DTHR8	900 mg L <sup>-1</sup>	54.25±0.14 <sup>g</sup>	25.75±0.14 <sup>a</sup>	29.71±1.19 <sup>a</sup>	4
	DTHR9	1350 mg L <sup>-1</sup>	52.38±1.13 <sup>fg</sup>	27.00±0.46 <sup>a</sup>	32.15±1.83 <sup>a</sup>	4

Medias con la misma letra no muestran diferencias estadísticas significativas. Prueba de Tuckey, p<0.05.

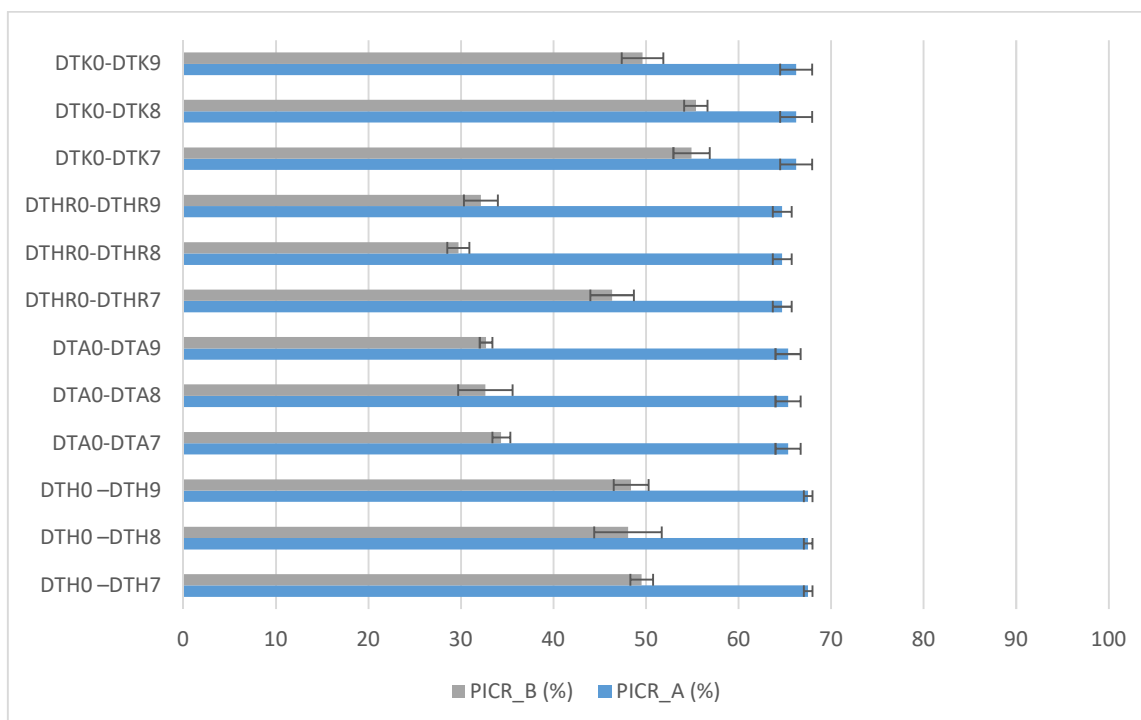
En todos los casos en los tratamientos control se observó una mayor tasa de desarrollo y velocidad de crecimiento del antagonista, entretanto en los tratamientos con las tres concentraciones de Clorotalonil el patógeno exhibió un mayor crecimiento, a excepción de DTK9, DTH7, DTH8, DTH9 y DTHR7. Respecto a la velocidad de crecimiento, los tratamientos sin fungicida presentaron diferencias estadísticas significativas respecto a los tratamientos control, con valores menores; en DTK8, DTK9, DTA8, DTH7, DTH8 y DTH9 la velocidad del antagonista fue mayor comparado a la de *Trichoderma* spp. (Tabla 38).

**Tabla 38.** Crecimiento de *Trichoderma* spp. y *Fusarium solani* en Clorotalonil.

Tratamiento	Patógeno		Antagonista	
	Tasa de desarrollo (mm h <sup>-1</sup> )	Velocidad de crecimiento (mm h <sup>-1</sup> )	Tasa de desarrollo (mm h <sup>-1</sup> )	Velocidad de crecimiento (mm h <sup>-1</sup> )
DTK0	0.2185±0.0230 <sup>a</sup>	0.2175±0.0186 <sup>a</sup>	0.5243±0.0230 <sup>ab</sup>	0.5526±0.0207 <sup>ab</sup>
DTK7	0.0992±0.0073 <sup>b</sup>	0.1071±0.0085 <sup>b</sup>	0.1411±0.0050 <sup>c</sup>	0.1493±0.0039 <sup>c</sup>
DTK8	0.0879±0.0067 <sup>b</sup>	0.0895±0.0090 <sup>b</sup>	0.1281±0.0038 <sup>c</sup>	0.1309±0.0039 <sup>cd</sup>
DTK9	0.0835±0.0105 <sup>b</sup>	0.0826±0.0135 <sup>b</sup>	0.0937±0.0015 <sup>cdef</sup>	0.0928±0.0025 <sup>cde</sup>
DTA0	0.2115±0.0056 <sup>a</sup>	0.2410±0.0180 <sup>a</sup>	0.4599±0.0281 <sup>b</sup>	0.4899±0.0245 <sup>b</sup>
DTA7	0.0649±0.0016 <sup>b</sup>	0.0588±0.0034 <sup>b</sup>	0.0370±0.0016 <sup>def</sup>	0.0266±0.0007 <sup>ef</sup>
DTA8	0.0697±0.0027 <sup>b</sup>	0.0057±0.0028 <sup>b</sup>	0.0355±0.0038 <sup>def</sup>	0.0265±0.0033 <sup>ef</sup>
DTA9	0.0663±0.0026 <sup>b</sup>	0.0602±0.0022 <sup>b</sup>	0.0312±0.0019 <sup>ef</sup>	0.0274±0.0028 <sup>ef</sup>
DTH0	0.2125±0.0076 <sup>a</sup>	0.2220±0.0229 <sup>a</sup>	0.5552±0.0328 <sup>a</sup>	0.5827±0.0239 <sup>a</sup>
DTH7	0.0829±0.0146 <sup>b</sup>	0.0873±0.0192 <sup>b</sup>	0.0985±0.0209 <sup>cde</sup>	0.0966±0.0261 <sup>cde</sup>
DTH8	0.0903±0.0130 <sup>b</sup>	0.0910±0.0146 <sup>b</sup>	0.1030±0.0231 <sup>cd</sup>	0.1069±0.0279 <sup>cd</sup>
DTH9	0.0963±0.0033 <sup>b</sup>	0.1006±0.0051 <sup>b</sup>	0.1056±0.0057 <sup>c</sup>	0.1079±0.0065 <sup>cd</sup>
DTHR0	0.2344±0.0030 <sup>a</sup>	0.2623±0.0026 <sup>a</sup>	0.5295±0.0046 <sup>a</sup>	0.5657±0.0044 <sup>a</sup>
DTHR7	0.0728±0.0067 <sup>b</sup>	0.0712±0.0098 <sup>b</sup>	0.0732±0.0107 <sup>cdef</sup>	0.0668±0.0140 <sup>def</sup>
DTHR8	0.0625±0.0002 <sup>b</sup>	0.0548±0.0020 <sup>b</sup>	0.0263±0.0002 <sup>f</sup>	0.0198±0.00003 <sup>f</sup>
DTHR9	0.0715±0.0042 <sup>b</sup>	0.0655±0.0059 <sup>b</sup>	0.0332±0.0022 <sup>ef</sup>	0.0289±0.0033 <sup>ef</sup>

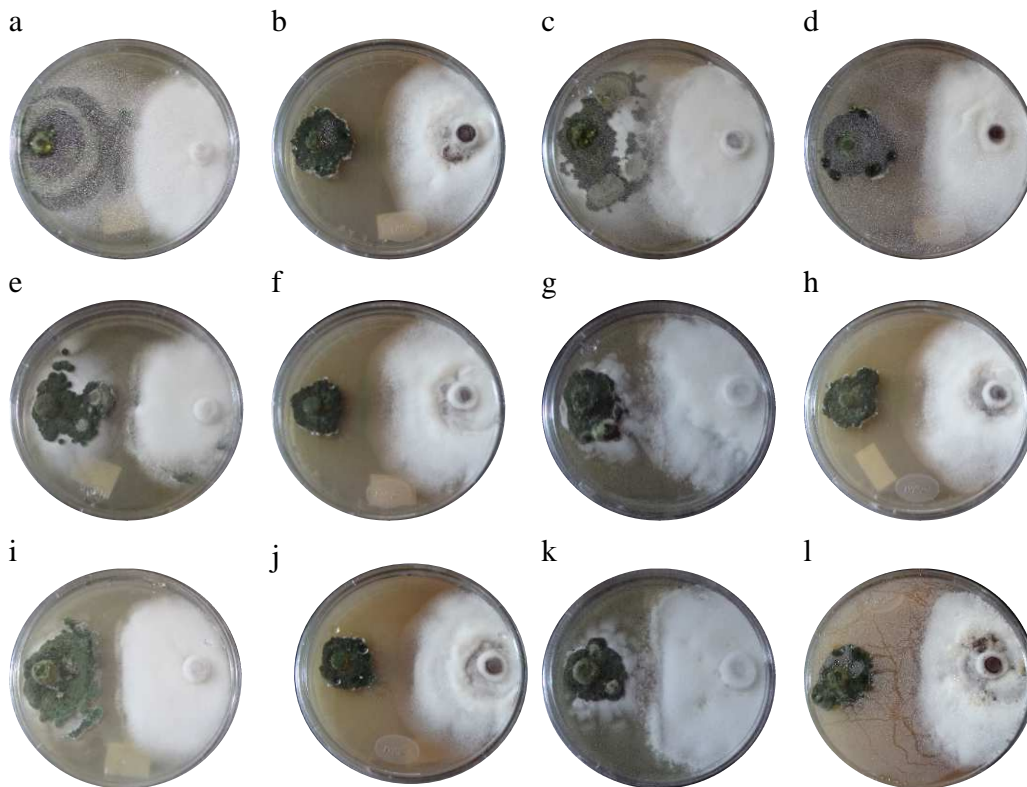
Medias con la misma letra no muestran diferencias estadísticas significativas. Prueba de Tuckey, p<0.05.

En los tratamientos en los que se adicionó Clorotalonil, el PICR disminuyó y presentó diferencias estadísticas significativas respecto al uso individual del controlador biológico de acuerdo con la T de student (p<0.05), debido principalmente al efecto negativo que tiene este fungicida sobre el crecimiento del micelio de las cepas de *Trichoderma*, los tratamientos en los que se utilizó *T. asperellum* fueron los que presentaron menores PICR, seguidos de *T. harzianum*, *T. hamatum* y finalmente *T. konigiopsis* (Figura 24).



**Figura 24.** Porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) de *Fusarium solani*  
 A: Control biológico vs B: Control biológico + Control químico (Clorotalonil)

En los tratamientos en los que se utilizó Clorotalonil, el crecimiento micelial de *Fusarium solani* fue mayor que las cepas de *Trichoderma*, en el caso del grado de antagonismo en todos los tratamientos con *T. asperellum* y *T. harzianum* a las concentraciones de 900 y 1350 mg L<sup>-1</sup> fue el 4, en el resto de los tratamientos fue el grado 3 (Figura 23).



**Figura 25.** Crecimiento de cepas de *Trichoderma* spp. en medio adicionado con Clorotalonil 450 mg L<sup>-1</sup>: a. *T. konigiopsis*, b. *T. asperellum*, c. *T. hamatum*, d. *T. harzianum*; Clorotalonil 900 mg L<sup>-1</sup>: e. *T. konigiopsis*, f. *T. asperellum*, g. *T. hamatum*, h. *T. harzianum*; Macozeb 1350 mg L<sup>-1</sup>: i. *T. konigiopsis*, j. *T. asperellum*, k. *T. hamatum*, l. *T. harzianum*.

En medio de cultivo adicionado con fungicidas, el tratamiento que obtuvo el mayor porcentaje de inhibición del crecimiento radial del patógeno fue el DTA1 con un 76.33%, mismo que no tuvo diferencias estadísticas significativas con los tratamientos DTK2, DTA2, DTA3, DTA4, DTA6, DTH1, DTH2, DTH3, DTH5, DTHR1, DTHR2, DTHR3, DTHR4 y DTHR5, en la mayoría de estos tratamientos el fungicida empleado fue Captan. En los tratamientos en los que se obtuvo un menor porcentaje de inhibición se utilizó el fungicida Clorotalonil con valores que van del 32.15 al 55.38%.

## 8. CONCLUSIONES

Se identificó a la cepa MA-FC120 como *F. solani*, asociada con la secadera, marchitamiento y pudrición de la raíz del cultivo de fresa var. “Camino Real”, ubicado en la zona rural de Santa Cruz Analco, del municipio de San Salvador el Verde, estado de Puebla, México.

Para *F. solani*, los fungicidas Mancozeb y Clorotalonil mostraron ser inofensivos a las concentraciones de 600 y 450 mg L<sup>-1</sup>. A la concentración de 1350 mg L<sup>-1</sup>, Clorotalonil resultó ser moderadamente tóxico, mientras que a 900 mg L<sup>-1</sup>, fue ligeramente tóxico. El fungicida Captan a las tres dosis empleadas fue ligeramente tóxico. Finalmente, el fungicida Benomil resultó ser el de mayor efectividad al inhibir en un 100% al patógeno a las tres concentraciones evaluadas.

Las cepas de *Trichoderma* spp., mostraron resistencia a los fungicidas Captan y Mancozeb a las concentraciones empleadas, por lo que pueden considerarse para utilizarse en el manejo integrado de enfermedades del cultivo de fresa.

La resistencia que se observó en las especies de *Trichoderma*, fue dependiente de la concentración y del aislado en sí, confirmando así, que aún especies del mismo género exhiben comportamiento distinto a un mismo fungicida.

Las cuatro cepas de *Trichoderma* evaluadas, mostraron un mayor porcentaje de inhibición del fitopatógeno, al obtenido con los fungicidas Captan y Mancozeb, en tanto que fue menor en comparación con Clorotalonil y Benomilo, siendo este último el de mayor efecto, pese a esto, no se debe dejar de lado el impacto negativo al ambiente que provocan estos fungicidas.

En conjunto el fungicida Captan y las cepas *Trichoderma asperellum* y *T. harzianum* mostraron un efecto sinérgico al aumentar el PICR con diferencias estadísticas significativas respecto al tratamiento en el que únicamente se emplearon las cepas o el fungicida individualmente.

El efecto del fungicida Mancozeb y las cepas de *Trichoderma* en conjunto, incrementaron el valor de PICR, destaca la cepa *T. asperellum* la cual, en sinergia con este fungicida, mejoró su capacidad antagónica al poder colonizar al patógeno.

El uso de cepas de *Trichoderma* en conjunto con el fungicida Clorotalonil, mostró un efecto adverso en los valores de PICR, mostrando que el control del patógeno es mejor con la aplicación individual de ambos controladores, por otra parte, se debe destacar el impacto ambiental adverso que tiene el compuesto químico.

## **9. RECOMENDACIONES**

Se recomienda el uso de las cepas de *Trichoderma* spp. empleadas en el presente trabajo para el control biológico de *Fusarium solani* en el cultivo de fresa.

Continuar con la aplicación de aquellos tratamientos con los que se obtuvieron mejores resultados en condiciones de invernadero y de campo, lo que permitirá se confirme la efectividad de los mismos.

Encontrar otras opciones para la sustitución de Clorotalonil, en el manejo integrado del cultivo de fresa, debido a que su uso, favorece en mayor medida el crecimiento de *Fusarium solani* al tiempo que limita el crecimiento del antagonista, o en su defecto evaluar la inhibición a menores dosis, para determinar si favorece el crecimiento del antagonista.

## 10. REFERENCIAS

- Abd-El-Kareem, F., Elshahawy, I.E. & Abd-Elgawad, M. M. (2019). Local *Trichoderma* strains as a control strategy of complex black root rot disease of strawberry in Egypt. *Bulletin of the National Research Centre*, 43(160), 1-7. <https://doi.org/10.1186/s42269-019-0206-7>
- Abd-El-Khair, H., Elshahawy, I. E. & Haggag, H. E. K. (2019). Field application of *Trichoderma* spp. combined with thiophanate-methyl for controlling *Fusarium solani* and *Fusarium oxysporum* in dry bean. *Bulletin of the National Research Centre*, 43(19), 1-9. <https://doi.org/10.1186/s42269-019-0062-5>
- Abountiolas, M., Kelly, K., Yagiz, Y., Li, Z., Mahnken, G., Borejsza-Wysocki, W., Marshall, M., Sims, C. A., Peres, N. & do Nascimento N. M. C. (2018). Sensory Quality, Physicochemical Attributes, Polyphenol Profiles, and Residual Fungicides in Strawberries from different Disease-Control Treatments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(27), 6986-6996. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b02153>
- Ab Rahman, S. F. S., Singh, E., Pieterse, C. M. J. & Schenk, P. M. (2018). Emerging microbial biocontrol strategies for plant pathogens. *Plant science: an international journal of experimental plant biology*, 267, 102-111. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2017.11.012>
- Acquaroni, M., Svartz, G. & Pérez, C. C. (2021). Developmental Toxicity Assessment of a Chlorothalonil-Based Fungicide in a Native Amphibian Species. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 80(4), 680-690. <https://doi.org/10.1007/s00244-020-00734-x>
- Afrin, S., Gasparrini, M., Forbes-Hernandez, T. Y., Reboredo-Rodríguez, P., Mezzetti, B., Varela-López, A., Giampieri, F. & Battino, M. (2016). Promising Health Benefits of the Strawberry: A Focus on Clinical Studies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(22), 4435-4449. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b00857>
- Agrios, G. N. (2020). *Fitopatología*. (2da. Edición). Limusa.
- Altieri, M. & Nicholls, C. I. (2000). *Agroecología. Teoría y práctica para una agricultura sustentable*. (1era. Edición) <https://www.agro.unc.edu.ar/~biblio/AGROECOLOGIA2%5B1%5D.pdf>
- Alvarado-Aguayo, A., Pilalao-David, W., Torres-Sánchez, S., & Torres-Sánchez, K. (2019). Efecto de *Trichoderma harzianum* en el control de mildiu (*Pseudoperonospora cubensis*) en pepino. *Agronomía Costarricense*, 43(1), 101-111. <https://dx.doi.org/10.15517/rac.v43i1.35672>

- Alves, S. B., Moino, J. A. & Almeida, J. E. M. (1998). Productos fitossanitários e entomopatógenos. En Alves, S. B. (Ed.), *Controle microbiano de insetos* (pp. 217-238). Picacicaba.
- Amossé, J., Bart, S., Brulle, F., Tebby, C., Beaudouin, R., Néliu S., Lamy, I., Péry, A. R. & Pelosi, C. (2020). A two years field experiment to assess the impact of two fungicides on earthworm communities and their recovery. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 203, 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110979>
- Andrabi, M., Vaid, A. & Razdan, V.K. (2011). Evaluation of different measures to control wilt causing pathogens in chickpea. *Journal of Plant Protecion Research*, 51(1), 55–59. <https://10.2478/v10045-011-0010-3>
- Andrade, H. P., Luna, C. A., Osorio, H. E., Molina, G. E., Landero, V. N. & Barrales, C. H. J. (2019). Antagonismo de *Trichoderma* spp. vs hongos asociados a la marchitez de chile. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 10(6), 1259-1272. <https://doi.org/10.29312/remexca.v10i6.1326>
- Arce, G. T., Gordon, E. B., Cohen, S. M. & Singh, P. (2010). Genetic toxicology of Folpet and Captan. *Critical Reviews in Toxicology*, 40(6), 546-574. <https://doi.org/10.3109/10408444.2010.481663>
- Asadboland, R., Eslahi, M. R., Iranbakhsh, A. R. & Shirzadian, S. (2021). Growth inhibition effects of extracts of eight mosses on the phytopathogenic fungus *Fusarium solani*. *Journal of Crop Protection*, 10(4), 615-622. <https://jcp.modares.ac.ir/article-3-52137-en.html>
- Ayoubi, N. & Soleimani, M. J. (2016). Morphological and molecular identification of pathogenic *Fusarium* spp. on strawberry in Iran. *Sydowia*, 68,163-171.
- Ayvar-Serna, S., Díaz-Nájera, J. F., Vargas-Hernández, M., Enciso-Maldonado, G. A., Alvarado-Gómez, O. G. & Ortíz-Martínez, A. I. (2021). Actividad antifúngica de pesticidas biológicos, botánicos y químicos sobre el agente causal de la marchitez vascular del jitomate. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 44(4), 617-624. <https://doi.org/10.35196/rfm.2021.4.617>
- Bárcenas-Santana, D., Guillén-Sánchez, D., Yazmín-Basaldua, C., Ramos-García, M. L. & Valle-de la Paz, M. (2019). Etiología de la secadera de la fresa (*Fragaria* spp.) en Morelos, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 37(3), 454-463. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1904-5>
- Barratt, B. I. P., Moran, V. C., Bigler, F., & Van Lenteren, J. C. (2018). The status of biological control and recommendations for improving uptake for the future. *BioControl*, 63, 155-167. <https://doi.org/10.1007/s10526-017-9831-y>

- Bejarano, G. F. (Ed.). (2017). *Los plaguicidas altamente peligrosos en México*. Red de Acción sobre Plaguicidas y Alternativas en México, A.C. (RAPAM). <https://www.rapam.org/wp-content/uploads/2017/09/Libro-Plaguicidas-Final-14-agst-2017sin-portada.pdf>
- Bell, D.K., Wells, H. D. & Markham, C. R. (1982). *In vitro* antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogen. *Phytopathology*, 72, 379-382. <https://10.1094/Phyto-72-379>
- Benítez-Díaz, P., Miranda-Contreras, L., Balza-Quintero, A., Sánchez-Gil, B. & Molina-Morales, Y. (2015). Residuos de plaguicidas en Fresa (*Fragaria x ananassa*) cosechada en una región agrícola del estado de Mérida, Venezuela. *Bioagro*, 27(3), 181-188. [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1316-33612015000300007](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1316-33612015000300007)
- Bhale, U. N. & Rajkonda, J. N. (2015). Compatibility of Fungicides and Antagonistic Activity of *Trichoderma* spp. against plant Pathogens. *Bioscience Methods*, 6(3), 1-9. <https://doi.org/10.5376/bm.2015.06.0003>
- Bhaliya, C. M. & Jadeja, K. B. (2014). Efficacy of different fungicides against *Fusarium solani* causing coriander root rot. *BioScan*, 9(3), 1225-1227. [https://www.researchgate.net/publication/283443195\\_EFFICACY\\_OF\\_DIFFERENT\\_FUNGICIDES\\_AGAINST\\_FUSARIUM\\_SOLANI\\_CAUSING\\_CORIANDER\\_ROOT\\_ROT](https://www.researchgate.net/publication/283443195_EFFICACY_OF_DIFFERENT_FUNGICIDES_AGAINST_FUSARIUM_SOLANI_CAUSING_CORIANDER_ROOT_ROT)
- Briggs, J., Whitwell, R. T., Fernandez, T. & Riley, M. B. (2002). Effect of integrated pest management strategies on Chorothalonil, Metalaxyl and Thiophanate-methyl runoff at a Container Nursery. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 127(6), 1018-1024. <https://doi.org/10.21273/JASHS.127.6.1018>
- Bustamante-Lara, T. I., Vargas-Canales, J. M., Díaz-Sánchez, F. & Rosas-Vargas, R. (2020). Especialización y competitividad en el sector agrícola mexicano: caso fresa. *Agroproductividad*, 13(8), 31-37. <https://doi.org/10.32854/agrop.vi.1697>
- Cabello, M. & Gonzalez L G. (1992). Efecto de fungicidas sobre hongos saprofitos del suelo. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 28(1-4), 61-68. <https://botanicaargentina.org.ar/wp-content/uploads/2018/08/61-68010.pdf>
- Cano, T. M. A. (2013). Estrategias biológicas para el manejo de enfermedades en el cultivo de fresa (*Fragaria* spp.). *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 7(2), 263-276. [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2011-21732013000200011](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2011-21732013000200011)

- Campanioni, G. B., Domínguez, A. G. & García, V. R. (2019). *Trichoderma*: su potencial en el desarrollo sostenible de la agricultura. *Biotecnología Vegetal*, 19(4), 237-248. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2074-86472019000400237](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2074-86472019000400237)
- Castellanos, G. L., Lorenzo, N. M. E., Lina, M. B., Hernández, P. R. & Guillen, S. D. (2015). Efecto *in vitro* de plaguicidas comerciales sobre *Trichoderma harzianum* cepa A-34. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias*, 47(2), 185-196. <https://www.redalyc.org/pdf/3828/382842590014.pdf>
- Carmona, M., & Sautua, F. (2017). La problemática de la resistencia de hongos a fungicidas. Causas y efectos en cultivos extensivos. *Agronomía & Ambiente*, 37(1), 1-19. <http://agronomiayambiente.agro.uba.ar/index.php/AyA/article/view/60/59>
- Caux, P. Y., Kent, R. A., Fan, G. T. & Stephenson, G. L. (1996). Environmental fate and effects of Chlorothalonil: A Canadian perspective. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 26(1), 45-93. <http://dx.doi.org/10.1080/10643389609388486>
- Ceja-Torres, L. F., Mora-Aguilera, G., Téliz, D., Mora-Aguilera, A., Sánchez-García, P., Muñoz-Ruíz, C., Tlapal-Bolaños, B. & De La Torre-Almaraz, R. (2008). Ocurrencia de hongos y etiología de la secadera de la fresa con diferentes sistemas de manejo agronómico. *Agrociencia*, 42(4), 451-461. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1405-31952008000400008](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-31952008000400008)
- Cruz-Triana, A., Rivero-González, D., Martínez-Coca, B., Echevarría-Hernández, A., & Tania-Rodríguez, A. (2017). Evaluación de la actividad antifúngica de *Trichoderma asperellum* Samuels ante patógenos fúngicos que afectan al cultivo de la soya (*Glycine max* L.). *Cultivos Tropicales*, 38(4), 15-21. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0258-59362017000400006](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362017000400006)
- Da Silva, A. N., de Azevedo, G. B., Sobrinho, G. G. R. & de Novaes, Q. S. (2014). Efecto de los productos químicos y de *Trichoderma* spp. En control del *Fusarium solani* de la fruta de pasión. *Interciencia*, 39(6), 398-403. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=33931213007>
- Dorugade, S. P., Walawade, M. N. & Kamble, S. S. (2015). Toxicity of fungicides on *Fusarium solani* causing dry rot of elephant foot yam. *International Journal of Advanced Research*, 3, 1501-1504. <http://www.journalijar.com/article/5170/toxicity-of-fungicides-on-fusarium-solani-causing-dry-rot-of-elephant-foot-yam/>
- Dwivedi, S. K. & Singh E. (2015). *In vitro* cellulase activity of two wilt causing soil fusaria (*Fusarium solani* and *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*) and efficacy of some pesticides against the said fusaria. *Journal of Applied Horticulture*, 17(1), 58-65.

- Edgar, R. C. (2004). MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Research*, 32(5), 1792-1797. <https://doi.org/10.1093/nar/gkh340>
- El Kaissoumi, H., Mouden, N., Chliyah, M., Benkirane, R., Ouazzani, T. A. & Douira, A. (2018). Comparative Pathogenicity of *Colletotrichum* spp. against Different Varieties of Strawberry Plants (*Fragaria ananassa*) Widely Grown in Morocco. *Acta Phytopathologica et Entomologia Hungarica*, 53(2), 143-161. <https://doi.org/10.1556/038.53.2018.008>
- EPPO Global Database. (2021a). <https://gd.eppo.int/taxon/1FUSAG>. Fecha de consulta: 11-noviembre, 2021.
- EPPO Global Database. (2021b). <https://gd.eppo.int/taxon/TRCDSP>. Fecha de consulta: 11-noviembre, 2021.
- Escudero, R. M., Marín, M. M., Jaramillo, V. S. & Cotes, T. J. M. (2009). Metodología de evaluación de la sensibilidad a fungicidas QoI-Fenamidone: Caso de estudio *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 62(1), 4773-4782. <https://revistas.unal.edu.co/index.php/refame/article/view/24875>
- Ezziyyani, M., Pérez, S. C., Sid, A. A., Requena, M. E., & Candela, M. E. (2004). *Trichoderma harzianum* como biofungicida para el biocontrol de *Phytophthora capsici* en plantas de pimiento (*Capsicum annuum* L.). *Anales de biología*, 26, 35-45. <https://www.um.es/analesdebiologia/numeros/26/PDF/05-TRICHODERMA.pdf>
- Fang, X., Finnegan, P. M. & Barbetti, M. J. (2013). Wide variation in virulence and genetic diversity of binucleate *Rhizoctonia* isolates associated with root rot of Strawberry in Western Australia. *PLoS ONE*, 8(2), e55877. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0055877>
- Food and Agricultural Organization of the United Nations. (2022). <https://www.fao.org/3/x2570s/x2570s10.htm> . Fecha de consulta: 24-febrero, 2022.
- Fernández-Larrea, V. O. (2001). Microorganismos antagonistas para el control fitosanitario. *Manejo Integrado de Plagas*, 62, 96-100. <https://repositorio.catie.ac.cr/bitstream/handle/11554/6578/A2120e.pdf?sequence=1>
- Fraç, M., Gryta, A., Oszust, K., & Kotowicz, N. (2016). Fast and accurate microplate method (Biolog MT2) for detection of *Fusarium* fungicides resistance/sensitivity. *Frontiers in Microbiology*, 7, 489. <https://doi:10.3389/fmicb.2016.00489>
- García, H. J., Leyva, M. J. B., Martínez, R. I. E., Hernández, O. M. I., Aldana, M. M. L., Rojas, G. A. E. Betancourt, L. M., Perez, H. N. E. & Perera, R. J. H. (2018). Estado

- actual de la investigación sobre plaguicidas en México. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 34, 29-60. <https://doi.org/10.20937/RICA.2018.34.esp01.03>
- García, P. (2019). Compatibilidad de un aislamiento del género *Trichoderma* con ocho fungicidas utilizados en el cultivo de rosa. *Redes de Ingeniería*, 10(1), 5-12. <https://doi.org/10.14483/2248762X.15091>
- Garrido, C., Carbú, M., Fernández-Acero, F. J., Budge, G., Vallejo, I., Colyer, A. & Cantoral, J. M. (2008). Isolation and pathogenicity of *Colletotrichum* spp. causing anthracnose of strawberry in south west Spain. *European Journal of Plant Pathology*, 120, 409-415. <https://doi.org/10.1007/s10658-007-9224-7>
- Garrido, R. M. & Vilela, S. N. (2019). Capacidad antagónica de *Trichoderma harzianum* frente a *Rhizoctonia*, *Nakatea sigmoidea* y *Sclerotium rolfsii* y su efecto en cepas nativas de *Trichoderma* aisladas de cultivos de arroz. *Scientia Agropecuaria*, 10(2), 199-206. <http://dx.doi.org/10.17268/sci.agropecu.2019.02.05>
- Giampieri, F., Alvarez-Suarez, J. M. & Battino, M. (2014). Strawberry and Human Health: Effects beyond antioxidant activity. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 62(18), 3867-3876. <https://doi.org/10.1021/jf405455n>
- Gliessman, S. R., Rosado-May, F. J., Guadarrama-Zugasti, C., Jedlicka, J., Cohn, A., Méndez, V. E., Cohen, R., Trujillo, L., Bacon, C. & Jaffe, R. (2007). Agroecología: promoviendo una transición hacia la sostenibilidad. *Revista Ecosistemas*, 16(1), 13-23. <https://www.revistaecosistemas.net/index.php/ecosistemas/article/view/134>
- Global Biotic Interactions (GloBI) (2021). <https://www.globalbioticinteractions.org/es/browse.html?interactionType=pathogenOf&resultType=json&targetTaxon=Fragaria%20ananassa>. Recuperado el 9 de noviembre de 2021.
- González, R. F. J., Rebollar, R. S., Hernández, M. J., Morales, H. J. L. & Ramírez, A. O. (2019). Situación actual y perspectivas de la producción de berries en México. *Revista Mexicana de Agronegocios*, 44, 260-272. <http://ri.uaemex.mx/handle/20.500.11799/105360>
- Gonzalez, M. F., Magdama, F., Galarza, L., Sosa, D. & Romero, C. (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 & Integrative Biology*, 13(1), 160-169. <https://doi.org/10.1080/19420889.2020.1829267>

- Gu, K. X., Song, X.S., Xiao, X. M., Duan, X.X., Wang, J. X., Duan, Y.B., Hou, Y. P. & Zhou, M. G. (2019). A  $\beta_2$ -tubulin dsRNA derived from *Fusarium asiaticum* confers plant resistance to multiple phytopathogens and reduces fungicide resistance. *Pesticide biochemistry and physiology*, 153, 36-46. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2018.10.005>
- Guigón-López, C., Guerrero-Prieto, V., Vargas-Albores, F., Carvajal-Millán, E., Ávila-Quezada, G. D., Bravo-Luna, L., Ruocco, M., Lanzuise, S., Woo, S. & Lorito, M. (2010). Identificación molecular de cepas nativas de *Trichoderma* spp. su tasa de crecimiento *in vitro* y antagonismo contra hongos fitopatógenos. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 28(2), 87-96. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0185-33092010000200002](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33092010000200002)
- Guerrero, R., & Arias, D. (2012). Evaluación del efecto de fungicidas sobre el desarrollo de dos especies de *Trichoderma* (Fungi: Ascomycota: Hypocreaceae) utilizadas en el biocontrol de hongos patógenos de cacao. *Revista Amazónica Ciencia y Tecnología*, 1(1), 11-17. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5240746>
- Gullino, M. L., Tinivella, F., Garibaldi, A., Kemmitt, G. M., Bacci, L. & Sheppard, B. (2010). Mancozeb: Past, present and future. *Plant Disease*, 94(9), 1076-1087. <https://doi.org/10.1094/PDIS-94-9-1076>
- Gutiérrez, C. J. G., Aguilera, G. L. I., & González, E. C. E. (2008). Agroecología y sustentabilidad. *Convergencia*, 15(46), 51-87. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S1405-14352008000100004&script=sci\\_abstract&tlng=en](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S1405-14352008000100004&script=sci_abstract&tlng=en)
- Hancock, J.F., Sjulín T. M. & Lobos, G.A. (2008). Strawberries. En Hancock, J.F. (Ed), *Temperature fruit crop breeding: Germplasm to genomics*, 393-438. Springer.
- Hassan, O. & Chang, T. (2022). Morphological and molecular characteristics of fungal species associated with Crown rot of strawberry in South Korea. *Molecular Biology Reports*, 49(1), 51-62. <https://doi.org/10.1007/s11033-021-06841-9>
- Herrera, P. E., Bacab, P. I. M., Alejo, J. C., Tun, S. J. M. & Ruíz, S. E. (2011). Patogenicidad de *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. y *Alternaria alternata* (Fries) Keissler en *Thevetia peruviana* (Pers.) K. Schum. y su control *in vitro*. *Fitosanidad*, 15(4), 231-236. <https://www.redalyc.org/pdf/2091/209123682005.pdf>
- Infante, D., Martínez, B., González, N. & Reyes, Y. (2009). Mecanismos de acción de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos. *Revista de protección vegetal*, 24(1), 14-21. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1010-27522009000100002](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522009000100002)

- Integrated Taxonomic Information System (IT IS), 2021. Fecha de consulta: 9 de noviembre de 2021. [www.itis.gov](http://www.itis.gov)
- Juárez, G. R. A., Sanzón, G. D., Ramírez, D. L. F., Ruiz, N. J., González, C. J. & Hernández, R. J. (2021). Áreas geográficas susceptibles a *Fusarium Oxysporum* en el cultivo de fresa en Guanajuato, México. *Bioagro*, 33(1), 51-58. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7903868>
- Kamaruzzaman, M., Hao, F., Wu, M. & Li, G. (2018). Gray mold of strawberry (*Fragaria ananassa*) caused by rare pink-colored isolate of *Botrytis cinerea* in China. *Australasian Plant Pathology*, 47, 587-589. <https://doi.org/10.1007/s13313-018-0593-5>
- Khan, M. O. & Shahzad, S. (2007). Screening of *Trichoderma* species for tolerance to fungicides. *Pakistan Journal of Botany*, 39(3), 945-951. [http://www.pakbs.org/pjbot/PDFs/39\(3\)/PJB39\(3\)945.pdf](http://www.pakbs.org/pjbot/PDFs/39(3)/PJB39(3)945.pdf)
- Koike, S.T. & Gordon T. R. (2015). Management of Fusarium wilt of strawberry. *Crop protection*, 73, 67-72. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cropro.2015.02.003>
- Kordali, S., Usanmaz, A., Cakir, A., Komaki, A. & Ercisli, S. (2016). Antifungal and herbicidal effects of fruit essential oils of four *Myrtus communis* genotypes. *Chemistry & Biodiversity*, 13, 77-84. <https://doi.org/10.1002/cbdv.201500018>
- Kosanović, D., Potočnik, I., Vukojević, J., Stajić, M., Rekanović, E., Stepanović, M., & Todorović, B. (2015). Fungicide sensitivity of *Trichoderma* spp. from *Agaricus bisporus* farms in Serbia. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 50(8), 607-613. <https://doi.org/10.1080/03601234.2015.1028849>
- Kumar, G. P., Singh, S. K. & Shikha, S. (2020). *In vitro* efficacy of different fungicides against *Fusarium solani* isolate causing root rot of papaya (*Carica papaya* L). *International Journal of Chemical Studies*, 8(3), 221-224. <https://doi.org/10.22271/chemi.2020.v8.i3c.9229>
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C. & Tamura, K. (2018). MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35(6), 1547-1549. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>
- Kurt, Ş., Uysal, A., Soyulu, E. M., Kara, M., Soyulu, S. (2020). Characterization and pathogenicity of *Fusarium solani* associated with dry root rot of citrus in the eastern Mediterranean region of Turkey. *Journal of General Plant Pathology*, 86, 326-332. <https://doi.org/10.1007/s10327-020-00922-6>

- Kwon, H. C., Sohn, H., Kim, D. H., Jeong, C. H., Kim, D. W. & Han, S. G. (2021). Effects of Flutriafol fungicide on the lipid accumulation in human liver cells and rat liver. *Foods*, 10(6), 1346. <https://doi.org/10.3390/foods10061346>
- Leslie, J.F. & Summerell, B. A. (2006). *The Fusarium Laboratory Manual*. Blackwell Publishing. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/9780470278376.fmatter>
- Lin, T., Xu, X. F., Dai, D. J., Shi, H. J., Wang H. D. & Zhang, C.Q. (2016). Differentiation in development of benzimidazole resistance in *Colletotrichum gloeosporioides* complex populations from strawberry and grape hosts. *Australasian Plant Pathology*, 45(3), 241-249. <https://doi.org/10.1007/s13313-016-0413-8>
- Liu, Y.H., Yuan, S.K., Hu, X. R. & Zhang, C. Q. (2019). Shift of Sensitivity in *Botrytis cinerea* to Benzimidazole fungicides in strawberry greenhouse ascribing to the rising-lowering of E198A subpopulation and its visual, on site monitoring by loop-mediated isothermal amplification. *Scientific Reports*, 9, 11644. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-48264-4>
- Lombardi, N., Salzano, A. M., Troise, A. D., Scaloni, A., Vitaglione, P., Vinale, F., Marra, R., Caira, S., Lorito, M., d'Errico, G., Lanzuise, S. & Woo S. (2020). Effect of *Trichoderma* bioactive metabolite treatments on the production, quality and protein profile of strawberry fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(27), 7246-7258. <https://dx.doi.org/10.1021/acs.jafc.0c01438>
- Lopes, U. P., Alfenas, R. F., Zambolim, L., Crous, P. W., Costa, H. & Pereira, O. L. (2018). A new species of *Calonectria* causing rot on ripe strawberry fruit in Brazil. *Australasian Plant Pathology*, 47, 1-11. <https://doi.org/10.1007/s13313-017-0532-x>
- Lopes, U. P., Zambolim, L., Lopes, U. N., Pereira, O. L. & Costa, H. (2010). First report of *Pilidium concavum* causing tan-brown rot in strawberry fruits in Brazil. *Plant Pathology*, 59(6), 1171-1172. <https://dx.doi.org/10.1111/j.1365-3059.2010.02331.x>
- Lorito, M., Petebauer, C., Hayes, C.K., & Harman, G. E. (1994). Synergistic interaction between fungal cell wall degrading enzymes and different antifungal compounds enhances inhibition of spore germination. *Microbiology*, 140(3), 623-629. <https://doi.org/10.1099/00221287-140-3-623>
- Madhusndhan, P., Gopal, K., Haritha, V., Sangale, U. R. & Rao, S. V. R. K. (2010). Compatibility of *Trichoderma viride* with fungicides and efficiency against *Fusarium solani*. *Journal of Plant Disease Sciences*, 5(1), 23-26. [https://www.researchgate.net/publication/266136340\\_COMPATIBILITY\\_OF\\_TRICHODERMA\\_VIRIDE\\_WITH\\_FUNGICIDES\\_AND\\_EFFICIENCY\\_AGAINST](https://www.researchgate.net/publication/266136340_COMPATIBILITY_OF_TRICHODERMA_VIRIDE_WITH_FUNGICIDES_AND_EFFICIENCY_AGAINST)

[FUSARIUM SOLANI#:~:text=Among%20the%20six%20fungicides%20tested,it%20showed%2062.82%25%2C%20inhibition](#)

- Magar, S. J., Patange, A. S. & Somwanshi, S.D. (2020). *In vitro* efficacy of fungicides, bioagents and silver nanoparticles against *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri*. *Indian Phytopathology*, 73, 65-69. <https://doi.org/10.1007/s42360-019-00182-1>
- Maheshwary, N., Gangadhara, N. B., Amoghavarsha, C., Naik, M. K., Satish, K.M. & Nandish, M.S. (2020). Compatibility of *Trichoderma asperellum* with fungicides. *The Pharma Innovation Journal*, 9(8), 136-140. [https://www.researchgate.net/publication/343577059\\_Compatibility\\_of\\_Trichoderma\\_asperellum\\_with\\_fungicides](https://www.researchgate.net/publication/343577059_Compatibility_of_Trichoderma_asperellum_with_fungicides)
- Manici, L. M., Caputo, F. & Baruzzi, G. (2005). Additional experiences to elucidate the microbial component of soil suppressiveness towards strawberry black root rot complex. *Annals of Applied Biology*, 146(4), 421-431. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2005.040051.x>
- Manjunath, M., Singh, A., Tripathi, A. N., Prasanna, R., Rai, A. B., & Singh, B. (2017). Bioprospecting the fungicides compatible *Trichoderma asperellum* isolate effective against multiple plant pathogens *in vitro*. *Journal of Environmental Biology*, 38(4), 553-560. <https://doi.org/10.22438/jeb/38/4/MRN-339>.
- Mariscal-Amaro, L. A., Rivera-Yerena. A., Dávalos-González, P.A. & Ávila-Martínez, D. (2017). Situación actual de hongos asociados a la secadera de la fresa (*Fragaria x ananassa* Duch.) en Guanajuato, México. *Agrociencia*, 51(6), 673-681. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1405-31952017000600673](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-31952017000600673)
- Martínez, B., Infante, D. & Reyes, Y. (2013). *Trichoderma* spp. y su función en el control de plagas en los cultivos. *Revista de Protección Vegetal*, 28(1), 1-11. <http://scielo.sld.cu/pdf/rpv/v28n1/rpv01113.pdf>
- Mehmood, N., Riaz, A., Jabeen, N., Anwaar S., Hussain, S. Z., Abbas, M. F., Zhang, X., Rosli, H. & Gleason, M. L. (2017). First report of *Fusarium solani* causing fruit rot of strawberry in Pakistan. *Plant Disease*, 101(9), 1681. <https://doi.org/10.1094/PDIS-12-16-1825-PDN>
- Merchán-Gaitán, J. B., Ferrucho, R. L. & Álvarez-Herrera, J. G. (2014). Efectos de dos cepas de *Trichoderma* en el control de *Botrytis cinerea* y la calidad del fruto en fresa (*Fragaria* sp.). *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 8(1), 44-56. <https://doi.org/10.17584/rcch.2014v8i1.2799>
- Miguel-Ferrer, L., Romero-Arenas, O., Andrade-Hoyos, P., Sánchez-Morales, P., Rivera-Tapia, J. A., & Fernández-Pavía, S. P. (2021). Actividad antifúngica de *Trichoderma harzianum* y *T. koningiopsis* contra *Fusarium solani* asociado en la

- germinación y vigor de plántulas de chile Miahuateco. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 9(2). <http://dx.doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2101-5>
- Mirmajlessi, S. M., Destefanis, M., Gottsberger, R. A., Mänd, M., & Loit, E. (2015). PCR-based specific techniques used for detecting the most important pathogens on strawberry: a systematic review. *Systematic Reviews*, 4, 9. <https://doi.org/10.1186/2046-4053-4-9>
- Montaño, G. M. & Guerrero, D. J. A. (2001). Validación de una metodología multirresiduo para la determinación de residuos de plaguicidas en fresa (*Fragaria* spp.) por cromatografía de gases. *Revista Colombiana de Química*, 30(1), 37-46. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/34958>
- Morales-Mora, L.A., Andrade-Hoyos, Petra., Valencia-de Ita, M. A., Romero-Arenas, O. Silva-Rojas, H. V., Contreras-Paredes, C.A. (2020). Caracterización de hongos asociados al cultivo de fresa y efecto antagonista *in vitro* de *Trichoderma harzianum*. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 38(3), 434-449. <http://dx.doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2005-7>.
- Morales-Mora, L. A., Martínez-Salgado, S. J., Andrade-Hoyos, P., Valencia de Ita, M. A., Silva-Rojas, H. V. & Romero-Arenas, O. (2019). First report of leaf spot and anthracnosis caused by *Pestalotiopsis* sp. on strawberry in Puebla, Mexico. *Plant Disease*, 103(10), 2668. <https://doi.org/10.1094/PDIS-05-19-1010-PDN>
- Muñoz, G. B. L., Pérez, V. L., Pollanco, A. A., Ponciano, I., Lorenzo, N. M. E., Martín, T. E. L., González, V. M. de los A., Arévalo, A. R., Rodríguez, N. J., Trujillo, A. M. & Santana, Y. (2007). El monitoreo y manejo de la resistencia a los fungicidas en Cuba. *Fitosanidad*, 11(3), 91-100. <https://www.redalyc.org/pdf/2091/209116023014.pdf>
- Nandini, M. L. N., Naik, S. R., Ruth, C. H. & Gopal, K. (2018). Compatibility of biocontrol agents with fungicides used in turmeric cultivation under *in vitro* conditions. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 7(6), 1271-1276. <https://www.phytojournal.com/archives/2018/vol7issue6/PartV/7-6-145-911.pdf>
- National Center for Biotechnology Information (2021a). *PubChem Annotation Record for BENOMYL*, Source: *Hazardous Substances Data Bank (HSDB)*. Recuperado el 12 de Noviembre de 2021, de <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/source/hsdb/1655>
- National Center for Biotechnology Information (2021b). *PubChem Compound Summary for CID 8606, Captan*. Recuperado el 12 de Noviembre de 2021, de <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Captan>

- National Center for Biotechnology Information (2021c). *PubChem Compound Summary for CID 15910, Chlorothalonil*. Recuperado el 12 de Noviembre de 2021, de <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Chlorothalonil>
- National Center for Biotechnology Information (2021d). *PubChem Compound Summary for CID 13307026*. Recuperado el 12 de Noviembre de 2021, de <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/13307026>
- Nofal, A. M., El-Rahman, M. A., Abdelghany, T. M., & El-Mongy, M. A. (2021). Mycoparasitic nature of Egyptian *Trichoderma* isolates and their impact on suppression Fusarium wilt of tomato. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 31, 103. <https://doi.org/10.1186/s41938-021-00450-1>
- Pallás, V., Escobar, C., Rodríguez-Palenzuela, P. & Marcos, J. F. (Eds.). (2008). *Herramientas Biotecnológicas en Fitopatología*, Mundi-Prensa.
- Pastrana, A. M., Basallote-Ureba, M. J., Aguado, A., Akdi, K. & Capote, N. (2016). Biological control of strawberry soil-borne pathogens *Macrophomina phaseolina* and *Fusarium solani*, using *Trichoderma asperellum* and *Bacillus* spp. *Phytopathologia Mediterranea*, 55(1),109-120. [https://doi.org/10.14601/Phytopathol\\_Mediterr-16363](https://doi.org/10.14601/Phytopathol_Mediterr-16363)
- Pastrana, A. M., Capote, N., De los Santos, B., Romero, F., & Basallote-Ureba, M. J. (2014). First report of *Fusarium solani* causing crown and root rot on strawberry crops in southwestern Spain. *Plant Disease*, 98(1), 161. <https://doi.org/10.1094/PDIS-07-13-0682-PDN>
- Patil, V. B., Gawade, D. B., Surywanshi, A. P. & Zagade, S. N. (2015). Biological and fungicidal management of Chickpea wilt caused by *Fusarium Oxysporum* f. sp. *ciceri*. *The Bioscan*, 10(2), 685-690.
- Peláez-Álvarez, A., De los Santos-Villalobos, S., Yépez, E. A., Parra-Cota, F. I. & Reyes-Rodríguez, R. T. (2016). Efecto sinérgico de *Trichoderma asperellum* T8A y captan 50 contra *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz). *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 7(6), 1401-1412. <https://www.redalyc.org/pdf/2631/263148193014.pdf>
- El-Hassan, S. A., Gowen, S. R. & Pembroke, B. (2013). Use of *Trichoderma hamatum* for biocontrol of lentil vascular wilt disease: efficacy, mechanisms of interaction and future prospects. *Journal of Plant Protection Research*, 53(1), 12-26. <https://doi.org/10.2478/jppr-2013-0002>
- Rabolle, M., Spliid, N. H., Kristensen, K. & Kudsk, P. (2006). Determination of fungicide residues in field-grown strawberries following different fungicide strategies against gray mold (*Botrytis cinerea*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(3), 900-908. <https://doi.org/10.1021/jf052302w>

- Ramírez, P. L.C., Caamal, C. I., Pat, F. V. G., Martínez, L. D. & Pérez, F. A. (2020). Análisis de los indicadores de competitividad de las exportaciones de fresa mexicana, *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 11(4), 815-827. <https://doi.org/10.29312/remexca.v11i4.2049>
- Richardson, J. R., Fitsanakis, V., Westerink, R. H. S. & Kanthasamy, A. G. (2019). Neurotoxicity of pesticides. *Acta Neuropathologica*, 138, 343-362. <https://doi.org/10.1007/s00401-019-02033-9>
- Rivera-Jiménez, M. N., Zavaleta-Mancera, H. A., Rebollar-Alviter, A., Aguilar-Rincón, V. H., García-de-los-Santos, G., Vaquera- Huerta, H. & Silva-Rojas, H.V. (2018). Phylogenetics and histology provide insight into damping-off infections of 'Poblano' pepper seedlings caused by *Fusarium* wilt in greenhouses. *Mycological Progress*, 17, 1237-1249. <https://doi.org/10.1007/s11557-018-1441-2>
- Robledo-Buriticá, J., Ángel-García, C. & Castaño-Zapata, J. (2017). Microscopía electrónica de barrido ambiental del proceso de infección de *Fusarium solani* f. sp. *passiflorae* en plántulas de maracuyá (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*). *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 41(159), 213-221. <https://doi.org/10.18257/raccefyn.471>.
- Ruano-Rosa, D., Arjona-Girona, I. & López-Herrera, C.J. (2018). Integrated control of avocado white root rot combining low concentrations of fluazinam and *Trichoderma* spp. *Crop Protection*, 112, 363-370. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2017.06.024>
- SAGARPA. (2017). Planeación Agrícola Nacional 2017-2030. Fresa Mexicana. <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/257075/Potencial-Fresa.pdf>
- Salazar, M. J. A., Somoza, V. C. E., Pérez, A. B., Velásquez, S. M., Torres, G. G., Huerta de la Peña, A., & Ortega, M. L. D. (2017). Uso y manejo de plaguicidas en diferentes sistemas de producción de fresa en México. *Producción Agropecuaria y Desarrollo Sostenible*, 6, 27-42. <https://doi.org/10.5377/payds.v6i0.5717>
- Sánchez-Gómez, C., Caamal-Cauich, I. & Valle-Sánchez, M. (2019). Exportación hortofrutícola de México hacia los Estados Unidos de América. *Estudios Sociales, Revista de Alimentación Contemporánea y Desarrollo Regional*, 29(54),1-20. <https://dx.doi.org/10.24836/es.v29i54.766>
- Sarandón, S. J. & Flores, C.C. (eds.). (2014). *Agroecología: bases teóricas para el diseño y manejo de Agroecosistemas sustentables*. (1era. Edición). <https://libros.unlp.edu.ar/index.php/unlp/catalog/view/72/54/181-1>
- Sautua, F. J., Baron, C., Pérez-Hernández, O. & Carmona, M.A. (2019). First report of resistance to carbendazim and procymidone in *Botrytis cinera* from strawberry,

- blueberry and tomato in Argentina. *Crop Protection*, 125, 104879. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2019.104879>
- Scariot, F. J., Jahn, L., Delamare, A. P. L. & Echeverrigaray, S. (2017) Necrotic and apoptotic cell death induced by Captan on *Saccharomyces cerevisiae*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 33(8), 1-7. <https://doi.org/10.1007/s11274-017-2325-3>
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). <https://www.gob.mx/siap/acciones-y-programas/produccion-agricola-33119>
- Shah, M.U.D., Ahmad, M., Sagar, V., Padder, B. A., Ahanger, F.A., Sofi, T. A., Nabi, A., Mir, A. A. & Kausar, S. (2018). *In vitro* evaluation of bioagents and fungitoxicants against *Fusarium oxysporum* and *Fusarium solani* causing corm rot of saffron (*Crocus sativus*) in Kashmir, India. *Acta Horticulturae*, 1200, 125-132. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2018.1200.21>
- Shi, Z. Z., Liu, X. H., Li, X. N., & Ji, N. Y. (2020). Antifungal and Antimicroalgal Trichothecene Sesquiterpenes from the Marine Algicolous fungus *Trichoderma brevicompactum* A-DL-9-2. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(52), 15440-15448. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c05586>
- Šišić, A., Baćanović-Šišić, J., Al-Hatmi, A. M. S., Karlovsky, P., Ahmed, S. A., Maier, W., de Hoog, G. S. & Finckh, M. R. (2018). The forma specialis issue in *Fusarium*: A case study in *Fusarium solani* f. sp. *pisi*. *Scientific Reports*, 8, 1252. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-19779-z>
- Soesanto, L., Mugiastuti, E., Rahayuniati, R. F., Manan, A. & Dewi, R. S. (2018). Compatibility test of four *Trichoderma* spp. isolates on several synthetic pesticides, *AGRIVITA, Journal of Agricultural Science*, 40(3), 481-489. <http://doi.org/10.17503/agrivita.v40i3.1126>
- Sood, M., Kapoor, D., Kumar, V., Sheteiwy, M. S., Ramakrishnan, M., Landi, M., Araniti, F. & Sharma, A. (2020). *Trichoderma*: The “Secrets” of a multitasking biocontrol agent. *Plants*, 9(6), 762. <https://doi.org/10.3390/plants9060762>
- Stecher, G., Tamura, K. & Kumar, S. (2020). Molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) for macOS. *Molecular Biology and Evolution*, 37(4), 1237-1239. <https://doi.org/10.1093/molbev/msz312>
- Stensvand, A. & Christiansen, A. (2000). Investigation on fungicide residues in greenhouse-grown strawberries. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 48(3), 917-920. <https://doi.org/10.1021/jf990418k>

- Summerell, B. A. (2019). Resolving *Fusarium*: current status of the genus. *Annual Review of Phytopathology*, 57, 323-339. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-082718-100204>
- Sundar, A. R., Das, N. D., & Krishnaveni, D. V. (1995). *In-vitro* antagonism of *Trichoderma* spp. against two fungal pathogens of Castor. *Indian Journal of Plant Protection*, 23, 152-155.
- Tamura, K. & Nei, M. (1993). Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Molecular Biology and Evolution*, 10(3), 512-526. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040023>
- Tao, H., Bao, Z., Jin, C., Miao, W., Fu, Z. & Jin, Y. (2020). Toxic effects and mechanisms of three commonly used fungicides on the human colon adenocarcinoma cell line Caco-2. *Environmental Pollution*, 263, 114660. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114660>
- Tapia, C., & Amaro, J. (2014). Género *Fusarium*. *Revista chilena de infectología*, 31(1), 85-86. <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182014000100012>
- Terrero, Y. P. I., Peñaherrera, V. S. L., Solís, H. Z. K., Vera, C. D. I., Navarrete, C. J. B. & Herrera, D. M. A. (2018). Compatibilidad *in vitro* de *Trichoderma* spp. con fungicidas de uso común en cacao (*Theobroma cacao* L.). *Investigación Agraria*, 20(2), 146-151. <https://www.agr.una.py/revista/index.php/ria/article/view/511>
- Thompson, J. D., Higgins, D. G. & Gibson, T. J. (1994). CLUSTALW: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research*, 22(22), 4673–4680. <https://doi.org/10.1093/nar/22.22.4673>
- Togashi, I., Gisusi, S. & Harada, A. (1998). Antifungal activity of comercial desinfectants against a benomyl-tolerant strain of *Trichoderma harzianum*. *The Japan Wood Research Society*, 44, 414-416. <https://jwoodscience.springeropen.com/articles/10.1007/BF01130457>
- Uddin, M. N., Rahman, U. u., Uddin, N., & Muhammad, M. (2018). Effect of *Trichoderma harzianum* on tomato plant growth and its antagonistic activity against *Phythium ultimum* and *Phytophthora capsici*. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 28, 32. <https://doi.org/10.1186/s41938-018-0032-5>
- United States Environmental Protection Agency. (1999). *Chrolothalonil*. Recuperado el 24 de Febrero de 2022, de [https://www3.epa.gov/pesticides/chem\\_search/reg\\_actions/reregistration/fs\\_PC-081901\\_1-Apr-99.pdf](https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/reg_actions/reregistration/fs_PC-081901_1-Apr-99.pdf)

- USDA. National Nutrient Database for Standard Reference. Release 28. (2015).
- Vargas-Inciarte, L., Fuenmayor-Arrieta, Y., Luzardo-Méndez, M., Da Costa-Jardin, M., Vera, A., Carmona, D., Homen-Pereira, M., Da Costa-Jardin, P., & San-Blas, E. (2019). Use of different *Trichoderma* species in cherry type tomatoes (*Solanum lycopersicum* L.) against *Fusarium oxysporum* wilt in tropical greenhouses. *Agronomía Costarricense*, 43(1), 85-100. <https://doi.org/10.15517/rac.v43i1.35671>
- Villa-Martínez, A., Pérez-Leal, R., Morales-Morales, H. A., Basurto-Sotelo, M., Soto-Parra, J. M. & Martínez-Escudero, E. (2015). Situación actual en el control de *Fusarium* spp. y evaluación de la actividad antifúngica de extractos vegetales. *Acta Agronómica*, 64(2), 194-205. <http://dx.doi.org/10.15446/acag.v64n2.43358>
- Villarino, M., De la Lastra, E., Basallote-Ureba, M. J., Capote, N., Larena, I., Melgarejo, P. & De Cal, A. (2019). Characterization of *Fusarium solani* populations associated with Spanish strawberry crops. *Plant Disease*, 103(8), 1974-1982. <https://doi.org/10.1094/PDIS-02-19-0342-RE>
- Vinchira-Villarraga, D.M. & Moreno-Sarmiento N. (2019). Control biológico: camino a la agricultura moderna, *Revista Colombiana de Biotecnología*, 21(1), 2-5. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v21n1.80860>
- Wang, H., Chang, K.F., Hwang, S.F., Turnbull, G. D., Howard, R. J., Blade, S.F. & Callan, N. W. (2005). *Fusarium* root rot of coneflower seedlings and integrated control using *Trichoderma* and fungicides. *BioControl*, 50, 317-329. <https://doi.org/10.1007/s10526-004-0457-5>
- Wedajo, B. (2015). Compatibility studies of fungicides with combination of *Trichoderma* species under *in vitro* conditions. *Virology & Mycology*, 4(2), 149-153. <https://doi.org/10.4172/2161-0517.1000149>
- White, T.J., Bruns, T., Lee, S. & Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. En Innis, M.A., Gelfand, D.H., Sninsky, J.J. & White, T.J. (Eds.), *PCR Protocols, A Guide to Methods and Applications*, 315-322. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-372180-8.50042-1>
- Widmer, T. L. (2019). Compatibility of *Trichoderma asperellum* isolates to selected soil fungicides. *Crop Protection*, 120, 91-96. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2019.02.017>
- Will, F. & Krüger, E. (1999). Fungicide residues in strawberry processing. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 47(3), 858-861. <https://doi.org/10.1021/jf980830k>

- Yang, L.N., He, M. H., Ouyang, H. B., Zhu, W., Pan, Z. C., Sui, Q. J., Shang, L. P. & Zhan, J. (2019). Cross-resistance of the pathogenic fungus *Alternaria alternata* to fungicides with different modes of action. *MBC Microbiology*, 19, 205. <https://doi.org/10.1186/s12866-019-1574-8>
- Yassin, M. T., Mostafa, A. A. & Al-kasar, A. A. (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, 118. <https://doi.org/10.1186/s41938-021-00463-w>

**Anexo 1. Concentraciones empleadas y equivalencias.**

<b>Fungicida (Ingrediente activo)</b>	<b>Unidades</b>						
	<b>mg L<sup>-1</sup></b>	<b>mg mL<sup>-1</sup></b>	<b>g mL<sup>-1</sup></b>	<b>mg mL<sup>-1</sup></b>	<b>g L<sup>-1</sup></b>	<b>ppm</b>	<b>%</b>
Captan	450	450	0.00045	0.45	0.45	450	0.045
	900	900	0.0009	0.90	0.90	900	0.09
	1350	1350	0.00135	1.35	1.35	1350	0.135
Mancozeb	600	600	0.0006	0.60	0.60	600	0.06
	1200	1200	0.0012	1.20	1.20	1200	0.12
	1800	1800	0.0018	1.80	1.80	1800	0.18
Clorotalonil	450	450	0.00045	0.45	0.45	450	0.045
	900	900	0.0009	0.90	0.90	900	0.09
	1350	1350	0.00135	1.35	1.35	1350	0.135
Benomil	250	250	0.00025	0.25	0.25	250	0.025
	500	500	0.0005	0.50	0.50	500	0.05
	750	750	0.00075	0.75	0.75	750	0.075