

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



TESIS:

“Control Biológico vs Control Químico de *Sclerotium rolfsii* Sacc., en frijol en el Norte de Sinaloa”

**Que para obtener el grado de
Maestro en Ciencias Agropecuarias**

PRESENTA:

Jesús Guadalupe Loredo Vega

DIRECTOR DE TESIS:

Dr. Fernando Alberto Valenzuela Escoboza

CO-DIRECTORA DE TESIS:

Dra. Blanca Elvira López Valenzuela

Juan José Ríos, Sinaloa, México; a noviembre de 2024.



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

UAS-Dirección General de Bibliotecas

Repositorio Institucional Buelna

Restricciones de uso

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

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

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



ESTA TESIS FUE REALIZADA POR **Jesús Guadalupe Loredo Vega**, BAJO LA DIRECCIÓN DEL CONSEJO PARTICULAR QUE SE INDICA, Y HA SIDO APROBADA POR EL MISMO, COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS

CONSEJO PARTICULAR



DIRECTOR

Dr. Fernando Alberto Valenzuela Escoboza



CO-DIRECTORA

Dra. Blanca Elvira López Valenzuela



ASESOR

Dr. Quintín Armando Ayala Armenta



ASESOR

Dr. Hugo Beltrán Peña

JUAN JOSÉ RÍOS, SINALOA, NOVIEMBRE DE 2024.

DEDICATORIA

Dedico esta tesis a **Dios** por darme la oportunidad de vivir y luchar por mis objetivos.

A mis padres **Jesús Vicente Loredo Zavala** y **Bertha Alicia Vega Montiel**, por traerme a este mundo, cuidarme y protegerme en mi infancia e inculcarme en todo momento el interés por el estudio.

A mi esposa **María Trinidad Delgado Castillo**, por ser parte fundamental en mi vida acompañándome en todo momento y luchar juntos ante la adversidad propia de la vida.

A mis hijos **Jesús Loredo Delgado** y **Karla Loredo Delgado**, por ser mi motivación y mi razón de ser para seguir adelante hasta el final.

A mis nietos **Jesús Francisco Ruíz Loredo** y **Ana Victoria Ruíz Loredo**, que con sus alegrías, sonrisas y ocurrencias fueron y seguirán siendo la mejor y más pura energía y motivación para continuar sin rendirme ante cualquier dificultad.

A mi Padrino **Adán Melquiades Loredo Zavala** por verme como su hijo y siempre motivarme y aconsejándome por el estudio.

A mi tío **Jesús Ramón Vega Montiel** por estar atento en mi paso escolar y académico y siempre recordándome deseando verme realizado profesionalmente.

A toda mi familia y amigos que me han manifestado sus buenos deseos con mucho cariño les expreso la presente dedicatoria.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco con mucho afecto y sinceridad a mi alma mater, a la **Universidad Autónoma de Sinaloa**, por proveer el conocimiento y formación académica que actualmente poseo, externando que siempre estaré en la mejor disposición de servirle cuando sea requerido y regresar un poco de lo mucho que me ha brindado.

A la **Facultad de Agricultura del Valle del Fuerte** por ser una institución noble, cuyas autoridades siempre estuvieron apoyándome en todo momento en las actividades durante mi trabajo de tesis

Al Dr. **Fernando Alberto Valenzuela Escoboza**, le agradezco infinitamente su apoyo y confianza para la realización de esta tesis, al estar atento y dar seguimiento en cada una de las etapas realizadas, al dirigir, asesorar y guiar mi trabajo hasta la culminación de la presente investigación.

A la Dra. **Blanca Elvira López Valenzuela**, expreso mi agradecimiento por dirigir mi trabajo de investigación, apoyándome y asesorándome en los distintos procedimientos experimentales de mi investigación, en verdad le estaré hoy y siempre muy agradecido, por brindarme herramientas y conocimientos que sin duda fortalecieron mi aprendizaje académico.

A mis Asesores **Dr. Quintín Armando Ayala Armenta**, **Dr. Hugo Beltrán Peña**, por todos sus consejos y observaciones que gracias a ellos logre culminar este trabajo de investigación que con mucho orgullo y satisfacción de mi parte se ha logrado. Por todo esto y mucho más, les reitero a todas las personas antes mencionadas mi más sincero y profundo agradecimiento.

CONTENIDO

DEDICATORIA.....	i
AGRADECIMIENTOS	ii
CONTENIDO.....	iii
RESUMEN.....	viii
ABSTRACT.....	ix
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1 El cultivo del frijol (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.).....	3
2.1.1 Origen e Importancia.....	3
2.1.2 Clasificación taxonómica del frijol	4
2.1.3 Descripción botánica del frijol	4
2.1.4 Raíz.....	4
2.1.5 Tallo	5
2.1.6 Hojas.....	5
2.1.7 Flores.....	6
2.1.8 Fruto.....	6
2.1.9 Semilla.....	7
2.2 Tecnologías de producción	7
2.3 Clima y suelo	7
2.4 Malezas.....	7
2.5 Plagas	8
2.6 Enfermedades	8
2.7 Fungicidas	9
2.8 El género <i>Trichoderma</i>	9
2.8.1 Taxonomía	10
2.8.2 Características somáticas	10
2.8.3 Temperatura	10
2.8.4 Mecanismos de acción de <i>Trichoderma</i> spp.....	11

2.8.5 Competencia.....	11
2.8.6 Producción de metabolitos (Antibiosis).....	11
2.8.7 Micoparasitismo.....	11
2.9 <i>Sclerotium rolfsii</i>	12
2.9.1 Clasificación taxonómica.....	12
2.9.2 Morfología.....	12
2.9.3 Distribución.....	13
2.9.4 Sintomatología.....	13
2.9.5 Control biológico.....	13
2.9.6 Control químico.....	13
III. HIPÓTESIS.....	14
IV. OBJETIVOS.....	14
4.1 Objetivo General.....	14
4.2 Objetivos Específicos.....	14
V. MATERIALES Y MÉTODOS.....	15
5.1 Ubicación geográfica del experimento.....	15
5.2 Origen de las cepas de <i>Trichoderma</i> spp.....	15
5.2.1 Producción del Inóculo de <i>Trichoderma</i> spp.....	15
5.2.2 Recolección de esporas de <i>Trichoderma</i> spp.....	16
5.2.3 Concentración del inóculo.....	16
5.2.4 Obtención del inóculo madre a concentración de 1×10^7 esporas mL ⁻¹	17
5.3 Muestreo y Aislamiento de <i>Sclerotium rolfsii</i>	17
5.4 Pruebas de patogenicidad.....	19
5.5 Prueba de antagonismo <i>in vitro</i>	19
5.5.1 Diseño experimental.....	20
5.6 Prueba de efectividad de los fungicidas sobre <i>Sclerotium rolfsii</i>	20
5.7 Prueba sensibilidad de cepas de <i>Trichoderma</i> a los fungicidas utilizados para tratamiento de semilla.....	21
5.7.1 Diseño experimental.....	23

5.8 Ensayo de efectividad biológica de <i>Trichoderma</i> y el fungicida thiram + carboxyl vs <i>S. rolfsii in vivo</i>	23
5.8.1 Diseño experimental.....	24
VI. RESULTADOS	24
6.1 Antagonismo <i>in vitro</i> de la cepas de <i>Trichoderma</i> sobre <i>Sclerotium rolfsii</i>	24
6.1.1 Porcentaje de inhibición del crecimiento radial de <i>S. rolfsii</i> por <i>Trichoderma</i>	24
6.2 Efectividad de fungicidas sintéticos sobre <i>S. rolfsii in vitro</i>	25
6.3 Evaluación de la sensibilidad de <i>Trichoderma</i> a los fungicidas utilizados para tratamiento de semilla.	27
6.4 Evaluación de la efectividad biológica de <i>Trichoderma</i> y el fungicida thiram + carboxyl vs <i>S. rolfsii in vivo</i>	29
VII. DISCUSIÓN	31
XVIII. CONCLUSIONES.....	34
IX. LITERATURA CITADA.....	36
X. ANEXOS	46

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Dosis de fungicida en partes por millon (ppm) en 100 mL de PDA por cada tratamiento.....	21
Cuadro 2. Dosis de Fungicida en 100 mL de PDA para Evaluar la sensibilidad al estar en contacto con las cepas de <i>Trichoderma</i> (TM, TJ3, TF y TJ)	22
Cuadro 3. Crecimiento radial del patógeno <i>S. rolfsii</i> 10 días después de la siembra junto a <i>Trichoderma</i>	24
Cuadro 4. Comparación de medias Tukey ($p \leq 0.05$) en relación al porcentaje de inhibición del crecimiento radial del patógeno interactuando con <i>Trichoderma</i> .	25
Cuadro 5. Comparación de medias Tukey ($p \leq 0.05$) en relación al crecimiento radial del patógeno <i>S. rolfsii</i> 10 días después de la siembra en contacto con fungicidas	26
Cuadro 6. Comparación de medias Tukey ($p \leq 0.05$) en relación al crecimiento radial de las cepas de <i>Trichoderma</i> 10 días después de la siembra en contacto con fungicidas.....	28

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ubicación geográfica del experimento (Google maps, 2022).....	15
Figura 2. Área grabada de una cámara Neuvauer.	17
Figura 3. Porcentaje de inhibición de crecimiento radial de las cepas de <i>Trichoderma</i> sobre <i>S. rolfsii</i> , después de 10 días de interacción.....	25
Figura 4. Porcentaje de inhibición de crecimiento radial de <i>S. rolfsii</i> en contacto con fungicidas.....	26
Figura 5. Efecto de los fungicidas sobre el hongo <i>Trichoderma in vitro</i> . Inhibición del crecimiento radial de <i>Trichoderma</i> debido a la acción de los fungicidas incorporados en dosis alta y dosis baja al medio de cultivo (PDA) junto con las cepas TM, TF, TJ7 y TJ3.....	28
Figura 6. Efectividad biológica de <i>Trichoderma</i> y el fungicida Thiram+carboxyl sobre <i>Sclerotium rolfsii</i> y su interacción en el porcentaje de germinación y altura de plántula de frijol.....	30

RESUMEN

La contaminación al medio ambiente en medida considerable se ha generado por el uso de agroquímicos en los cultivos agrícolas y que a gran escala causan daños en la salud humana. En el presente trabajo se evaluó alternativas de biocontrol que minimizan el impacto negativo de los plaguicidas. El tizón sureño (*Sclerotium rolfsii* Sacc.), es una enfermedad fungosa importante en el cultivo del frijol. *Trichoderma* es un hongo benéfico que posee efecto antagónico y es un excelente biocontrolador de fitopatógenos, al grado de competir con eficacia contra fungicidas sintéticos. Se evaluó la eficiencia antagónica de *Trichoderma* spp., sobre *Sclerotium rolfsii*, con el método de cultivo dual. Se determinó el porcentaje de inhibición de crecimiento radial (PICR), y se midió la efectividad de cuatro fungicidas (azoxystrobin, tebuconazol, thiram + carboxyl, procloraz) en medio PDA. En resultado, dos cepas de *Trichoderma* (TJ7 y TJ3) mostraron la mayor capacidad antagónica (superior al 60%) ($p \leq 0.05$), las cuales se seleccionaron para posteriormente determinar su efectividad *in planta*. Para el caso de los fungicidas se seleccionó el mejor (thiram+carboxil) con una efectividad de control del 100% ($p \leq 0.05$) sobre el patógeno. Se evaluó la sensibilidad de *Trichoderma* al crecer en contacto con el fungicida (thiram+carboxil), observando que mostró sobrevivencia (PICR=80.6%) ($p \leq 0.05$) al medio tratado.

Palabras clave: Biocontrol, antagonismo, control químico.

ABSTRACT

The contamination to the environment by the use of agrochemicals in agricultural crops and that when used on a large scale cause damage to human health, in the present work biocontrol alternatives that minimize the negative impact of pesticides were evaluated. Southern blight (*Sclerotium rolfsii* Sacc.), is an important fungal disease in bean cultivation. *Trichoderma* is a fungus, has antagonistic effect and is an excellent biocontroller of phytopathogens, to the extent of competing effectively with synthetic fungicides. The antagonistic efficiency of *Trichoderma* spp. on *Sclerotium rolfsii* was evaluated with the dual culture method. The percentage of radial growth inhibition (PICR) was determined, and the effectiveness of four fungicides (azoxystrobin, tebuconazole, thiram + carboxyl, prochloraz) in PDA medium was measured. As a result, two strains of *Trichoderma* (Tj7 and Tj3) showed the greatest antagonistic capacity (greater than 60%) ($p \leq 0.05$), which were selected to later determine their effectiveness in plant. In the case of fungicides, the best one (thiram + carboxyl) was selected with a 100% ($p \leq 0.05$) control effectiveness on the pathogen. The sensitivity of *Trichoderma* when growing in contact with the fungicide (thiram + carboxyl) was evaluated, observing that it showed survival (PICR = 80.6%) ($p \leq 0.05$) to the treated environment.

Key words: Biocontrol, antagonism, chemical control

I. INTRODUCCIÓN

El incremento demográfico en México y su incorporación al tratado de libre comercio con Estados Unidos de América y Canadá, exigen que la agricultura nacional desarrolle alternativas de producción, autosuficiencia y obtener productos de calidad que puedan ser competitivos internacionalmente. La aplicación de fungicidas sintéticos en el cultivo del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), es el método más utilizado para el control de hongos fitopatógenos, lo que ocasiona efectos nocivos al medio ambiente y sociedad en general; es por ello que numerosos investigadores trabajan en el manejo integrado de plagas y enfermedades con énfasis en el control biológico (Echavarría, 2014).

La producción del cultivo de frijol es afectada por diversos factores, entre los que destacan las enfermedades fungosas como el tizón sureño *Sclerotium rolfsii* (teleomorfo *Athelia rolfsii*), el cual causa pudrición de la raíz y tallo. *S. rolfsii* es un patógeno polífago reportado en zonas tropicales y subtropicales, asociado con pérdidas económicas significativas de hasta el 25-30% (Gholami *et al.*, 2019).

Entre las alternativas de mayor importancia de manejo de enfermedades del frijol, destaca el uso de cepas del género *Trichoderma* como agentes control biológico de fitopatógenos (Otadoh *et al.*, 2011); Sin embargo, la actividad antagónica de este biocontrolador varía en dependencia de la especie, la cepa utilizada y las condiciones en las que se desarrolla el ensayo o aplica de manera comercial.

En México, los estudios realizados sobre *S. rolfsii* y su combate químico, es escasa, poco se conoce sobre la eficacia de los fungicidas contra el hongo. Se han reportado microorganismos del suelo con potencial para el control de *S. rolfsii* en algunos cultivos, sin embargo, en frijol los estudios realizados son escasos (Volpiano *et al.*, 2018).

El hongo *Trichoderma*, es un invasor oportunista de fácil crecimiento, produce gran cantidad de esporas, es fuente de enzimas degradadoras de pared celular y es importante productor de antibióticos. Numerosas cepas de este género son

competidores de la rizósfera y son capaces de degradar compuestos de hidrocarburos, clorofenólicos, polisacáridos y xenobióticos, utilizados como plaguicidas en la agricultura. Los principales mecanismos de biocontrol que *Trichoderma* utiliza en confrontación directa con los fitopatógenos son el micoparasitismo (Howell, 2003). *Trichoderma* controla hongos fitopatógenos del suelo como *S. rolfsii*, *Macrophomina*, *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Phytophthora*, *Pythium* así como *Alternaria* y *Botrytis*, considerados hongos aéreos (Ruiz, 2010).

Las especies de *Trichoderma* son de fácil adaptación y manipulación, lo que permite implementarlas en el manejo de enfermedades causadas por hongos fitopatógenos del suelo en diversos cultivos (Guédez *et al*, 2012). La presencia de este biocontrolador en terrenos agrícolas y naturales, lo clasifica como competidor por espacio y nutrientes, capaz de colonizar los sustratos disponibles o sobrevivir en forma de clamidosporas o conidios (Samaniego-Fernández *et al.*, 2018).

La creciente preocupación, por los daños que el empleo excesivo de plaguicidas sintéticos ocasiona a la salud humana, al medio ambiente, la biodiversidad y la seguridad alimentaria, ha provocado la disminución del control químico de plagas y enfermedades en la agricultura (Sarwar, 2015).

Por tal motivo, la producción agrícola sostenible, sin afectar el ecosistema es un reto para la humanidad que exhorta transformar los sistemas convencionales de explotación agraria a agroecológicos con el interés de lograr incrementos en los rendimientos, calidad de los productos agrícolas y reducir el efecto nocivo de los pesticidas sintéticos en el medio ambiente (Gutiérrez *et al.*, 2013, López *et al.*, 2015).

Por lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue evaluar la sensibilidad de *S. rolfsii* al agente de biocontrol *Trichoderma* y a fungicidas sintéticos, así como buscar alternativas racionales para su aplicación con el ímpetu de lograr reducir la incidencia y severidad de la enfermedad de los cultivos agrícolas y contribuir al cuidado del medio ambiente.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 El cultivo del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.)

2.1.1 Origen e Importancia

El frijol se originó y se domesticó en América Latina con dos orígenes geográficos (Mesoamérica y Los Andes) y de un ancestro común de 100,000 años de antigüedad. En México y Sudamérica, ésta leguminosa se domesticó de manera independiente hace aproximadamente 8,000 años (Bitocchi *et al.*, 2013).

El mayor aporte del frijol común a escala mundial se refiere a la seguridad alimentaria. Según estadísticas de la FAO, este es un complemento alimenticio importante en la dieta diaria de más de 400 millones de personas en todo el mundo (FAOSTAT, 2015). En Sinaloa, este cultivo es de gran importancia para el sector agroalimentario, generando divisas y empleo en mano de obra para el cual se requieren de 120 a 160 empleados por hectárea. Datos a diciembre de 2023, indican que fueron sembradas 87,663 ha, produciendo 172,162 toneladas con un rendimiento promedio de 1.9 toneladas ha⁻¹ (CODESIN, 2023).

Se considera uno de los cultivos más importantes, debido a la superficie cultivada, por la cantidad de grano que se consume, así como por la actividad económica que genera. En la República Mexicana, la producción más alta se presenta en cinco estados y Sinaloa, se encuentra en segundo lugar por debajo del estado de Zacatecas, seguido de Chihuahua, Durango y Nayarit (SADER, 2023).

2.1.2 Clasificación taxonómica del frijol

Clasificación taxonómica del frijol (ITIS, 2019).

Reino	Plantae
Subreino	Viridiplantae
Infrareino	Streptophyta
Superdivisión	Embriophyta
División	Tracheophyta
Subdivisión	Espermatophyta
Clase	Magnoliópsida
Superorden	Rosanae
Orden	Fabales
Familia	Fabaceae
Género	<i>Phaseolus</i>
Especie	<i>vulgaris</i>
Nombre Científico	<i>Phaseolus vulgaris</i> L.

El frijol pertenece al género *Phaseolus*, con 55 especies, entre estas, se incluyen cinco especies de importancia agrícola, cada una con sus propios ancestros y 50 especies silvestres. Dentro de las especies cultivadas tenemos a: *P. vulgaris* (frijol común), que es la especie de frijol más importante ya que el 90 % de la superficie sembrada con frijol es con esta especie y no más de 200,000 hectáreas se siembran con las cuatro especies restantes: *P. lunatus* L. (frijol lima), *P. acutifolius* A. Gray. (frijol Tépari/yori muni), *P. coccineus* L. (frijol ayocote) y *P. dumosus* Macfad (Hernández-López *et al.*, 2013).

2.1.3 Descripción botánica del frijol

2.1.4 Raíz

La raíz inicia su desarrollo al momento de la germinación. La primera estructura que emerge de la semilla es la radícula, la cual formará al sistema radicular, al emerger la radícula ésta se dirige hacia abajo, posterior a este proceso, a los pocos días se desarrollan de 3 a 7 raíces secundarias en la porción basal formando un sistema con una raíz principal y varias raíces secundarias, las cuales crecen tanto en forma horizontal y hacia abajo con un gran desarrollo dando la apariencia de un sistema radicular profuso o fascicular, la raíz principal

tiene un crecimiento muy activo, el cual penetrar hasta los 150 cm, sin embargo la mayoría de las raíces de absorción se encuentran a una profundidad de 30 a 40 cm. Las raíces basales o secundarias poseen un patrón de desarrollo muy variado, lo que le da al sistema radicular la opción de desarrollarse en forma más horizontal, pero con mayor profundidad (Magalhaes *et al.*, 2015).

2.1.5 Tallo

La parte aérea de la planta de frijol se desarrolla a través del crecimiento del epicotilo durante la germinación, el cual se inicia con el desarrollo del hipocotilo y este lleva consigo a los cotiledones los que al alcanzar la superficie del suelo se expanden y se tornan de color verde ayudando a la planta en estas primeras fases. El crecimiento del epicotilo en la parte superior de los cotiledones dará origen al tallo principal el cual lleva en su porción terminal el meristemo apical que formará el total de las estructuras de la planta como: hojas, nudos, entrenudos, yemas axilares, ramas, flores, etc. La planta presenta un tallo principal cilíndrico o un poco aplanado con presencia de tricomas los cuales puede ser semi glabro o pubescentes con pelos uncinulados, de color verde, rosado o morado. Dependiendo del hábito del crecimiento del tallo este se clasifica en un crecimiento determinado cuando su porción apical termina en una inflorescencia y de hábito indeterminado, en la cual la porción apical permanece en forma vegetativa (Rosas, 2003).

2.1.6 Hojas

En el caso de la planta de frijol se presentan diferentes tipos de hojas, al emerger la plántula, los cotiledones se tornan de color verde presentándose de esta manera las hojas cotiledonarias, siendo este el primer nudo (nudo cotiledonar), posteriormente aparecen las primeras hojas verdaderas en el segundo nudo del tallo principal, las que son simples y conocidas como hojas unifoliadas, en los nudos subsecuentes aparecerán las hojas trifoliadas, que son las que formarán el dosel de la planta de frijol junto con las ramas y tallo. Las

hojas verdaderas trifoliadas, tienen tres folíolos dos de los cuales son asimétricos y acuminados y se localizan en forma lateral, el folíolo central es simétrico y acuminado. Los folíolos presentan una gran variación tanto en tamaño como en la forma, son en forma general cordiformes y triangulares, rara vez se encuentran con folíolos redondeados, posee un peciolo largo y un raquis pequeño en los folíolos laterales, tanto en la base del peciolo como del raquis se localizan los pulvinus los cuales son los responsables de los movimientos nictinásticos, los folíolos pueden ser glabros o semi glabros con bordes enteros. En la base de cada nudo foliar se encuentran tres yemas denominadas triadas las cuales presentan un yema central y dos laterales, las que pueden formar ya sea, un botón floral, una inflorescencia o una rama vegetativa, de acuerdo al hábito de crecimiento y la ubicación del nudo, de tal manera que en los primeros nudos la yema central brota y forma una rama vegetativa; las laterales quedan en forma latente, las que a la postre pueden brotar y formar nuevas ramas vegetativas, en los nudos superiores pueden brotar las yemas laterales y forman una inflorescencia, con la central latente y después brotar y formar una rama y por último las tres yemas pueden brotar y forman estructuras florales, sin embargo lo más común es que solo brote la central (Rosas, 2003).

2.1.7 Flores

Están organizadas en racimos, situados en las axilas de las hojas, y su color varía de blanco al morado. Aunque el frijol produce menos flores que otras leguminosas, como la soya, Este tiene mejor amarre en mayor proporción (Ávila *et al.*, 2023).

2.1.8 Fruto

Es una vaina o legumbre, que varía mucho en forma, tamaño y número de semillas. (Ávila *et al.*, 2023).

2.1.9 Semilla

Las semillas presentan diversos tamaños, usualmente 1-2 cm, también presentan gran diversidad de formas (cilíndricas, elípticas u ovales) y colores (desde el blanco hasta el negro), y puede ser la coloración uniforme o manchada (INIFAP, 2021).

2.2 Tecnologías de producción

El periodo óptimo de siembra en riego, en el norte de Sinaloa es del 1ro al 30 de octubre. El método y densidad de siembra consiste en colocar la semilla en surcos de 70 a 80 cm a hilera sencilla, con una densidad de siembra de 12 a 16 semillas por metro lineal o bien en surcos a doble hilera ya sea 90 o 100 cm, con una distancia entre hileras de 20 a 28 cm y con una densidad de siembra de 10 a 12 semillas por metro lineal en cada hilera. La Fertilización y número de riegos, a reserva de realizar un análisis nutricional del suelo, se sugiere la dosis 60-50-20 de N-P-K al momento de la siembra. Por lo general, un riego de presembrado y tres riegos de auxilio durante el ciclo son suficientes para la obtención de buenos rendimientos (Salinas *et al.*, 2011).

2.3 Clima y suelo

La temperatura óptima para el desarrollo del cultivo del frijol, oscilan entre 10 a 27 °C, es muy susceptible a condiciones fuera del rango y debe sembrarse en suelos ligeros y bien drenados. El pH adecuado fluctúa entre 6.5 y 7.5, ya que dentro de estos límites la mayoría de los elementos nutritivos del suelo presentan su máxima disponibilidad; no obstante, su disponibilidad aún es aceptable en suelos con un pH entre 4.5 y 5.5 (SIAP, 2019).

2.4 Malezas

Las malezas son uno de los factores bióticos adversos gran importancia en los cultivos. En las zonas productoras de frijol se presenta la competencia con las malezas: durante su desarrollo, las plantas se tornan cloróticas, afectando su crecimiento y desarrollo, esto provoca una disminución en el rendimiento. Las

malezas son de los factores bióticos de mayor impacto negativo para los cultivos en general. Ejemplo de estas son: *Convolvulus arvensis* L., *Euphorbia heterophylla* L., *Cucumis melo* L., *Xanthium strumarium* L., *Rumex crispus* L., *Melilotus albus* Medik, *Melilotus indicus* (L.) ALL., *Sorghum halepense* (L.) Pers., *Echinochloa crusgalli* (L.) P. Beauv., *Cynodon dactylon* (L.) Pers., *Leptochloa filiformis* P. Beauv., *Helianthus annuus* L., *Amaranthus* spp., (Agrosintesis, 2012).

2.5 Plagas

Las plagas insectiles, sin duda son una amenaza en la producción de frijol, ya que además de alimentarse, muchos de estos insectos son capaces de transmitir enfermedades virales, al actuar como vectores. Entre ellos se mencionan a, *Bemisia tabaci* (Gennadius), *Empoasca fabae* (Harris), *Epilachna varivestis* Mulsant, *Caliothrips phaseoli* (Hood), y *Liriomyza trifolii* (Burgess) (SENASICA, 2021).

2.6 Enfermedades

En el norte del estado de Sinaloa el moho blanco, por *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, es una enfermedad que afecta a las plantas de frijol en cualquiera de las etapas de desarrollo, incluyendo plántulas, plantas maduras y frutos cosechados (Ayala, *et al.*, 2018). *Sclerotium rolfsii* es otro patógeno de importancia reportado en zonas tropicales y subtropicales que ocasiona la enfermedad tizón sureño del frijol, causando marchitez y muerte de tejido vegetal asociado con pérdidas económicas significativas (Gholami *et al.*, 2019). Otras enfermedades son: pudrición de raíz *Rhizoctonia solani* J. G. Kühn, roya *Uromyces phaseoli* G. Winter, antracnosis *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc & Mag.) Scrib., tizón del halo *Pseudomonas phaseolicola* (Burk.), tizón común *Xanthomonas phaseoli* (Xap), virus del mosaico dorado (BGMV), y el virus del mosaico común (BCMV) (Vázquez *et al.*, 2023).

2.7 Fungicidas

Desde hace mucho tiempo, los fungicidas se producen a partir de compuestos de azufre, cobre y mercurio. En el caso de los compuestos de mercurio, su toxicidad para los animales de sangre caliente y la acumulación de mercurio en el medio ambiente provocaron su prohibición (Jardine, 2013).

Los fungicidas sistémicos de nueva generación, reemplazaron en gran medida a los compuestos inorgánicos y pueden ser muy eficientes. La toxicidad de estos compuestos para las semillas y el desarrollo de moléculas más nuevas y específicas, ocasiono la reduccción del uso de dichos compuestos inorgánicos (Buffington y Gaul, 2010).

Los fungicidas de contacto solo actúan contra las esporas de los hongos sobre la superficie de las plantas, por lo tanto, no tienen efectos en las infecciones fúngicas internas (Mancini y Romanazzi, 2014).

2.8 El género *Trichoderma*

Los hongos de este género habitan en ambientes aeróbicos, especialmente en suelos con un pH entre neutro a ácido y alta presencia de materia orgánica. Las especies de *Trichoderma* producen enzimas y se emplean en la agricultura para combatir patógenos que causan enfermedades en las plantas (Endara, 2009). El interés por este hongo, se debe a la capacidad de control ante diversos fitopatógenos y por ende el uso en agricultura, además existen diversos trabajos científicos que demuestran que especies de *Trichoderma* pueden sintetizar fitohormonas de tipo auxinas y giberelinas, que son consideradas promotoras del crecimiento en cultivos agrícolas (López-Valenzuela *et al.*, 2022; Andrade-Hoyos *et al.*, 2023).

Los mecanismos de acción más importantes, es la competencia por nutrientes o espacio, el micoparasitismo y la antibiosis. La importancia relativa de cada uno de ellos depende de la relación antagonista-patógeno y del ambiente (Hernández *et al.*, 2015).

2.8.1 Taxonomía

Clasificación taxonómica de acuerdo al National Center for Biotechnology Information (NCBI, 2015).

Reino	<i>Fungi</i>
Subreino	<i>Dikarya</i>
Phylum	<i>Ascomycota</i>
Subphylum	<i>Pezizomycotina</i>
Clase	<i>Sordariomycetes</i>
Orden	<i>Hypocreales</i>
Familia	<i>Hypocreaceae</i>
Género	<i>Trichoderma</i>

2.8.2 Características somáticas

Trichoderma spp., presentan estructuras somáticas y reproductivas (hifas, esporas y clamidosporas) muy particulares (color de micelio, forma de micelio y crecimiento) (Mercado, 2023). Los conidióforos son transparentes, bien definidos, pueden encontrarse de manera individual o concéntrica, con coloración verde y tienen una medida de 3.7 por 66 μm de ancho y largo; las hifas pueden ser anchas, rectas o flexibles con septas transversales; sus fiálides se encuentran en grupo o individuales, las cuales se asemejan a una botella delgada y alargada, se unen por el extremo del ángulo recto a los conidióforos, son asimétricos y tienen un tamaño de 3.1 μm de ancho por 10 μm de largo; los conidios son esporas unicelulares semiesféricas, de contorno liso de color verde y se encuentran en los ápices de las fiálides, miden 2.7 por 2.8 μm ; las clamidosporas son estructuras que tienen como función la supervivencia de *Trichoderma* spp., presentan un tamaño entre 10 a 12.5 μm de diámetro (Barnett y Hunter, 1998; Yumbay, 2011).

2.8.3 Temperatura

El rango óptimo de temperatura para su desarrollo, difiere en las especies de *Trichoderma*. La mayoría son mesófilas y no pueden proteger la germinación de semillas contra enfermedades del suelo causadas por fitopatógenos tolerantes a bajas temperaturas bajo condiciones de humedad.

En suelos forestales *T. viride* es muy abundante al principio de la primavera y otoño, por otra parte *T. koningii*, su presencia es alta en verano (Widden y Abitol, 1980).

2.8.4 Mecanismos de acción de *Trichoderma* spp.

2.8.5 Competencia

La competencia por espacio y/o nutrientes se considera uno de los mecanismos típicos de control biológico de este hongo. Tiene una tasa de desarrollo muy rápida, lo que hace que sea un eficiente competidor por espacio al colonizar la rizosfera. Se ha descrito que tiene una gran capacidad para movilizarse y tomar los nutrientes del suelo, y es muy versátil para crecer en sustratos con fuentes de carbono y nitrógeno, lo que le permite colonizar el medio rápidamente y evitar el desarrollo de otros microorganismos en el mismo hábitat (Castro y Rivillas, 2012).

2.8.6 Producción de metabolitos (Antibiosis)

El género *Trichoderma* produce compuestos orgánicos volátiles y no volátiles, que ocasionan inhibición del crecimiento y el desarrollo de microorganismos fitopatógenos. En estas interacciones se conjugan enzimas líticas extracelulares, antibióticos y compuestos de bajo peso molecular (Sánchez *et al.*, 2017).

2.8.7 Micoparasitismo

Es un proceso complejo en la interacción antagonista-patógeno, que ocurre en cuatro etapas: crecimiento quimiotrófico, reconocimiento, adhesión, enrollamiento y la actividad lítica. La última etapa consiste en la producción de enzimas, tales como: quitinasas, glucanasas y proteasas, que actúan sobre las paredes celulares del patógeno y favorecen la penetración de las hifas de *Trichoderma* spp. (Marcello *et al.*, 2010).

2.9 *Sclerotium rolfsii*

El género *Sclerotium* está constituido por más de 40 especies. *S. rolfsii* es la especie más conocida (Xu *et al.*, 2010). En el siglo XX se le relaciona con daños en cacahuate y en 1966 se contaba con 2,000 reportes de este patógeno en diversas partes del mundo, sobre todo en los climas tropicales y subtropicales. Mario Curzi descubrió su fase teleomorfa (sexual) a la cual llamó *Cotidium* en el año de 1932 y en 1978 se reclasificó con el nombre de *Athelia* (Kator *et al.*, 2015).

2.9.1 Clasificación taxonómica

De acuerdo con Binder *et al.*, (2010) el teleomorfo de *Sclerotium rolfsii* se encuentra clasificado de la siguiente manera:

Reino: Fungi

División: Basidiomycota

Subdivisión: Agaricomycotina

Clase: Agaricomycetes

Subclase: Agaricomycetidae

Orden: Amylocorticiales

Familia: Atheliaceae

Género: *Athelia*

Especie: *rolfsii*

2.9.2 Morfología

En su fase anamorfa (*Sclerotium rolfsii*) forma micelio blanquecino en forma de abanico con conexiones llamadas fíbulas, sin producir esporas, en cambio, produce esclerocios redondos de color marrón, mientras que en su fase sexual (teleomorfa- *Athelia rolfsii*), forma estructuras fructíferas llamados basidiocarpos y filamentos de las hifas que provienen de los esclerocios (Xu *et al.*, 2010; Hernández y Herrera 2014).

2.9.3 Distribución

Se tienen registros de la presencia de *S. rolfsii* desde zonas calurosas en los trópicos, hasta zonas templadas en mundo. Se ha detectado en el continente americano: Norteamérica, Sudamérica y en Centroamérica. En Europa se ha registrado en varios países, al igual que en gran parte de Asia y Oceanía (Membreño Hernández, 2011).

2.9.4 Sintomatología

Los síntomas consisten en ahogamiento y pudrición de raíz, es uno de los principales agentes fungosos que ataca al cultivo de frijol. Esta enfermedad se presenta con mayor daño en las primeras etapas de crecimiento, en regiones cálidas y temperaturas de 25-35°C o en lugares donde ocurre un año mayormente seco. Lluvias ocasionales, suelos arenosos, bien drenados y ácidos, favorecen la infección. La planta es susceptible en cualquier etapa de desarrollo. El hongo sobrevive en residuos de cosechas anteriores de frijol u otras plantas y en el suelo por lo menos un año en forma de esclerocios (Gutiérrez, 2014).

2.9.5 Control biológico

Trichoderma spp han sido reconocidas durante mucho tiempo como un agente de control biológico de fitopatógenos, la aplicación de *Trichoderma* ha recibido una gran atención, debido a su eficiente capacidad de colonización de raíces, producción de compuestos antifúngicos y eliminación de esclerocios (Ali *et al.*, 2020).

2.9.6 Control químico

Los fungicidas sintéticos que se utilizan para combatir a *S. rolfsii* son los benzimidazoles, estrobilurinas y triazoles los cuales actúan sobre el enlace de la tubulina de los hongos durante la mitosis afectando la división celular y causan efectos nocivos en la germinación de esporas y el desarrollo de hifas (Bravo, 2015).

III. HIPÓTESIS

Las cepas de *Trichoderma* spp., poseen virulencia variable contra *Sclerotium rolfsii*; por lo cual algunas de estas pueden igualar la efectividad antimicrobiana de los fungicidas sintéticos.

IV. OBJETIVOS

4.1 Objetivo General

Evaluar el efecto de cepas nativas de *Trichoderma* spp., y fungicidas sintéticos, sobre *Sclerotium rolfsii* Sacc., en frijol en el norte de Sinaloa.

4.2 Objetivos Específicos

- 1.- Comparar la efectividad biológica de *Trichoderma* spp., con fungicidas sintéticos sobre *Sclerotium rolfsii* Sacc., *in vitro* e *in vivo* en frijol en el norte de Sinaloa.
- 2.- Evaluar la sensibilidad de *Trichoderma* spp., en contacto con fungicidas sintéticos.

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Ubicación geográfica del experimento

Durante el mes de noviembre en el ciclo agrícola 2021-2022, se recolectaron plantas de frijol infectadas por *Sclerotium rolfsii* en el área del Valle del Fuerte, ubicado en el norte de Sinaloa con una altitud entre 0 y 20 msnm., y se trasladaron al laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Agricultura del Valle del Fuerte en la ciudad de Juan José Ríos, Sinaloa, lugar en el cual se realizó todo el experimento (Figura 1).



Figura 1. Ubicación geográfica del experimento (Google s.f).

5.2 Origen de las cepas de *Trichoderma* spp.

Se utilizaron cuatro cepas (proporcionadas por la Codirectora de Tesis: Dra. Blanca E. López: TF, TM, TJ7 y TJ3, recolectadas del cepario de microorganismos benéficos de la FAVF-UAS).

5.2.1 Producción del Inóculo de *Trichoderma* spp.

El inóculo se produjo mediante la técnica de Lewis y Papavizas, (1984), la cual consistió en colocar las cepas nativas de *Trichoderma* spp., resguardadas en cajas Petri con PDA con las cepas: TF, TJ7, TJ3 y TM. Las cajas con *Trichoderma* se etiquetaron y se incubaron dejándolas en reposo a temperatura ambiente para

su reactivación y reproducción. Para la reproducción del inóculo se prepararon bolsas de polipapel de 2 kilos con paja de trigo triturado y esterilizado a 120°C por 15 min. Sembrando en estas cada una de las cepas nativas resguardándolas a temperatura controlada por veinte días a 29°C esperando su crecimiento y esporulación.

5.2.2 Recolección de esporas de *Trichoderma* spp.

Se realizó la extracción de inóculo madre de cada una de las cepas nativas de *Trichoderma* spp., mediante el lavado de las bolsas de paja de trigo en la cámara de aislamiento las cuales se añadieron a matraces Erlenmeyer de 1 L, previamente esterilizados después se colocó el inóculo resguardado en refrigeración a 4°C hasta su utilización.

5.2.3 Concentración del inóculo

La concentración se determinó en 1 mL de inóculo, con la técnica del conteo de esporas, para esto se utilizó un hemacitómetro o cámara “Neubauer”. Que consiste en una placa de cristal de un tamaño aproximado a un portaobjetos, pero de mayor grosor, la cual consta de ranuras en forma de H, con líneas a manera de rieles laterales que sostienen un cubre objeto especial a una distancia de 0.1 mm de la superficie de las dos porciones interiores de la ranura en forma de H, que forman dos cámaras entre éstas y el cubreobjetos. El fondo de cada una de las cámaras tiene un grabado “Neubauer” de 9 mm² (3 mm por lado) dividido en 9 cuadrantes de 1 mm por lado, de los cuales se contabiliza el contenido de esporas en cinco de estos: cuatro de las esquinas y el central (figura 2). Esto con el fin de calcular la concentración de esporas. Mediante dilución se llevó el inóculo a una concentración de 1×10^7 esporas mL⁻¹ para su aplicación.

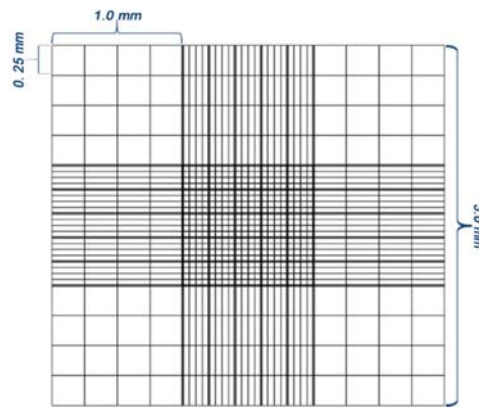


Figura 2. Área grabada de una cámara Neubauer.

5.2.4 Obtención del inóculo madre a concentración de 1×10^7 esporas mL^{-1}

Se realizó obteniendo 10 L de cada una de las cepas nativas de *Trichoderma* spp., en bidones esterilizados a concentración de 1×10^7 esporas mL^{-1} colocados en refrigeración a 4°C hasta su utilización.

5.3 Muestreo y Aislamiento de *Sclerotium rolfsii*

Se llevó a cabo mediante recolección de plantas de frijol infectadas por *S. rolfsii* en el área agrícola del Valle del Fuerte, ubicado en el norte de Sinaloa con una altitud entre 0 y 700 msnm., y se trasladaron al laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Agricultura del Valle del Fuerte. El material vegetal se sembró en cajas de Petri conteniendo medio de cultivo PDA (Papa-Dextrosa-Agar). Para su aislamiento se procedió a lavar el material enfermo con agua corriente y secar. Se diseccionó el tejido vegetal afectado realizando cortes de 0.3 a 0.5 cm de longitud, para evitar contaminaciones en los cortes, se utilizó por inmersión durante 45 segundos, una solución de hipoclorito de sodio al 2% el cual se eliminó enjuagando los trozos tratados con el desinfectante con agua destilada estéril. Por último el material vegetal enfermo se colocó en cajas Petri con medio de cultivo (PDA) para que el hongo se desarrollara. Para el aislamiento se elaboró medio de cultivo (PDA) el cual consiste en:

Tubérculo de papa	200 g
Dextrosa (glucosa)	13 g

Agar	18-16 g
Agua destilada	1000 mL

1. Hervir las papas partidas en 500 mL de agua.
2. En otro recipiente disolver el agar, calentando para facilitar el proceso.
3. Colar el caldo de papa a través de la manta de cielo o algodón.
4. Mezclar en adecuados (matraces o tubos). Tapar los matraces con tapón de algodón. En caso de requerir el medio en tubos de cultivo, se verterán a estos cuidadosamente, con el debido cuidado de no derramar medio en la boca de los tubos.
5. Los tubos también se tapan con algodón (al igual que los matraces); en caso de ser tubos con tapa de rosca, esta deberá quedar ligeramente floja durante la esterilización.
6. Esterilizar matraces y/o tubos en el autoclave u olla de presión de 15-20 libras pulgada⁻² (\pm 120 °C durante 15-20 minutos) contados a partir del momento en que se alcance la presión ya mencionada.
7. Abrir autoclave hasta que la presión baje a cero. Dejar enfriar el medio al contacto con el aire, cuando este se encuentre tibio se vacía a cajas de Petri en condiciones asépticas, es decir en la cámara de transferencia o al menos desinfectando una mesa y auxiliándose de mecheros de gas. Las corrientes de aire deberán evitarse al máximo. Los tubos de ensayo se colocan en posición inclinada hasta que el medio solidifique, apretando los tapones de rosca o algodón, según se trate.
8. En ocasiones se podrá agregar 2 o 3 gotas de ácido láctico (antes de vaciar) para prevenir el desarrollo de bacterias, en otros casos se agregan pequeñas cantidades (50-200 ppm) de antibióticos tales como la estreptomina, penicilina, etc., también antes de vaciar, el cloranfenicol tolera

la esterilización en las condiciones antes señaladas. A ciertos medios selectivos también se le pueden incorporar PCNB, Benomyl u otros fungicidas pero en dosis bajas (mg.L^{-1}).

5.4 Pruebas de patogenicidad

Se utilizaron 5 plantas sanas de frijol de 30 días de crecimiento y se trasplantaron en recipientes de un litro con sustrato previamente esterilizado, se inocularon con seis gramos de crecimiento activo de *Sclerotium rolfsii* en medio de cultivo (PDA) y esclerocios a temperatura ambiente $25 \pm 2^\circ \text{C}$.

Una vez que las plantas presentaron síntomas de marchitez severa, se extrajo la raíz, y se introdujo en cámara húmeda, después se comprobó la presencia de *S. rolfsii* en el tejido dañado para concluir el protocolo de los postulados de Koch (Robledo D'Angelo, 2016).

5.5 Prueba de antagonismo *in vitro*

La evaluación *in vitro* se realizó con la técnica de cultivo dual en cajas Petri con PDA (Yáñez-Mendizábal *et al.*, 2011), como testigo se utilizaron cajas Petri con PDA solo con *S. rolfsii*. Para cada uno de los tratamientos, se utilizó el número necesario de cajas Petri de 10 cm de diámetro con PDA, en las cuales se puso un disco de PDA de 1 cm con crecimiento activo de *S. rolfsii*, colocándose a 2 cm de la periferia de la caja; de igual forma se colocó un disco de PDA con *Trichoderma* a 2 cm de la periferia justo enfrente del disco con el patógeno. Se incubaron a 25°C y se midió con un vernier (pie de rey) el crecimiento radial en mm de cada una de las colonias cada 24 h. Se calculó el porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) de acuerdo con lo descrito por Kumar *et al.* (2011), con la fórmula $\text{PICR} = (R1 - R2 / R1) * 100$, donde R1 es el crecimiento radial del patógeno y R2 es el crecimiento radial del patógeno que interactúa con *Trichoderma*.

5.5.1 Diseño experimental

Para evaluar la capacidad antagónica de las cepas de *Trichoderma* vs *Sclerotium rolfsii*, se utilizó un diseño completamente al azar con 8 tratamientos y 5 repeticiones, incluidas cada una de las cepas nativas de *Trichoderma*, los fungicidas y un testigo. Los resultados del ensayo se analizaron estadísticamente mediante el paquete estadístico SAS versión 9.0 y la prueba de comparación de medias de Tukey ($p \leq 0.05$).

5.6 Prueba de efectividad de los fungicidas sobre *Sclerotium rolfsii*

Se utilizaron discos de medio de cultivo con crecimiento activo de *S. rolfsii* con un diámetro de 1 cm de las cepas, el inóculo se adquirió a partir de colonias de 6 días de crecimiento y se utilizó el mismo criterio para todos los tratamientos y ensayos posteriores.

Para evaluar la sensibilidad de los fungicidas sobre *S. rolfsii* se utilizó la técnica de alimento envenenado (Alburqueque y Gusqui Mata, 2018); se ajustó la dosis recomendada comercialmente para ser agregados al medio de cultivo (PDA) y posteriormente se agregó en cajas Petri. Al solidificar el medio, se colocó en el centro de la caja discos de las cepas del patógeno de un centímetro de diámetro, se etiquetó y se incubaron a 25 ± 2 °C.

La dosis considerada para cada uno de los fungicidas fue de acuerdo a las recomendaciones del fabricante. Todo el proceso se realizó en una campana de flujo laminar con materiales estériles. Se utilizó fungicidas líquidos y estos se dispensaron con una micropipeta graduada de 200 μ l, la dosis respectiva fue la siguiente (Cuadro 1).

Cuadro 1. Dosis de fungicida en partes por millon (ppm) en 100 mL de PDA por cada tratamiento.

Fungicida	Dosis
Tebuconazole	20.0 ppm
Procloraz	13.5 ppm
Azoxystrobin	31.0 ppm
Thiram+carboxil	30.0 ppm

5.7 Prueba sensibilidad de cepas de *Trichoderma* a los fungicidas utilizados para tratamiento de semilla

Se utilizaron discos de medio de cultivo con crecimiento activo de las cepas de *Trichoderma* con un diámetro de 1 cm, el inóculo se adquirió a partir de colonias de 6 días de crecimiento y se utilizó el mismo criterio para todos los tratamientos y ensayos posteriores.

La dosis considerada para cada uno de los fungicidas fue de acuerdo al uso convencional y con las recomendaciones del fabricante y la prueba se realizó con la misma técnica de alimento envenenado del caso anterior. Se utilizaron fungicidas líquidos y se agregó al medio de cultivo (PDA) con una micropipeta graduada. (Cuadro 2).

Cuadro 2. Dosis de Fungicida en 100 mL de PDA para Evaluar la sensibilidad al estar en contacto con las cepas de *Trichoderma* (TM, TJ3, TF y TJ7).

Fungicida + <i>Trichoderma</i>	Dosis alta	Dosis baja
Azoxystrobin + TM	38ppm	24ppm
Difeconazol + TM	30ppm	24ppm
Sulfato de cobre + TM	70ppm	52ppm
Thiram-carboxyl + TM	39ppm	25ppm
Azoxystrobin + TJ3	38ppm	24ppm
Difeconazol + TJ3	30ppm	24ppm
Sulfato de cobre + TJ3	70ppm	52ppm
Thiram-carboxyl + TJ3	39ppm	25ppm
Azoxystrobin + TF	38ppm	24ppm
Difeconazol + TF	30ppm	24ppm
Sulfato de cobre + TF	70ppm	52ppm
Thiram-carboxyl + TF	39ppm	25ppm
Azoxystrobin + TJ7	38ppm	24ppm
Difeconazol + TJ7	30ppm	24ppm
Sulfato de cobre + TJ7	70ppm	52ppm
Thiram-carboxyl + TJ7	39ppm	25ppm

5.7.1 Diseño experimental

Para evaluar la sensibilidad de las cepas de *Trichoderma* a los fungicidas se utilizó un diseño completamente al azar con 4 tratamientos y 4 repeticiones, incluidas cada una de las cepas nativas de *Trichoderma*, los fungicidas y un testigo. Los resultados del ensayo se analizaron estadísticamente mediante el paquete estadístico SAS versión 9.0 y la prueba de comparación de medias de Tukey ($p \leq 0.05$).

5.8 Ensayo de efectividad biológica de *Trichoderma* y el fungicida thiram + carboxyl vs *S. rolfsii* *in vivo*.

Se procedió a sembrar semillas de frijol en macetas que contienen sustrato de fibra de coco y perlita, depositando 3 semillas por unidad experimental, para esto se utilizaron como tratamientos la mejor cepa de *Trichoderma* que inhibió en mayor porcentaje el crecimiento de *S. rolfsii* y el mejor fungicida que actuó sobre el patógeno.

El experimento se realizó en exterior en recinto protegido para reducir efectos negativos de factores ajenos a los tratamientos los cuales consisten en la interacción de *S. rolfsii* con el hongo *Trichoderma* y el fungicida thiram-carboxil, para ello se inoculó el patógeno el cual se adquirió de 18 cajas de PDA con 20 días de crecimiento activo y esclerocios, se mezcló todo en una bolsa de polietileno, posterior a esto se distribuyó el inóculo en cada una de las macetas correspondientes: patógeno + frijol + *Trichoderma*; patógeno + frijol+ fungicida; como control negativo (-) se considera al patógeno + frijol; como control positivo (+), las plantas de frijol sin el patógeno y sin el agente de control biológico. Se realizó el manejo agronómico habitual para el desarrollo de las plantas y poder así, evaluar las variables de estudio tales como: porcentaje de germinación, crecimiento de las plantas y la incidencia de la enfermedad en plantas inoculadas con el patógeno interactuando con *Trichoderma* y el fungicida.

5.8.1 Diseño experimental

Se utilizó un diseño completamente al azar con 2 tratamientos y 6 repeticiones que incluye la mejor cepa obtenida de *Trichoderma* y el mejor fungicida en estudio y el resultado obtenido se analizó en el paquete estadístico SAS versión (9.0) y la prueba de comparación de medias de Tukey ($p \leq 0.05$).

VI. RESULTADOS

6.1 Antagonismo *in vitro* de la cepas de *Trichoderma* sobre *Sclerotium rolfsii*

El resultado se muestra en el cuadro 3, donde se aprecia que la cepa nativa de *Trichoderma* correspondiente al tratamiento TJ7, que de acuerdo con los datos obtenidos, logro inhibir el crecimiento radial de *S. rolfsii* en mayor medida en relación a las demás cepas TJ3, TF y TM; sin embargo el análisis de varianza (ANOVA) realizado a esta prueba, indica que no existe diferencia significativa entre los tratamientos TJ7 y TJ3, los cuales presentan una eficiencia similar en el porcentaje de inhibición de crecimiento micelial del patógeno (Cuadro 4).

Cuadro 3 Crecimiento radial del patógeno *S. rolfsii* 10 días después de la siembra junto a *Trichoderma*

Tratamiento	R1	R2	R3	R4	R5	Testigo
TM	28.5	29	25	27	27	58
TJ3	22.5	26	22	27	18	58
TJ	18	18.5	24.5	21	24	58
TF	26	30	29	26	26	58

6.1.1 Porcentaje de inhibición del crecimiento radial de *S. rolfsii* por *Trichoderma*

Después del ensayo *in vitro*, se pudo observar a los 10 días de interacción, la eficiencia biológica del hongo *Trichoderma* sobre *S. rolfsii*, la cepa antagonista que

logró el mayor porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR), corresponde a la TJ7 (63.4%), seguida de la TJ3 (60,3%), TF (52.4%) y TM (52%) (Figura 3).

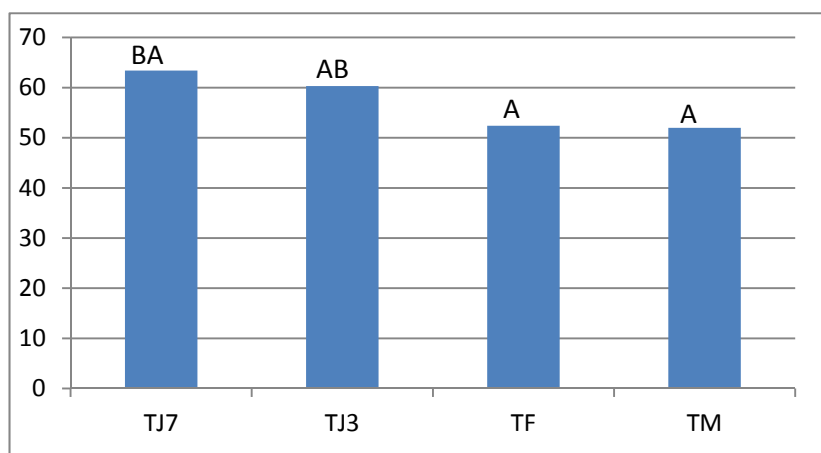


Figura 3. Porcentaje de inhibición de crecimiento radial de las cepas de *Trichoderma* sobre *S. rolfsii*, después de 10 días de interacción.

Cuadro 4. Comparación de medias Tukey ($p \leq 0.05$), en relación al porcentaje de inhibición del crecimiento radial del patógeno interactuando con *Trichoderma*.

Tukey Agrupamiento	Media	N trat	Cepa de <i>Trichoderma</i>
A	27.400	5	TF
A	27.300	5	TM
B	23.100	5	TJ3
B	21.200	5	TJ7

Medias con letras iguales no tienen diferencia significativa (Tukey, $p \leq 0.05$).

6.2 Efectividad de fungicidas sintéticos sobre *S. rolfsii in vitro*

De los 4 fungicidas evaluados, 3 de ellos lograron inhibir en un 100% el crecimiento micelial del patógeno tal es el caso del thiram+carboxyl, procloraz y tebuconazol (cuadro 5); el fungicida que mostró menor eficacia fue el azoxystrobin

el cual tuvo un porcentaje de inhibición de crecimiento radial del patógeno de (66.4%) (Figura 4).

Cuadro 5. Comparación de medias Tukey ($p \leq 0.05$) en relación al crecimiento radial del patógeno *S. rolfsii* 10 días después de la siembra en contacto con fungicidas.

Tukey Agrupamiento	Media	N	Fungicida
A	21.200	5	Azoxystrobin
B	0.000	5	Procloraz
B	0.000	5	Tebuconazole
B	0.000	5	Thiram+carboxyl

Medias con letras iguales no tienen diferencia significativa (Tukey, $p \leq 0.05$).

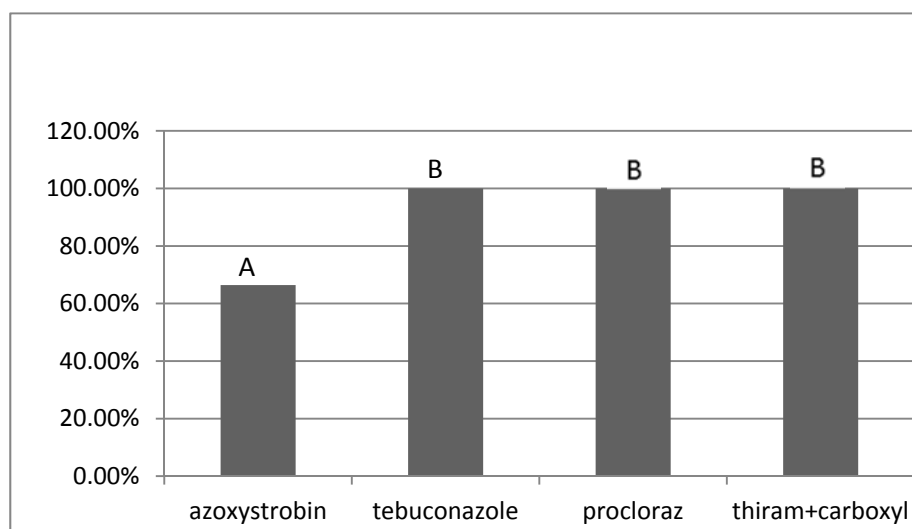


Figura 4. Porcentaje de inhibición de crecimiento radial de *S. rolfsii* en contacto con fungicidas.

6.3 Evaluación de la sensibilidad de *Trichoderma* a los fungicidas utilizados para tratamiento de semilla.

Como un complemento a la presente investigación, se evaluó el efecto biológico de algunos fungicidas utilizados para el control de enfermedades fungosas en tratamiento de semilla los cuales son los primeros en hacer contacto directo con las plantas en los inicios de su desarrollo. Estos resultados muestran que el efecto o sensibilidad de los fungicidas en estudio difiere en cada una de las cepas de *Trichoderma* (cuadro 6) y se observa, que todas las cepas sobreviven al estar en contacto con el fungicida; los datos obtenidos se describen en la (Figura 5).

Cuadro 6. Comparación de medias Tukey ($p \leq 0.05$) en relación al crecimiento radial de las cepas de *Trichoderma* 10 días después de la siembra en contacto con fungicidas.

	Tukey Agrupamiento	Media	N	Trat
	A	44	4	T1cobre
	A	44	4	T2cobre
	A	44	4	T3cobre
	A	44	4	T4cobre
	B	33.25	4	T3thiram
	B	30	4	T3azoxys
C	B	28.25	4	T1thiram
C	D	22.5	4	T4azoxys
E	D	19.75	4	T1azoxys
E	D	16.25	4	T2thiram
E	F	15.75	4	T2azoxys
E	F	15.25	4	T4thiram
G	F	9.25	4	T1difenic
G		7	4	T4difenic
G		6	4	T3difenic
G		3	4	T2difenic

Medias con letras iguales no tienen diferencia significativa (Tukey, $p \leq 0.05$). T1=TM, T2=TJ7, T3=TJ3, T4=TF

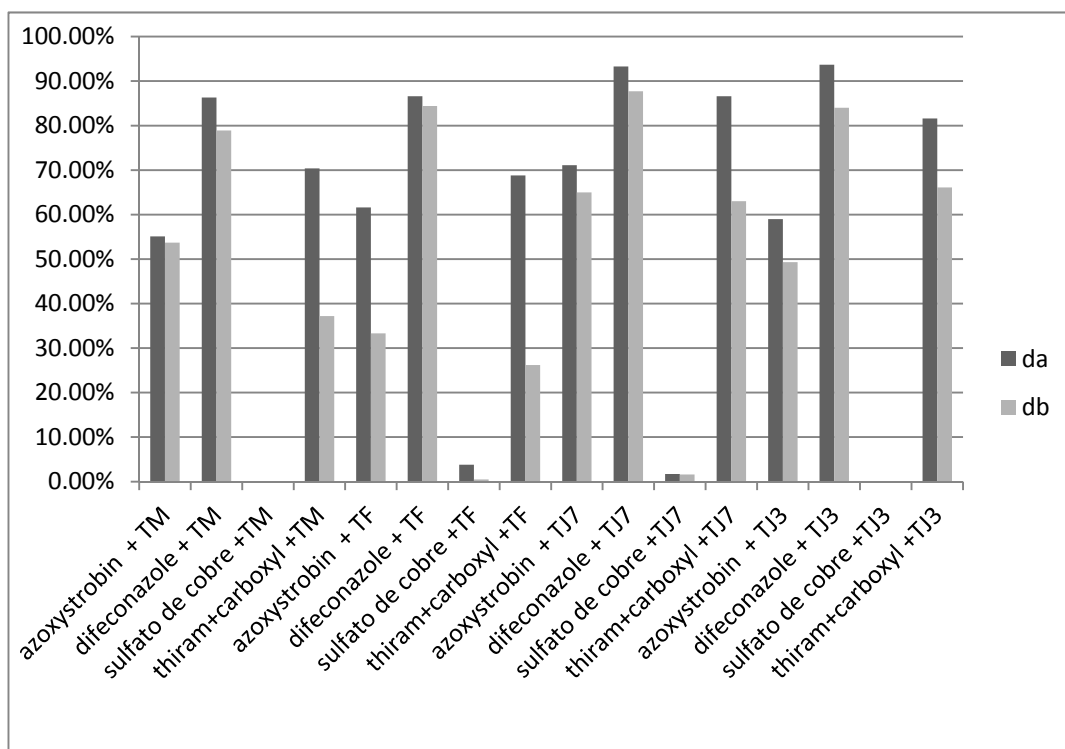


Figura 5. Efecto de los fungicidas sobre el hongo *Trichoderma in vitro*. Inhibición del crecimiento radial de *Trichoderma* debido a la acción de los fungicidas incorporados en dosis alta y dosis baja al medio de cultivo (PDA) junto con las cepas TM, TF, TJ7 y TJ3.

6.4 Evaluación de la efectividad biológica de *Trichoderma* y el fungicida thiram + carboxyl vs *S. rolfsii in vivo*

La variable de respuesta en esta evaluación es el porcentaje de germinación y emergencia de semillas de frijol al estar expuestas al patógeno y a la influencia de los agentes de control biológico y químico, así como la altura de las plantas (cm) en los primeros 15 días de desarrollo. Durante la toma de datos se observan las

semillas sembradas en ausencia del patógeno, y estas lograron germinar en un 100% y un promedio 10 cm de altura de plántula. Para el caso del tratamiento con la cepa de *Trichoderma* TJ7 + *S. rolfsii* + semilla de frijol, se observa una emergencia de plántulas del 82.3% de las semillas sembradas, y altura promedio de plántula de 10.5 cm. El tratamiento con el fungicida thiram + carboxyl + *S. rolfsii* + semilla de frijol, se observa una emergencia de plántulas del 88.2% y en promedio una altura de 8 cm. Por último, el tratamiento control que consiste en sembrar las semillas de frijol en sustrato inoculado con el patógeno y en ausencia de la cepa TJ7, la emergencia observada fue del 5.5% (1 plántula) con 5 cm de altura la cual presentó los síntomas característicos de la enfermedad que corresponden a lesiones en la base del tallo y raíz y que al estar libre de tratamiento se presenta marchitez severa y muerte de esta (Figura 6).

Figura 6. Efectividad biológica de *Trichoderma* y el fungicida Thiram+carboxyl sobre *Sclerotium rolfsii* y su interacción en el porcentaje de germinación y altura de plántula de frijol.

Dónde:

Trat1 = TJ7+ *S. rolfsii* + frijol

Trat2 = thiram_carboxyl + *S. rolfsii* + frijol

Control+ = Frijol + TJ7

Control- =Frijol + *S. rolfsii*

El resultado que se presentó al implementar los tratamientos en semillas y plántulas de frijol, de acuerdo con el análisis de varianza y la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$), se menciona que no existe diferencia significativa entre los tratamientos, considerando que los porcentajes de germinación y la sanidad de las plántulas fue muy similar, 82.3% para el tratamiento 1 y 88.2% para el tratamiento 2 y una altura promedio de plántula de 10.6 cm y 8 cm respectivamente. Esto sugiere que el efecto del fungicida sobre el crecimiento vegetal, presenta una tendencia negativa al comparar el efecto de *Trichoderma* sobre el crecimiento del frijol el cual fue a favor al mostrar mayor altura.

VII. DISCUSIÓN

Los resultados de la presente investigación que consisten en evaluar la eficiencia biológica de las cepas TJ3, TJ7, TM y TF de *Trichoderma* y fungicidas sintéticos sobre el hongo fitopatógeno *Sclerotium rolfsii* causante del tizón sureño del frijol *in vitro*, señalados en los cuadros 6 y 7 respectivamente, según análisis de varianza realizado con el paquete estadístico SAS, y prueba de Tukey (0.05), señala que la cepas de *Trichoderma* mostraron diferencias significativas entre ellas, la cepa con mayor eficacia en el control de *S. rolfsii*, corresponde a la TJ7 con un porcentaje de inhibición de crecimiento radial del micelio de 63.4% y la cepa que obtuvo la menor eficiencia de control fue la TM con 52% de PICR. Estos datos coinciden con Michel-Aceves (2013), En su investigación señala que la eficiencia de biocontrol con distintas cepas de *Trichoderma* sobre *S. rolfsii*, varía de 10 a 90% de PICR. Por su parte Corrêa *et al.* (2007), demuestra que la capacidad antagónica de cepas de *Trichoderma* sobre *S. rolfsii* presentan un rango del 18 a 44.1% de PICR. Trabajos similares en Perú, Pisco Peña (2013) utilizando cepas de *Trichoderma* como controlador biológico de *S. rolfsii* en frijol determinó un PICR del 60%. Estos resultados que exhiben distintos grados de antagonismo biocontrolador, sugieren que al utilizar cepas del hongo *Trichoderma*, se puede lograr un control aceptable sobre el hongo fitopatógeno *S. rolfsii* causante del tizón sureño del frijol.

En lo que refiere al control de los fungicidas sintéticos sobre *S. rolfsii in vitro*, los resultados obtenidos indican que los fungicidas thiram+carboxyl, tebuconazol y procloraz, según Tukey ($p>0.05$), no hubo diferencias significativas entre ellos ya que los tres tienen efecto similar al lograr un porcentaje de inhibición del crecimiento radial del patógeno del 100% a diferencia del fungicida azoxystrobin el cual logró inhibir al patógeno en un 66.4%. De los tres primeros y que presentan 100% de PICR, el fungicida thiram+carboxyl al ser uno de los más utilizados para tratamiento de semilla contra fitopatógenos del suelo entre ellos el causante del tizón sureño del frijol, se considera el mejor para comparar su eficiencia con la mejor cepa de *Trichoderma* encontrada en el presente estudio que corresponde a TJ7. Esto es validado por Novo *et al.* (2009) al destacar en diversos trabajos que las dos sustancias que son usadas en tratamientos de semilla, con alta eficiencia al obtener los mayores porcentajes de emergencia, son precisamente thiram + carboxyl. Estos resultados coinciden con los obtenidos por Crovo (2015), el cual señala en estudios realizados que la sustancia fungicida thiram, demostró la máxima eficiencia para inhibir el crecimiento *in vitro* de los patógeno incluyendo *Sclerotium rolfsii*.

La sensibilidad de *Trichoderma* al estar en contacto con fungicidas utilizados para tratamiento de semilla es variable; en el cuadro 8 se puede apreciar que el fungicida sintético difeniconazol es el más agresivo al inhibir de un 79 a 90% el crecimiento de las cepas de *Trichoderma*, trabajos similares como los que señalan Zapata-Narváez y Botina (2023) en el cual demuestran que las cepas de *Trichoderma* al estar expuestas a fungicidas tales como azoxystrobin y difenoconazole, inhiben el crecimiento de estas de un 60 a 79%. En el presente estudio se considera la cepa TJ7 como la más susceptible y la cepa TM como la más tolerante. Las cuatro cepas utilizadas en esta investigación presentaron resistencia total al sulfato de cobre ya que no logró inhibir el crecimiento de estas; esto concuerda con Valarmathi *et al.* (2013), donde señala que el hongo *T. viride* sobrevivió a 3000 ppm del fungicida Kocide® 3000 y presentó crecimientos del micelio similares al control entre los 100 y 500 ppm, mostrando solo diferencias

considerables entre los 2000 y 3000 ppm del producto. Un dato a considerar es el efecto del thiram+carboxyl el cual presenta mediana toxicidad sobre estas cepas al observarse que todas ellas se mantenían viables, es decir activas pero sin crecimiento el cual se reactivó una vez pasado el efecto del fungicida aunque existen datos que señalan la capacidad de *Trichoderma* para degradar sustancias nocivas a este hongo que están presentes en los fungicidas, esto coincide con Rodríguez Prieto (2020) haciendo referencia a que uno de los fungicidas más compatibles con *Trichoderma* es thiram+carboxyl y uno de los menos compatibles es thiram+carbendazym.

De acuerdo al análisis de varianza realizado al porcentaje de germinación de semillas de frijol sembradas en sustrato infestado con *Sclerotium rolfsii*, las cuales fueron inoculadas con la cepa de *Trichoderma* TJ7 (Tratamiento 1) y otras impregnadas con el fungicida thiram+carboxyl (Tratamiento 2), utilizando como testigos positivo y negativo a semillas de frijol sembradas solo en sustrato infestado y semillas sembradas solo en sustrato con *Trichoderma*, el resultado señala que no existen diferencias significativas en el porcentaje de germinación y emergencia de plantas; esto coincide con Paúcar (2015), en su trabajo de investigación en la última toma de datos de germinación de semillas de frijol (9 días después de siembra), se obtuvieron porcentajes de: Fungicida 84%, cepa de *Trichoderma* 80%. Reiterando que los porcentajes de germinación de semillas de frijol en el presente trabajo fue para el tratamiento con fungicida de 88.2% y con *Trichoderma* cepa TJ7 de 82.3%.

En el caso de la altura de plantas fue muy similar en ambos tratamientos ya que no hubo significancia en la diferencia del tamaño de plántulas, tomando en cuenta que la altura que mostro la plántula con el tratamiento de la cepa TJ7, es ligeramente superior a las demás que corresponden al tratamiento con fungicida, 10.5cm y 7.9cm, respectivamente comparadas con la altura de las plantas testigo que fue de 10.1cm. Este resultado va acorde con lo que señalan Mohiddin *et al.* (2010) que indican al género *Trichoderma* como promotor del desarrollo y rendimiento de las plantas. Esto coincide también con lo reportado por López-

Valenzuela *et al* (2015), donde menciona en su investigación con cepas de *Trichoderma* nativas del norte de Sinaloa, en maíz muestran una mayor respuesta como promotoras de crecimiento que de las cepas no nativas, tanto en condiciones de controladas como en campo abierto. Asimismo, Martínez De La Ossa y Vargas (2021) mencionan que algunas especies de *Trichoderma* tienen capacidad para incrementar significativamente la biomasa de raíz y el follaje de las plantas.

XVIII. CONCLUSIONES

1. Se evaluó el efecto de cepas nativas de *Trichoderma* spp., y fungicidas sintéticos, sobre *Sclerotium rolfsii* Sacc., en frijol en el norte de Sinaloa. En este sentido en el ensayo de laboratorio, el mayor porcentaje de inhibición del crecimiento radial del patógeno corresponde a la cepa TJ7 con 63.4% y al fungicida thiram+carboxyl con 100% de PICR.
2. Se comparó la efectividad biológica de cepas de *Trichoderma* spp., con fungicidas sintéticos sobre *S. rolfsii* Sacc., *in vivo* en frijol, con esto se determinó de acuerdo al análisis, que estadísticamente la cepa de *Trichoderma* TJ7 presentó una eficiencia similar a la del fungicida thiram+carboxyl *in vivo* en el ensayo de invernadero en relación al porcentaje de germinación y emergencia mediante su inoculación en semillas de frijol.
3. Esta investigación se concluye aceptando la hipótesis planteada en la cual se menciona que en la naturaleza las cepas de *Trichoderma* presentan amplia diversidad antagonista contra fitopatógenos y en algunos casos pueden ser utilizadas en la agricultura con una alta eficiencia tal y como sucede con los fungicidas sintéticos con la diferencia que estos agentes de biocontrol son más amigables con el medio ambiente y que adicional son considerados como promotores de crecimiento en cultivos de importancia agrícola.
4. Al evaluar la sensibilidad de las cepas de *Trichoderma* a los fungicidas utilizados para tratamiento de semilla, se determinó que al igual que muestran

distintos grados de virulencia contra fitopatógenos, también muestran distintos grados de sensibilidad a los fungicidas con los que están en contacto, siendo relevante que todas las cepas aun teniendo una sensibilidad considerable, lograron sobrevivir al estar en contacto con las sustancias antifúngicas. Por esta razón se sugiere mayor investigación al respecto, evaluando la posible utilización dentro de un programa de manejo integrado de enfermedades, el uso fungicidas químicos en conjunto con agentes de control biológico como *Trichoderma*.

IX. LITERATURA CITADA

- Agrosintesis. (2012). Manejo y control de malezas en maíz. <https://www.agrosintesis.com/manejo-y-control-de-malezas-en-maiz/>.
- Alburqueque A. D. & Gusqui Mata, R. (2018). Eficacia de fungicidas químicos para el control *in vitro* de diferentes fitopatógenos en condiciones controladas. *Arnaldoa*, 25(2), 489-498.
- Ali, A. Javaid, A.; Shoaib, A. & Khan, I. H. (2020). Effect of soil amendment with *Chenopodium album* dry biomass and two *Trichoderma* species on growth of chickpea var. Noor 2009 in *Sclerotium rolfsii* contaminated soil. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 30(1), 1. <https://doi.org/10.1186/s41938-020-00305-1>.
- Andrade-Hoyos, P., Rivera-Jiménez, M. N., Landero-Valenzuela, N., Silva-Rojas, H. V., Martínez-Salgado, S. J., & Romero-Arenas, O. (2023). Beneficios ecológicos y biológicos del hongo cosmopolita *Trichoderma* spp. en la agricultura: una perspectiva en el campo mexicano. *Revista Argentina de Microbiología*.
- Ávila, M. J. A., Ávila, S. J. M., Rivas, S. F. J., & Martínez, H. D. (2023). El Cultivo del Frijol: Sistemas de Producción en el Noroeste de México. *Universidad de Sonora*.
- Ayala Armenta, Q. A., Cortez Mondaca, E., Apodaca Sánchez M. A., Leal León V. M., Valenzuela Escoboza, F. A., & Palacios Mondaca, C. A. (2018). Efectividad de fungicidas convencionales y biorracionales sobre *Sclerotinia sclerotiorum* in vitro. *Revista Mexicana De Ciencias Agrícolas*, (11), 2149–2156. <https://doi.org/10.29312/remexca.v0i11.784>.
- Barnett, H.L. y Hunter, B.B. (1998). Illustrated genera of imperfect fungi [en línea]. 4ªed.(1998).pp.132133.Disponibleen:https://www.academia.edu/35499449/llustrated_genera_of_imperfect_ungi_fourth_edition._Barnett_y_Hunter._pdf.

- Bitocchi E, E Bellucci, A Giardini, D Rau, M Rodriguez, E Biagetti, R Santilocchi, P S Zeuli, T Gioia, G Logozzo, G Attene, L Nanni, R Papa (2013). Molecular analysis of the parallel domestication of the common bean (*Phaseolus vulgaris*) in Mesoamerica and the Andes. *New Phytol.* 197:300-313.
- Binder, M., Larsson, KH, Matheny, PB y Hibbett, DS (2010). Amylocorticiales ord. nov. y Jaapiales ord. nov.: clados divergentes tempranos de Agaricomycetidae dominados por formas corticioides. *Mycologia* , 102 (4), 865-880.
- Bravo, M.B.; (2015). Estudio de la sensibilidad a fungicidas de aislados de *Cercospora sojina* Hara, agente causal de la mancha ojo de rana en el cultivo de soja. Tesis. Obt. Magister. Universidad de Buenos Aires. Córdoba Argentina.
- Buffington, B. ; Gaul. A. (2010). Category 4, Seed treatment, in Iowa Commercial Pesticide Applicator Manual, Kansas State University, Manhattan, KS. p. 40.
- Castro, A.M.; Rivillas, C.A. (2012). *Trichoderma* spp. Modos de acción, eficacia y usos en el cultivo de café. Centro Nacional de Investigaciones de Café "Pedro Uribe Mejía", Colombia. 38:33.
- CODESIN. (2023). Consejo para el Desarrollo Económico de Sinaloa Evolución de los indicadores de la agricultura en Sinaloa durante el 2023 <https://sinaloaennumeros.codesin.mx/wp-content/uploads/2024/06/Reporte-27-del-2024-de-Agricultura-en-sinaloa-2023.pdf> Accesada septiembre 14 de 2024.
- Corrêa, S., Mello, M., Ávila, Z. R., Braúna, L. M., Pádua, R. R., & Gomes, D. (2007). Cepas de *Trichoderma* spp. para el control biológico de *Sclerotium rolfsii* Sacc. *Fitosanidad*, 11(1), 3-9.

- Crovo, V., & Clemente, G. E. (2015). Eficacia de fungicidas de Síntesis y biológico en base a *Trichoderma harzianum* para controlar patógenos de Semillas de soja. Fave. Sección ciencias agrarias, 14(2), 0-0.
- Echevarría H A. (2014). identificación y alternativa biológica para el control de la Marchitez en el cultivo del garbanzo (*Cicer arietinum* L.). (Tesis en Opción al Título Académico de Máster en Sanidad Vegetal, Mención Fitopatología. Universidad Agraria de la Habana "Fructuoso Rodríguez", Mayabeque, Cuba.; p:62.
- Endara, B. M. (2009). Reproducción del hongo *Trichoderma harzianum* (biofungicida) aprovechando desechos agroindustriales (residuos de papa, tamo de frejol, bagazo de caña). Ecuador: Universidad Técnica del Norte. Facultad de ingeniería en ciencias agropecuarias y ambiental e industrial. chilean journal of agricultural & animal sciences, 35(1), 98-112 doi.org/10.4067/s0719-38902019005000205.
- FAOSTAT (2015). Panorama agropecuario. Dirección de investigación y evaluación económica y o sectorial. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/61950/Panorama_Agroalimentario_Frijol_2015.pdf. Accesada enero 17 2024.
- Gholami M, Ebrahimi A, Mozafari J, Bihamta MR and Rahaie M. (2019). Phenotypic and genotypic screening of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) landraces for resistance to collar rot fungus (*Sclerotium rolfsii* Sacc.) in North of Iran. Journal of Plant Pathology 102: 67-78. <https://doi.org/10.1007/s42161-019-00373-9>.
- Google. (s.f.). [Facultad de Agricultura del Valle del Fuerte]. Recuperado el 21 de mayo de 2022 de <https://maps.app.goo.gl/CXrib4onAeeSUNnQ8>.
- Guédez C, Cañizalez LM, Castillo C, Olivar R.(2012) Evaluación in vitro de aislamientos de *Trichoderma harzianum* para el control de *Rhizoctonia*

solani, *Sclerotium rolfsii* y *Fusarium oxysporum* en plantas de tomate. Rev. Soc. Ven. Microbiol. ; 32 (1):12.

Gutiérrez A, Robles A, Santillán C, Ortiz M, Cambero OJ (2013) Control biológico como herramienta sustentable en el manejo de plagas y su uso en el estado de Nayarit, México. Revista Bio Ciencias 2(3): 102-112.

Gutiérrez R.D. y Huerta Palacios. H.R. (2014) Evaluación de cuatro fungicidas en el control de enfermedades del cultivo de frijol (*Phaseolus vulgaris*) y su rendimiento en época de postrera en El Cerro el Calvario, Matagalpa, 2013 Tesis de Ingeniería, Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua. Repositorio UNAN. <https://repositorio.unan.edu.ni/6985/1/6516.pdf>.

Hernández, J.L.; Sánchez, M.I.; González, J.M.; Quiroz, J.D; García, J.G.; Gill, H.R. (2015). Antibiosis of *Trichoderma* spp strains native to northeastern Mexico against the pathogenic fungus *Macrophomina phaseolina*. Brazilian Journal of Microbiology 46(4): 1093-1101.

Hernández-López V,M., Vargas-López, J.S. Muruaga-Martínez, S. Hernández-Delgado y N. Mayek-Pérez. (2013). Origen, Domesticación y Diversificación de Frijol Común; Avances y Perspectivas. Rev. Fitotec. Mex. 36(2):95-104.

Hernández, M. C. A. y Herrera, I. L. (2014). Variabilidad cultural, morfológica y patogénica entre aislados de *Sclerotium rolfsii* Sacc. en diferentes caracteres. Centro Agrícola, 41(1), 39-45.
<https://www.researchgate.net/publication/317044982>.

Howell, C. R. (2003). Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: The history and evolution of current concepts. Plant Diseases 87: 4-10.

- INIFAP. (2021) Variedades de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), Biblioteca digital del INIFAP. Accesada febrero 18 de 2024. https://vun.inifap.gob.mx/BibliotecaWeb/_Content?/=12277
- ITIS. (2019). Integrated Taxonomic Information System. *Phaseolus vulgaris* L. Taxonomic Hierarchy. (Taxonomic Serial no.26857). Accesada septiembre 14 de 2024 <http://www.repositorio.usac.edu.gt/15379/1/19%20IA%20TG-3691.pdf>.
- Jardine, D. (2013). The evolution of seed treatment Phytopathol News. 47: 22.
- Kator, L.; Oseas, Z., Y. y Oche, O., D. (2015). *Sclerotium rolfsii*: Causative organism of southern blight, stem rot, White mold and sclerotia rot disease. Annals of Biological Research 6 (11), 78-89. <http://scholarsresearchlibrary.com/archive.html>.
- Kumar DDP, Thenmozhi R, Anupama PD, Nagasathya A, Thajuddin N and Paneerselvam A. (2011). Selection of potential antagonistic *Bacillus* and *Trichoderma* isolates from tomato rhizospheric soil against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersicis*. Research Journal of Biological Sciences 6(10): 523-531. <https://doi.org/10.3923/rjbsci.2011.523.531>.
- Lewis, JA, & Papavizas, GC (1984). Un nuevo enfoque para estimular la proliferación poblacional de especies de *Trichoderma* y otros hongos de biocontrol potenciales introducidos en suelos naturales. *Fitopatología*, 74 (10), 1240-1243.
- López J, Pelagio R, Herrera A (2015) *Trichoderma* as biostimulant: Exploiting the multilevel properties of a plant beneficial fungus. *Scientia Horticulturae* 196: 109-123.
- López-Valenzuela, B. E., Armenta-Bojórquez, A. D., Hernández-Verdugo, S., Apodaca-Sánchez, M. A., Samaniego-Gaxiola, J. A., Leyva-Madrigal, K. Y., & Valdez-Ortiz, A. (2015). Selección *in vitro* e identificación de aislados de

Trichoderma spp. y *Bacillus* spp. nativos para el control de *Phymatotrichopsis omnívora*. ITEA, 111(4), 310-325.

López-Valenzuela, B.E., Tzintzun-Camacho, O., Armenta-Bojórquez, A.D., Valenzuela-Escoboza, F.A., Lizárraga-Sánchez, G.J., Ruelas-Islas, JR. y González-Mendoza, D. (2022). Microorganismos del género *Trichoderma* productores de fitohormonas y antagonistas de fitopatógenos. BIOAGRO, 34(2): 163-172. doi: <http://www.doi.org/10.51372/bioagro342.6>

Mancini, V.; Romanazzi, G. (2014). Seed treatments to control seed borne fungal pathogens of vegetable crops. Pest ManagSci.70: 860-868.

Magalhaes Amade M., J. Auke Postma and J. Paul Lynch. (2015) Phene Synergism Between Root Hair Length and Basal Root Growth Angle for Phosphorus Acquisition. Plant Physiology. 167: 1430-1439.

Marcello, C.M., A.S. Steindorff, S.P. Silva, R.N. Silva, L.A.M. Bataus, and C.J. Ulhoa. (2010). Expression analysis of the exo- β -1,3- glucanase from the mycoparasitic fungus *Trichoderma asperellum*. Microbiological Research 165:75-81.

Martínez De La Ossa, K., & Vargas Ávila, M. (2021). Identificación de cepas nativas de *Trichoderma* spp. biocontroladoras de *Sclerotium* sp. y promotoras de crecimiento en plántulas de berenjena (*Solanum melongena* L.) en Córdoba.

Membreño Hernández, L. N. (2011). Distribución espacial y temporal del mal de talluelo (*Rhizoctonia solani*) y pudrición blanca (*Sclerotium rolfsii*) en el cultivo de tomate (*Solanum lycopersicum*) en el Campus Agropecuario de la UNAN-León, en el ciclo agrícola 2010 (Doctoral dissertation).

Mercado, L. M. A. (2023). Aislamiento y caracterización de cepas de *Trichoderma oningiopsis*, para el control de *Fusarium oxysporum* en tomate cherry

(*Solanumlycopersicum*) (Doctoral dissertation, universidad para la cooperación internacional).

Michel-Aceves, A. C., Otero-Sánchez, M. A., Ariza-Flores, R., Barrios-Ayala, A., & Alarcón-Cruz, N. (2013). Eficiencia biológica de cepas nativas de *Trichoderma* spp., en el control de *Sclerotium rolfsii* Sacc., en cacahuete. *Avances en Investigación Agropecuaria*, 17(3), 89-107.

Mohiddin, F. A., Khan, M. R., Khan, S. M. y Bhat, B. H. (2010). Why *Trichoderma* is considered super hero (super fungus) against the evil parasites? *Plant Pathology Journal* 9: 92-102.

NCBI. (2015). Centro Nacional de Información Biotecnológica. Taxonomía del Hongo *Trichoderma* Accesada Marzo 23 de 2024 . <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4681254/>.

Novo, R.J.; Viglianco, A.; Pérez, M.A.; Caballo, A. 2009. Eficiencia de fungicidas en el control de la flora fúngica transportada por semillas de zanahoria (*Daucus carota* L.) y su relación con la calidad fisiológica. *Revista Brasileira de Sementes* 31(4):160- 167.

Otadoh J, Okoth S, Ochanda J, Kahindi J. (2011). Evaluación de la eficacia de aislamientos de *Trichoderma* sobre *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. *Rev. Trop. Subtrop. Agroecosyt.* 3 (1): 99-107.

Paúcar V, E. (2015). Efecto de Tres cepas de *Trichoderma* ssp. y seis fungicidas en el control de la pudrición seca del frijol (*Sclerotium* sp.) en La Convención.

Pisco Peña, J. M. (2013). Eficiencia preliminar de aislamientos de *Trichoderma* sp. como promotor de crecimiento vegetativo y controlador biológico de *Sclerotium rolfsii* en frijol "Chaucha" (*Phaseolus vulgaris* L.).

Robledo D'Angelo, O. (2016). Enfermedad de marchitamiento fúngico en plántulas de lechuga: un modelo didáctico-experimental para la enseñanza de los

postulados de Koch. Revista Eureka sobre Enseñanza y Divulgación de las Ciencias, 13 (3),680-685.fecha de Consulta 26 de Junio de 2024. ISSN: Recuperado de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=92046968012>.

Rodriguez Prieto, A. P. (2020). Compatibilidad de fungicidas químicos, biológicos y de origen vegetal sobre el hongo benéfico *Trichoderma harzianum*, controlador de *Fusarium oxysporum* en plantas de tomate (*Solanum lycopersium*).

Rosas, J. C. (2003). El cultivo del frijol común en América Tropical. Escuela Agrícola Panamericana. Disponible en <http://hdl.handle.net/11036/2424> Accesada diciembre 15 de 2023.

Ruiz, R. A. (2010). Actividad antagónica in vitro de *Trichoderma* spp. propagadas en medio PDA y cuatro sustratos vegetales, sobre 12 cepas de *Sclerotium rolfsii* Sacc. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de Morelos, México. 120 p.

Salinas Pérez, R. A., Acosta Gallegos, J. A., Rodríguez Cota, F. G., & Padilla Valenzuela, I. (2011). Aluyori, nueva variedad de frijol blanco (alubia) para Sinaloa y el Bajío, México. Revista mexicana de ciencias agrícolas, 1(5), 669-675.

Samaniego-Fernández, L. M., Harouna, M., Corbea, O., Rondón-Castillo, A. J., & Placeres-Espinosa, I. (2018). Aislamiento, identificación y evaluación de cepas autóctonas de *Trichoderma* spp. antagonistas de patógenos del suelo. Revista de Protección Vegetal, 33(3).

Sánchez, B.; Espinosa, E.; Villordo, E.; Rodríguez, R.; Mora, M.A. (2017). Identificación molecular y evaluación antagónica in vitro de cepas nativas de *Trichoderma* spp. sobre hongos fitopatógenos de raíz en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) cv. Montcalm. Agrociencia 51(1): 63-79.

- SADER. (2023). Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural Frijol alimento básico del mexicano <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/frijol-alimento-basico-del-mexicano> Accesada septiembre 14 de 2024.
- Sarwar, M. (2015). The killer chemicals as controller of agriculture insect pests: The conventional insecticides. *International Journal of Chemical and Biomolecular Science*. 1(3): 141-147.
- SENASICA. (2021). Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria Fichas técnicas de plagas del cultivo de frijol <https://www.gob.mx/senasica/documentos/fichas-tecnicas-de-plagas-del-cultivo-de-frijol?state=published> Accesada diciembre 10 2023.
- SIAP-SAGARPA. (2019). Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera Aptitud agroclimática del frijol en México ciclo agrícola otoño invierno <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/> Accesada noviembre 17 de 2023.
- Valarmathi, P.; Pareek, S.K.; priya, V.; Rabindran, R. y Chandrasekar, G. 2013. Compatibility of copper hydroxide (Kocide 3000) with biocontrol agents. *IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science (IOSR-JAVS)*. 3 (6): 28-31.
- Vásquez García, J., Vilca Valqui, N. C., & Malqui Ramos, R. F. (2023). Manual de manejo agronómico de frijol en regiones andinas. P 56.
- Volpiano CG, Lisboa BB, São José JFB, de Oliveira AMR, Beneduzi A, Passaglia LMP and Vargas LK. (2018). *Rhizobium strains in the biological control of the phytopathogenic fungi Sclerotium (Athelia) rolfsii on the common bean. Plant and Soil* 432: 229-243. <https://doi.org/10.1007/s11104-018-3799-y>.
- Widden P. and Abitbol JJ. (1980). Seasonality of *Trichoderma* Species in a Spruce Forest Soil. *Mycology* 72:775-784. *AgroSíntesis*. Evaluación de *Trichoderma harzianum* en maíz (*Zea mays*). <https://www.agrosintesis.com/evaluaciondeltrichodermaharzianumenelmaizz>

X. ANEXOS

Variable dependiente: crecimiento radial del patógeno con Trichoderma

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
	3	144.2500000	48.0833333	6.84	0.0035
	16	112.5000000	7.0312500		
	19	256.7500000			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	Crad Media
0.561831	10.71374	2.651650	24.75000

Fuente	DF	Tipo I SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
	3	144.2500000	48.0833333	6.84	0.0035

Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
	3	144.2500000	48.0833333	6.84	0.0035

Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para Crecimiento radial del patógeno

NOTE: Este test controla el índice de error experimentwise de tipo I, pero normalmente tiene un índice de error de tipo II más elevado que REGWQ.

Alfa	0.05
Error de grados de libertad	16

Error de cuadrado medio	7.03125
Valor crítico del rango estudentizado	4.04609
Diferencia significativa mínima	4.7981

Medias con la misma letra, estadísticamente no presentan diferencia significativa

Tukey Agrupamiento	Media	N	Tspp
A	27.400	5	TF
A			
A	27.300	5	TM
A			
B	23.100	5	TJ3
B			
B	21.200	5	TJ7

Procedimiento GLM

Información del nivel de clase
 Clase Niveles Valores
 4 Azo Proc Teb Thc

Número de observaciones 20

hcSistema SAS

Procedimiento GLM

Variable dependiente: Crecimiento radial del patógeno con fungicida

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
	3	1685.400000	561.800000	184.20	<.0001
	16	48.800000	3.050000		

19 1734.200000

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	Crad Media
0.971860	32.95141	1.746425	5.300000

Fuente	DF	Tipo I SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
	3	1685.400000	561.800000	184.20	<.0001

Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
	3	1685.400000	561.800000	184.20	<.0001

Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para Crad

NOTE: Este test controla el índice de error experimentwise de tipo I, pero normalmente tiene un índice de error de tipo II más elevado que REGWQ.

Alfa	0.05
Error de grados de libertad	16
Error de cuadrado medio	3.05
Valor crítico del rango estudentizado	4.04609
Diferencia significativa mínima	3.1601

Medias con la misma letra
no son significativamente
diferentes.

Tukey Agrupamiento	Media	N	Fungic
A	21.200	5	Azo
B	0.000	5	Proc
B			
B	0.000	5	Teb
B			

B

0.000 5 Thc

Alfa	0.05
Error de grados de libertad	10
Error de cuadrado medio	0.283333
Valor crítico del rango estudentizado	3.15106
Diferencia significativa mínima	0.6847

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.			
Tukey Agrupamiento	Media	N	trats
A	2.5000	6	Thc
A			
A	2.3333	6	TJ7