

Sensibilidad *in vitro* de dos especies de *Sclerotinia* spp. y *Sclerotium cepivorum* a agentes de control biológico y fungicidas

In vitro sensitivity of two species of *Sclerotinia* spp. and *Sclerotium cepivorum* to agents of biological control and fungicides

Luis Pérez Moreno*, José Roberto Belmonte Vargas, Héctor Gordon Núñez Palenius, Rafael Guzmán Mendoza, Briseida Mendoza Celedón. Cuerpo Académico de Protección Vegetal (UGTO-CA-81), Departamento de Agronomía, División de Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca, Universidad de Guanajuato, km 9 Carretera Irapuato-Silao, Irapuato, Gto., C. P. 36821. México. *Correspondencia: luispm@ugto.mx.

Recibido: Junio 22, 2015.

Aceptado: Julio 09, 2015.

Pérez-Moreno L, Belmonte-Vargas JR, Núñez-Palenius HG, Guzmán-Mendoza R y Mendoza-Celedón B. 2015. Sensibilidad de especies de *Sclerotinia* spp. y *Sclerotium cepivorum* a agentes de control biológico y fungicidas. Revista Mexicana de Fitopatología 33: 256-267.

Resumen. Se evaluó la respuesta *in vitro* de dos aislados de *Sclerotinia minor*, cinco de *S. sclerotiorum*, y dos de *Sclerotium cepivorum* a 16 agentes biológicos y ocho fungicidas en un diseño experimental de parcelas divididas con arreglo factorial por cada patógeno. El factor A correspondió a los aislados del hongo y el factor B a los productos de control. La comparación de medias se realizó con la prueba de Tukey ($P < 0.05$). Se hicieron 11 evaluaciones cada 24 horas del crecimiento promedio radial micelial (Cprm). En ningún caso se encontró efecto de aislado, solo o en interacción con los productos de control. Dicloran, Benomilo, Ciprodinilo-Fludioxonilo y Tebuconazole inhibieron el desarrollo micelial de todos los hongos en mayor proporción que los agentes biológicos (AB) con un

Abstract. The *in vitro* response of two *Sclerotinia minor*-, five *S. sclerotiorum*- and two *Sclerotium cepivorum*-isolates to 16 biological control agents and eight fungicides was evaluated. A split plot experimental design was used, with a factorial arrangement correction for each pathogen. Factor A corresponded to fungi isolates and Factor B to control agents. The comparison of means was carried out using a Tukey test ($P < 0.05$), having 11 evaluations every 24 h of the Mycelial radial growth rates (Mrgr). In any case no effect was found, alone or in interactions with control agents. Dicloran, Benomyl, Tebuconazole and Cyprodinil-Fludioxonil inhibited the mycelial growth of all fungi with a final average of 1.0 Mrgr, and in greater proportion than biological agents (BA). The BA that propitiated the lesser mycelial growth towards *S. minor* were: Microorganisms (BPG-Plus), *Trichoderma* sp. (*Trichoderma*), *T. viride* (*Esporalis*) and *Bacillus subtilis* (*Serenade max*); with isolates of *S. sclerotiorum*, *Trichoderma* sp. (*Trichoderma*), *Trichoderma harzianum* (*Natucontrol*), Microorganisms (BPG-Plus) and *T.*

promedio final de 1.0 Cprm. Los AB que propiciaron el menor crecimiento promedio radial micelial (Cprm, cm), en *S. minor* fueron Microorganismos (BPG-Plus), *Trichoderma* sp. (Trichoderma), *T. viride* (Esporalis) y *Bacillus subtilis* (Serenade max) con 1.2, 1.3, 1.5 y 1.9 Cprm, respectivamente. En *S. sclerotiorum*, *Trichoderma* sp. (Trichoderma), *Trichoderma harzianum* (Natucontrol), Microorganismos (BPG-Plus) y *T. harzianum* (Biotricho-H) fueron los más inhibidores con 1.5, 1.6, 2.4 y 2.5 Cprm, respectivamente. *S. cepivorum*, *Trichoderma* sp., (Trichoderma), *T. viride* (Esporalis), *T. harzianum* (Natucontrol) y Microorganismos (BPG-plus) fueron las más sobresalientes con 1.0, 1.7, 2.6, y 2.7, respectivamente. En todos estos casos se superó estadísticamente al testigo (6.6-7.9 Cprm, $p=0.05$). En general, *Trichoderma* sp. y Microorganismos fueron los más consistentes en su capacidad de inhibición de los tres fitopatógenos.

Palabras clave: Hortalizas, hongos fitopatógenos del suelo, biofungicidas, control químico.

El estado de Guanajuato cuenta con un potencial hortícola excepcional; se encuentra dentro de los primeros lugares en producción de 70 especies de importancia agrícola, entre las que destacan cultivos hortofrutícolas como ajo (*Allium sativum* L.), lechuga (*Lactuca sativa* L.) y papa (*Solanum tuberosum* L.) (SIAP, 2013).

Las enfermedades constituyen uno de los factores de mayor riesgo para la producción de las hortalizas. En los últimos años, las enfermedades fúngicas han ocasionado fuertes pérdidas económicas en la producción de diferentes especies hortícolas en México y en el mundo (Fisher *et al.*, 2012). Estas se han incrementado en las zonas productoras del país, siendo el Bajío una de las zonas de mayor incidencia de enfermedades de origen fúngico (Montes *et al.*, 2003).

harzianum (Biotricho-H), with a Mrgr of 1.48, 1.56, 2.35 and 2.53, respectively. For *S. cepivorum*, the best management was obtained with *Trichoderma* sp. (Trichoderma), *T. viride* (Esporalis), *T. harzianum* (Natucontrol) and Microorganisms (BPG-plus), with a Mrgr of 1.03, 1.73, 2.55 and 2.70, respectively. In summary, *Trichoderma* sp. and Microorganisms were the most consistent in their ability to inhibit the three pathogens.

Key words: Vegetables, soil borne fungi, biofungicides, chemical control.

The state of Guanajuato has an exceptional potential for horticulture; it is among the first places in the production of 70 species of agricultural importance, some of the most outstanding of which include garlic (*Allium sativum* L.), lettuce (*Lactuca sativa* L.), and potato (*Solanum tuberosum* L.) (SIAP, 2013).

Diseases are one of the most risk factors for the production of vegetables. In recent years, fungal diseases have caused major economic losses in the production of different vegetable species in Mexico and the rest of the world (Fisher *et al.*, 2012). These have increased in the productive areas of the country, with Bajío as one of the zones with the highest incidence of fungal diseases (Montes *et al.*, 2003).

The resistance structures of some phytopathogenic soil fungi, such as sclerotia, can remain viable in the soil for over 20 years, such as in the case of *S. cepivorum* (Pérez *et al.*, 2009), originating different space and time distribution patterns as a product of reincorporation of the sclerotia and remains of diseased plants due to inadequate cultural practices carried out by farmers, as well as by natural processes. In this way, the inocula of *S. cepivorum* Berk., *S. sclerotiorum*, and *S. minor* can be scattered in the fields and

Las estructuras de resistencia de algunos hongos fitopatógenos del suelo, como los esclerocios, pueden permanecer viables en el suelo por más de 20 años, como es el caso de *S. cepivorum* (Pérez *et al.*, 2009), originando diferentes patrones de distribución espacio-temporal, producto de la reincorporación de los esclerocios y restos de plantas enfermas por las prácticas culturales inadecuadas realizadas por los agricultores, y de igual forma por procesos naturales. De esta forma, el inóculo de *S. cepivorum* Berk., *S. sclerotiorum* y *S. minor*, puede ser dispersado en los campos de producción y permanecer latente dentro de los terrenos agrícolas, dificultando el manejo de las enfermedades (Adams y Papavizas, 1986; Ibarra *et al.*, 2010).

La mayoría de los agricultores utilizan los fungicidas como método de control de enfermedades; sin embargo, el uso excesivo puede inducir el desarrollo de resistencia en los patógenos, a la vez que se generan residuos tóxicos en alimentos y medio ambiente, poniendo en riesgo la salud humana (Fisher *et al.*, 2012); ésto ha llevado a la búsqueda de nuevos fungicidas, que en algunos casos se encuentran en otros organismos (biofungicidas) (Angulo *et al.*, 2009). El control biológico (CB) de fitopatógenos se presenta como una alternativa eficaz, económica y libre de riesgo frente a los numerosos y crecientes problemas derivados del uso indiscriminado de agroquímicos (Agrios, 2005). La mayoría de los agentes antagonistas utilizados en control biológico son saprófitos debido a su facilidad de adaptación al medio y a su alta capacidad de competencia por nutrientes frente a otros organismos (Nelson, 1991; Michel *et al.*, 2009).

Con base en la problemática antes descrita, se planteó como objetivo determinar la sensibilidad *in vitro* a agentes de control biológico y fungicidas de aislados de *S. minor*, *S. sclerotiorum*, y *S. cepivorum* en cultivos de ajo, frijol, lechuga, papa y radicchio.

remain latent in them, making disease control more difficult (Adams and Papavizas, 1986; Ibarra *et al.*, 2010).

Most farmers use fungicides as a disease control method, although its excessive use may lead to resistance in the pathogens, while generating toxic residues in foods and the environment, thus becoming a risk to human health (Fisher *et al.*, 2012); this has led to a search for new fungicides, which, in some cases, are found in other organisms (biofungicides) (Angulo *et al.*, 2009). Biological control (BC) of phytopathogens presents itself as an efficient and affordable alternative, as well as risk-free in the face of numerous and increasing problems deriving from the excessive use agrochemicals (Agrios, 2005). Most antagonistic agents used in biological control are asprophytes, due to their adaptability to the surroundings, and their high capability of competition for nutrients with other organisms (Nelson, 1991; Michel *et al.*, 2009).

Based on the problem described above, the aim of this work was to determine the *in vitro* sensibility to biological control agents and isolated fungicides of *S. minor*, *S. sclerotiorum*, and *S. cepivorum* in plantations of garlic, bean, lettuce, potato, and radicchio.

The investigation was carried out in commercial vegetable fields in the state of Guanajuato and in the Plant Pathology Lab of the Life Sciences Division of the Irapuato-Salamanca Campus of the University of Guanajuato.

Obtaining isolates. *S. minor* was isolated from symptomatic lettuce (*L. sativa*) plants in San Miguel de Allende and Salamanca counties, Guanajuato; *S. sclerotiorum* was isolated from symptomatic lettuce (*L. sativa*) plants in Salamanca and Irapuato counties, Guanajuato; radicchio (*Cichorium intybus*) in Celaya municipality, Guanajuato;

La investigación se realizó en campos de producción comercial de hortalizas del estado de Guanajuato y en el laboratorio de Fitopatología de la División de Ciencias de la Vida del Campus Irapuato-Salamanca de la Universidad de Guanajuato.

Obtención de aislados. *S. minor* se aisló de plantas sintomáticas de lechuga (*L. sativa*) de San Miguel de Allende y de Salamanca, Gto., *S. sclerotiorum* se aisló de plantas sintomáticas de lechuga (*L. sativa*) en Salamanca e Irapuato, de radicchio (*Cichorium intybus*) en Celaya, de frijol (*Phaseolus vulgaris*) en Guasave, y de papa (*S. tuberosum*) en Tangamandapio. Finalmente, *S. cepivorum* se aisló de plantas sintomáticas de ajo (*A. sativum*) de Salamanca, Gto., y de Córdoba, España.

De cada aislado se tomaron esclerocios y parte de tejido que presentó síntomas de la enfermedad, se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 1 %, y se cultivaron en Papa Dextrosa Agar (PDA) durante ocho días a 20±2 °C para *S. minor*; y a temperatura ambiente de laboratorio para *S. sclerotiorum* y *S. cepivorum*.

Agentes de control biológico y fungicidas. Los agentes de control biológico y fungicidas que se evaluaron (Cuadros 1, 2 y 3) se aplicaron con base en las recomendaciones comerciales.

Sensibilidad *in vitro* y evaluación de productos biológicos y fungicidas. Se pesaron y midieron las dosis recomendadas comercialmente de los productos biológicos y fungicidas a evaluar para ser agregados al agar y posteriormente se vació en cajas Petri. Al solidificar el agar, se colocaron en el centro de la caja discos de un centímetro de diámetro de la periferia de las colonias obtenidas de cada aislado y se incubaron a 20±2 °C.

bean (*Phaseolus vulgaris*) in Guasave county, Sinaloa; and potato (*S. tuberosum*) in Santiago Tangamandapio municipality, Michoacán. Finally, *S. cepivorum* was isolated from symptomatic garlic plants (*A. sativum*) in Salamanca county, Guanajuato, and in Cordoba, Spain.

From each isolate, sclerotia were taken, along with part of the tissue that displayed symptoms of the disease; they were disinfected with sodium hypochlorite at 1%, and then planted in Potato Dextrose Agar (PDA) for eight days at 20±2 °C for *S. minor*; and at room temperature for *S. sclerotiorum* and *S. cepivorum*.

Biological control agents and fungicides. Biological control agents and fungicides evaluated (Tables 1, 2 and 3) were applied based on commercial recommendations.

***In vitro* sensibility and evaluation of biological products and fungicides.** We weighed the commercially recommended doses of the biological products and fungicides to be evaluated and added to the agar, then poured into Petri dishes. When the agar solidified, disks, 1 cm in diameter were placed in the center of the dish from the periphery of the colonies obtained from each isolation and incubated at 20±2°C.

Evaluation of mycelium growth. The colony diameter was measured in two directions – the longest and shortest length – and mycelial growth was obtained as the average of both values in the directions at 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 192, 216, 240, and 268 hours after placing the disk with the fungi on the edge of each Petri dish in each of the three treatment repetitions (Pérez *et al.*, 1997; Pérez *et al.*, 2009).

Cuadro 1. Crecimiento promedio radial micelial (Cprm) *in vitro* de dos aislados de *S. minor*, obtenidos del cultivo de lechuga (*Lactuca sativa*) con respecto a 24 tratamientos de productos de control biológicos (16) y fungicidas (8).

Table 1. *In vitro* Mycelial radial average growth (Mrag) of two *S. minor* isolates obtained from lettuce (*L. sativa*) with regard to 24 treatments with biological control products (16) and fungicides (8).

No.	Nombre común	Nombre comercial	Cprm (cm)					
			24 h	72 h	144 h	192 h	240 h	264 h
1	Dicloran	Botran	1.00 a ^x	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a
2	Benomilo	Blindaje 50	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a
3	Boscalid	Cabrio	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a
4	Iprodione	Rovral	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a
5	Clorotalonil-Cymoxanil	Strike	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a
6	Ciprodinilo-Fludioxonilo	Swish	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a
7	Tebuconazole	Tebucur	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a
8	Clorotalonil	Trevanil	1.00 a	1.30abc	1.53abc	1.53ab	1.53 a	1.53 a
9	<i>A. viridis</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>Streptomyces</i> sp.	Baktillis	1.00 a	1.73 cd	3.33 d	4.43de	5.63 de	6.00 de
10	Microorganismos	BPG-Plus	1.00 a	1.16 ab	1.16 a	1.16ab	1.16 a	1.16 a
11	<i>Trichoderma</i> sp.	Trichoderma	1.00 a	1.31abc	1.31 ab	1.31ab	1.31 a	1.31 a
12	<i>Bacillus</i> sp., <i>Glomus</i> sp.	Soil cure	1.01 ab	2.78 fg	5.01 fg	5.93 g	6.55efg	6.71efg
13	<i>B. subtilis</i>	Serenade Max	1.03abc	1.10 ab	1.36abc	1.55ab	1.75 a	1.85 a
14	<i>T. viride</i>	Esporalis	1.06 abcd	1.08 ab	1.21 a	1.36ab	1.46 a	1.51 a
15	<i>B. subtilis</i>	Bacillus subtilis	1.08 abcd	1.58bcd	1.93 bc	2.60 c	3.35 b	3.70 b
16	<i>T. harzianum</i>	Natucontrol	1.10 abcd	1.88 de	2.03 c	2.03bc	2.03 a	2.03 a
17	Testigo	Testigo	1.10 abcd	2.01 de	4.43 ef	5.93 g	7.30 fg	7.86 h
18	<i>B. subtilis</i> , <i>B. cereus</i> , <i>B. megaterium</i>	Rhizobac combi	1.13 abcd	1.95 de	3.00 d	3.65 d	4.26 bc	4.66 bc
19	<i>S. lydicus</i>	Actinovate	1.16bcd	2.26 ef	4.23 e	5.41 fg	6.26 ef	6.56 ef
20	<i>B. subtilis</i>	Natu bac-s	1.16bcd	3.61 h	6.05 h	6.90 h	7.41 g	7.61fgh
21	<i>T. harzianum</i>	Triko root	1.18 cd	2.06 de	3.18 d	4.01de	4.91 cd	5.36 cd
22	<i>T. harzianum</i>	Biotricho-H	1.20 d	3.00 g	4.38 ef	4.83 ef	4.90 cd	4.90 c
23	<i>B. subtilis</i>	Probacil	1.20 d	2.73 fg	5.16 g	6.31gh	7.26 fg	7.55fgh
24	<i>B. subtilis</i>	Probac bs	1.21 d	2.36 ef	4.85 efg	6.23gh	7.31 fg	7.68 gh
25	<i>G. virens</i>	Soil gard	1.56 e	8.25 i	8.50 i	8.50 i	8.50 h	8.50 h

^x Cada valor representa el promedio de dos aislados. Valores en cada columna con letras diferentes, son estadísticamente diferentes. Comparación Múltiple de Medias DSH Tukey $P \leq 0.05$ / Each value represents the average of both isolates. Values in each column with different letters are statistically different. Multiple comparison of averages DSH Tukey $P \leq 0.05$.

Evaluación del crecimiento del micelio. Se midió el diámetro de la colonia en dos direcciones, en la mayor y menor longitud, y el crecimiento micelial se obtuvo como el promedio de los valores en las dos direcciones a las 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 192, 216, 240 y 268 horas, posteriores a la colocación del disco con el hongo en el centro de cada caja Petri en cada una de las tres repeticiones de

Statistical analysis. In the three experiments, a split plot experimental design was used, with a factorial arrangement correction with three repetitions. In each experiment there was a factorial arrangement: factor A was assigned to fungal isolations, which had two, five, and two levels; factor B was assigned to the biological control agents and fungicides, which had 25 levels. This gave a total of 50,

Cuadro 2. Crecimiento promedio radial micelial (Cprm) *in vitro* de cinco aislados de *S. sclerotiorum*, obtenidos de los cultivos de lechuga (*L. sativa*), frijol (*Phaseolus vulgaris*), papa (*Solanum tuberosum*) y radicchio (*Cichorium* sp) con respecto a 24 tratamientos de productos biológicos (16) y fungicidas (8).

Table 2. *In vitro* Mycelial radial average growth (Mrag) of five *S. sclerotiorum* isolates, obtained from lettuce (*L. sativa*), bean (*P. vulgaris*), potato (*S. tuberosum*), and radicchio (*Cichorium* sp) plants with regard to 24 treatments with biological control products (16) and fungicides (8).

No.	Nombre común	Nombre comercial	Cprm (cm)						
			24 horas	72 horas	120 horas	192 horas	240 horas	264 horas	
1	Dicloran	Botran	1.00 a ^x	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a
2	Benomilo	Blindaje 50	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a
3	Ciprodinilo-Fludioxonilo	Swish	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a
4	Tebuconazole	Tebucur	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a
5	Clortalonil-Cymoxanil	Strike	1.02 a	1.16 a	1.28 ab	1.38 ab	1.42 ab	1.42 ab	1.42 ab
6	Clortalonil	Trevanil	1.04 ab	1.23 ab	1.38 ab	1.55 abc	1.80 abc	1.94 abc	1.94 abc
7	Iprodione	Rovral	1.05 ab	1.30 ab	1.43 abc	1.86 abc	2.12 bc	2.24 bc	2.24 bc
8	Boscalid	Cabrio	1.06 abc	1.30 ab	1.47 abc	1.49 abc	1.50 abc	1.50 abc	1.50 abc
9	<i>Trichoderma</i> sp.	Trichoderma	1.04 ab	1.44 abc	1.48 abc	1.48 abc	1.48 abc	1.48 abc	1.48 abc
10	<i>T. harzianum</i>	Natucontrol	1.08 abcd	1.49 abc	1.56 abc	1.56 abc	1.56 abc	1.56 abc	1.56 abc
11	<i>B. subtilis</i>	Serenade Max	1.10 abcd	2.12 cde	2.84 d	3.56 d	3.96 e	4.01 e	4.01 e
12	<i>Bacillus</i> sp., <i>Glomus</i> sp.	Soil cure	1.13 abcd	2.97 fgh	4.38 ef	5.49 efg	5.78 fgh	5.86 fg	5.86 fg
13	<i>T. viride</i>	Esporalis	1.14abcde	2.62 defg	3.38 de	3.48 d	3.49 de	3.49 de	3.49 de
14	<i>B. subtilis</i>	Natu bac-s	1.15abcde	2.83 efgh	4.46 ef	5.67 efgh	6.06 fghi	6.06 fgh	6.06 fgh
15	<i>T. harzianum</i>	Biotricho-H	1.18abcde	2.02 bcd	2.53 cd	2.53 cd	2.53 cd	2.53 cd	2.53 cd
16	<i>B. subtilis</i>	Bacillus subtilis	1.25 bcdef	3.36 ghi	5.12 fg	5.80 efgh	6.04 fghi	6.08 fgh	6.08 fgh
17	Microorganismos	BPG-Plus	1.27 cdefg	2.11 cde	2.34 bcd	2.35 bc	2.35 bc	2.35 bc	2.35 bc
18	<i>A. viridis</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>Streptomyces</i> sp.	Baktillis	1.28 cdefg	2.94 fgh	4.36 ef	5.22 ef	5.46 f	5.52 f	5.52 f
19	<i>G. virens</i>	Soil gard	1.29defg	4.70 j	6.04 g	6.67 h	6.79 hi	6.80 gh	6.80 gh
20	<i>B. subtilis</i> , <i>B. cereus</i> , <i>B. megaterium</i>	Rhizobac combi	1.36 efg	3.27 gh	4.36 ef	5.16 ef	5.60 fg	5.81 fg	5.81 fg
21	Testigo	Testigo	1.40 fgh	3.54 hi	5.02 fg	6.03 fgh	6.42 fghi	6.56 fgh	6.56 fgh
22	<i>S. lydicus</i>	Actinovate	1.43 fgh	4.85 j	5.72 g	6.14 fgh	6.29 fghi	6.32 fgh	6.32 fgh
23	<i>B. subtilis</i>	Probacil	1.48 gh	2.37 def	3.40 de	4.92 e	5.56 fg	5.74 fg	5.74 fg
24	<i>T. harzianum</i>	Triko root	1.48 gh	3.44 hi	5.24 fg	6.31 gh	6.89 i	7.12 h	7.12 h
25	<i>B. subtilis</i>	Probac bs	1.60 h	4.14 ij	5.40 fg	6.18 fgh	6.62 ghi	6.79 gh	6.79 gh

*Cada valor representa el promedio de dos aislados. Valores en cada columna con letras diferentes, son estadísticamente diferentes. Comparación Múltiple de Medias DSH Tukey $P \leq 0.05$ / Each value represents the average of two isolates. Values in each column with different letters are statistically different. Multiple. Comparison of averages DSH Tukey $P \leq 0.05$.

cada tratamiento (Pérez *et al.*, 1997; Pérez *et al.*, 2009).

Análisis estadístico. En los tres experimentos se utilizó un diseño experimental de parcelas divididas con arreglo factorial, con tres repeticiones. En cada experimento se tuvo un arreglo factorial, el factor A correspondió a los aislados del hongo, los

125, and 50 treatments, respectively. In all three experiments, the multiple comparison of averages was carried out using Tukey's test ($P \leq 0.05$).

Sclerotinia minor. The two isolates of *S. minor* were sensitive to seven of the eight fungicides (Dicloran, Benomyl, Boscalid, Iprodione, Tebuconazole, Cyprodinil-Fludioxonil, and

Cuadro 3. Crecimiento promedio radial micelial (Cprm) *in vitro* de dos aislados de *S. cepivorum* obtenidos del cultivo de ajo (*Allium sativum*) con 24 tratamientos de productos biológicos (16) y fungicidas (8).

Table 3. *In vitro* Mycelial radial average growth (Cprm) *in vitro* of two *S. cepivorum* isolates obtained from plantations of garlic (*A. sativum*) with 24 treatments of biological products (16) and fungicides (8).

No.	Nombre común	Nombre comercial	Cprm (cm)					
			24 horas	72 horas	144 horas	192 horas	240 horas	264 horas
1	Dicloran	Botran	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a
2	Benomilo	Blindaje 50	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a
3	Boscalid	Cabrio	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a
4	Iprodione	Rovral	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a
5	Clorotalonil-Cymoxanil	Strike	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a
6	Ciprodinilo-Fludioxonilo	Swish	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a
7	Tebuconazole	Tebucur	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a
8	Clorotalonil	Trevanil	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a
9	<i>S. lydicus</i>	Actinovate	1.00 a	2.51 def	5.33 f	6.70 fg	7.26 fg	7.68 hi
10	<i>T. harzianum</i>	Biotricho-H	1.00 a	2.55 ef	4.75 ef	4.75 cd	4.75 d	4.75 de
11	<i>T. harzianum</i>	Natucontrol	1.00 a	1.91 bc	2.55 bc	2.55 b	2.55 bc	2.55 b
12	<i>Bacillus</i> sp., <i>Glomus</i> sp.	Soil cure	1.00 a	2.53 ef	6.68 gh	7.78 gh	8.31 gh	8.45 i
13	<i>G. virens</i>	Soil gard	1.00 a	4.01 g	6.70 gh	7.88 gh	8.50 h	8.50 i
14	<i>Trichoderma</i> sp.	Trichoderma	1.00 a	1.03 a	1.03 a	1.03 a	1.03 a	1.03 a
15	<i>A. viridis</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>Streptomyces</i> sp.	Baktillis	1.01 a	2.28 bcdef	4.66 ef	5.88 ef	6.83 ef	7.23 gh
16	Testigo	Testigo	1.01 a	2.86 f	5.43 f	6.30 ef	6.90 ef	7.06 gh
17	<i>T. harzianum</i>	Triko root	1.01 a	1.93 cd	3.98 de	4.96 cd	5.76 de	6.15 fg
18	<i>B. subtilis</i>	Natu bac-s	1.03 a	2.78 f	7.75 h	8.40 h	8.50 h	8.50 i
19	<i>B. subtilis</i>	Probac bs	1.05 ab	2.65 ef	4.71 ef	4.83 cd	4.83 d	4.83 de
20	<i>B. subtilis</i>	Bacillus subtilis	1.06 ab	2.83 f	5.71 fg	6.35 ef	6.91 ef	7.15 gh
21	<i>T. viride</i>	Esporalis	1.06 ab	1.73 b	1.73 ab	1.73 ab	1.73 ab	1.73 ab
22	<i>B. subtilis</i>	Probacil	1.06 ab	2.41 cdef	4.71 ef	5.33 cde	5.38 d	5.38 ef
23	<i>B. subtilis</i> , <i>B. cereus</i> , <i>B. megaterium</i>	Rhizobac combi	1.06 ab	2.06 bcde	3.43 cd	4.55 c	5.78 de	6.25 fg
24	<i>B. subtilis</i>	Serenade Max	1.13 bc	1.81 b	2.73 bc	2.93 b	3.43 c	3.76 cd
25	Microorganismos	BPG-Plus	1.16 c	2.43 cdef	2.56 bc	2.63 b	2.68 bc	2.70 bc

*Cada valor representa el promedio de dos aislados. Valores en cada columna con letras diferentes, son estadísticamente diferentes. Comparación Múltiple de Medias DSH Tukey $P \leq 0.05$ / Each value represents the average of two isolates. Values in each column with different letters are statistically different. Multiple Comparison of averages DSH Tukey $P \leq 0.05$.

cuales tuvieron dos, cinco y dos niveles. Al factor B se le asignaron los agentes de control biológico y los fungicidas, el cual tuvo 25 niveles; lo anterior dio un total de 50, 125 y 50 tratamientos, respectivamente. En los tres experimentos, la comparación múltiple de medias se realizó con la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$).

Sclerotinia minor. Los dos aislados de *S. minor* fueron sensibles a siete de los ocho fungicidas,

Chlorothalonil), considerando this as those which did not develop a mycelial radial average growth (Mrag), 264 hours after the confrontation (Table 1). The biological control agents with the greatest fungistatic effects towards *S. minor* isolates, that is, those which caused the least Mrag 264 hours after confrontation, were: Microorganismos (BPG-Plus), *Trichoderma* sp. (*Trichoderma*), *T. viride* (*Esporalis*) and *Bacillus subtilis* (*Serenade max*), with 1.16a, 1.31a, 1.51a, and 1.85a, respectively;

Dicloran, Benomilo, Boscalid, Iprodione, Tebuconazole, Ciprodinilo-Fludioxonilo y Clorotalonil, considerando esto como los que no desarrollaron crecimiento promedio radial micelial (Cprm), a las 264 horas posteriores a la confrontación (Cuadro 1). Los agentes de control biológico que tuvieron los mayores efectos fungistáticos hacia los aislados de *S. minor*, es decir, los que propiciaron los menores crecimientos promedio radial micelial (Cprm), a las 264 horas posteriores a la confrontación, fueron: Microorganismos (BPG-Plus), *Trichoderma* sp. (Trichoderma), *T. viride* (Esporalis) y *Bacillus subtilis* (Serenade max), con 1.16a, 1.31a, 1.51a, y 1.85a, respectivamente; en comparación con *Gliocadium virens* (Soil gard), *B. subtilis* (Probac bs), *Bacillus* sp.-*Glomus* sp. (Soil cure) y *B. subtilis* (Natubacs), con 8.50h, 7.68gh, 6.71efg, y 7.61fgh, respectivamente, los cuales tuvieron los menores o nulos efectos fungistáticos hacia los aislados (Cuadro 1).

Sclerotinia sclerotiorum. Los cinco aislados fueron sensibles a cuatro de los ocho fungicidas, Dicloran, Benomilo, Tebuconazole y Ciprodinilo-Fludioxonilo, es decir, los que no presentaron crecimiento promedio radial micelial (Cprm), a las 264 horas posteriores a la confrontación (Cuadro 2). Los agentes de control biológico que tuvieron los mayores efectos fungistáticos hacia los aislados, entendiendo esto como los que propiciaron los menores crecimientos promedio radial micelial (Cprm), a las 264 horas posteriores a la confrontación, fueron: *Trichoderma* sp. (Trichoderma), *Trichoderma harzianum* (Natucontrol), Microorganismos (BPG-Plus) y *T. harzianum* (Biotricho-H), con 1.48abc, 1.56abc, 2.35bc, y 2.53cd, respectivamente; en comparación con *T. harzianum* (Triko root), *B. subtilis* (Probac bs), *G. virens* (Soil gard) y *Streptomyces lydicus* (Actinovate), con 7.12h, 6.79gh, 6.80gh, y 6.32fgh, respectivamente, los cua-

in comparison to *Gliocadium virens* (Soil gard), *B. subtilis* (Probac bs), *Bacillus* sp.-*Glomus* sp. (Soil cure) and *B. subtilis* (Natubacs), with 8.50h, 7.68gh, 6.71efg, and 7.61fgh, respectively, which had the lowest or null fungistatic effects towards the isolates (Table 1).

Sclerotinia sclerotiorum. The five isolates sensitive to four of the eight fungicides (Dicloran, Benomyl, Tebuconazole, and Cyprodinil-Fludioxonil) i.e., those which showed no Mrag 264 hours after confrontation (Table 2). The biological control agents that had the greatest fungistatic effects towards the isolates, understood as those which caused the lowest Mrag 264 hours after confrontation were *Trichoderma* sp. (Trichoderma), *Trichoderma harzianum* (Natucontrol), Microorganismos (BPG-Plus), and *T. harzianum* (Biotricho-H), with 1.48abc, 1.56abc, 2.35bc, and 2.53cd, respectively, in comparison with *T. harzianum* (Triko root), *B. subtilis* (Probac bs), *G. virens* (Soil gard), and *Streptomyces lydicus* (Actinovate), with 7.12h, 6.79gh, 6.80gh, and 6.32fgh, respectively, which had the lowest or null fungistatic effects towards the *S. sclerotiorum* isolates (Table 2).

Sclerotium cepivorum. Both isolates were sensitive to the eight fungicides (Dicloran, Benomyl, Boscalid, Iprodione, Chlorothalonil-Cymoxanil, Cyprodinil-Fludioxonil, Tebuconazole, and Clorotalonil), therefore they did not present Mrag 264 hours after confrontation (Table 3). The biological control agents that had a greater fungistatic effect on the *S. cepivorum*, which means that they caused the least Mrag 264 hours after confrontation, were *Trichoderma* sp., (Trichoderma), *T. viride* (Esporalis), *T. harzianum* (Natucontrol), and Microorganismos (BPG-plus), with 1.03a, 1.73ab, 2.55b, and 2.70bc, respectively; in comparison with *G. virens* (Soil gard), *Bacillus* sp.-*Glomus* sp.

les tuvieron los menores o nulos efectos fungistáticos hacia los aislados de *S. sclerotiorum* (Cuadro 2).

***Sclerotium cepivorum*.** Los dos aislados fueron sensibles a los ocho fungicidas, Dicloran, Benomilo, Boscalid, Iprodione, Clorotalonil-Cymoxanil, Ciprodinilo-Fludioxonilo, Tebuconazole y Clorotalonil, por lo que no presentaron crecimiento promedio radial micelial (Cprm), a las 264 horas posteriores a la confrontación (Cuadro 3). Los agentes de control biológico que ejercieron un mayor efecto fungistático hacia los aislados de *S. cepivorum*, lo que significa que propiciaron los menores crecimientos promedio radial micelial (Cprm), a las 264 horas posteriores a la confrontación, fueron: *Trichoderma* sp., (Trichoderma), *T. viride* (Esporalis), *T. harzianum* (Natucontrol) y Microorganismos (BPG-plus), con 1.03a, 1.73ab, 2.55b, y 2.70bc, respectivamente; en comparación con *G. virens* (Soil gard), *Bacillus* sp.-*Glomus* sp. (Soil cure), y *B. subtilis* (Natubacs), con 8.50i, 8.45i, y 8.50i, respectivamente, los cuales causaron un menor o un nulo efecto fungistático hacia los aislados (Cuadro 3).

En el caso de *S. cepivorum* se encontró un comportamiento uniforme hacia los fungicidas Tebuconazole (Tebucur), Iprodione (Rovral), Dicloran (Botran), Benomilo (Blindaje 50), Boscalid (Cabrio), Clorotalonil (Trevanil), Clorotalonil+Cymoxanil (Strike) y Ciprodinilo+Fludioxonilo (Swish). Resultados contrastantes se encontraron en el comportamiento de *S. cepivorum* hacia los fungicidas, los cuales fueron los reportados por Pérez *et al.* (1997) y Pérez *et al.* (2009), quienes mostraron la presencia de variabilidad del patógeno hacia los fungicidas usados. Con relación a la respuesta de *S. cepivorum* hacia los agentes de control biológico evaluados, se encontró una gran variabilidad, observando que los productos biológicos a los cuales

(Soil cure), and *B. subtilis* (Natubacs), with 8.50i, 8.45i, and 8.50i, respectively, which led to a lower or null fungistatic effect on the isolates (Table 3).

A uniform behavior was found in *S. cepivorum* towards fungicides Tebuconazole (Tebucur), Iprodione (Rovral), Dicloran (Botran), Benomyl (Blindaje 50), Boscalid (Cabrio), Clorotalonil (Trevanil), Clorotalonil+Cymoxanil (Strike), and Ciprodinilo+Fludioxonilo (Swish). Contrasting results were found in the behavior of *S. cepivorum* towards the fungicides reported by Pérez *et al.* (1997) and Pérez *et al.* (2009), who showed the presence of variability of the pathogen towards the fungicides used. In relation to the response of *S. cepivorum* towards the biological control agents evaluated, a wide variability was found, observing that the biological products to which there was a higher sensitivity to *in vitro* were those formed with *Trichoderma* spp.; the cause of this greater beneficial effect may be the biocontrolling action of *Trichoderma* spp., in which there have been several forms of action described that regulate the development of phytopathogenic fungi. Among these, the main ones are the competition for space and nutrients, microparasitism and antibiosis, which have a direct action on the phytopathogenic fungi (Infante *et al.*, 2009); it is also known that *Trichoderma* spp. displays other mechanisms, the bioregulatory action of which is indirect, such as the biochemical defense mechanisms, that consist in the deactivation of enzymes of the phytopathogenic fungi during the infection process (Infante *et al.*, 2009); this could explain the high inhibitory percentage of mycelial growth of *S. cepivorum*. This suggests an alternative for the control of white rotting, as pointed out by Ulacio *et al.* (2011). The use of *T. harzianum* as an alternative of biological control in soils that display high densities of *S. cepivorum* inocula, requires

hubo una mayor sensibilidad *in vitro* fueron los que se formularon con *Trichoderma* spp., la causa de este mayor efecto benéfico pudiera ser la acción biocontroladora de *Trichoderma* spp., en la que se han descrito diferentes modos de acción que regulan el desarrollo de los hongos fitopatógenos. Entre estos, los principales son la competencia por espacio y nutrientes, el micoparasitismo y la antibiosis, los que tienen una acción directa frente al hongo fitopatógeno (Infante *et al.*, 2009); además, se conoce que *Trichoderma* spp. presenta otros mecanismos, cuya acción bioreguladora es de forma indirecta, tales como los mecanismos de defensa bioquímicos, que consisten en la desactivación de enzimas de los hongos fitopatógenos durante el proceso de infección (Infante *et al.*, 2009); lo anterior puede explicar el alto porcentaje inhibitorio del crecimiento micelial de *S. cepivorum*. Esto sugiere una alternativa de control de la pudrición blanca, como ha sido señalado por Ulacio *et al.* (2011). El uso de *T. harzianum* como alternativa de control biológico en suelos que presentan elevadas densidades de inóculo de *S. cepivorum*, requiere de dosis altas del antagonista combinadas con otras alternativas de manejo para lograr el control eficiente de la enfermedad (Delgadillo *et al.*, 2002; Ulacio *et al.*, 2011).

Para *S. minor* y *S. sclerotiorum*, se encontró un comportamiento uniforme hacia la mayoría de los fungicidas y aislados evaluados. Los aislados de radicchio de Celaya y de lechuga de Irapuato crecieron en presencia de algunos fungicidas, en comparación con los demás aislados de ambos hongos que no lo hicieron, esto probablemente pudiera ser ocasionado por los tratamientos aplicados a los campos donde se obtuvieron los aislados, ya que son terrenos tratados con controladores biológicos y esto pudo ocasionar que los aislados tuvieran un crecimiento micelial más vigoroso con algunos de los fungicidas evaluados; algo que no se esperaba

high doses of the antagonist combined with other alternatives to achieve an efficient control of the disease (Delgadillo *et al.*, 2002; Ulacio *et al.*, 2011). A uniform response was found in *S. minor* and *S. sclerotiorum* towards most fungicides and isolates evaluated. The isolates of radicchio from Celaya and lettuce from Irapuato grew in the presence of some fungicides, in comparison to the other isolates of both fungi that did not, probably due to the treatments undergone by the fields the isolates were taken from, since these lands are treated with biological controllers, and this may have caused the isolates to have a more vigorous mycelial growth with some of the fungicides evaluated. Something that was unexpected in this study was that the isolates of *S. sclerotiorum* provenientes from Celaya and from Irapuato grew in the presence of Boscalid (Cabrio), which is a fungicide that belongs to the group of Carboxanilides, and Iprodione (Rovral), which belongs to the Dicarboximide, in which there was Mrag between 24 and 264 hours after confrontation; this is probably related, among other things, to the history of the fields the *S. sclerotiorum* isolates were obtained from, regarding the continuous use of fungicides for the control of root diseases in different crops (Pérez *et al.*, 2009). The insensitivity to Boscalid and Iprodione obtained in this study contrasts with the sensitivity reported by Tarazona (2009), who found that the Boscalid and Iprodione inhibited fungal growth by 100 %. The sensitivity presented by isolates *S. minor* and *S. sclerotiorum* towards Tebuconazole, which brought about an inhibitory effect of 100 %, coincides with reports by Pérez *et al.* (1997), who claim these were similar with *S. cepivorum*. The biological control agents which caused the most inhibition of mycelial growth in *S. minor* and *S. sclerotiorum* were those that contained the fungus *Trichoderma* spp. The results obtained in this study coincide with those by Villalta *et al.* (2012), who

en este estudio, fue que los aislados de *S. sclerotiorum* provenientes de Celaya y de Irapuato crecieron en presencia de Boscalid (Cabrio) que es un fungicida que pertenece al grupo de las Carboxanilidas y de Iprodione (Rovral) perteneciente al grupo de las Dicarboximidias, en los cuales se tuvo crecimiento promedio radial micelial (Cprm) desde las 24 hasta las 264 horas posterior a la confrontación; esto posiblemente se encuentra relacionado entre otras causas, con la historia de los campos de donde se obtuvieron los aislados de *S. sclerotiorum*, con respecto al uso continuo de fungicidas para el control de enfermedades radicales en diferentes cultivos (Pérez *et al.*, 2009). La insensibilidad a Boscalid e Iprodione obtenida en el presente estudio, contrasta con la sensibilidad reportada por Tarazona (2009), quien reportó que el Boscalid y el Iprodione inhibieron al 100 % el crecimiento de los hongos. La sensibilidad que presentaron los aislados *S. minor* y *S. sclerotiorum* a Tebuconazole, que propició un efecto inhibitorio del 100 %, coincide con lo reportado por Pérez *et al.* (1997) quienes encontraron resultados similares con *S. cepivorum*. Los agentes de control biológico con mayor poder inhibitorio del crecimiento micelial de *S. minor* y *S. sclerotiorum* fueron los que contenían al hongo *Trichoderma* spp. Los resultados obtenidos en el presente estudio concuerdan con los obtenidos por Villalta *et al.* (2012), quienes reportan una cepa de *T. hamatum* con alto porcentaje inhibitorio del crecimiento de *S. minor*. En el caso de *B. subtilis* (Serenade max), no se tuvo un efecto favorable sobre *S. minor* y *S. sclerotiorum*, en comparación con el efecto favorable obtenido con *Trichoderma* spp., ya que *B. subtilis* (Serenade max) fue de los controladores biológicos con menor efecto fungistático hacia los aislados de *S. minor* y *S. sclerotiorum*. Éstos resultados contrastan con lo reportado por Tarazona (2009), quien señala que *B. subtilis* tuvo un mayor efecto controlador hacia los hongos fitopatógenos evaluados.

report a strain of *T. hamatum* with a high percentage of inhibition of the growth of *S. minor*. In the case of *B. subtilis* (Serenade max), there were no favorable effects on *S. minor* and *S. sclerotiorum*, in comparison with the favorable effect obtained with *Trichoderma* spp., since *B. subtilis* (Serenade max) was one of the biological control agents with the lowest fungistatic effect on the *S. minor* and *S. sclerotiorum* isolates. These results contrast with those reported by Tarazona (2009), who points out that *B. subtilis* had a greater controlling effect towards the phytopathogenic fungi analyzed.

~~~~~End of the English version~~~~~

## LITERATURA CITADA

- Adams PB and Papavizas GC. 1986. Effect of inoculum density of *Sclerotium cepivorum* and some soil environmental factors on disease severity. *Phytopathology* 61:1253-1256.
- Agrios GN. 2005. *Plant Pathology*. Fifth Edition. Elsevier Academic. University of Florida. Florida United States of America. 948p.
- Angulo EMA, Armenta RE, García ERS, Carrillo FJA, Salazar VE y Valdez TJB. 2009. Extractos de Semilla de *Swietenia humilis* Zucc., con Actividad Antifúngica en *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.:Fr.) Vuill. *Revista Mexicana de Fito patología* 27:84-92.
- Delgado SF, Zavaleta ME, Osada KS, Arévalo VA, González HVA, Nieto AD y Torres PI. 2002. Densidad de inóculo de *Sclerotium cepivorum* Berk. y su control mediante tebuconazole en ajo (*Allium sativum* L.). *Revista Fitotecnia Mexicana* 25:349-354.
- Fisher MC, Henk, DA, Briggs CJ, Brownstein JS, Madoff LC, McCraw SL and Gurr SJ. 2012. Emerging fungal threats to animal, plant and ecosystem health. *Nature* 484:186-194. doi:10.1038/nature10947
- Infante D, Martínez B, González N, y Reyes Y. 2009. Mecanismos de acción de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos. *Revista Protección Vegetal* 24 (1):14-21.
- Ibarra MVA, Ferrera CR, Alarcón A, Lara HME, Valdez CJM. 2010. Isolation and screening of *Trichoderma* strains antagonistic to *Sclerotinia sclerotiorum* and *Sclerotinia minor*. *Revista Mexicana de Micología* 31:53-63.
- Michel A AC, Otero S MA, Solano P LY, Ariza F R, Barrios A A y Rebolledo M A. 2009. Biocontrol *in vitro* con *Trichoderma* spp; de *Fusarium subglutinans* (Wollenweb. y Reinking) Nelson, Toussoun y Marasas y *F. oxysporum*

- Schlecht., agentes causales de la “escoba de bruja” del mango (*Mangifera indica* L.). *Revista Mexicana de Fitopatología* 27:18-26.
- Montes BBR, Nava JRA, Flores MHE y Mundo OM. 2003. Hongos y nematodos en raíces y bulbos de cebolla (*Allium cepa* L.) en el estado de Morelos, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 21:300-303.
- Nelson EB. 1991. *Handbook of Applied Mycology*. pp. 327-355. In: Arora DK, Rai B, Mukerji KG, and Knudsen GR (eds.). *Current limits to biological control of fungal phytopathogens. Volume 1: Soil and Plants*. Marcel Dekker, Inc. New York, USA. 800p.
- Pérez ML, Olalde PV, Sánchez PJR, Castañeda CC y Entwistle AR. 1997. Sensibilidad *in vitro* de aislados del hongo *Sclerotium cepivorum* Berk., a los fungicidas comúnmente usados para su combate. *Revista Mexicana de Fitopatología* 15:9-14.
- Pérez ML, Villalpando MJJ, Castañeda CC y Ramírez MR. 2009. Sensibilidad *in vitro* de *Sclerotium rolfsii* Saccardo, a los fungicidas comúnmente usados para su combate. *Revista Mexicana de Fitopatología* 27:11-17.
- SIAP, Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. 2013. Avance de siembras y cosechas. Resumen Nacional por producto, Otoño –Invierno 2012 de riego y temporal. [www.siap.gob.mx/index](http://www.siap.gob.mx/index) (consulta, julio 2014).
- Tarazona MLS. 2009. Control biológico y químico de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary en alcachofa (*Cynara scolymus* L.). Tesis de Maestría, Especialidad de Fitopatología. Universidad Nacional Agraria La Molina. Perú. 98p.
- Ulacio D, Jiménez MA y Perdomo W. 2011. Estrategias de manejo integrado de *Sclerotium cepivorum* Berk., y la pudrición blanca del ajo en Carache, estado Trujillo, Venezuela. *Bioagro* 23:105-114.
- Villalta ON, Wite D, Hunt J, Stewart A and Porter IJ. 2012. Biological control of sclerotinia minor on lettuce using trichoderma and coniothyrium species. *Acta Horticulturae* 944:51-58.