

Effect of adjuvants, fungicides and insecticides on the growth of *Trichoderma koningiopsis* Th003

Efecto de coadyuvantes, fungicidas e insecticidas sobre el crecimiento de *Trichoderma koningiopsis* Th003

Yimmy Alexander Zapata-Narváez*, Blanca Lucia Botina-Azain, Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria -Agrosavia. Centro de Investigación Tibaitatá - Km 14 Vía Mosquera, Cundinamarca-Colombia.
*Corresponding author: jzapatan@agrosavia.co

Received: May 01, 2023.

Accepted: August 17, 2023.

Zapata-Narváez YA and Botina-Azain BL. 2023. Effect of adjuvants, fungicides and insecticides on the growth of *Trichoderma koningiopsis* Th003. Mexican Journal of Phytopathology 41(3): 412-433.

DOI: <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2305-1>

First DOI publication: August 24, 2023.

Primera publicación DOI: 24 de Agosto, 2023.

Abstract. The effect of 44 agrochemicals (fungicides, insecticides and adjuvants) on the mycelial growth and germination conidia of *Trichoderma koningiopsis* Th003 was determined by seeding of 5 mm discs of fungal mycelium in Sabouraud agar supplemented with each agrochemical and seeding of conidia suspended in solutions of agrochemicals in water agar. For the adjuvants, their effect on the phyllospheric establishment of *T. koningiopsis* Th003 was determined by following their population in cape gooseberry leaflets inoculated with the fungus suspended in them. Eight fungicides

Resumen. Se determinó el efecto de 44 agroquímicos (fungicidas, insecticidas y coadyuvantes) sobre el crecimiento micelial y la germinación de conidios de *Trichoderma koningiopsis* Th003, mediante siembra de discos de 5 mm de micelio hongo en agar Sabouraud suplementado con cada agroquímico y la siembra de conidios suspendidos en soluciones de los agroquímicos en agar agua. Para los coadyuvantes, se determinó su efecto en el establecimiento filosférico de *T. koningiopsis* Th003 siguiendo su población en folíolos de uchuva inoculados con el hongo suspendido en estos. Ocho fungicidas no inhibieron el crecimiento micelial del hongo o la germinación de sus conidios. Fenhexamid - Tebuconazol, Flutriafol y Kasugamicina lo inhibieron entre un 34 y 48% sin afectar la germinación, mientras que Thiram - Pirimetanil, Procloraz, Tiabendazol, Spiroxamina y Triadimenol - Tebuconazol inhibieron el crecimiento y Thiram - Pirimetanil y Dodine no permitieron la germinación de los conidios. Insecticidas y coadyuvantes presentaron una inhibición de hasta el 70% pero no afectaron la germinación de los conidios. No se

did not inhibit the fungus mycelial growth or the conidia germination. Fenhexamid - Tebuconazole, Flutriafol and Kasugamicina inhibited it between 34 and 48% without affecting germination, Thiram - Pyrimethanil, Prochloraz, Tiabendazol, Spiroxamina and Triadimenol - Tebuconazole inhibited the growth and Thiram - Pyrimethanil and Dodine did not allow conidia germination. Insecticides and adjuvants presented an inhibition of up to 70% but did not affect the conidia germination. No negative effects of the adjuvants on the phyllosphere establishment of *T. koningiopsis* Th003 were observed, recovering from the treatments approximately 1×10^3 CFU g^{-1} .

Keywords: Inhibition, germination, phyllosphere, resistance, tolerance.

Current agricultural production requires efficient alternatives for pest and disease control that contribute to sustainability within integrated crop management schemes. Additionally, the demands of a globalized market, such as certifications in Good Agricultural Practices like Global G.A.P or Rainforest Alliance, favor the use of environmentally friendly control methods for sustainable production (Sanderson-Bellamy *et al.*, 2016; Figueredo *et al.*, 2018; Niveló *et al.*, 2020).

One of these alternatives is the use of biopesticides formulated based on antagonistic microorganisms, which can be integrated into crop management strategies, helping to reduce the number of applications and active ingredients of chemical pesticides used in a crop cycle (Samada and Tambunan, 2020). In Colombia, one example is Tricotec® WG developed by the Colombian Corporation for Agricultural Research - AGROSAVIA. Its active ingredient is conidia of the fungus *Trichoderma koningiopsis*

observaron efectos negativos de los coadyuvantes en el establecimiento de *T. koningiopsis* Th003 en la filosfera, recuperando de los tratamientos aproximadamente 1×10^3 UFC g^{-1} .

Palabras clave: Inhibición, germinación, filosfera, resistencia, tolerancia.

La producción agrícola actual demanda para el control de plagas y enfermedades el uso de alternativas eficientes que contribuyan a su sostenibilidad enmarcada en esquemas de manejo integrado del cultivo, a la cual se suman los requerimientos de un mercado globalizado, exigiendo por ejemplo, certificaciones en Buenas Prácticas Agrícolas amparadas entre ellos en las normas Global G.A.P o Rain Forest, propendiendo al uso de alternativas de control ambientalmente amigables en pro de una producción agrícola sostenible (Sanderson-Bellamy *et al.*, 2016; Figueredo *et al.*, 2018; Niveló *et al.*, 2020).

Una de estas alternativas es el uso de bioplaguicidas formulados con base en microorganismos antagonistas, los cuales pueden integrarse en estrategias de manejo del cultivo, lo que contribuye a reducir el número de aplicaciones y de principios activos de plaguicidas químicos utilizados en un ciclo del cultivo (Samada y Tambunan, 2020). En Colombia, uno de estos bioplaguicidas es Tricotec® WG desarrollado por la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria – AGROSAVIA, cuyo principio activo son conidios del hongo *Trichoderma koningiopsis* Th003, este bioplaguicida cuenta con registro del Instituto Colombiano Agropecuario – ICA para su uso en cultivos de lechuga (*Lactuca sativa*), jitomate (*Solanum lycopersicum*), arroz (*Oryza sativa*), arándano (*Vaccinium corym-*

Th003. This biopesticide is registered by the Colombian Agricultural Institute - ICA for use on lettuce (*Lactuca sativa*), tomato (*Solanum lycopersicum*), rice (*Oryza sativa*), blueberry (*Vaccinium corymbosum*), strawberry (*Fragaria vesca*), blackberry (*Rubus glaucus*), potato (*Solanum tuberosum*) and ornamentals such as rose (*Rosa* spp.) to control *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum* and *Sclerotinia minor*. It has 50-65% efficacy depending on the production system (Moreno *et al.*, 2020).

However, agricultural production is subject to environmental, anthropogenic, and plant biological conditions which, in addition to yield impacts, can determine pest and disease incidence, sometimes occurring simultaneously.

Therefore, in addition to biopesticides, it is necessary to use chemically synthesized pesticides (whose suspensions or solutions are usually prepared with the addition of adjuvants that facilitate and improve their application and action) since the former can control one or several targets, but do not have a broad spectrum of action (Samada and Tambunan, 2020). For instance, with the applications of Tricotec® WG in rose cultivation, there is control over *B. cinerea*, but not over *Podosphaera pannosa* or *Peronospora sparsa*. For these pathogens, it is necessary to apply fungicides that control them (Debener and Byrne, 2014).

With this in mind, the objective of this work was to determine the effect of adjuvants, fungicides and insecticides used in production systems in which Tricotec® WG is registered for use, on the growth and conidia germination of *T. koningiopsis* Th003, as well as the effect of the adjuvants on the establishment of the fungus in the phyllosphere (as they are widely used agrochemicals for improving the activity of fungicides and insecticides) with a view to generating recommendations for use

bosum), fresa (*Fragaria vesca*), mora (*Rubus glaucus*), papa (*Solanum tuberosum*) y ornamentales como rosa (*Rosa* spp.), para el control de *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum* y *Sclerotinia minor*, con una eficacia de control del 50 al 65% dependiendo del sistema productivo (Moreno *et al.*, 2020).

No obstante, la producción agrícola está sujeta a condiciones ambientales, antropogénicas o de la propia biología de la planta, que además de influir en su rendimiento, puede determinar la incidencia de plagas y enfermedades que, en ocasiones, se presentan simultáneamente.

Por lo anterior, para su control además de los bioplaguicidas, es necesario usar plaguicidas de síntesis química (cuyas suspensiones o soluciones usualmente se preparan con la adición de sustancias coadyuvantes que facilitan y mejoran su aplicación y acción) dado que el primero puede ejercer control sobre uno o varios blancos, pero no presentar un amplio espectro de acción (Samada y Tambunan, 2020), por ejemplo, con las aplicaciones de Tricotec® WG en el cultivo de rosa se realiza el control de *B. cinerea*, pero no el de *Podosphaera pannosa* o *Peronospora sparsa*, para lo cual es necesario aplicar fungicidas que controlen estos patógenos (Debener y Byrne, 2014).

Con esto en cuenta, el objetivo de este trabajo fue determinar el efecto de coadyuvantes, fungicidas e insecticidas empleados en los sistemas productivos en los que Tricotec® WG cuenta con registro de uso, sobre el crecimiento y germinación de los conidios de *T. koningiopsis* Th003, así como del efecto de los coadyuvantes en el establecimiento del hongo en la filósfera (por ser agroquímicos de amplio uso por mejorar la actividad de fungicidas e insecticidas) con miras a generar recomendaciones de uso de acuerdo con su potencial compatibilidad con los agroquímicos.

according to their potential compatibility with agrochemicals.

MATERIALS AND METHODS

This work was carried out at the Agricultural Microbiology Laboratory of the Tibaitatá Research Center of the Colombian Agricultural Research Corporation - AGROSAVIA.

Microorganism. To evaluate the effect of agrochemicals on the mycelial growth and germination of *T. koningiopsis* Th003, fungal cultures that had grown for seven and 10 days were used. These cultures were derived from the inoculation of a granule of the biopesticide Tricotec® WG onto potato dextrose agar (PDA) (Oxoid CM0139). Meanwhile, to assess the influence of adjuvants on the fungus's establishment in the phyllosphere, the commercial form of the biopesticide was utilized.

Agrochemicals evaluated. Twenty-seven fungicides used in crops for which Tricotec® WG is registered for use, 10 insecticides and 7 agricultural adjuvants were evaluated at the highest use dose reported in the technical data sheet of each agrochemical (Tables 1, 2 and 3).

Effect of agrochemicals on mycelial growth of *T. koningiopsis* Th003. Petri dishes were prepared with Dextrose Sabouraud agar (Scharlau 01-165-500) supplemented with each agrochemical, and the same agar without agrochemicals was used as a control. A 5 mm disk of *T. koningiopsis* Th003 mycelium taken from the fungal culture on PDA was placed in the center of each dish. The Petri dishes were incubated for 120 hours at 25 °C and at the end of this time the diameter of the colonies

MATERIALES Y MÉTODOS

Este trabajo se realizó en el Laboratorio de Microbiología Agrícola del Centro de Investigación Tibaitatá de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria AGROSAVIA.

Microorganismo. Para determinar el efecto de los agroquímicos sobre el crecimiento micelial y la germinación de los conidios de *T. koningiopsis* Th003 se utilizaron cultivos del hongo con un crecimiento de siete y 10 días, obtenidos a partir de la siembra de un gránulo del bioplaguicida Tricotec® WG en agar papa dextrosa (PDA) (Oxoid CM0139), mientras que para determinar el efecto de los coadyuvantes en el establecimiento del hongo en la filosfera se utilizó el bioplaguicida en su formato comercial.

Agroquímicos evaluados. Se evaluaron 27 fungicidas utilizados para los cultivos en los que Tricotec® WG cuenta con registro de uso, 10 insecticidas y 7 coadyuvantes agrícolas, en la dosis de uso más alta reportada en la ficha técnica de cada agroquímico (Cuadros 1, 2 y 3).

Efecto de los agroquímicos sobre el crecimiento micelial de *T. koningiopsis* Th003. Se prepararon cajas Petri con agar Dextrosa Sabouraud (Scharlau 01-165-500) suplementado con cada agroquímico, como control se utilizó el mismo agar sin adición de agroquímicos. En el centro de cada caja se dispuso un disco de 5 mm de micelio de *T. koningiopsis* Th003 tomado del cultivo del hongo en PDA. Las cajas Petri se incubaron durante 120 horas a 25 °C y cumplido este tiempo se realizó la lectura del diámetro de las colonias. Con los datos obtenidos se calculó el porcentaje de inhibición utilizando la fórmula: Inhibición (%) = $((X - Y) / X) \times 100$, donde X = es el diámetro de la colonia de *T. koningiopsis*

Table 1. Technical information for the fungicides evaluated for their effect on the growth of *Trichoderma koningiopsis* Th003. Cuadro 1. Información técnica de los fungicidas considerados para evaluar su efecto sobre el crecimiento de *Trichoderma koningiopsis* Th003.

Fungicida	Grupo químico	Dosis	Mecanismo de acción	Fitopatógeno blanco
Mandipropamid	Amidas del ácido mandélico	1 mL L ⁻¹	Inhibe la síntesis de la pared celular en oomicetes	<i>Phytophthora infestans</i> - <i>Peronospora destructor</i> - <i>Peronospora sparsa</i> - <i>Plasmopara viticola</i> - <i>Peronospora pisi</i>
Dimetomorf	Amidas del ácido cinámico	0.8 g L ⁻¹	Inhibe la incorporación de aminoácidos a la síntesis de proteínas	<i>Cercospora apii</i> - <i>Septoria</i> sp. - <i>Venturia inaequalis</i> - <i>Sphaerotheca fuliginea</i>
Kasugamicina	Antibiótico aminoglucósido	1.5 mL L ⁻¹	Afecta la fosforilación oxidativa de las mitocondrias, inhibe la germinación de esporas, formación de apresorios y crecimiento micelial	<i>Botrytis cinerea</i> - <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> - <i>Phytophthora infestans</i>
Fluazinam	Fenil piridinaminas	1 mL L ⁻¹	Inhibe la síntesis de los esteroides	<i>Leveillula taurica</i> - <i>Stemphylium vesicarium</i> - <i>Uncinula necator</i>
Spiroxamina	Spiroketalaminas	0.6 g L ⁻¹	Disolución del estrato lipídico de la membrana llevando a la deshidratación de la célula	<i>Heterosporium echinulatum</i> - <i>Sphaerotheca pannosa</i> - <i>Botrytis cinerea</i> - <i>Mycosphaerella fijiensis</i> - <i>Hemileia vastatrix</i>
Dodine	Guanidina	1.6 mL L ⁻¹	Inhibe la síntesis de lípidos, la germinación de esporas, la elongación del tubo germinal y formación del apresorio	<i>Botrytis cinerea</i> - <i>Sphaerotheca pannosa</i>
Iminoctadine Tris (Albesilate)	di-guanidine	0.75 cmL L ⁻¹	Inhibe la división celular a nivel de formación de tubulina	<i>Botrytis cinerea</i> - <i>Cercospora apii</i> - <i>Lasioidiplodia theobromae</i> - <i>Sclerotium cepivorum</i> - <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> - <i>Penicillium digitatum</i>
Tiabendazol	Benzimidazoles	0.9 mL L ⁻¹	Inhibidor de la respiración	<i>Phytophthora infestans</i> A1 - <i>Bremia lactucae</i> - <i>Peronospora farinosa</i> f. sp. <i>spinaciae</i> - <i>Pseudoperonospora cubensis</i> - <i>Peronospora destructor</i> - <i>Pythium ultimum</i>
Ciazofamida	Cianoimidazoles	0.2 mL L ⁻¹	Inhibe la síntesis del ergosterol.	<i>Botrytis cinerea</i> - <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> - <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> - <i>Alternaria solani</i> - <i>Cladosporium echinulatum</i>
Procloraz	Imidazol	1.2 mL L ⁻¹	Inhibición del crecimiento interfiriendo en la síntesis del ADN y ARN.	<i>Lasioidiplodia theobromae</i> - <i>Gaeumannomyces graminis</i>

Table 1. Continued
Cuadro 1. Continúa

Fungicida	Grupo químico	Dosis	Mecanismo de acción	Fitopatógeno blanco
Flutriafol	Triazol	0.8 mL L ⁻¹	Alteración de la síntesis del ergosterol, por la inhibición de la demetilación del esteroide	<i>Alternaria porri</i> - <i>Alternaria solani</i> - <i>Sphaerotheca pannosa</i> - <i>Heterosporium echinulatum</i> - <i>Puccinia horiana</i> - <i>Hemileia vastatrix</i> - <i>Helminthosporium oryzae</i> - <i>Sarocladium oryzae</i> - <i>Cercospora oryzae</i> - <i>Pyricularia grisea</i> - <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> - <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> - <i>Phakopsora pachyrhizi</i> - <i>Mycosphaerella fijiensis</i>
Hexaconazole	Triazol	1 mL L ⁻¹	Anti-esporulante, inhibidor de la síntesis de esteroides - ergosterol alterando la estructura y función de la membrana celular	<i>Erysiphe polygoni</i> - <i>Hemileia vastatrix</i> - <i>Puccinia pitteriana</i> - <i>Sphaerotheca pannosa</i>
Propiconazole	Triazol	1.25 mL L ⁻¹	Inhibe la síntesis del ergosterol y esteroides	<i>Helminthosporium</i> sp. - <i>Cercospora oryzae</i>
Triadimenol - Tebuconazole	Triazol	1 mL L ⁻¹	Inhibe la síntesis del esteroide y ergosterol	<i>Leveillula taurica</i> - <i>Pyricularia oryzae</i> - <i>Hemileia vastatrix</i> - <i>Puccinia asparagi</i> - <i>Podosphaera leucotricha</i> - <i>Alternaria solani</i> - <i>Lasiodiplodia theobromae</i> - <i>Uncinula necator</i>
Tebuconazole - Trifloxystrobin	Triazol - Estrobilina	1 mL L ⁻¹	Inhibe la síntesis de esteroide y detiene el transporte de electrones en la cadena respiratoria	<i>Pseudocercospora purpurea</i> - <i>Alternaria solani</i> - <i>Ramularia gossypii</i> - <i>Curvularia</i> spp. - <i>Rhizoctonia solani</i> - <i>Helminthosporium</i> spp - <i>Colletotrichum</i> spp
Azoxistrobina - Difenconazole	Estrobilurina - Triazol	1.25 mL L ⁻¹	Azoxystrobin inhibe la respiración mitocondrial evitando la formación de energía (ATP), inhibe la germinación de esporas. Difenconazole inhibe la síntesis del ergosterol.	<i>Alternaria porri</i> - <i>Alternaria solani</i> - <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> - <i>Rhizoctonia solani</i> - <i>Helminthosporium oryzae</i> - <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> - <i>Botrytis cinerea</i> - <i>Sphaerotheca pannosa</i>
Fenhexamid + Tebuconazole	Hidroxianilidas - Triazol	2 mL L ⁻¹	Inhibe la formación del tubo germinal y síntesis de ergosterol	<i>Botrytis cinerea</i>
Propamocarb - Fenamidona	Carbamatos - Imidazol	2 mL L ⁻¹	Fenamidone inhibe la respiración y formación de esporas. Propamocarb tiene acción antiesporulante e inhibe la síntesis de fosfolípidos y ácidos grasos.	<i>Peronospora viciae</i> - <i>Phytophthora infestans</i> - <i>Peronospora destructor</i> - <i>Pseudoperonospora cubensis</i> - <i>Peronospora sparsa</i>

Table 1. Continued
Cuadro 1. Continúa

Fungicida	Grupo químico	Dosis	Mecanismo de acción	Fitopatógeno blanco
Fenamidone - Fosetyl-Al	Imidazol - Organofosforado	1 g L ⁻¹	Interfiere en el proceso de respiración celular a nivel de mitocondrias y en la formación de ATP.	<i>Peronospora sparsa</i>
Fosetil - Propamocarb	Etil fosfonatos - Carbamatos	2.5 mL L ⁻¹	Inhibe la germinación, el crecimiento del micelio y esporulación.	<i>Pythium spp - Phytophthora spp - Phytophthora parasitica - Peronospora sparsa</i>
Fluopicolide + Propamocarb	Acylpicolides - Carbamatos	2 mL L ⁻¹	Altera las espectrinas perturbando la estructura celular, afectando la estabilidad del cito esqueleto con la posterior muerte.	<i>Bremia lactucae - Peronospora destructor - Peronospora sparsa - Pseudoeranospora cubensis - Phytophthora capsici - Phytophthora infestans - Phytophthora palmivora</i>
Pyrimethanil -Iprodione	Pirimidina - Dicarboximidias	1 mL L ⁻¹	Pyrimethanil inhibe la secreción de enzimas. Iprodione inhibe la germinación, elongación del tubo germinal, producción de conidios y crecimiento micelial	<i>Botrytis cinerea</i>
Fluopyram + Pyrimethanil	Piridiniletibenzamidas - Pirimidina	1 mL L ⁻¹	Inhibidor del succinato deshidrogenasa actuando en la cadena respiratoria e inhibe la secreción de enzimas.	<i>Botrytis cinerea - Cladosporium spp. - Mycosphaerella fijiensis</i>
Fludioxonil + Ciprodinil	Fenilpirroles - Pirimidina	0.6 g L ⁻¹	Ciprodinil afecta la síntesis de metionina y la secreción de enzimas hidrolíticas. Fludioxonil inhibe la proteína kinasa en la ruta de transducción de la señal de osmosensibilidad	<i>Botrytis cinerea</i>
Thiram + Pyrimethanil	Ditiocarbamato - Pirimidina	2 mL L ⁻¹	Inhibe la secreción de enzimas hidrolíticas, la germinación de esporas y el crecimiento micelial	<i>Botrytis cinerea</i>
Metalaxil-M - Mancozeb	Anilida - Ditiocarbamatos	3 g L ⁻¹	Inhibe la respiración y la germinación de las esporas	<i>Plasmopara viticola - Peronospora sparsa - Phytophthora infestans</i>

The information contained in this table comes from the technical data sheets of the suppliers of the commercial products. / La información contenida en la presente tabla proviene de las fichas técnicas de los proveedores de los productos comerciales.

Table 2. Technical information for the insecticides evaluated for their effect on the growth of *Trichoderma koningiopsis* Th003.Cuadro 2. Información técnica de los insecticidas considerados para evaluar su efecto sobre el crecimiento de *Trichoderma koningiopsis* Th003.

Insecticida	Grupo químico	Dosis	Mecanismo de acción	Patógeno blanco
Spinosad	Naturalite	0.5 mL L ⁻¹	Actúa por contacto e ingestión, causando parálisis. Activa el receptor de la acetilcolina nicotínica, en diferente sitio que la nicotina o imidacloprid.	<i>Frankliniella occidentalis</i> - <i>Liriomyza</i> spp. - <i>Thrips palmi</i> - <i>Tuta absoluta</i> - <i>Spodoptera frugiperda</i>
Dinotefuran	Neonicotinoides	0.5 mL L ⁻¹	Interfiere la neurotransmisión a través de los receptores nicotínicos.	<i>Frankliniella occidentalis</i> - <i>Oebalus insularis</i>
Sulfoxaflor	Sulfoxaminas	1 mL L ⁻¹	Neurotóxico trabaja en el sistema nervioso central en los receptores nicotínicos de acetilcolina genero excitación generalizada, parálisis, postración y finalmente la muerte de las plagas.	<i>Collaria</i> sp. - <i>Trialeurodes vaporariorum</i> - <i>Trialeurodes vaporariorum</i> - <i>Empoasca kraemer</i> - <i>Aphis gossypii</i> - <i>Bemisia tabaci</i> - <i>Oebalus poecilus</i> - <i>Diaphorina citri</i> Kuwayama
Spiromesifen	Derivados del ácido tetrónico (ketoenoles)	0.5 mL L ⁻¹	Interfiere con la síntesis de lípidos, afectando el desarrollo y fecundidad.	<i>Oligonychus yothersi</i> - <i>Trialeurodes vaporariorum</i> - <i>Bemisia tabaci</i> - <i>Tetranychus urticae</i> -
Malathion	Organofosforados	1 mL L ⁻¹	Inhibidor de la acetilcolinesterasa	<i>Frankliniella occidentalis</i> - <i>Anthonomus grandis</i> - <i>Thrips tabaci</i> - <i>Trialeurodes vaporariorum</i> - <i>Collaria scenica</i>
Beta-cyfluthrin + Imidacloprid	Neonicotinoide - Piretroide	1 mL L ⁻¹	Se une en forma postsináptica a los receptores nicotinérgicos y afecta el canal del sodio, en el sistema nervioso.	<i>Premnotrypes vorax</i> - <i>Trialeurodes vaporariorum</i> - <i>Anthonomus grandis</i> - <i>Eutheola bidentata</i> - <i>Spodoptera frugiperda</i> - <i>Oebalus poecilus</i> - <i>Thrips tabaci</i> - <i>Thrips palmi</i> - <i>Gryllotalpa hexadactyla</i> - <i>Frankliniella occidentalis</i> - <i>Diaphorina citri</i>
Chlorfenapir	Pirroles	0.6 mL L ⁻¹	Interrumpe la generación de energía por la liberación y extracción de protones H ⁺ antes de llegar al ATP.	<i>Frankliniella occidentalis</i> - <i>Tetranychus urticae</i> - <i>Tuta absoluta</i> (Meyrick)
Metoxifenocide	Benzoilhidracina	1 mL L ⁻¹	Mimético de la hormona de la muda (ecdisona) que acelera el proceso de muda y con acción ovicida	<i>Anticarsia gemmatilis</i> - <i>Rachiplusia nu</i> - <i>Helicoverpa gelotopoeon</i> - <i>Spodoptera frugiperda</i> - <i>Heliothis virescens</i> - <i>Cydia pomonella</i> - <i>Tuta absoluta</i> - <i>Lobesia botrana</i>

Table 2. Continued
Cuadro 2. Continúa

Insecticida	Grupo químico	Dosis	Mecanismo de acción	Patógeno blanco
Piriproxifen	Fenil éter	0.6 mL L ⁻¹	Interferencia de la hormona juvenil “HJ” causando la inhibición de metamorfosis, de embriogénesis, de la reproducción, del desarrollo larvario y perturbación de la diapausa	<i>Bemisia tabaci</i> - <i>Trialeurodes vaporariorum</i> - <i>Liriomyza</i> sp. - <i>Frankliniella occidentalis</i> - <i>Thrips tabaci</i> - <i>Heliothrips haemorrhoidalis</i> - <i>Bombacoccus aguacatae</i> - <i>Hemiberlesia lataniae</i> - <i>Aspidiotus nerii</i> - <i>Aleuropleurocelus</i> spp.
Permetrina	Piretroide	0.6 mL L ⁻¹	Interrumpe la función de las neuronas por interacción con los canales de sodio.	<i>Spodoptera frugiperda</i> - <i>Epitrix</i> sp. - <i>Tecia solanivora</i> - <i>Plutella xylostella</i> - <i>Tuta absoluta</i>

The information contained in this table comes from the technical data sheets of the suppliers of the commercial products. / La información contenida en la presente tabla proviene de las fichas técnicas de los proveedores de los productos comerciales.

Table 3. Technical information for the adjuvants evaluated for their effect on the growth of *Trichoderma koningiopsis* Th003.
Cuadro 3. Información técnica de los coadyuvantes considerados para evaluar su efecto sobre el crecimiento de *Trichoderma koningiopsis* Th003.

Nombre comercial	Principio activo	Dosis
Agrotin® SL	Polisacáridos, alcoholes polivinílicos, siliconas	1 mL L ⁻¹
HIPOTENSOR SYS	Polietilenglicol - Polidimetilsiloxano, fosfatos mono y dipotásicos	1 mL L ⁻¹
MF REDUX®	Alquil alcohol poliglicol éter	1 mL L ⁻¹
Fluyex®	Alcohol etoxilado modificado	5 mL L ⁻¹
INEX-A®	Alquil Polieter Alcohol Etoxilado, Alquil Poliglicol, Aril Polietoxietanol	4 mL L ⁻¹
Carrier®	Ácidos carboxílicos insaturados y glicéridos saturados	1.5 mL L ⁻¹
Bioplant®	Aril polietoxietanol - Poliglucósido etoxilado -	1 mL L ⁻¹

The information contained in this table comes from the technical data sheets of the suppliers of the commercial products. / La información contenida en la presente tabla proviene de las fichas técnicas de los proveedores de los productos comerciales.

was read. With the data obtained, the percentage of inhibition was calculated using the formula: Inhibition (%) = $((X - Y) / X) \times 100$, where X = is the diameter of the colony of *T. koningiopsis* Th003 in the control dishes, Y = the diameter of the colony of *T. koningiopsis* Th003 in the dishes supplemented with each of the agrochemicals.

Effect of agrochemicals on the germination of *T. koningiopsis* Th003 conidia. The conidia were collected from a fungal culture on PDA, making a suspension that was adjusted to a concentration of 1×10^7 conidia mL⁻¹ using the Neubauer chamber counting technique. Subsequently, 1 mL was taken and transferred to Erlenmeyers flasks containing 20 mL of the solutions of each agrochemical according to the established doses (Tables 1, 2 and 3). The fungal conidia suspended in water were used as a control. The inoculated solutions were left to stand for one hour at 17 °C, simulating the time they could remain in a fumigation equipment during application. Subsequently, 100 µL were taken from each Erlenmeyer and placed in Petri dishes with water agar, spreading them over their surface with a Drigalsky rake. The dishes were incubated for 24 hours at 25 °C and after this, the number of germinated and non-germinated conidia was read by counting 100 conidia on a 1 cm² agar square, taking three squares from each dish. The germination percentage was determined using the formula: Germination (%) = (Germinated conidia / Total conidia) x 100. A spore was considered as a germinated spore when the length of the germ tube was at least 50% of the length of the non-germinated spore (Muy-Rangel *et al.*, 2018).

Effect of adjuvants on the establishment of *T. koningiopsis* Th003 in the phyllosphere. Suspensions of Tricotec® WG (at a concentration of 1×10^6 conidia mL⁻¹) were prepared in solutions

Th003 en las cajas del control, Y = el diámetro de la colonia de *T. koningiopsis* Th003 en las cajas suplementadas con cada uno de los agroquímicos.

Efecto de los agroquímicos sobre la germinación de conidios *T. koningiopsis* Th003. De un cultivo del hongo en PDA se colectaron los conidios realizando una suspensión que se ajustó a una concentración de 1×10^7 conidios mL⁻¹ mediante la técnica recuento en cámara de Neubauer. Posteriormente, se tomó 1 mL que se transfirió a matraces Erlenmeyers que contenían 20 mL de las soluciones de cada agroquímico según las dosis establecidas (Cuadros 1, 2 y 3). Como control se tuvieron los conidios del hongo suspendidos en agua. Las soluciones inoculadas se dejaron en reposo por una hora a 17 °C simulando el tiempo que podrían permanecer en un equipo de fumigación durante su aplicación. Posteriormente, de cada Erlenmeyer se tomaron 100 µL que se dispusieron en cajas Petri con agar agua, esparciéndolos sobre su superficie con un rastrillo Drigalsky. Las cajas se incubaron durante 24 horas a 25 °C y posterior a esto, se realizó la lectura del número de conidios germinados y no germinados mediante el conteo de 100 conidios en un cuadro de agar de 1 cm² tomando de cada caja tres cuadros. El porcentaje de germinación se determinó utilizando la fórmula: Germinación (%) = (Conidios germinados / Conidios totales) x 100. Se consideró como una espora germinada cuando la longitud del tubo germinativo fue de al menos el 50% de la longitud de la espora sin germinar (Muy-Rangel *et al.*, 2018).

Efecto de los coadyuvantes en el establecimiento de *T. koningiopsis* Th003 en la filosfera. Se prepararon suspensiones de Tricotec® WG (a una concentración de 1×10^6 conidios mL⁻¹) en soluciones de cada coadyuvante, dejándolas en reposo durante una hora, luego se aplicaron en plantas de uchuva

of each adjuvant, left to stand for one hour, and then applied to five-month-old cape gooseberry (*Physalis peruviana*) plants in a field crop. The biopesticide prepared in water at the concentration described above was applied as a control. Seven days later, 10 leaves were taken from the plants and packed in paper bags for analysis in the laboratory. The leaves were cut into 1 cm² fragments using a sterile stainless steel punch, 10 g were taken and placed in Erlenmeyers with 90 mL of 0.1% Tween 80 (stock suspension) and left in constant agitation at 150 rpm for one hour. Subsequently, a 1:10 dilution was made from each, which was vortexed for 30 seconds. From each stock suspension and dilution, 100 µL were taken and placed in Petri dishes with Rose Bengal + chloramphenicol agar (Oxoid CM0549) (three dishes per dilution), the aliquot was distributed homogeneously with a Drigalsky rake. The dishes were incubated at 25 °C for 5 days, after which colony forming units (CFU) were counted and the results expressed as Log (CFU g⁻¹).

Experimental design and data analysis. The assays were established under a completely randomized experimental design. The experimental unit (EU) corresponded to a Petri dish, with 10 replicates for the evaluation of the effect of agrochemicals on mycelial growth and three replicates for the evaluation of the effect on conidial germination. Data were subjected to analysis of variance and means were compared by Fisher's LSD test (*= P>0.05) using Statistix 10.0 statistical software.

RESULTS

Effect of agrochemicals on mycelial growth of *T. koningiopsis* Th003. In experiments testing the impact of fungicides on mycelial growth,

(*Physalis peruviana*) de cinco meses de edad que se encontraban en un cultivo en campo. Como control se aplicó el bioplaguicida preparado en agua en la concentración descrita anteriormente. Siete días después, de las plantas se tomaron 10 hojas, empacándolas en bolsa de papel para su análisis en el laboratorio. Las hojas se cortaron en fragmentos de 1 cm² empleando un sacabocado de acero inoxidable estéril, se tomaron 10 g y se dispusieron en Erlenmeyers con 90 mL de Tween 80 al 0.1% (suspensión madre) dejándolos en agitación constante a 150 rpm durante una hora. Posteriormente, de cada uno se realizó una dilución 1:10, que se agitó en vórtex durante 30 segundos. De cada suspensión madre y dilución se tomaron 100 µL que se dispusieron en cajas Petri con agar Rosa de Bengala + cloranfenicol (Oxoid CM0549) (tres cajas por dilución), la alícuota se distribuyó de forma homogénea con un rastrillo Drigalsky. Las cajas se incubaron a 25 °C durante 5 días y posterior a este se contaron las unidades formadoras de colonia (UFC) expresando los resultados como Log (UFC g⁻¹).

Diseño experimental y análisis de datos. Los ensayos se establecieron bajo un diseño experimental completamente al azar. La unidad experimental (UE) correspondió a una caja Petri, teniendo 10 repeticiones para la evaluación del efecto de los agroquímicos sobre el crecimiento micelial y tres para la evaluación del efecto sobre germinación de los conidios. Los datos se sometieron a un análisis de varianza y las medias se compararon mediante una prueba LSD de Fisher (*= P>0.05) usando el software estadístico Statistix 10.0.

RESULTADOS

Efecto de los agroquímicos sobre el crecimiento micelial de *T. koningiopsis* Th003. En presencia

no inhibition was observed in the presence of Cyazofamid, Dimetomorf, Fenamidone - Fosetyl-Al, Fosetyl - Propamocarb, Fluopicolide - Propamocarb, Hexaconazole, Mandipropamid, and Propamocarb - Fenamidone. There were no significant differences between these fungicides and the control (Figure 1).

However, when the fungus encountered a medium containing Flutriafol, Kasugamycin, and

de Ciazofamida, Dimetomorf, Fenamidone - Fosetyl-Al, Fosetil - Propamocarb, Fluopicolide - Propamocarb, Hexaconazole, Mandipropamid y Propamocarb – Fenamidona, no se observó inhibición del crecimiento micelial, así como diferencias significativas entre estos fungicidas y el control (Figura 1).

Al exponer el hongo en presencia del medio con Flutriafol, Kasugamicina y Fenhexamid - Tebuconazol

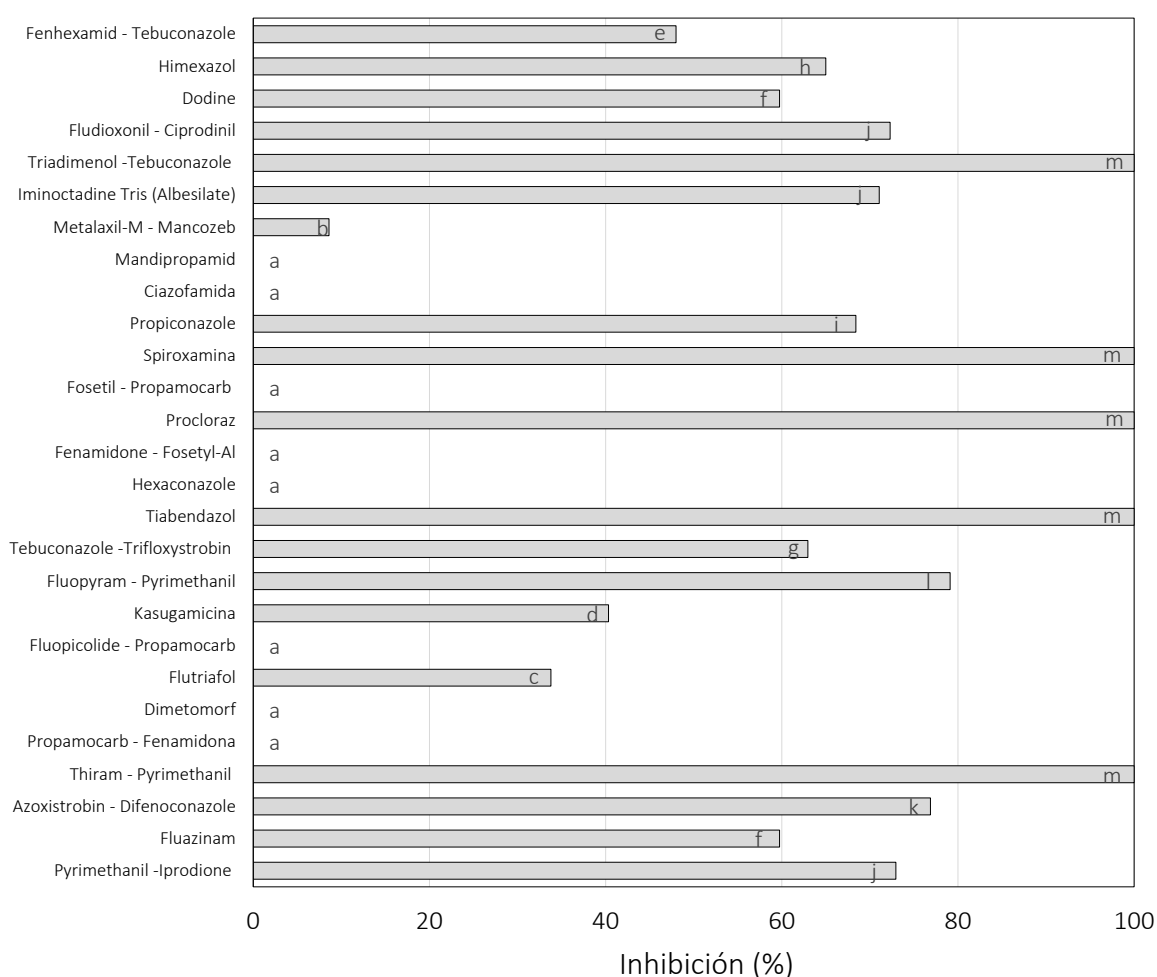


Figure 1. Inhibition of mycelial growth of *T. koningiopsis* Th003 on Sabouraud agar supplemented with fungicides. Columns with the same letter are not significantly different according to Fisher LSD test (*= P>0.05).

Figura 1. Inhibición del crecimiento micelial de *T. koningiopsis* Th003 en agar Sabouraud suplementado con fungicidas. Columnas con la misma letra no son significativamente diferentes de acuerdo con la prueba de Fisher LSD (*= P>0.05).

Fenhexamid - Tebuconazole, there was a growth inhibition ranging from 34 to 48%. In the presence of Azoxystrobin - Difenconazole, Dodine, Fluazinam, Fludioxonil - Cyprodinil, Pyrimethanil - Iprodione, Iminoctadine Tris (Albesilate), Himexazole, Propiconazole, and Tebuconazole - Trifloxystrobin, the inhibition ranged from 60 to 79% (Figure 1). While Thiram - Pyrimethanil, Prochloraz, Thiabendazole, Spiroxamine, and Triadimenol -Tebuconazole completely halted the growth of *T. koningiopsis* Th003 (Figure 1).

In relation to insecticides, only Beta-Cyfluthrin - Imidacloprid Permethrin and Malathion reduced fungal growth, inhibiting it by 23% and 44% respectively. These were also the sole insecticides to exhibit significant differences compared to the control (Figure 2).

la inhibición de su crecimiento estuvo entre el 34 y 48%, mientras que al exponerse a Azoxistrobina - Difenconazole, Dodine, Fluazinam, Fludioxonil - Ciprodinil, Pyrimethanil - Iprodione, Iminoctadine Tris (Albesilate), Himexazol, Propiconazole y Tebuconazole - Trifloxystrobin la inhibición del crecimiento micelial estuvo entre un 60 y 79% (Figura 1). Entre tanto, en presencia de Thiram - Pirimetanil, Procloraz, Tiabendazol, Spiroxamina y Triadimenol -Tebuconazole el crecimiento de *T. koningiopsis* Th003 fue inhibido totalmente (Figura 1).

Con respecto a los insecticidas, solo en presencia de Beta-Cyuthrin - Imidacloprid Permetrina (inhibición del 23%) y Malathion (inhibición del 44%) se observó reducción del crecimiento del hongo, siendo a su vez los únicos insecticidas que

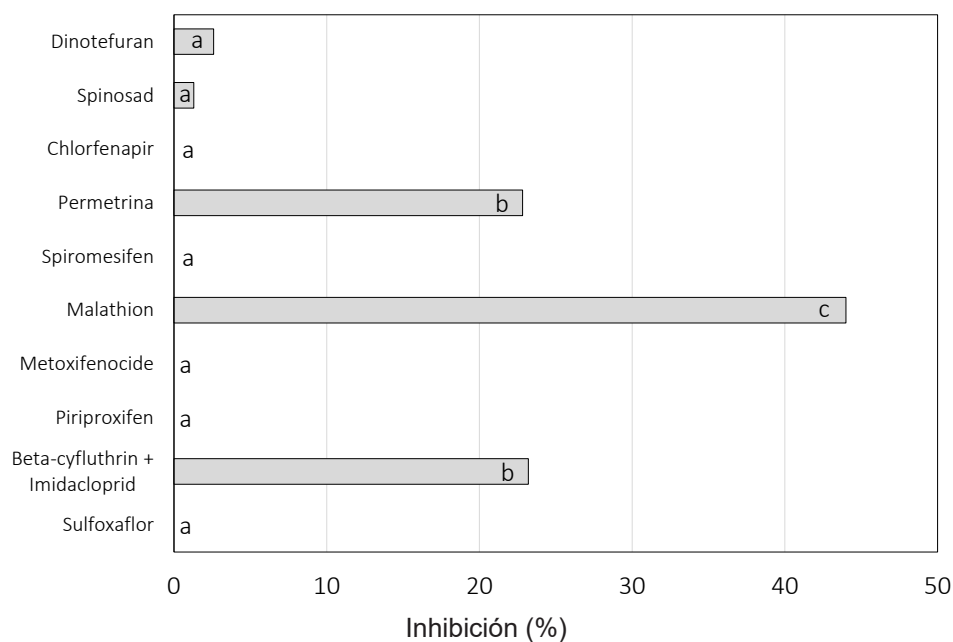


Figure 2. Inhibition of mycelial growth of *T. koningiopsis* Th003 on Sabouraud agar supplemented with insecticides. Columns with the same letter are not significantly different according to Fisher LSD test (*= P>0.05).

Figura 2. Inhibición del crecimiento micelial de *T. koningiopsis* Th003 en agar Sabouraud suplementado con insecticidas. Columnas con la misma letra no son significativamente diferentes de acuerdo con la prueba de Fisher LSD (*= P>0.05).

Regarding the adjuvants, Carrier® had no effect on the mycelial growth of *T. koningiopsis* Th003. However, other adjuvants inhibited growth between 44 and 70%, with Fluyex® showing the maximum inhibition (Figure 3).

presentaron diferencias significativas con respecto al control (Figura 2).

En cuanto a los coadyuvantes, Carrier® no inhibió el crecimiento micelial de *T. koningiopsis* Th003, mientras que los restantes lo hicieron entre

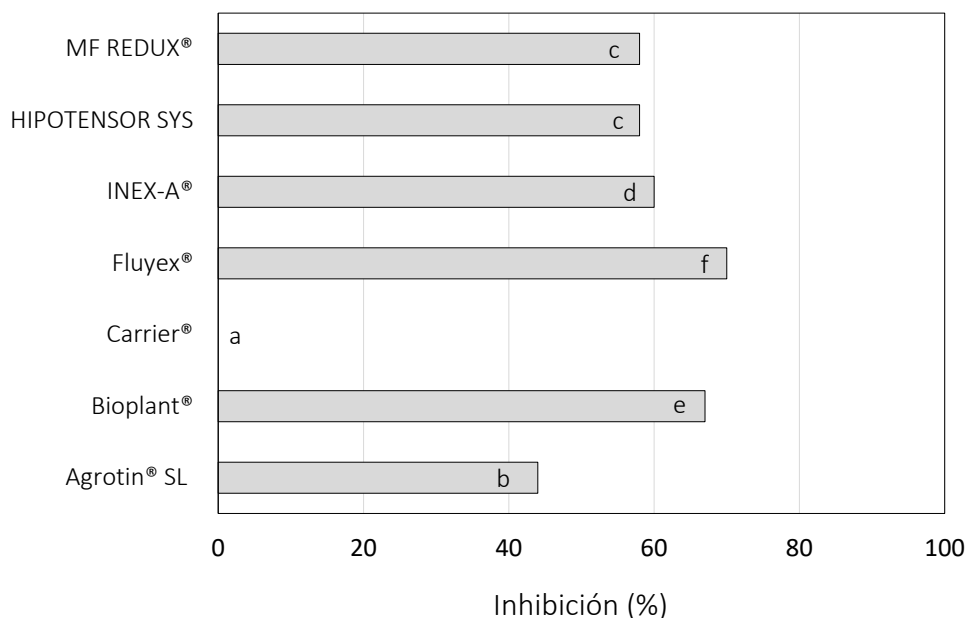


Figure 3. Inhibition of mycelial growth of *T. koningiopsis* Th003 on Sabouraud agar supplemented with adjuvants. Columns with the same letter are not significantly different according to Fisher LSD test (*= P>0.05).

Figura 3. Inhibición del crecimiento micelial de *T. koningiopsis* Th003 en agar Sabouraud suplementado con coadyuvantes. Columnas con la misma letra no son significativamente diferentes de acuerdo con la prueba de Fisher LSD (*= P>0.05).

Effect of agrochemicals on the germination of conidia of *T. koningiopsis* Th003. In the presence of Dodine, Metalaxyl-M - Mancozeb and Thiram - Pyrimethanil, conidial germination was totally inhibited, while Iminoctadine Tris (Albesilate) only allowed it in 14% and Fluazinam and Plocloraz in 63% (Figure 4). Meanwhile, in the presence of the other fungicides the germination of conidia was $\geq 87\%$, 13 of them without presenting significant differences with respect to the control.

As for the insecticides, the conidia in the presence of Chlorfenapyr presented a germination

un 44 y 70%, siendo en Fluyex® donde se observó la mayor inhibición (Figura 3).

Efecto de los agroquímicos sobre la germinación de los conidios de *T. koningiopsis* Th003. En presencia de Dodine, Metalaxil-M – Mancozeb y Thiram - Pirimetanil la germinación de los conidios fue inhibida totalmente, mientras que Iminoctadine Tris (Albesilate) solo la permitió en un 14% y Fluazinam y Plocloraz en un 63% (Figura 4). Entre tanto, en presencia de los demás fungicidas la

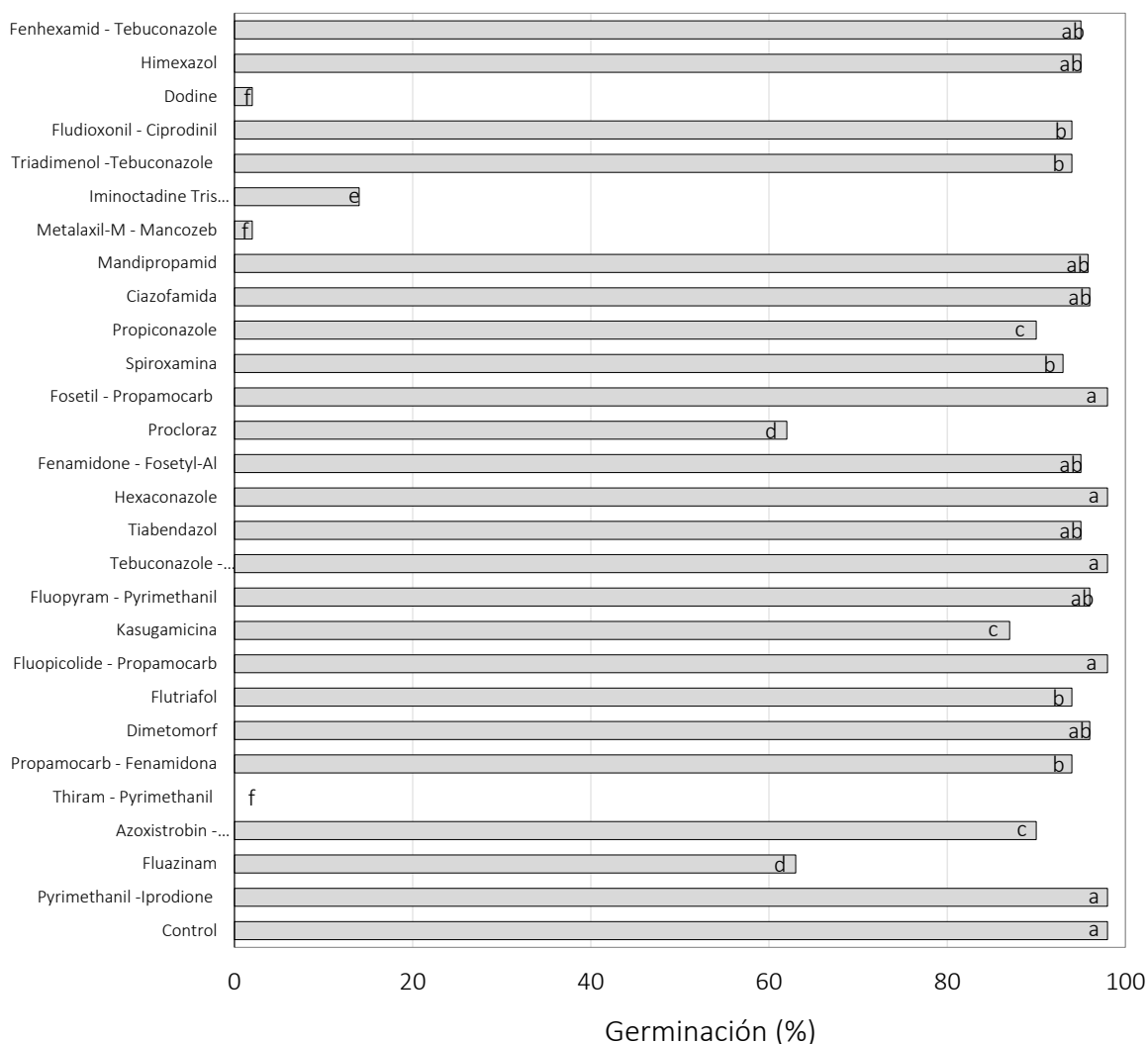


Figure 4. Germination of *T. koningiopsis* Th003 conidia exposed to fungicide solutions. Columns with the same letter are not significantly different according to Fisher LSD test (*= P>0.05).

Figura 4. Germinación de conidios de *T. koningiopsis* Th003 en exposición a soluciones de fungicidas. Columnas con la misma letra no son significativamente diferentes de acuerdo con la prueba de Fisher LSD (*= P>0.05).

of 84%, lower than that obtained with the other insecticides, where a germination of $\geq 97\%$ was obtained, without presenting significant differences with respect to the control (Figure 5). With respect to the adjuvants, five of them presented significant differences with respect to the control; however, germination in the presence of all of them was $\geq 93\%$ (Figure 6).

germinación de los conidios fue $\geq 87\%$, 13 de ellos sin presentar diferencias significativas con respecto al control.

En cuanto a los insecticidas, los conidios en presencia de Clorfenapir presentaron una germinación del 84%, menor a la obtenida con los demás insecticidas, en los cuales se obtuvieron germinaciones $\geq 97\%$, sin presentar diferencias significativas con

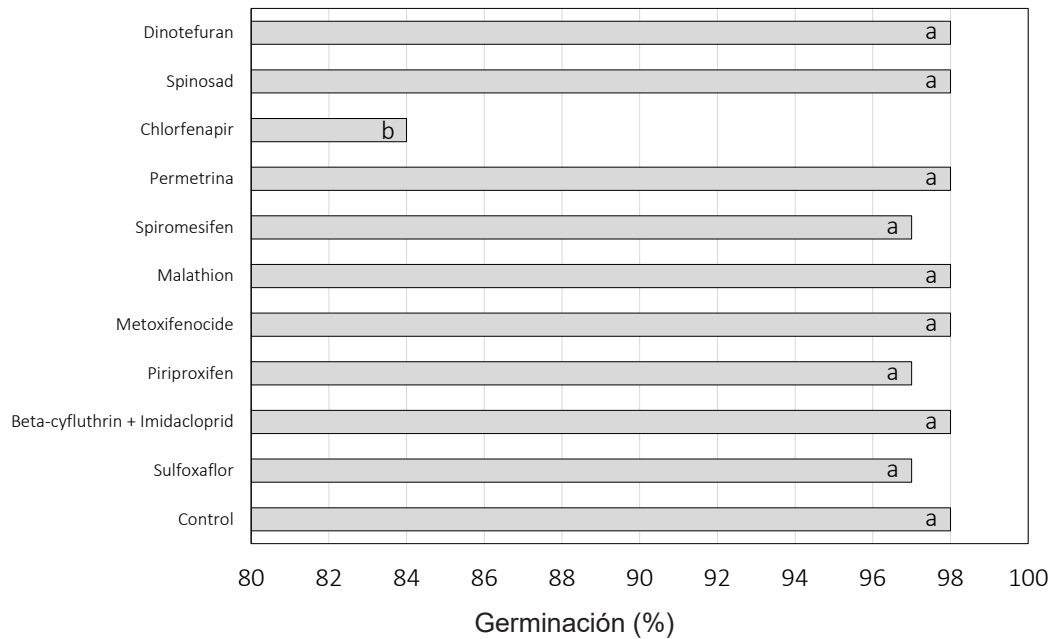


Figure 5. Germination of conidia of *T. koningiopsis* Th003 exposed to insecticide solutions. Columns with the same letter are not significantly different according to Fisher LSD test (*= P>0.05).

Figura 5. Germinación de conidios de *T. koningiopsis* Th003 en exposición a soluciones de insecticidas. Columnas con la misma letra no son significativamente diferentes de acuerdo con la prueba de Fisher LSD (*= P>0.05).

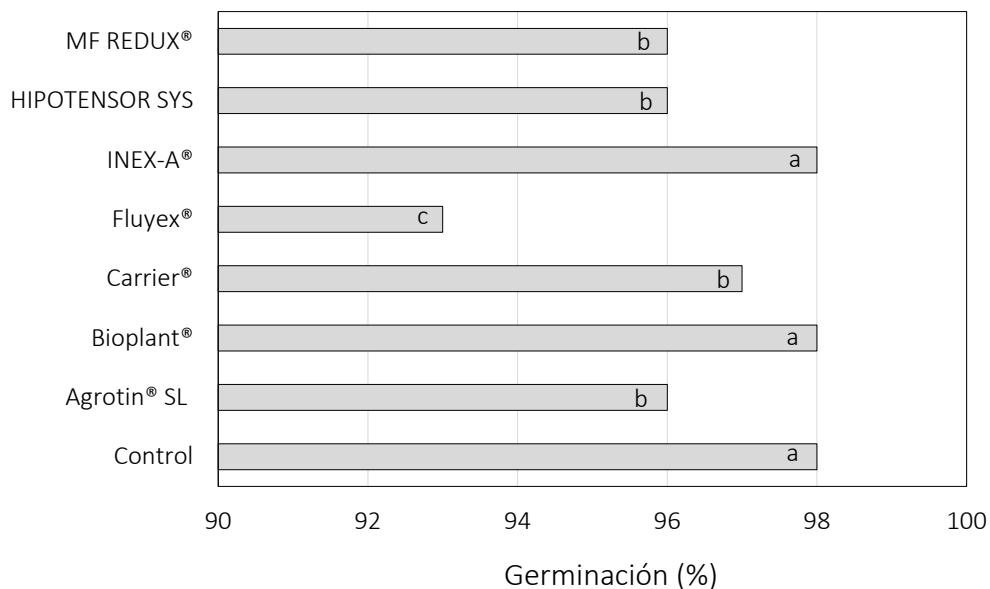


Figure 6. Germination of conidia of *T. koningiopsis* Th003 exposed to adjuvant solutions. Columns with the same letter are not significantly different according to Fisher LSD test (*= P>0.05).

Figura 6. Germinación de conidios de *T. koningiopsis* Th003 en exposición a soluciones de coadyuvantes. Columnas con la misma letra no son significativamente diferentes de acuerdo con la prueba de Fisher LSD (*= P>0.05).

Effect of adjuvants on the establishment of *T. koningiopsis* Th003 in the phyllosphere. The highest populations of *T. koningiopsis* Th003 were recovered in the treatments corresponding to Agrotin® SL and HIPOTENSOR, with means of 3.5 and 3.3 log (CFU g⁻¹) respectively, showing significant differences compared to the other treatments. The control presented a mean of 2.9 log (CFU g⁻¹) and together with Fluyex® and INEX-A®, with means of 2.7 log (CFU g⁻¹), showed the lowest values for recovered populations of the fungus (Figure 7).

respecto al control (Figura 5). Con respecto a los coadyuvantes, cinco de ellos presentaron diferencias significativas con respecto al control; no obstante, la germinación en presencia de todos ellos fue $\geq 93\%$ (Figura 6).

Efecto de los coadyuvantes en el establecimiento de *T. koningiopsis* Th003 en la filosfera. Las mayores poblaciones de *T. koningiopsis* Th003 se recuperaron en los tratamientos correspondientes a Agrotin® SL e HIPOTENSOR con medias de 3.5 y

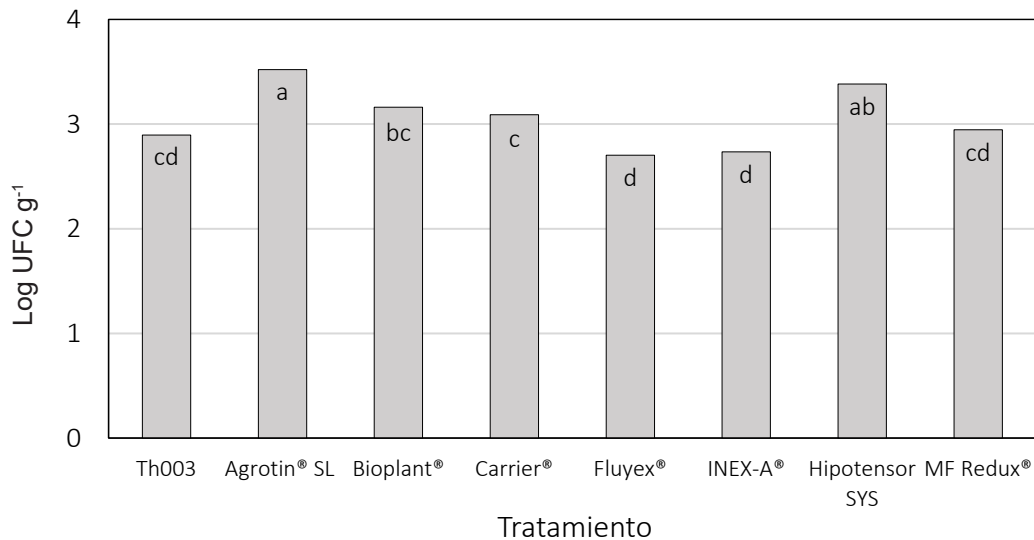


Figure 7. Populations of *T. koningiopsis* Th003 recovered from the cape gooseberry phyllosphere seven days after spraying the biopesticide Tricotec® WG prepared in suspensions of the adjuvants.

Figura 7. Poblaciones de *T. koningiopsis* Th003 recuperadas de la filosfera de uchuva siete días después de la aspersión del bioplaguicida Tricotec® WG preparado en las suspensiones de los coadyuvantes.

DISCUSSION

The fungicides used for controlling oomycete phytopathogens (Cyazofamid, Dimethomorph, Fenamidone - Fosetyl-AI, Fosetyl - Propamocarb, Fluopicolide - Propamocarb, Hexaconazole,

3.3 log (UFC g⁻¹) respectivamente, presentando diferencias significativas con los demás tratamientos. El control presentó una media de 2.9 log (UFC g⁻¹) y junto a Fluyex® e INEX-A® con medias de 2.7 log (UFC g⁻¹) presentaron los menores valores para las poblaciones recuperadas del hongo (Figura 7).

Mandipropamid, Propamocarb - Fenamidone) did not affect mycelial growth or conidial germination of *T. koningiopsis* Th003 (with the exception of Metalaxyl-M - Mancozeb). Oomycetes have a cell wall consisting of cellulose and sitosterol as membrane lipid (Restrepo *et al.*, 2016), unlike fungi which have chitin and ergosterol (Gow *et al.*, 2017). Since some of these fungicides negatively affect the oomycete cell wall, the lack of cellulose and sitosterol in *T. koningiopsis* Th003 may explain why they did not inhibit growth.

Meanwhile, other fungicides used against *B. cinerea*, *Colletotrichum* sp., *Alternaria* sp., *Helminthosporium* sp., or *Rhizoctonia solani*, inhibited mycelial growth up to 100%, indicating toxic effects. However, only Dodine, Metalaxyl-M - Mancozeb, Thiram - Pyrimethanil and Iminoctadine Tris (Albesilate) affected conidial germination, while with others, germination was less impacted, perhaps due to tolerance as reported for some *Trichoderma* species against certain fungicides (Escudero-Leyva *et al.*, 2022).

Agrochemicals used as adjuvants and insecticides can stimulate or inhibit mycelial growth as well as the germination of conidia of antagonistic fungi (Rashid *et al.*, 2012; Sain *et al.*, 2022). These effects depend on the chemical properties of the agrochemical, the concentration used, and the biology of the fungus. For example, a study by Sabogal-Vargas *et al.* (2023) showed that the insecticide chlorpyrifos at concentrations of 960, 1,200 and 1,440 mg L⁻¹ increasingly inhibited mycelial growth of *Trichoderma asperellum* TCA3, *T. asperellum* TCA21 and *T. harzianum* TCA23. However, germination of *T. asperellum* TCA21 conidia was not inhibited. The inhibition of conidia germination in the other strains was attributed to an accumulation of self-inhibitors of germination, causing a state of dormancy (Sabogal-Vargas *et al.*, 2023).

DISCUSIÓN

Los fungicidas utilizados para el control de fitopatógenos oomicetos (Ciazofamida, Dimetomorf, Fenamidone - Fosetyl-Al, Fosetil - Propamocarb, Fluopicolide - Propamocarb, Hexaconazole, Mandipropamid, Propamocarb - Fenamidona) no afectaron el crecimiento micelial o la germinación de los conidios de *T. koningiopsis* Th003 (a excepción de Metalaxil-M - Mancozeb). Los oomicetos poseen una pared celular conformada por celulosa y sitosterol como lípido de membrana (Restrepo *et al.*, 2016) a diferencia de una pared con quitina y una membrana con ergosterol en los hongos (Gow *et al.*, 2017), siendo posible que, ya que algunos de estos fungicidas tienen un efecto negativo sobre la pared de los oomicetos, la ausencia de celulosa y sitosterol en *T. koningiopsis* Th003 pudo en parte ser la causa de que estos fungicidas no afectaran negativamente su crecimiento.

Entre tanto, los demás fungicidas, utilizados en el control de *B. cinerea*, *Colletotrichum* sp., *Alternaria* sp., *Helminthosporium* sp., o *Rhizoctonia solani*, inhibieron el crecimiento micelial, algunos incluso hasta en un 100%, mostrando un efecto tóxico de los principios activos; sin embargo, solo Dodine, Metalaxil-M - Mancozeb, Thiram - Pirimetaniil e Iminoctadine Tris (Albesilate) afectaron la germinación de los conidios, hasta en un 100%, mientras que con el resto, la germinación no se afectó severamente, quizás por un efecto de tolerancia a los principios activos evaluados, fenómeno reportado para fungicidas como Azoxystrobin, Clorotalonil, Ciproconazol, Propineb y Tolclofos-metil en diferentes especies de *Trichoderma* (Escudero-Leyva *et al.*, 2022).

Agroquímicos como coadyuvantes e insecticidas, pueden estimular o inhibir el crecimiento micelial así como la germinación de conidios de hongos antagonistas (Rashid *et al.*, 2012; Sain *et*

For some insecticides and adjuvants, the inhibitory effect on mycelial growth but not conidial germination has been related to alteration of the electrostatic charge of the fungal surface and potential elimination of the mucous layer covering the conidia. This may occur by interruption of metabolism in the cell wall and its effect on membrane permeability (Clifford and Hislop, 1975; Rashid *et al.*, 2012; Fait *et al.*, 2019). The active ingredient of the biopesticide is conidia of the fungus. When applied in the phyllosphere suspended in adjuvant solutions, the conidia germinated and the fungus became established despite the presence of adjuvants and insecticides. Consequently, populations of *T. koningiopsis* Th003 recovered were higher or similar to the control. Thus, both the adjuvants and insecticides evaluated could potentially be applied together with the biopesticide, a condition that also applies to the fungicides that did not affect conidial germination.

The tolerance and resistance of a fungus to fungicides is considered an evolutionary process, where exposure to an active ingredient exerts selection pressure on a population, killing the initial wild population but not the altered mutant population. Thus, overexposure accelerates changes towards tolerant and resistant populations, which have developed mechanisms such as alteration or overexpression of the fungicide target site, detoxification, and exclusion or expulsion from the site of action (FRAC, 2019).

However, the tolerance that *T. koningiopsis* Th003 showed for some agrochemicals, particularly fungicides, may be innate to the fungus's metabolism. In the production of the Tricotec® WG biopesticide, the fungus used is not exposed to any agrochemicals, as it comes from a germplasm bank rather than being recovered from the environment. This implies that *T. koningiopsis* Th003 may possess inherent stress tolerance genes, as reported

et al., 2022), efectos dependen de las propiedades químicas del agroquímico, concentración de uso y de la biología del hongo, en este sentido estudios desarrollados por Sabogal-Vargas *et al.* (2023) demostraron que el insecticida clorpirifos en concentraciones de 960, 1.200 y 1.440 mg. L⁻¹ inhibía el crecimiento micelial de *Trichoderma asperellum* TCA3, *T. asperellum* TCA21 y *Trichoderma harzianum* TCA23 conforme su concentración aumentó, no obstante, la germinación de los conidios de *T. asperellum* TCA21 no se vio afectada, relacionando la inhibición de la germinación de los conidios en las otras cepas a una acumulación de auto-inhibidores de la germinación, que provocó en estos un estado de dormancia (Sabogal-Vargas *et al.*, 2023).

Para algunos insecticidas y coadyuvantes, el efecto inhibitorio se ha relacionado con la alteración de la carga electrostática de la superficie fúngica y la potencial eliminación de la capa mucosa que cubre los conidios, por la interrupción del metabolismo en la pared celular y su afecto en la permeabilidad de la membrana (Clifford y Hislop, 1975; Rashid *et al.*, 2012; Fait *et al.*, 2019); lo que explicaría particularmente porque el crecimiento micelial se inhibió, pero no la germinación de los conidios. El principio activo del bioplaguicida son conidios del hongo y cuando se aplicaron en la filosfera suspendidos en las soluciones de los coadyuvantes, germinaron y el hongo se estableció en la filosfera, razón por la cual, las poblaciones de *T. koningiopsis* Th003 recuperadas fueron superiores o similares al control; con lo cual se puede proponer que tanto los coadyuvantes como los insecticidas evaluados pueden ser aplicados junto con el bioplaguicida, condición que se aplica con los fungicidas que no afectaron la germinación de los conidios.

La tolerancia y resistencia de un hongo principalmente a los fungicidas es considerado como un proceso evolutivo, donde la exposición a un

for other *Trichoderma* species. It may also produce degradative enzymes or proteins responsible for regulating agrochemical degradation processes, allowing it to tolerate and grow in their presence (Tripathi *et al.*, 2013; Ramangouda *et al.*, 2023).

CONCLUSIONS

The fungicides used to control oomycetes (Cyazofamid, Dimethomorph, Fenamidone - Fosetyl-Al, Fosetyl - Propamocarb, Fluopicolide - Propamocarb, Hexaconazole, Mandipropamid, Propamocarb - Fenamidone) did not affect mycelial growth or conidia germination of *T. koningiopsis* Th003. In contrast, those used against ascomycetes or basidiomycetes showed some inhibition. Mycelial growth was completely inhibited by Thiram - Pyrimethanil, Prochloraz, Thiabendazole, Spiroxamine and Triadimenol -Tebuconazole. Thiram - Pyrimethanil, Dodine and Iminoctadine Tris (Albesilate) also inhibited conidial germination. The insecticides Beta-Cyfluthrin - Imidacloprid, Permethrin and Malathion inhibited mycelial growth but did not affect conidia germination. Most adjuvants inhibited mycelial growth by 44-70% but did not impact conidia germination or fungal establishment on the leaf surface. Carrier[®] was the exception with no effect. Thus, considering integrated pest management strategies, it is possible to mix adjuvants, insecticides and fungicides that did not inhibit *T. koningiopsis* Th003 conidia germination with the biopesticide.

ACKNOWLEDGEMENT

The authors would like to thank the Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria - AGROSAVIA for funding the project "Adjustment and optimization of bioproducts phase III", which allowed the development of this work.

principio activo ejerce presión de selección sobre una población, matando a la población inicial (silvestre) pero no a la alterada (mutante), de esta forma la sobreexposición acelera los cambios hacia poblaciones tolerantes y resistentes, las cuales han desarrollan mecanismos como la alteración o sobreexpresión del sitio de acción del fungicida, su detoxificación y su exclusión o expulsión desde el sitio de acción (FRAC, 2019).

No obstante, la tolerancia que *T. koningiopsis* Th003 mostró para algunos agroquímicos, en particular fungicidas, puede deberse al metabolismo del hongo, ya que, en la fabricación del bioplaguicida Tricotec[®] WG el hongo utilizado no se expone a ningún agroquímico, empleándose para esto un banco de germoplasma y no el hongo recuperado del ambiente, lo cual puede suponer tal como se ha reportado para otras especies de *Trichoderma* la presencia de genes de tolerancia al estrés en *T. koningiopsis* Th003, así como la producción de enzimas degradadoras o proteínas responsables de regular procesos de degradación del agroquímico, permitiéndole tolerarlo y crecer en su presencia (Tripathi *et al.*, 2013; Ramangouda *et al.*, 2023).

CONCLUSIONES

Los fungicidas utilizados en el control de oomicetos (Ciazofamida, Dimetomorf, Fenamidone - Fosetyl-Al, Fosetil - Propamocarb, Fluopicolide - Propamocarb, Hexaconazole, Mandipropamid, Propamocarb - Fenamidona) no afectaron el crecimiento micelial o la germinación de los conidios de *T. koningiopsis* Th003, mientras que aquellos utilizados en el control de ascomicetos o basidiomicetos presentaron alguna inhibición, no obstante, en presencia de Thiram - Pirimetanil, Prochloraz, Thiabendazol, Spiroxamina y Triadimenol -Tebuconazole, el crecimiento fue inhibió totalmente. Thiram

CITED LITERATURE

- Clifford DR and Hislop EC. 1975. Surfactants for the control of apple mildew. *Pesticide Science* 6(4): 409–418. <https://doi.org/10.1002/ps.2780060409>
- Debener T and Byrne DH. 2014. Disease resistance breeding in rose: Current status and potential of biotechnological tools. *Plant Science* 228: 107–117. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2014.04.005>
- Escudero-Leyva E, Alfaro-Vargas P, Muñoz-Arrieta R, Charpentier-Alfaro C, Granados-Montero MdM, Valverde-Madrigal KS, Pérez-Villanueva M, Méndez-Rivera M, Rodríguez-Rodríguez CE, Chaverri P and Mora-Villalobos JA. 2022. Tolerance and biological removal of fungicides by *Trichoderma* species isolated from the endosphere of wild rubiaceae Plants. *Frontiers in Agronomy* 3:772170. <https://doi.org/10.3389/fagro.2021.772170>
- Fait ME, Bakas L, Garrote GL, Morcelle S and Saparrat M. 2019. Cationic surfactants as antifungal agents. *Appl Microbiol Biotechnol* 103: 97–112 <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9467-6>
- Figueredo CA, Rincón NS and Salazar NS. 2018. Caracterización del cumplimiento inicial de la Norma Global G.A.P., aplicada a pequeños agricultores de Duitama. *Entre Ciencia e Ingeniería* 12(23): 32-39. <http://dx.doi.org/10.31908/19098367.3700>
- Fungicide Resistance Action Committee – FRAC. 2019. Clasificación de fungicidas y bactericidas según el modo de acción. FRAC España 25p. https://fmcagro.es/img/folleto_Clasificaci%C3%B3n%20de%20fungicidas%20y%20bactericidas%20seg%C3%BAn%20el%20modo%20de%20acci%C3%B3n
- Gow NAR, Latge JP, Munro CA. 2017. The fungal cell wall: Structure, biosynthesis and function. *Microbiology Spectrum* 5(3): 1-25. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.FUNK-0035-2016>
- Moreno-Velandia CA, Izquierdo-García LF, Zapata-Narváez YA, Beltrán-Acosta CR and Zuluaga-Mogollón MV. 2020. Tricotec® WG Biofungicida. Recomendaciones de uso y patógenos blanco. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria–AGROSAVIA. 48 p. <http://hdl.handle.net/20.500.12324/36526>
- Muy-Rangel MD, Osuna-Valle JR, García-Estrada RS, San Martín-Hernández C, Quintana-Obregón EA. 2017. In vitro antifungal activity of garlic essential oil (*Allium sativum* L.) against *Alternaria tenuissima*. *Revista Mexicana de Fitopatología* 36(1): 162-171. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1708-3>
- Nivelo K, Pacheco A and Pupo J. 2020. Global GAP y su complemento GRASP: Filosofía de Responsabilidad Social Empresarial del Sector Agroalimentario. 593 Digital Publisher CEIT 5(3): 93-111. <https://doi.org/10.33386/593dp.2020.3.221>

- Pirimetanil, Dodine y Iminoctadine Tris (Albesilate) inhibieron la germinación de los conidios. Insecticidas como Beta- Ciflutrina - Imidacloprid, Permetrina y Malatión inhibieron el crecimiento; sin embargo, no afectaron la germinación de conidios. Respecto a los coadyuvantes a excepción de Carrier®, inhibieron el crecimiento micelial entre un 44 y 70% pero no afectaron la germinación de los conidios o el establecimiento del hongo en la superficie foliar. De este modo y pensando en el desarrollo de estrategias de manejo integrado, es posible mezclar los coadyuvantes, insecticidas y los fungicidas que no afectaron la germinación de los conidios de *T. koningiopsis* Th003 con el bioplaguicida.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria - AGROSAVIA por la financiación del proyecto “Ajuste y optimización de bioproductos fase III” que permitió el desarrollo de este trabajo.

~~~~~ Fin de la versión en Español ~~~~~

- Ramangouda G, MK Naik, RB Nitnavare, R Yeshvekar, J Bhattacharya, Bhatnagar-Mathur P and Sharma M. 2023. Genetic enhancement of *Trichoderma asperellum* biocontrol potentials and carbendazim tolerance for chickpea dry root rot disease management. *PLoS ONE* 18(1): e0280064. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0280064>
- Rashid M, Sheikhi A, Naseri B, Ghazavi M and Barari H. 2012. Compatibility of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* with the insecticides fipronil, pyriproxyfen and hexaflumuron. *Journal of Entomological Society of Iran* 31(2): 29-37. [https://jesi.areeo.ac.ir/article\\_105469.html?lang=en](https://jesi.areeo.ac.ir/article_105469.html?lang=en)
- Restrepo S, Enciso J, Tabima J and Riaño DM. 2016. Evolutionary history of the group formerly known as protists using a Phylogenomics approach. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales* 40(154): 147-160. <https://doi.org/10.18257/raccefyn.277>

- Sabogal-Vargas AM, Wilson-Krugg J, Rojas-Villacorta W, De La Cruz-Noriega M, Otiniano N. M., Rojas-Flores, S., & Mendoza-Villanueva, K. 2023. *In vitro* compatibility of three native isolates of *Trichoderma* with the insecticide chlorpyrifos. *Applied Sciences* 13(2): 811. <https://doi.org/10.3390/app13020811>
- Sain SK, Monga D, Kranthi S, Hiremani NS, Nagrale DT, Kumar R and Prasad YG. 2022. Evaluation of the bioefficacy and insecticide compatibility of entomopathogens for management of whitefly (Hemiptera: Aleyrodidae) on upland cotton under laboratory and polyhouse conditions. *Neotropical Entomology* 51(4): 600-612. <https://doi.org/10.1007/s13744-022-00964-9>
- Samada LH and Tambunan, US. 2020. Biopesticides as Promising Alternatives to Chemical Pesticides: A Review of Their Current and Future Status. *OnLine Journal of Biological Sciences* 20 (2): 66-76. <https://doi.org/10.3844/ojbsci.2020.66.76>
- Sanderson-Bellamy A, Svensson O, van den Brink P and Tedengren M. 2016. What is in a label? Rainforest-Alliance certified banana production versus non-certified conventional banana production. *Global Ecology and Conservation* 7: 39-48. <https://doi.org/10.1016/j.gecco.2016.05.002>
- Tripathi P, Singh PC, Mishra A, Chauhan PS, Dwivedi S, Bais RT and Tripathi RD. 2013. *Trichoderma*: a potential bioremediator for environmental clean-up. *Clean Technologies and Environmental Policy* 15: 541-550. <https://doi.org/10.1007/s10098-012-0553-7>