

## Sensibilidad *in vitro* de cinco cepas nativas de *Trichoderma* spp. a diferentes fungicidas

Rómulo García-Velasco\* , Gustavo Rojas-Tapia , Grisel Domínguez-Arizmendi ,  
Barbarita Companioni-González 

<sup>1</sup>Universidad Autónoma del Estado de México, Centro Universitario Tenancingo, Tenancingo, Estado de México, México.

<sup>2</sup>Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. \*Correo electrónico: [rgarciave@uaemex.mx](mailto:rgarciave@uaemex.mx)

### RESUMEN

El Estado de México representa el principal productor de ornamentales en México. La producción de estos cultivos se encuentra afectada por la incidencia de fitopatógenos que afectan los rendimientos y la calidad del producto final. En el presente trabajo se determinó la sensibilidad *in vitro* de cinco cepas nativas de *Trichoderma* spp., al ingrediente activo de diferentes fungicidas (Cercobim 70 M<sup>®</sup>, Promilo 50 PH<sup>®</sup>, Captan 50 WP<sup>®</sup>, Interguzan 30-30<sup>®</sup>, Shogun 500 FW<sup>®</sup>). Para ello se utilizaron cultivos monospóricos de cinco cepas nativas (SS1-6, SS2-5, TFR3, TA4 y CUT-B). Las cepas antagonistas evaluadas presentaron potencial para su utilización en el manejo integral y sustentable en la floricultura en el Estado de México. *Trichoderma tomentosum* (SS1-6) mostró sensibilidad *in vitro* al benomilo; sin embargo, mostró tolerancia a captan y fluazinam; en las dosis probadas. *Trichoderma barbatum* (SS2-5), *Trichoderma asperellum* (TFR3) y la cepa *Trichoderma harzianum* (TA4) no mostraron sensibilidad *in vitro* en los tratamientos evaluados. Por otra parte, *Trichoderma asperellum* (CUT-B) mostró sensibilidad al tiofanato metílico (Cercobim 70 M<sup>®</sup>) y presentó tolerancia a los ingredientes activos captan y fluazinam. Por otro lado, quintozeno+thiram evidenció efecto fungistático a la cepa antagonista CUT-B.

**Palabras clave:** control biológico, enfermedades, patógenos.

---

## *In vitro* sensitivity of five native strains of *Trichoderma* spp. different fungicides

### ABSTRACT

The State of Mexico represents the main producer of ornamentals in Mexico. The production of these crops is affected by the incidence of phytopathogens that affect the yields and the quality of the final product. In the present work, the *in vitro* sensitivity of five native *Trichoderma* spp. strains to the active ingredient of different fungicides (Cercobim 70 M<sup>®</sup>, Promilo 50 PH<sup>®</sup>, Captan 50 WP<sup>®</sup>, Interguzan 30-30<sup>®</sup>, Shogun 500 FW<sup>®</sup>) was determined. For this, monosporic cultures of five native strains (SS1-6, SS2-5, TFR3, TA4 and CUT-B) were used. The antagonistic strains evaluated presented a potential for their use in comprehensive management and sustainable in floriculture in the State of Mexico. *Trichoderma tomentosum* (SS1-6) showed *in vitro* sensitivity to benomyl; in the tested doses, it showed tolerance to captan and fluazinam. In the evaluated treatments. *Trichoderma barbatum* (SS2-5), *Trichoderma asperellum* (TFR3) and the *Trichoderma harzianum* strain (TA4) did not show *in vitro* sensitivity. On the other hand, *Trichoderma asperellum* (CUT-B) showed sensitivity to thiophanate methyl (Cercobim 70 M<sup>®</sup>) and showed tolerance to the active ingredients captan and fluazinam. Whereas, quintozone + thiram showed a fungistatic effect to the antagonist strain CUT-B.

**Key words:** biological control, diseases, pathogens.

## INTRODUCCIÓN

El sector florícola representa una de las industrias más fuertes en diversos países desarrollados y en vías de desarrollo. En México, la horticultura ornamental constituye la actividad agrícola de mayor rentabilidad económica en el sector agrícola en comparación con otros cultivos de interés (Ramírez y Avitia 2017). El Estado de México se reconoce como el principal productor de ornamentales en el país. Entre los cultivos más sembrados como flor de corte se encuentran el cultivo de *Rosa* sp., y el crisantemo (*Chrysanthemum morifolium* Ramat) (SIAVI 2019); sin embargo, la producción de estos cultivos se encuentra afectada por la incidencia de fitopatógenos que reducen los rendimientos y la calidad del producto final. *Rosellinia necatrix* Prill (= *Dematophora necatrix* (Hart.) Berl.), *Verticillium dahliae* Kleb., y *Botrytis cinerea* Pers., constituyen los principales agentes patógenos que ocasionan las enfermedades como la pudrición blanca de la raíz, la marchitez de la planta y el moho gris de la flor, respectivamente, en el cultivo de *Rosa* sp.; mientras que, *Puccinia horiana* Henn, agente causal de la roya blanca representa una de las enfermedades más devastadoras en crisantemo (García-Velasco et al. 2012, 2017).

La aplicación de fungicidas sintéticos se plantea como el método de manejo utilizado para el control de estas enfermedades fungosas (García-Velasco et al. 2017, Alonso et al. 2018). Entre los ingredientes activos más utilizados para el manejo de fitopatógenos del suelo se encuentran: tiofanato metílico, thiram, benomilo, captan, quintozeno y fluazinam (Franco y Orrego 2013). El uso de agroquímicos resulta costoso y causa serios efectos medioambientales que a su vez contribuye a una crisis en la preservación de los ecosistemas en los recursos naturales; en la salud de las comunidades rurales y de los consumidores (Pérez-Moreno et al. 2015, Castillo et al. 2017). Por lo tanto, buscar soluciones más amigables con el medio ambiente constituye una necesidad para el control de enfermedades en la floricultura. Por ello, en el desarrollo sostenible de la agricultura, la utilización de microorganismos para el manejo de plagas y enfermedades constituye una alternativa viable para asegurar la producción de los cultivos de una forma sana y segura (Companioni et al. 2019).

*Trichoderma* se considera como uno de los antagonistas de hongos fitopatógenos más utilizado en la agricultura moderna sustentable (Pineda-Insuasti et al. 2017); aunque, la capacidad antagonista de *Trichoderma* es altamente variable (Pineda-Insuasti et al. 2017). Según Mihuta y Rowe (1986) de 255 aislamientos obtenidos de diferentes lugares, sólo 15% de ellos, fue efectivo en el control de *Rhizoctonia*. En este mismo sentido, Arcia (1995) planteó que las cepas nativas de un lugar son más efectivas que las importadas. Por ello, el éxito en la formulación y comercialización de biopreparados fúngicos mediante la industria biotecnológica para su aplicación en la agricultura requiere de estudios previos en la selección de aislamientos promisorios para el control (Pineda-Insuasti et al. 2017).

En este sentido, varios autores plantean que la utilización combinada de fungicidas según la dosis mínima recomendada por el fabricante y el uso de aislados de *Trichoderma* spp., representa una estrategia sostenible que permite la reducción del uso de estos plaguicidas (Khirallah et al. 2016, Castillo et al. 2017, Pérez-Rodríguez et al. 2019), mostraron que la sensibilidad de *Trichoderma harzianum* a varios fungicidas podía variar en dependencia de la concentración y los ingredientes activos. Por otra parte, Barakat y Almasri (2017) demostraron la compatibilidad de *T. harzianum* con fungicidas tolerantes a nivel *in vitro*, *ex vitro* y en campo.

En trabajos previos Alonso (2018) y García-Velasco et al. (2021 a y b) aislaron, identificaron y determinaron el efecto antagónico de cepas nativas de *Trichoderma* spp., contra los hongos fitopatógenos mencionados con anterioridad. Estas cepas mostraron ser promisorias para su utilización en el control biológico de enfermedades fungosas en el cultivo de *Rosa* sp. en la región sur del Estado de México. El objetivo del presente trabajo consistió en determinar la sensibilidad *in vitro* de cinco cepas nativas de *Trichoderma* spp., al ingrediente activo de diferentes fungicidas utilizados en la región sur del Estado de México.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Cepas nativas *Trichoderma* spp.

En la experimentación se utilizaron cultivos monosporicos de las cepas nativas siguientes: 1) *Trichoderma tomentosum* (SS1-6); 2) *Trichoderma barbatum* (SS2-5); 3) *Trichoderma asperellum* (TFR3); 4) *Trichoderma harzianum* (TA4); y la cepa antagonica *Trichoderma asperellum* (CUT-B). Las mismas se aislaron e identificaron en investigaciones anteriores por Alonso (2018) y García-Velasco *et al.* (2021a). Todas las cepas nativas antagonicas descritas se encontraban conservadas en trigo (*Triticum* spp.) entre 6 y 8 °C en el laboratorio. Para su activación, se sembraron en el medio de cultivo agar papa dextrosa (PDA, Bioxon®). Se colocó un grano de trigo (*Triticum* spp.), con la finalidad de activar el crecimiento y desarrollo del hongo antagonista. Cada una de las siembras se mantuvieron en una incubadora (LINDBERG/BLUEM®) a temperatura de 24 °C ± 1 °C. Posterior de siete días del proceso de incubación y crecimiento de los hongos antagonistas se procedió a realizar los ensayos de sensibilidad *in vitro* de las cepas de *Trichoderma* spp., a los diferentes fungicidas considerados en el estudio.

### Sensibilidad *in vitro* de las cepas nativas al ingrediente activo de diferentes fungicidas

Para el desarrollo del bioensayo de sensibilidad *in vitro* de las cepas antagonicas se procedió a la preparación del medio de cultivo PDA. Después del proceso de esterilización del PDA, este se mantuvo a la temperatura de 50 °C; y de forma separada se le adicionaron las dosis de los ingredientes activos de los diferentes fungicidas a probar. Las dosis evaluadas de los ingredientes activos (i. a.) de los fungicidas correspondieron a la dosis mínima recomendada por el fabricante del producto comercial en su etiqueta. A continuación, se desglosan los tratamientos en la experimentación que correspondieron a las dosis de i. a. de los diferentes fungicidas probados en las cepas nativas de *Trichoderma* spp.

Tratamientos evaluados:

Tiofanato metílico: 0,42 g L<sup>-1</sup> de i. a. (Cercobim 70 M®).

Benomilo: 0,15 g L<sup>-1</sup> de i. a. (Promilo 50 PH®).

Captan: 1 g L<sup>-1</sup> de i. a. (Captan 50 WP®).

Quintozeno+thiram: 0,75 g L<sup>-1</sup> de i. a. (Interguzan 30-30®).

Fluazinam: 0,25 mL L<sup>-1</sup> de i. a. (Shogun 500 FW®).

Después de la adición de las dosis mencionadas de los fungicidas en el medio de cultivo PDA, estas se agitaron con el apoyo de un termo agitador orbital (Thermo Scientific®) hasta disolver de forma homogénea. Seguido, se vaciaron en las cajas de Petri y se procedió a la siembra de forma separada, de las cepas antagonicas. La siembra se procedió de la siguiente manera: se tomaron discos de micelio de 8 mm de diámetro próximos a la periferia de la colonia crecida en placas de Petri con medio de cultivo PDA como se describió. Luego de la siembra de las cepas de *Trichoderma* spp. se incubaron según las condiciones mencionadas. Los tratamientos evaluados se conformaron donde cada cepa de *Trichoderma* spp., fue evaluado con los cinco fungicidas descritos. Cada uno con su respectivo testigo. El medio de cultivo PDA sin presencia de fungicidas; pero sembrado e incubado con las diferentes cepas de *Trichoderma* spp., se utilizaron como tratamiento testigo en toda la experimentación. Cada tratamiento incluyó catorce repeticiones.

### Variables evaluadas

En cada tratamiento se determinó el crecimiento micelial de los hongos antagonistas. Para esto, cuando al menos una repetición del testigo de cada cepa nativa de *Trichoderma* alcanzó crecimiento del 100 % en la caja de Petri se señalaron todos los tratamientos con un marcador indeleble de punto fino bajo un contador de colonias (Felisa®) a contra luz para verificar el margen del crecimiento; y evitar errores en el trazado. Posterior a ello, se tomaron fotografías y se determinó el área de crecimiento micelial con el programa Imagen J (Versión 1.43).

### Determinación del efecto fungicida o fungistático de los ingredientes activos de los diferentes fungicidas en la experimentación

Las cepas antagonicas que no presentaron crecimiento micelial durante la siembra en el medio de cultivo PDA con presencia de los ingredientes activos de los fungicidas descritos, se les determinó el efecto fungicida o fungistático que estos presentaron a las cepas de *Trichoderma* spp. en estudio. Para ello se realizaron cortes circulares de 8 mm de diámetro en los discos del micelio del antagonista que fueron sembrados en los diferentes tratamientos; y se transfirieron a cajas de Petri estéril que contenían medio

de cultivo PDA, pero sin presencia de fungicidas. Luego se mantuvieron en una incubadora (LINDBERG/BLUEM®) a una temperatura de  $24\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ . Donde se observó la presencia o ausencia de crecimiento micelial del hongo antagonista.

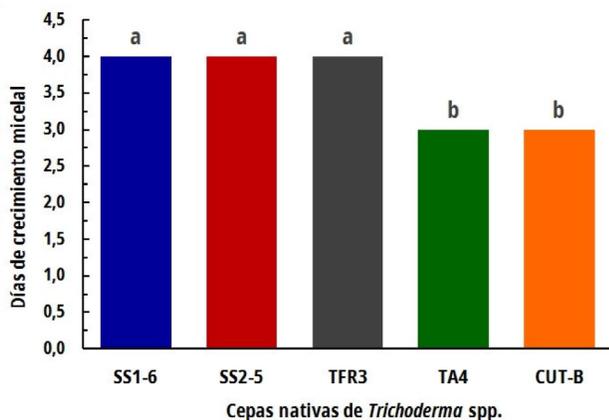
### Diseño experimental y análisis estadístico

En toda la experimentación se utilizó un diseño completo al azar, con cinco tratamientos, correspondientes a las cepas de *Trichoderma* spp. (SS1-6, SS2-5, TFR3, TA4 y CUT-B) y catorce repeticiones. Los datos se analizaron por cepa nativa y fungicida probado y la variable crecimiento micelial analizada con el programa *InfoStat* versión 2020 (Di Rienzo et al. 2020), por medio de un ANOVA de una vía y las medias comparadas por Tukey ( $p > 0,05$ ).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Sensibilidad *in vitro* de las cepas nativas al ingrediente activo de diferentes fungicidas

En los tratamientos testigo, los resultados mostraron que todas las cepas probadas de *Trichoderma* spp. (SS1-6, SS2-5, TFR3, TA4 y CUT-B) alcanzaron rápido crecimiento micelial después de la siembra en medio de cultivo PDA sin presencia de fungicidas. A los tres días después del proceso de siembra e incubación, las cepas TA4 y la CUT-B lograron su máximo crecimiento, con marcadas diferencias significativas al resto de las cepas antagonicas (SS1-6, SS2-5 y TFR3) (Figura 1).



**Figura 1.** Crecimiento micelial de las cepas nativas de *Trichoderma* spp., después de la siembra en el medio de cultivo PDA sin presencia de fungicidas. Medias con letras distintas indican diferencias significativas (Tukey,  $p \leq 0,05$ ).

### Sensibilidad *in vitro* de *Trichoderma tomentosum*

El crecimiento micelial de *T. tomentosum* (SS1-6) mostró diferencias significativas marcadas en los tratamientos que contenían medio de cultivo agar papa dextrosa con presencia de fungicidas, respecto al testigo ( $56,24\text{ cm}^2$ ). Los menores valores del área de crecimiento micelial del antagonista se observaron en los tratamientos que contenían en el medio de cultivo la presencia de tiofanato metílico ( $0,21\text{ cm}^2$ ) y en los tratamientos con presencia de benomilo; y quintozeno+thiram donde el crecimiento micelial fue ausente. Los resultados indican la sensibilidad *in vitro* de la cepa nativa SS1-6 al benomilo (Promilo 50 PH®); y a quintozeno+thiram (Interguzan 30-30®). En estos tratamientos el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial del hongo fue del 100% (Cuadro 1). Cuando se determinó el efecto fungicida o fungistático de estos ingredientes activos (tiofanato metílico, benomilo y quintozeno+thiram) a *T. tomentosum* (SS1-6) se observó que el antagonista retomó su crecimiento micelial *in vitro*, a los cuatro días después de la siembra e incubación en el tratamiento de quintozeno+thiram. En razón de ello, se consideró que quintozeno+thiram tiene efecto fungistático a *T. tomentosum* (SS1); mientras que el benomilo se comportó como fungicida a esta cepa antagonica (Figura 2). Por otra parte, en los tratamientos con presencia de captan y fluazinam, el antagonista mostró crecimiento micelial de  $3,42\text{ cm}^2$  y  $6,23\text{ cm}^2$ , respectivamente. Donde en el crecimiento micelial de *T. tomentosum* se observaron porcentajes de inhibición de 93,91% y 88,92%, de forma respectiva. Lo cual indica que *T. tomentosum* (SS1-6) toleró la presencia de estos fungicidas en las dosis evaluadas en la experimentación.

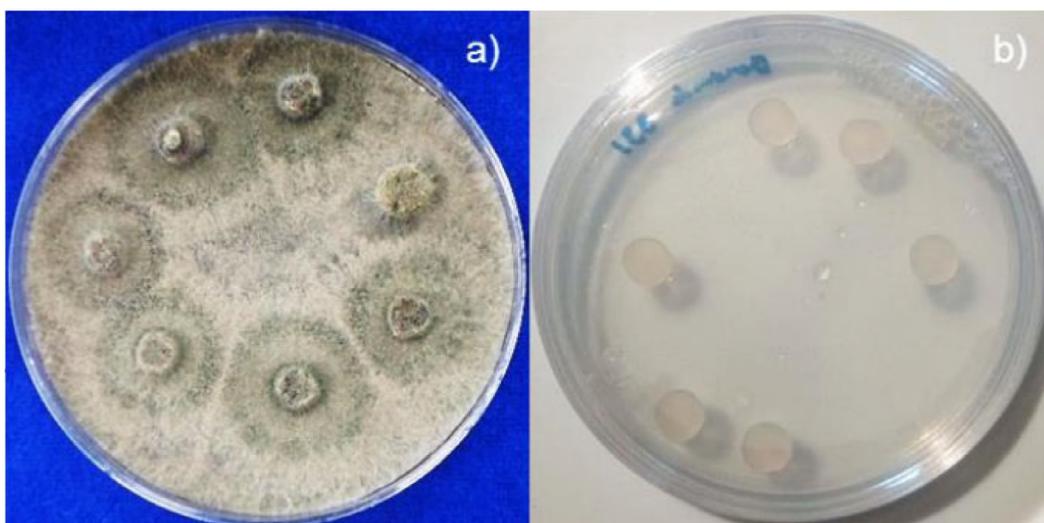
### Sensibilidad *in vitro* de *Trichoderma barbatum*

La cepa nativa *T. barbatum* (SS2-5) no mostró sensibilidad *in vitro* en los tratamientos con presencia de fungicidas, con marcadas diferencias significativas con relación al tratamiento testigo ( $45,05\text{ cm}^2$ ). Por otra parte, no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos con presencia de fungicidas en el medio de cultivo. En los tratamientos con presencia de tiofanato metílico; benomilo; captan; quintozeno+thiram; captan y fluazinam se observaron áreas de crecimiento micelial de  $0,13\text{ cm}^2$ ;  $0,07\text{ cm}^2$ ;  $0,53\text{ cm}^2$ ;  $0,30\text{ cm}^2$ ; y  $0,59\text{ cm}^2$ , respectivamente; aunque, el antagonista mostró mayor tolerancia en

**Cuadro 1.** Crecimiento micelial *in vitro* de *Trichoderma tomentosum* (SS1-6) en el medio de cultivo PDA con presencia de fungicidas.

Tratamientos	Crecimiento micelial del antagonista (cm <sup>2</sup> )	Porcentaje de inhibición (%)	Efecto fungicida o fungistático
Tiofanato metílico	0,21 d	99,62	No aplica
Benomilo	0,00 d	100,00	Fungicida
Captan	3,42 b c	93,91	No aplica
Quintozeno+Thiram	0,00 d	100,00	Fungistático
Fluazinam	6,23 b	88,92	No aplica
Testigo	56,24 a	-	No aplica

Medias con letras distintas indican diferencias significativas (Tukey,  $p \leq 0,05$ ).

**Figura 2.** Efecto fungicida o fungistático a *Trichoderma tomentosum* (SS1-6), en medio PDA, en ausencia de fungicidas, de los ingredientes activos de: a) quintozeno + thiram; b) benomilo.

los tratamientos con presencia de captan y fluazinam; en los cuales se apreciaron porcentajes de inhibición de 99,05 y 98,95 %, respectivamente (Cuadro 2).

#### Sensibilidad *in vitro* de *Trichoderma asperellum*

*Trichoderma asperellum* (TFR3) alcanzó la mayor área del crecimiento micelial en el testigo (41,3 cm<sup>2</sup>), con diferencias significativas marcadas en relación al resto de los tratamientos evaluados. El hongo antagonista presentó mayor tolerancia a los ingredientes activos captan y fluazinam, con un porcentaje de inhibición de 98,16 y 98 %, respectivamente (Cuadro 3).

#### Sensibilidad *in vitro* de *Trichoderma harzianum*

El hongo antagonista *T. harzianum* (TA4) presentó los menores valores de área de crecimiento micelial en los tratamientos con presencia de fungicidas, con marcadas diferencias significativas respecto al testigo (29,53 cm<sup>2</sup>). En los tratamientos con presencia de tiofanato metílico; benomilo; captan; quintozeno+thiram; captan y fluazinam se observaron áreas de crecimiento micelial de 0,10 cm<sup>2</sup>; 0,09 cm<sup>2</sup>; 1,23 cm<sup>2</sup>; 0,38 cm<sup>2</sup>; y 1,68 cm<sup>2</sup>, respectivamente; sin diferencias significativas entre los tratamientos.

**Cuadro 2.** Crecimiento micelial *in vitro* de *Trichoderma barbatum* (SS2-5) en el medio de cultivo PDA con presencia de fungicidas.

Tratamientos	Crecimiento micelial del antagonista (cm <sup>2</sup> )	Porcentaje de inhibición (%)	Efecto fungicida o fungistático
Tiofanato metílico	0,13 b	99,76	No aplica
Benomilo	0,07 b	99,87	No aplica
Captan	0,53 b	99,05	No aplica
Quintozeno+Thiram	0,30 b	99,46	No aplica
Fluazinam	0,59 b	98,95	No aplica
Testigo	45,05 a	-	No aplica

Medias con letras distintas indican diferencias significativas (Tukey,  $p \leq 0,05$ ).

**Cuadro 3.** Crecimiento micelial *in vitro* de *Trichoderma asperellum* (TFR3) en el medio de cultivo PDA con presencia de fungicidas.

Tratamientos	Crecimiento micelial del antagonista (cm <sup>2</sup> )	Porcentaje de inhibición (%)	Efecto fungicida o fungistático
Tiofanato metílico	0,04 b	99,92	No aplica
Benomilo	0,13 b	99,76	No aplica
Captan	1,03 b	98,16	No aplica
Quintozeno+Thiram	0,32 b	99,43	No aplica
Fluazinam	1,12 b	98,00	No aplica
Testigo	41,30 a	-	No aplica

Medias con letras distintas indican diferencias significativas (Tukey,  $p \leq 0,05$ ).

Tal comportamiento, indica tolerancia del hongo a los fungicidas probados; aunque, la mayor área de crecimiento micelial se obtuvo en el tratamiento con presencia de fluazinam (Shogun 500 FW®) (1,68 cm<sup>2</sup>) (Cuadro 4).

#### Sensibilidad *in vitro* de *Trichoderma asperellum*

*T. asperellum* (CUT-B) mostró sensibilidad *in vitro* a tiofanato metílico (Cercobim 70 M®) y quintozeno+thiram (Interguzan 30-30®). Ambos tratamientos presentaron 100 % de inhibición del crecimiento micelial del antagonista, con marcadas diferencias significativas a los demás tratamientos. En los tratamientos con presencia de captan y fluazinam se obtuvieron valores en esta misma variable de 1,19 cm<sup>2</sup> y 0,59 cm<sup>2</sup>, respectivamente y con diferencias significativas al comparar con el resto

de los tratamientos. La inhibición del crecimiento micelial fue de 97,88 % en el tratamiento con presencia de captan y 98,95 % con fluacinam. Lo anterior indicó que la cepa *T. asperellum* (CUT-B) presentó tolerancia a captan y fluazinam (Cuadro 5); sin embargo, cuando se determinó el efecto fungicida o fungistático de los ingredientes activos con tiofanato metílico y quintozeno+thiram a *T. asperellum* (CUT-B) se observó que el antagonista retomó su crecimiento micelial a los nueve días en el tratamiento de quintozeno+thiram. Por lo que se determinó que quintozeno+thiram presentó efecto fungistático a *T. asperellum* (CUT-B). No se observó crecimiento micelial del hongo en el tratamiento de tiofanato metílico. Por lo que se planteó que tiofanato metílico presentó efecto fungicida a la cepa antagonista probada (Figura 3).

**Cuadro 4.** Crecimiento micelial *in vitro* de *Trichoderma harzianum* (TA4) en el medio de cultivo PDA con presencia de fungicidas.

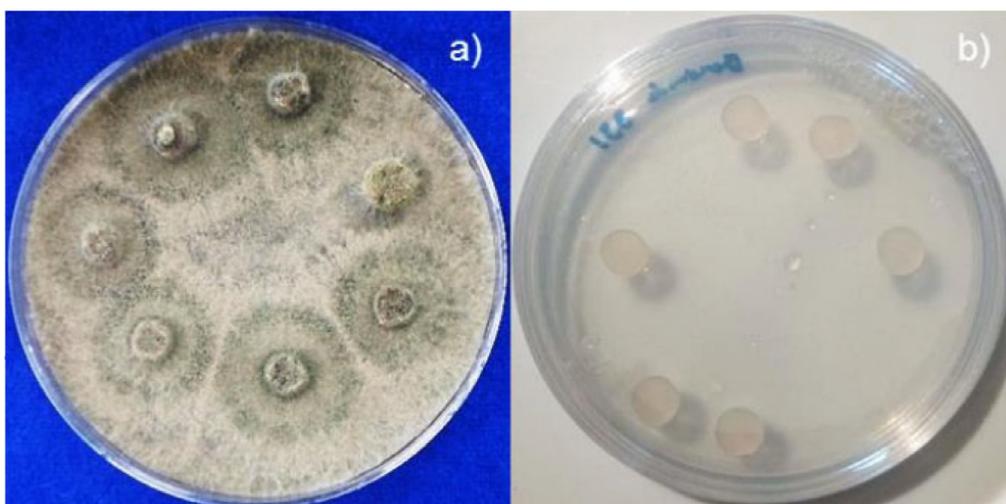
Tratamientos	Crecimiento micelial del antagonista (cm <sup>2</sup> )	Porcentaje de inhibición (%)	Efecto fungicida o fungistático
Tiofanato metílico	0,10 c	99,82	No aplica
Benomilo	0,09 c	99,83	No aplica
Captan	1,23 b	98,95	No aplica
Quintozeno+Thiram	0,38 c	99,32	No aplica
Fluazinam	1,68 b	97,81	No aplica
Testigo	29,53 a	-	No aplica

Medias con letras distintas indican diferencias significativas (Tukey,  $p \leq 0,05$ ).

**Cuadro 5.** Crecimiento micelial *in vitro* de *Trichoderma asperellum* (CUT-B) en el medio de cultivo PDA con presencia de fungicidas.

Tratamientos	Crecimiento micelial del antagonista (cm <sup>2</sup> )	Porcentaje de inhibición (%)	Efecto fungicida o fungistático
Tiofanato metílico	0,00 d	100,00	Fungicida
Benomilo	0,09 d	99,83	No aplica
Captan	1,19 b	97,88	No aplica
Quintozeno+Thiram	0,00 d	100,00	Fungistático
Fluazinam	0,59 c	98,95	No aplica
Testigo	56,24 a	-	No aplica

Medias con letras distintas indican diferencias significativas (Tukey,  $p \leq 0,05$ ).

**Figura 3.** Efecto fungicida o fungistático a *Trichoderma asperellum* (CUT-B), en medio PDA, en ausencia de fungicidas, de los ingredientes activos de: a) quintozeno + thiram; b) tiofanato metílico.

Al realizar la comparación de la respuesta de sensibilidad de las cepas antagonistas a los diferentes fungicidas probados se plantea lo siguiente (Cuadro 6). En el tratamiento con tiofanato metílico no se encontraron diferencias estadísticas entre las cepas nativas de *Trichoderma* spp.; sin embargo, cuando se determinó el efecto fungicida o fungistático del mismo a *T. asperellum* (CUT-B) se observó que el antagonista no retomó su crecimiento micelial (Figura 3). Lo que indicó el efecto fungicida en la cepa *T. asperellum* (CUT-B), considerándose sensible al tiofanato metílico. El resto de las cepas estudiadas fueron tolerantes a tiofanato metílico. Mientras que *T. tomentosum* (SS1) fue el antagonista que

mostró sensibilidad a benomilo. Por otra parte, en el tratamiento con presencia de captan en el medio de cultivo de PDA se observó que todas las cepas probadas no mostraron sensibilidad. Por otro lado, *T. tomentosum* (SS1) y *T. asperellum* (Cut-B) no presentaron crecimiento micelial en el tratamiento con quintozeno + thiram; sin embargo, ambos microorganismos lo recuperaron; razón por la cual se determinó que el quintozeno + thiram, presentó un efecto fungistático en estas cepas antagonistas. Por tanto, todas las cepas estudiadas presentaron tolerancia a la dosis probada. Por último, se pudo comprobar que todos los antagonistas toleraron la presencia de fluazinam, en la dosis evaluada.

**Cuadro 3.** Respuesta de sensibilidad de las cepas antagonistas estudiadas en el medio de cultivo PDA con presencia de fungicidas.

Fungicidas	Cepas nativas	Crecimiento micelial del antagonista (cm <sup>2</sup> )	Efecto fungicida o fungistático
<b>Tiofanato metílico</b>	<i>T. tomentosum</i> (SS1-6)	0,21 a	No aplica
	<i>T. barbatum</i> (SS2-5)	0,13 a	No aplica
	<i>T. asperellum</i> (TFR3)	0,04 a	No aplica
	<i>T. harzianum</i> (TA4)	0,10 a	No aplica
	<i>T. asperellum</i> (CUT-B)	0,00 a	Fungicida
<b>Benomilo</b>	<i>T. tomentosum</i> (SS1-6)	0,00 b	Fungicida
	<i>T. barbatum</i> (SS2-5)	0,07 a b	No aplica
	<i>T. asperellum</i> (TFR3)	0,13 a	No aplica
	<i>T. harzianum</i> (TA4)	0,09 a b	No aplica
	<i>T. asperellum</i> (CUT-B)	0,09 a b	No aplica
<b>Captan</b>	<i>T. tomentosum</i> (SS1-6)	3,42 a	No aplica
	<i>T. barbatum</i> (SS2-5)	0,53 c	No aplica
	<i>T. asperellum</i> (TFR3)	1,03 b	No aplica
	<i>T. harzianum</i> (TA4)	1,23 b	No aplica
	<i>T. asperellum</i> (CUT-B)	1,19 b	No aplica
<b>Quintozeno+thiram</b>	<i>T. tomentosum</i> (SS1-6)	0,00 b	Fungistático
	<i>T. barbatum</i> (SS2-5)	0,30 a	No aplica
	<i>T. asperellum</i> (TFR3)	0,32 a	No aplica
	<i>T. harzianum</i> (TA4)	0,38 a	No aplica
	<i>T. asperellum</i> (CUT-B)	0,00 c	Fungistático
<b>Fluazinam</b>	<i>T. tomentosum</i> (SS1-6)	6,23 a	No aplica
	<i>T. barbatum</i> (SS2-5)	0,59 a	No aplica
	<i>T. asperellum</i> (TFR3)	1,12 b c	No aplica
	<i>T. harzianum</i> (TA4)	1,68 b	No aplica
	<i>T. asperellum</i> (CUT-B)	0,59 c	No aplica

Medias con letras distintas indican diferencias significativas (Tukey,  $p \leq 0,05$ ).

Por todo lo anterior se resume que las cinco cepas antagonistas de *Trichoderma* spp. estudiadas en la presente investigación presentaron potencial para su utilización en un manejo integral y sustentable de la floricultura en el Estado de México. En estudios previos realizados por Alonso (2018) y García-Velasco *et al.* (2021 a y b); las cepas nativas *T. tomentosum* (SS1-6), *T. barbatum* (SS2-5), *T. asperellum* (TFR3), *T. harzianum* (TA4), y *T. asperellum* (CUT-B) fueron probadas aisladas, caracterizadas e identificadas; y se determinaron sus mecanismos de acción contra los hongos patógenos *Rosellinia necatrix* Prill, *Verticillium dahliae* Kleb. y *Botrytis cinerea* Pers. Por otra parte, García-Velasco *et al.* (2021a) demostraron que las cepas antagonistas *T. tomentosum* (SS1-6) y *T. barbatum* (SS2-5) mostraron ser promisorias para su utilización en el control biológico de *Rosellinia necatrix*, en el cultivo de *Rosa* sp., en la región sur del Estado de México.

En la literatura se encuentran alrededor de 355 especies del género de *Trichoderma* (Kirk *et al.* 2019); sin embargo, las más utilizadas como agentes de control biológico se limitan a *T. harzianum*, *T. asperellum*, *T. viridae*, *T. reesei* y *T. koningii* (Martínez *et al.* 2013, Pineda-Insuasti *et al.* 2017, Duarte-Leal *et al.* 2018). Como se aprecia *T. tomentosum* y *T. barbatum* no se encuentran dentro de este grupo. Por lo cual los resultados obtenidos en esta investigación aunados a los trabajos de Alonso *et al.* (2018) y Martínez-Tapia *et al.* (2019) contribuyen al conocimiento de estas especies. Por otro lado, los resultados obtenidos demostraron que las cepas antagonistas *T. tomentosum* (SS1-6), *T. barbatum* (SS2-5), *T. asperellum* (TFR3), *T. harzianum* (TA4) y *T. asperellum* (CUT-B) presentaron tolerancia a captan y fluazinam, a las dosis probadas (1 g L<sup>-1</sup> de i. a. de Captan 50 WP<sup>®</sup>, y 0,25 mL L<sup>-1</sup> de i. a. de Shogun 500 FW<sup>®</sup>).

Según los mecanismos de acción, captan reacciona con las enzimas sulfhídricas con producción de tiofosgeno, la cual resultó tóxica para las células del hongo y en paralelo interfiere en el proceso de respiración celular del antagonista. Por lo que inhibe la germinación de las esporas, y dificulta el crecimiento y desarrollo micelial del hongo. Por otra parte, fluazinam actúa como desacoplador de la cadena de transporte de electrones en la fosforilación oxidativa; inhibiendo la producción de ATP.

Como resultado no se genera el gradiente de pH; y por tanto afecta la respiración de las células del hongo (De Liñán 2012).

Ruano-Rosa y López-Herrera (2015) determinaron la compatibilidad de *Trichoderma* spp., al ingrediente activo fluazinam (Shogun 500 FW<sup>®</sup>). Los cuales plantean que *T. atroviride* tolera a nivel *in vitro* la dosis de 0,001 %. Lo cual coincide con los resultados obtenidos en el presente trabajo. Donde las cepas antagonistas de *Trichoderma* spp., estudiadas evidenciaron tolerancia a nivel *in vitro* al ingrediente activo fluazinam, a la dosis de 0,25 mL L<sup>-1</sup> de i. a. Por otra parte, Ruano-Rosa y López-Herrera (2015) observaron efecto inhibitorio en el crecimiento micelial de *R. necatrix*, agente causal de la pudrición blanca del aguacate (*Persea americana* Prill), con la adición conjunta del fungicida y el agente antagonista de control biológico (*T. atroviride*). Peláez-Álvarez *et al.* (2016) plantean que el crecimiento de *T. asperellum* T8A fue inhibido 6 % en dosis de 0,5 g L<sup>-1</sup> de Captan 50<sup>®</sup>, no observando efectos sobre esta cepa a dosis menores del fungicida. De esta manera, la concentración de 0,1 g L<sup>-1</sup> de Captan 50<sup>®</sup> fue co-aplicada *in vitro* con *T. asperellum* T8A, observando inhibición sinérgica del 99 % sobre *C. gloeosporioides* ATCCMYA456.

Para la obtención de colonias puras de *Trichoderma* spp., a partir de muestras de suelo se recomienda un medio de cultivo selectivo que contiene fungicidas. Entre estos se sugiere el captan a la dosis de 0,04 g L<sup>-1</sup> i. a., la cual corresponde a una dosis menor que la evaluada en el presente estudio. También sugieren la adición de 0,2 g L<sup>-1</sup> i. a. de quintozeno (Askew y Lang 1993), lo cual equivale al 26,7 % de la dosis evaluada. De Liñán (2012) plantea que quintozeno interfiere en la división mitótica de la célula del hongo y causa la lisis de la membrana mitocondrial, por lo que en general causa daño en el crecimiento y desarrollo del hongo.

Por otro lado, en el presente trabajo se observó que las cepas nativas *T. tomentosum* (SS1-6) y *T. asperellum* (CUT-B) mostraron sensibilidad *in vitro* al quintozeno+thiram (Interguzan 30-30<sup>®</sup>).

De Liñán (2012) y FRAC (2019) plantearon que el thiram constituye un inhibidor de las enzimas de radical metálico y de las enzimas sulfhídricas. El cual interfiere en la respiración celular del hongo y en

la transducción de señales osmóticas, que impiden la germinación de las esporas. Muiño *et al.* (2001), estudiaron el efecto de thiram frente a *Trichoderma* spp., a las dosis de 50 y 10 mg L<sup>-1</sup> i. a. Después de 48 horas que montaron el experimento observaron mortalidad de poco menos del 100 % del crecimiento micelial del antagonista; sin embargo, a los cinco días el hongo retomó su crecimiento, considerándolo moderadamente tóxico y compatible.

En la presente experimentación se observó que sólo la cepa nativa *T. tomentosum* (SS1-6) mostró la sensibilidad *in vitro*, en el tratamiento con presencia de benomilo (Promilo 50 PH®). En este sentido, Muiño *et al.* (2001), no observaron crecimiento micelial *in vitro* de *Trichoderma* spp., en las dosis de 50 y 10 mg L<sup>-1</sup> i. a. de benomilo. Por lo que consideraron tóxico para el antagonista; sin embargo, en el presente estudio las cepas antagonistas probadas (SS2-5; TFR3; TA4 y CUT-B) mostraron tolerancia al benomilo. Se lograron áreas de crecimiento micelial de 0,07 cm<sup>2</sup>; 0,13 cm<sup>2</sup>; 0,09 cm<sup>2</sup>; 0,09 cm<sup>2</sup>, respectivamente.

En el tratamiento con presencia de tiofanato metílico se alcanzaron valores de crecimiento micelial del antagonista de 0,21 cm<sup>2</sup> (SS1-5); 0,13 cm<sup>2</sup> (SS2-6); 0,04 cm<sup>2</sup> (TFR3); 0,10 cm<sup>2</sup> en la cepa nativa TA4. Sólo el antagonista CUT-B mostró sensibilidad *in vitro* al tiofanato metílico. Franco y Orrego (2013) demostraron que los aislados A-76 y A-106 de *Trichoderma* spp., fueron compatibles al tiofanato metílico+ thiram, en las dosis de 0,85 g L<sup>-1</sup> i. a., donde determinaron valores de crecimiento micelial del hongo de 4 %.

### CONCLUSIONES

Las cepas nativas *T. barbatum* (SS2-5), *T. asperellum* (TFR3) y *T. harzianum* (TA4) no mostraron sensibilidad *in vitro* a los diferentes fungicidas probados.

*T. tomentosum* (SS1-6) mostró sensibilidad al benomilo (Promilo 50 PH®), y *T. asperellum* (CUT-B) al tiofanato metílico (Cercobim 70 M®); ambas cepas antagonistas presentaron tolerancia a captan (Captan 50 WP®) y fluazinam (Shogun 500 FW®).

### LITERATURA CITADA

- Alonso, A; López, H; Domínguez, G; García, R. 2018. Actividad antagonista de cepas nativas de *Trichoderma* spp. sobre *Rosellinia necatrix* y *Verticillium dahliae* (en línea). Revista Mexicana de Fitopatología 36 (3): S27-S28. Consultado 11 may. 2019. Disponible en <https://bit.ly/3cTQEBt>
- Arcia, A. 1995. Uso de antagonistas en el control de fitopatógenos del suelo. *In* Control microbial de insectos plagas y enfermedades en cultivos. Universidad Centro Occidental Lisandro Alvarado (UCLA), Barquisimeto, Venezuela. p.185-204.
- Askew, DJ; Lang, MD. 1993. An adapted selective medium for the quantitative isolation of *Trichoderma* species (en línea). Plant Pathology 42 (5): 686-690. Consultado 11 oct. 2019. Disponible en <https://bit.ly/3vGyOud>
- Barakat, MR; Al-Masri, IM. 2017. Effect of *Trichoderma harzianum* in combination with fungicides in controlling gray mould disease (*Botrytis cinerea*) of strawberry (en línea). American Journal of Plant Sciences 8(4):651-665. Consultado 11 may. 2019. Disponible en <https://bit.ly/3H8e2YT>
- Castillo, GC; Pérez, A; Lovato, EA. 2017. Compatibilidad “*in vitro*” de aislados de *Trichoderma* spp. con fungicidas usados normalmente en el control de patógenos de suelo (en línea). Agrotecnia 25: 0328-4077. Consultado 10 dic. 2020. Disponible en <https://bit.ly/3s5nLEB>
- Companioni, B; Domínguez, G; García, R. 2019. *Trichoderma*: su potencial en el desarrollo sostenible de la agricultura (en línea). Revista Biotecnología Vegetal 19 (4): 237-248. Consultado 9 de may. 2019. Disponible en <https://bit.ly/3cOvCnD>
- De Liñán, C. 2012. Vademécum de agroquímicos de México. Tecnoagrícola de México 4, 766 p.
- Di Rienzo, JA; Casanoves, F; Balzarini, MG; González, L; Tablada, M; Robledo, CW. 2020. InfoStat Software Estadístico (en línea, pág. web). Centro de Transferencia *InfoStat*. Consultado 9 may. 2019. Disponible en <https://bit.ly/35eBUwK>
- Duarte-Leal, Y; Pozo-Martínez, L; Martínez-Coca, B. 2018. Antagonismo *in vitro* de cepas de *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg frente

- a aislados de *Fusarium* spp. (en línea). Revista de Protección Vegetal 33(1):1-10. Consultado 10 dic. 2019. Disponible en <https://bit.ly/2NzkOkJ>
- FRAC (Fungicide Resistance Action Committee) Code List. 2019. Fungal control agents sorted by cross resistance pattern and mode of action (including FRAC code numbering) (en línea). Consultado 11 may. 2019 Disponible en <https://bit.ly/3s7341v>
- Franco, OBM; Orrego, FAL. 2013. Compatibilidad *in vitro* de aislados nativos de *Trichoderma* spp. con fungicidas para el tratamiento de semillas (en línea). Investigación Agraria 15(1):15-22. Consultado 10 dic. 2019. Disponible en <https://bit.ly/3s9tf82>
- García, R; Domínguez, G; Chavarro, EA; Mora, ME. 2017. Pathogenicity of *Verticillium dahliae* klebahn in rootstock rose cv. *Manetti* (en línea). APS Annual Meeting, August 5-9. San Antonio, Texas. Consultado 9 oct. 2019. Disponible en <https://bit.ly/2QbDckz>
- García-Velasco, R; Alonso, A; Domínguez, G; Aguilar, S; Mora, ME; Companioni, B. 2021a. Efecto antagónico de cepas nativas de *Trichoderma* spp. contra el hongo fitopatógeno *Rosellinia necatrix* en México (en línea). Agronomía Tropical 71:1-15. Consultado 9 may. 2021. Disponible en <https://bit.ly/3v788EX>
- García-Velasco, R; Alonso, A; Domínguez, G; Aguilar, S; Mora, M; Companioni, B. 2021b. Antagonismo *in vitro* de cepas nativas de *Trichoderma* spp. contra *Verticillium dahliae* y *Botrytis cinerea* en el Estado de México (en línea). Agronomía Tropical 71:1-12. Consultado 7 nov. 2021. Disponible en <https://bit.ly/3BBSVgo>
- García-Velasco, R; González-Díaz, JG; Domínguez-Arismendi, G; Ayala-Escobar, V; Aguilar-Medel, S. 2012. *Rosellinia necatrix* en *Rosa* sp. y su evaluación a sensibilidad de fungicidas (en línea). Revista Chapingo Serie Horticultura 18(1): 39-54. Consultado 9 dic. 2020. Disponible en <https://bit.ly/3rZlGhw>
- Khirallah, W; Mouden, N; Selmaoui, K; Achbani, EL; Benkirane, R; Ouazzani Touhami, A; Douira, A. 2016. Compatibility of *Trichoderma* spp. with some fungicides under *in vitro* conditions (en línea). International Journal of Recent Scientific Research 7 (2): 9060-9067. Consultado 10 dic. 2020. Disponible en <https://bit.ly/33GAAT4>
- Kirk, PM; Roskov, Y; Abucay, L; Orrell, T; Nicolson, D; Bourgoin, T; De Wever, A. 2019. Catalogue of life, 2019 Annual Checklist (en línea, pág.web). Catalogue of life. Consultado 11 may. 2019. Disponible en <https://bit.ly/3h0bm58>
- Martínez, B; Infante, D; Reyes, Y. 2013. *Trichoderma* spp. y su función en el control de plagas en cultivos (en línea). Protección vegetal 28(1):1-11. Consultado 9 may. 2019. Disponible en <https://bit.ly/3s4d8pE>
- Martínez-Tapia, V; Dominguez, AG; Bravo, LL; García, VR. 2019. Efectividad de *Trichoderma* spp. contra *Puccinia horiana* y estimulación de crecimiento en crisantemo (en línea). Revista Mexicana de Fitopatología 37: 29. Consultado 9 dic. 2020. Disponible en <https://bit.ly/36wfbmbx>
- Mihuta-Grimm, L; Rowe, C. 1986. *Trichoderma* spp. as biocontrol agents of *Rhizoctonia dampingoff* of radish in organic soil and comparison of four delivery systems (en línea). Phytopathology 76 (3): 306-312. Consultado 9 may. 2019. Disponible en <https://bit.ly/3lD30Sr>
- Muiño, LB; Sáenz, M; Stefanova, M; Porras, Á; Díaz, I. 2001. Compatibilidad de *Trichoderma* spp. con plaguicidas y fertilizantes en el cultivo del tabaco (en línea). Fitosanidad 5(2):3-9. Consultado 10 dic. 2019. Disponible en <https://bit.ly/36u00Tc>
- Peláez-Álvarez, A; Santos-Villalobos, S; Yépez, EA; Parra-Cota, FI; Reyes-Rodríguez, RT. 2016. Efecto sinérgico de *Trichoderma asperellum* T8A y captan 50<sup>®</sup> contra *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) (en línea). Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas 7(6):1401-1412. Consultado 9 may. 2019. Disponible en <https://bit.ly/3JHbe6F>
- Pérez-Moreno, L; Belmonte-Vargas, JR; Núñez-Palenius, HG; Guzmán-Mendoza, R; Mendoza-Celedón, B. 2015. Sensibilidad *in vitro* de dos especies de *Sclerotinia* spp. y *Sclerotium cepivorum* a agentes de control biológico y fungicidas. (en línea) Revista Mexicana de Fitopatología 33(2):256-267. Consultado 10 dic. 2019. Disponible en <https://bit.ly/3LTqlqq>

- Pérez-Rodríguez, LR; Pérez-Moreno, L; Guzmán-Mendoza, R; Sanzón-Gómez, D; Belmonte-Vargas, JR. 2019. Sensibilidad *in vitro* de hongos fitopatógenos causantes de enfermedades en fresa a controladores biológicos y fungicidas, en el estado de Guanajuato, México (en línea). Acta universitaria 29: e2339. Consultado 9 may. 2021. Disponible en <https://bit.ly/3H9q7gD>
- Pineda-Insuasti, JA; Benavides-Sotelo, EN; Duarte-Trujillo, AS; Burgos-Rada, CA; Soto-Arroyave, CP; Pineda-Soto, CA; Fierro-Ramos, FJ; Mora-Muñoz, ES; Álvarez-Ramos, SE. 2017. Producción de biopreparados de *Trichoderma* spp: una revisión(en línea). ICIDCA 51(1): 47-52. Consultado 18 oct. 2019. Disponible en <https://bit.ly/31290ui>
- Ramírez, JJ; Avitia-Rodríguez, JA. 2017. Floricultura mexicana en el siglo XXI: su desempeño en los mercados internacionales (en línea). Revista de Economía, XXXIV (88): 99-122. Consultado 18 oct. 2019. Disponible en <https://bit.ly/3BBaTzP>
- Ruano-Rosa, D; López-Herrera, CJ. 2015. Adecuación de la dosis mínima efectiva del fungicida fluzinam para su uso combinado con *Trichoderma atroviride* en el control de la podredumbre blanca del aguacate. VIII Congreso Mundial de la Planta, 165-169.
- SIAMI (Sistema de Información Arancelaria Vía Internet, México). 2019. Sistema de información arancelaria vía internet (en línea, pág. web). Consultado 9 dic. 2020. Disponible en <https://bit.ly/3vMXzFi>