



Sensibilidad de *Sclerotium rolfsii*, agente causal del tizón sureño del chile, a *Trichoderma* spp., extractos vegetales y fungicidas

José Francisco Díaz Nájera¹, José Terrones Salgado^{2*}, Sergio Ayvar Serna¹, Mateo Vargas Hernández³, Maricela Apáez Barrios¹, José Luis Arispe Vázquez⁴, José Francisco Adame Bores¹. ¹Fitotecnia, Colegio Superior Agropecuario del Estado de Guerrero, Iguala de la Independencia, Guerrero, CP 40000. ²Centro de Investigación en Horticultura y Plantas Nativas, Escuela de Ingeniería en Agronomía, UPAEP, 21 sur No. 1103, Puebla, Puebla, CP 72410. ³Depto. Suelos, U. Carretera México Texcoco km. 38.5. Chapingo, Estado de México. CP. 56230. ⁴INIFAP, Km 2.5 Carretera Iguala-Tuxpan, Colonia Centro Tuxpan, Iguala de la Independencia, Guerrero, CP 40000, México.

*Autor de Correspondencia:
José Terrones Salgado
jose.terrones@upaep.mx

Sección:
Edición periódica

Revisado:
19 Marzo, 2025
Publicado:
31 Agosto, 2025

Cita:
Díaz Nájera JF, Terrones Salgado J, Ayvar Serna S, Vargas Hernández M, et al. 2025. Sensibilidad de *Sclerotium rolfsii*, agente causal del tizón sureño del chile, a *Trichoderma* spp., extractos vegetales y fungicidas. Revista Mexicana de Fitopatología 43(3): 88. <https://doi.org/10.18781/R.ME.X.FIT.2209-1>

RESUMEN

Antecedentes/Objetivo. El chile (*Capsicum annuum*) se cultiva ampliamente en México. Es afectado por patógenos facultativos del suelo donde el hongo *Sclerotium rolfsii* puede ser crítico. Los objetivos de esta investigación fueron identificar cultural, morfológica, y molecularmente, al agente causal del tizón sureño del chile criollo de Guerrero y evaluar la antibiosis *in vitro* de *Trichoderma* spp., así como la sensibilidad del agente causal a fungicidas y extractos vegetales.

Materiales y Métodos. En el CEP-CSAEGRO se colectaron plantas de tres tipos criollos de chile con síntomas de tizón sureño a partir de las cuales se aislaron, purificaron y caracterizaron 20 aislamientos fúngicos. Se seleccionó un aislamiento para identificación molecular. Se extrajo el ADN con un kit comercial y mediante PCR se amplificó y posteriormente se secuenció la región espaciadora transcrita interna (ITS). Se editaron las secuencias y se realizó un análisis BLAST con la base de datos del NCBI. Para confirmar la patogenicidad se realizaron los postulados de Koch por duplicado en plántulas de chile criollo. Mediante un diseño experimental completamente al azar se evaluó la actividad antibiótica *in vitro* de *Trichoderma* spp. contra el agente causal, así como su sensibilidad *in vitro* a fungicidas y extractos vegetales.

Resultados. La caracterización cultural, morfológica y molecular (PV569903, número de acceso NCBI) permitió identificar a *Agroathelia rolfsii* (*S. rolfsii*) como el agente causal del tizón sureño del chile criollo. En pruebas de patogenicidad se observaron síntomas idénticos a los identificados en campo. En ensayos de antibiosis, la inhibición micelial más alta de *S. rolfsii* se obtuvo con *T. virens* (65.18 %), *Trichoderma* sp. (65.18 %) y *T. asperellum* (66 %). En sensibilidad *in vitro* a fungicidas, la inhibición micelial completa (100 %) se obtuvo con sulfato de cobre, clorotalonil, quintozeno, benomilo y piraclostrobin. Extractos vegetales comerciales de *Reynoutria sachalinensis*, *Lippia graveolens* + *L. berlandieri*, y *A. indica* + *Cinnamomum verum*, inhibieron completamente el desarrollo micelial de *S. rolfsii* (100 %).

Conclusión. *S. rolfsii* es el patógeno que causa el tizón sureño en chile criollo en Guerrero. *Trichoderma asperellum* (nativo de Cocula), *Trichoderma* sp. (nativo de Iguala) y *T. virens* (PHC® ROOTMATE) inhibieron el crecimiento de *S. rolfsii*, así como algunos fungicidas comerciales y extractos vegetales. Estos se sugirieron como alternativas promisorias, previa validación *in vivo* en campo, para el manejo de este patógeno fúngico bajo un enfoque integrado sustentable.

Palabras clave: *Capsicum*, *Agroathelia rolfsii*, *T. virens*, bioracionales, benomilo



INTRODUCCIÓN

El chile (*Capsicum annuum*) es una de las hortalizas más importantes en el mundo. En México se produce en todo el territorio. En 2024 se reportaron 157,186.45 ha sembradas, con una producción de 3,129,877.88 t siendo los principales estados productores, en orden de importancia, Sinaloa, Chihuahua, Zacatecas, San Luis Potosí y Sonora (SADER, 2025).

Al norte del estado de Guerrero, se siembran genotipos de chile denominados criollos, estos tienen gran aceptación local y regional y solo se siembran en el ciclo de temporal, en consecuencia, están más expuestos a problemas fitosanitarios (Ayvar *et al.*, 2007). Los hongos facultativos del suelo pueden ser un fuerte problema, como lo es *Sclerotium rolfsii*, actualmente denominado *Agroathelia rolfsii* (Sacc.) (Redhead & Mullineux, Index Fungorum 554: 1 (2023) [MB#901174]). Este hongo forma abundantes esclerocios que pueden sobrevivir en suelo por más de un año; en chile, los síntomas que induce son tizón de plántula, 'damping-off', marchitez, pudrición de raíz y cuello, pudiendo causar importantes pérdidas en cualquier estado fenológico del cultivo (Huang *et al.*, 2023). El manejo óptimo de la enfermedad requiere un diagnóstico efectivo del agente causal. *Sclerotium rolfsii* se identifica con base en sus características culturales, morfológicas, morfométricas, patogénicas, y moleculares (Díaz *et al.*, 2018; Terrones *et al.*, 2023). Por la importancia de esta enfermedad y la capacidad de pervivencia del inóculo en suelo es imprescindible realizar un efectivo control preventivo del patógeno, a través de un manejo integrado, privilegiando el uso de diferentes métodos, como prácticas culturales, uso de microorganismos benéficos y la aplicación de fungicidas sintéticos (Díaz *et al.*, 2018; Michel *et al.*, 2013). Algunos de fungicidas químicos más extensamente utilizados son carboxin, tebuconazole, captan, tridemorf, propiconazol, mancozeb, hinosan, thiram, propineb, benlate, mancozeb, thiram, quintozeno, carbendazim, benomyl, oxycarboxin y triadimenol (Akarapisan *et al.*, 2017), algunos de estos con efectividad comprometida y/o de uso restringido como el carbendazim (<https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/start/screen/active-substances/details/506>).

En manejo integrado de enfermedades, se sugiere incorporar métodos de control alternativos a las moléculas químicas con el objetivo de reducir paulatinamente su uso bajo una visión sostenible. La aplicación de hongos del género *Trichoderma*, extensivamente conocidos como excelentes agentes de biocontrol es una alternativa promisoría con altas expectativas para la supresión de hongos fitopatógenos (Díaz *et al.*, 2018). Varias especies de *Trichoderma* se ha aplicado con éxito en el manejo de enfermedades causadas por *S. rolfsii* en chile, frijol, pepino, tomate, cacahuete, remolacha, soya, arroz, trigo, caña de azúcar, algodón, banano, higuera, girasol, jengibre, cardamomo, pimienta negra, cocotero y tabaco contra diferentes patógenos (Kotasthane *et al.*, 2015; Rao *et al.*, 2015).

El potencial de *Trichoderma* contra este y otros hongos patogénicos se ha documentado ampliamente en México (p.e., Michel *et al.*, 2009; 2013; Díaz *et al.*, 2014; 2015). Complementariamente, recientemente se ha impulsado el empleo de aceites y extractos vegetales para el manejo de enfermedades debido a su bajo o nulo nivel de contaminación y alta efectividad biológica. Numerosas investigaciones han documentado exitosamente el uso de aceites vegetales contra patógenos que inducen diversas enfermedades. Por ejemplo, se ha usado *in vitro* extracto de *R. sachalinensis* contra *Podosphaera xanthii* (Margaritopoulou *et al.*, 2020) y *Fusarium oxysporum* (Santos-Esteban *et al.*, 2021); este extracto y *Lippia graveolens* vs. *Colletotrichum truncatum* (Terrones *et al.*, 2025); y aplicaciones foliares de *R. sachalinensis* en el manejo de

Podosphaera physocarpa (Baysal-Gurel y Bika, 2021). En este contexto, los objetivos de la presente investigación fue caracterizar patogénica, cultural, morfológica y molecularmente al agente causal del tizón sureño del chile, así como el desarrollo de estudios *in vitro* para determinar la sensibilidad del *S. rolfsii* a diferentes cepas comerciales y nativas de *Trichoderma* spp., extractos vegetales y fungicidas químicos comerciales.

La metodología de esta investigación se implementó a material vegetal de chile (*Capsicum annuum*) cultivado en condiciones experimentales el Centro de Estudios Profesionales del Colegio Superior Agropecuario del Estado de Guerrero (CEP-CSAEGRO) localizado en km 14.5 de la carretera Iguala-Cocula, Gro., entre coordenadas 18°15'56.97" LN y 99°38'52.49" LO, a 639 msnm. Se realizó un muestreo al azar dirigido a plantas de los criollos Ancho Liso, Carricillo y Chino con síntomas putativos de tizón sureño. Las plantas se depositaron individualmente en bolsas de papel, las cuales se etiquetaron, se sellaron y se transportaron en frío en una hielera al laboratorio de Fitopatología del CEP-CSAEGRO donde se almacenaron a 4 °C. Fragmentos (cortes de tejido de 1cm²) de la zona de avance de pudrición en raíces se desinfectaron con una solución de hipoclorito de sodio al 1 % por 1 min, enseguida, se lavaron con agua destilada estéril dos veces y se dejaron secar a temperatura ambiente sobre toallas de papel estériles. Posteriormente, los trozos de tejido sintomáticos se colocaron en cajas Petri con medio de cultivo sólido PDA 39 g L⁻¹ de agua (Papa Dextrosa Agar, Bioxon, PDA) adicionado con ácido láctico (0.1 % v / v) y se incubaron en condiciones de laboratorio (28 ± 1°C). Una vez que se observó crecimiento micelial con el morfotipo de *S. rolfsii*, aproximadamente a los tres días, se purificó con la técnica de punta de hifa y se incubaron por ocho días en condiciones previamente descritas.

Para las pruebas de patogenicidad, en adherencia a los postulados de Koch, se inocularon plantas de chile criollo de 45 días de edad. Estas plantas crecieron en arena de río previamente esterilizada en macetas de plástico de 10×7×8.5 cm bajo condiciones de invernadero y se regaron y fertilizaron regularmente. El hongo purificado se incrementó en sustrato de olote de maíz (*Zea mays*) triturado estéril el cual se inoculó con discos de 5 cm de diámetro de medio de cultivo PDA con micelio del hongo de cinco días de edad. El sustrato se incubó en condiciones de laboratorio (28 ± 1°C) hasta su colonización del 100 % aproximadamente a 12 días después de la inoculación (d.d.i.). Posteriormente se preparó una mezcla de 15 g de olote inoculado (aproximadamente 1500 UFC) más 150 g de arena estéril y se colocó en las macetas de 10×7×8.5 cm. Al centro de la maceta se trasplantaron plántulas con raíz desnuda previamente desinfectada y se incubaron bajo condiciones de invernadero (28 ± 1 °C). El experimento consistió en cinco repeticiones y cinco testigos, los cuales se asperjaron con agua destilada estéril. A los cuatro d.d.i. se observaron síntomas. Se hicieron re-aislamientos por lesión individual para completar las pruebas de patogenicidad, estas se realizaron por duplicado.

La caracterización cultural y morfológica se realizó con un microscopio compuesto Olympus BX 41 con cámara Olympus U-CMAD3 T2, U-TV1X-2 T2 (Tokio, Japón). Las características taxonómicas observadas como color, presencia de septos, ramificación de hifas, tasa de crecimiento y presencia de esclerocios sirvieron como base para identificación del hongo mediante las claves taxonómicas de Barnett y Hunter (2000) y Watanabe (2002). Esta información se utilizó para agrupar por similitud o morfotipos a los aislamientos.

Para la caracterización molecular, se extrajo el ADN de morfotipos *S. rolfsii* a partir de micelio de siete días de edad mediante el kit DNeasyMR (QIAGEN®, Hilden, Germany)

según las instrucciones del fabricante. Se amplificaron las regiones del espacio transcrito interno (ITS) utilizando los iniciadores ITS1 / ITS4, combinado con el programa de termociclado propuestos por White *et al.* (1990). Los productos amplificados fueron purificados y secuenciados en ambas direcciones con el método Sanger por MacroGen Inc. (<http://dna.macrogen.com>, Corea del Sur). Las secuencias resultantes se analizaron por DNASTAR (2001) y Sequencher (2014), y la alineación se realizó con Clustal W en MEGA 6.0 (Tamura *et al.*, 2013). Las secuencias se compararon usando el algoritmo BLAST del NCBI (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Con fin de diagnóstico se realizó un análisis comparativo con secuencias ITS de NCBI y una secuencia ITS de un aislado seleccionado de un total de 20 obtenidos en esta investigación. Se empleó el método máxima verosimilitud en MEGA 11, con valores de Bootstrap estimados a partir de 1000 réplicas.

En la evaluación de actividad antibiótica *in vitro* de especies de *Trichoderma* contra *S. rolfsii*, se utilizaron siete productos/cepas de *Trichoderma*, tres comerciales y cuatro nativas, las cuales fueron caracterizadas cultural y morfológicamente en un estudio previo (Michel *et al.*, 2013). Los tratamientos evaluados se describen en el Cuadro 1. La antibiosis de cepas de *Trichoderma* se evaluó mediante la técnica de celofán en cajas Petri de 9 cm de diámetro con PDA (Patil *et al.*, 2014). En estas cajas se colocaron círculos de 9 cm de diámetro de papel celofán previamente esterilizados; posteriormente, para cada tratamiento se depositó en centro de caja un disco de 5 mm de diámetro con micelio activo de *Trichoderma* con el objetivo de estimular la producción y difusión de metabolitos secundarios en el medio de cultivo. Después de 24 h incubación se retiró el papel celofán con el disco de *Trichoderma* y en seguida se depositó en centro de caja discos de PDA con micelio activo de *S. rolfsii* de cinco días de edad. La incubación se realizó a 25 ± 1 °C con fotoperiodo de 12 h y 40 % de humedad relativa (Michel *et al.*, 2009). Esto se realizó para cada producto/cepa de *Trichoderma*.

Para estimar la sensibilidad de *S. rolfsii* a fungicidas y a extractos vegetales se utilizó medio PDA estéril adicionado independientemente con las dosis de fungicidas y extractos vegetales comerciales indicados en Cuadro 2. La adición al medio se realizó directamente en el matraz de preparación PDA previo a solidificación a 40 °C. La mezcla se vació en cajas Petri de 90 mm de diámetro y se dejaron reposar en oscuridad por 24 h antes de su uso. Las cajas preparadas se sembraron con un disco de 5 mm diámetro de PDA con crecimiento activo de micelio tomado de la periferia de colonias *S. rolfsii* de cinco días de edad. Las cajas Petri una vez sembradas se incubaron por cinco días en condiciones previamente descritas.

El diámetro de crecimiento de la colonia se midió con un vernier digital (Truper®, México) cada 24 h durante tres días para estimar la actividad antibiótica de *Trichoderma* spp. y cada cuatro días para la sensibilidad de *S. rolfsii* a extractos vegetales y fungicidas hasta que el micelio del hongo testigo (cajas PDA sin metabolitos y sin adición) llenara la caja Petri en dos direcciones perpendiculares. Estas mediciones se emplearon para general el porcentaje de inhibición de crecimiento micelial estimado por tratamiento respecto al testigo.

El diseño experimental para ambos experimentos fue un completamente al azar. Para la actividad antibiótica de *Trichoderma* spp. fueron ocho tratamientos, cinco repeticiones y 40 unidades experimentales. Para la sensibilidad de extractos vegetales y fungicidas, fueron 11 tratamientos, cinco repeticiones y 55 unidades experimentales, cada unidad

experimental consistió en una caja Petri de 90 × 15 mm. Se realizaron dos repeticiones del experimento.

Los datos obtenidos se sometieron a pruebas de normalidad con la prueba de Shapiro-Wilk. Para homogeneidad de varianza se utilizó la prueba de Levene con significancia de $p = 0.05$. Se realizó análisis de varianza y prueba de Tukey con la variable porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de *S. rolfsii* con $p = 0.05$. Los análisis se ejecutaron en SAS V.9.1 para Windows.

Los resultados de esta investigación permitieron confirmar la asociación del *S. rolfsii* con los tres chiles criollos estudiados. Se obtuvieron un total de 20 aislamientos con el morfotipo del hongo a partir de raíces de plantas con síntomas putativos a tizón sureño. El micelio fúngico fue abundante y algodonoso con presencia de esclerocios amarillentos-oscuros redondos menores a 2 mm típicos de *Sclerotium*.

En las pruebas de patogenicidad, los síntomas de podredumbre blanda aparecieron a los cuatro d.d.i. Se observó al principio pérdida de turgencia en hojas y tallo, detrimento del vigor de plántulas, clorosis y marchitez generalizada. Se detectó abundante micelio aéreo blanco algodonoso de consistencia acuosa en la base de plantas con eventual formación de esclerocios. Los síntomas y signos fueron similares a los observados en campo. En las plántulas testigo no se observaron síntomas o signos del hongo. El hongo re-aislado mostró las mismas características culturales y morfológicas que el inoculado inicialmente. Estos resultados son análogos con otros trabajos con rangos en la aparición de síntomas de 5 – 7 d.d.i. (Remesal *et al.*, 2010; Sun *et al.* (2019). La variación en la aparición de síntomas, aunque baja, puede deberse a variabilidad patogénica, condiciones experimentales, o efecto de hospedero (Gopalakrishnan *et al.*, 2005).

Las características culturales y morfológicas permitieron identificar a *Agroathelia rolfsii* (Sacc.) Redhead & Mullineux (Syn: *Sclerotium rolfsii* Sacc). La tasa de crecimiento radial del micelio del hongo fue rápida (3 cm día⁻¹). Colonias de micelio blanco aéreo, algodonoso y denso. Produjo hifas septadas, hialinas, ramificadas en ángulo de 65° con paredes delgadas, con conexiones de pinza en cada septo del micelio (fibulas); al madurar presentó abundantes esclerocios, esféricos, de color blanco al inicio y oscuro al madurar con superficie lisa, brillante y compacta que median de 1.2 a 1.9 mm de diámetro (n=100) después de 10 días; el número de esclerocios producidos por caja Petri osciló de 83 a 431 (n=50). Estos resultados concuerdan con reportes previos para *S. rolfsii* (Le *et al.*, 2019; Mahadevakumar *et al.*, 2015; Sun *et al.*, 2019; Tang *et al.*, 2010; Terrones *et al.*, 2023; You *et al.*, 2015). Basado en la similitud de caracteres morfológicos y culturales, todos los aislamientos fúngicos correspondieron a un solo grupo, de los cuales se seleccionó un aislamiento para la identificación molecular.

La secuencia del aislamiento CEP-ChSr7 se depositó en el GenBank con el número de acceso PV569903. El análisis BLAST de la secuencia parcial ITS (674 pb) mostró una similitud del 100 % con aislamientos de *Agroathelia rolfsii* (*Sclerotium rolfsii*) (GenBank: OM647806, OM729592) (Balamurugan *et al.*, 2022; Sun *et al.*, 2023). El análisis diagnóstico/filogenético se muestra en Figura 1. El aislamiento seleccionado a partir de esta investigación identificado como *Agroathelia rolfsii* CEP-ChSr7 se indica con un círculo negro y está agrupado en el clado *A. rolfsii*. *S. cepivorum* se utilizó como grupo externo.

En la evaluación de actividad antibiótica *in vitro* de *Trichoderma* spp. contra *Sclerotium rolfsii*, en las dos primeras evaluación del crecimiento de la colonia de *S. rolfsii*, los valores mostraron diferencias altamente significativas ($P < 0.0001$). En la primera fecha

de evaluación, los tratamientos *Trichoderma* sp. (FITHAN®), *T. virens* (PHC®ROOTMATE), *T. asperellum* (Nativa de Cocula), *T. asperellum* (Nativa de Santa Teresa) inhibieron completamente (100 %) el crecimiento de *S. rolfsii* (Cuadro 1). En la segunda y tercera, *T. asperellum* (Nativa de Cocula) inhibió el crecimiento micelial de *S. rolfsii* en 94.45 % y 65.88 % respectivamente (Cuadro 1). Al final del experimento, *T. asperellum* (Nativa de Cocula), *Trichoderma* sp. (Nativa de Iguala) y *T. virens* (PHC® ROOTMATE) fueron las que inhibieron exitosamente el crecimiento de *S. rolfsii*. En general, *Trichoderma* sp. (FHITAN®), *T. virens* (PHC® ROOTMATE), *T. asperellum* (Nativa de Cocula) y *T. asperellum* (Nativa de Santa Teresa) mostraron efecto fungistático, ya que, en la primera evaluación, controlaron el 100 % del crecimiento del hongo. Sin embargo, en evaluaciones posteriores se observó reactivación del crecimiento de micelio de *S. rolfsii*.

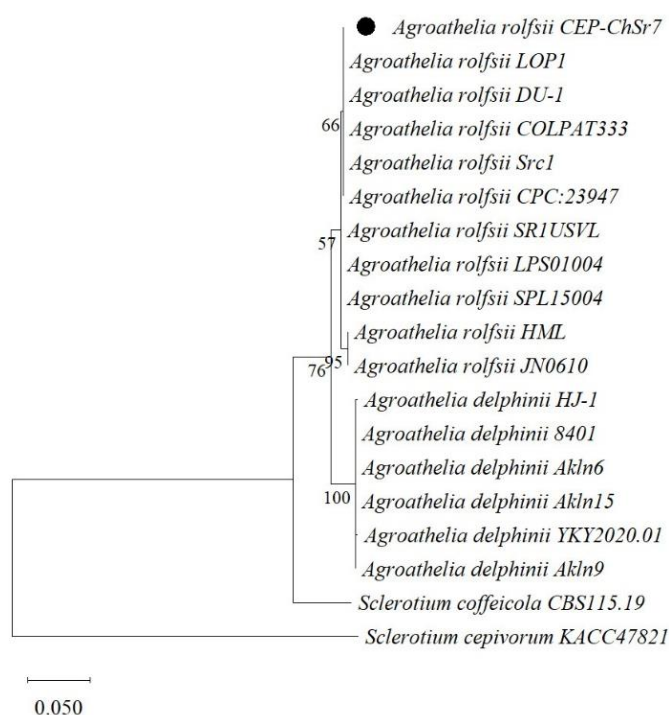


Figura 1. Árbol filogenético construido con fines de diagnóstico a partir de secuencias de la región del espacio transcrito interno (ITS) de aislamientos de *Agroathelia* spp. del NCBI y el aislamiento encontrado en Chile criollo en Guerrero CEP-ChSr7 (en círculo negro). Algoritmo máxima verosimilitud en MEGA 11, con Bootstrap a 1000 simulaciones.

La capacidad de *Trichoderma* spp. para inhibir el crecimiento de hongos es por antibiosis, la cual depende de la producción de moléculas tóxicas, volátiles y de enzimas hidrolíticas (Shoresh y Harman, 2008). Al respecto, Hirpara y colaboradores (2017) reportaron que enzimas hidrolíticas como quitinasas, proteasas, ligasas y glucanasas, son producidas por *Trichoderma* cuando detecta a un hongo, idealmente antagónico, para degradar la pared celular de éste para facilitar la penetración de las hifas y absorción del contenido citoplasmático micelial.

Al finalizar las evaluaciones, tres días después de la siembra, el máximo porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de *S. rolfsii*, fue de 65.9 %, el cual se obtuvo con *T. asperellum* (cepa nativa de Cocula). Este valor coincide con otros reportes *in vitro* (Rasu

et al., 2013). Niveles de inhibición ligeramente más bajos se han consignado para *T. harzianum* (57.5 %, 55.8 %) y *T. viridae* (53.63 %) (Bindu et al., 2011).

T. asperellum (Nativa de Cocula), *Trichoderma* sp. (Nativa de Iguala) y *T. virens* (PHC® ROOTMATE), aunque tuvieron el menor crecimiento de micelio, mostraron el mayor porcentaje de inhibición de *S. rolfsii*. Hirpara et al. (2017) registraron inhibición en el rango de 89.33 % - 91.13 % con *T. virens*. Sin embargo, Parmar et al. (2015), documentaron solo 50 % de inhibición. Las cepas de *Trichoderma* nativas de Cocula y de Iguala Guerrero, presentaron el mayor porcentaje de inhibición de *S. rolfsii*. Estas cepas podrían ser una importante opción para el manejo de *S. rolfsii*. No obstante, deben evaluarse en diferentes condiciones de campo para su eventual integración a un plan de manejo sostenible (Michel et al., 2009; 2013; Díaz et al., 2014; 2015).

Cuadro 1. Actividad antibiótica *in vitro* - PDA con siete productos/cepas de *Trichoderma* spp. contra *S. rolfsii* aislado de chile criollo de Guerrero (*Capsicum annuum*).

Tratamientos	Horas después de la Siembra <i>in vitro</i>		
	24 ^z	48	72
FITHAN® <i>Trichoderma</i> sp.	0.0 c	1.0 b	4.3 a
PH® ROOT MATE <i>Trichoderma virens</i>	0.0 c	0.9 b	3.0 a
<i>Trichoderma asperellum</i> (Nativa de Cocula)	0.0 c	0.4 b	2.9 a
BACTIVA® <i>Trichoderma reesei</i>	0.9 b	1.7 b	3.2 a
<i>Trichoderma asperellum</i> (Nativa de Santa Teresa)	0.0 c	0.9 b	4.4 a
<i>Trichoderma asperellum</i> (Nativa de Chilapa)	0.2 bc	1.0 b	4.2 a
<i>Trichoderma</i> sp. (Nativa de Iguala)	0.4 bc	1.4 b	3.0 a
Testigo	2.9 a	6.9 a	8.5 a
DMS	0.8172	2.6917	5.9761

^zValores medios del diámetro de colonia de *S. rolfsii* en cm, seguidos por al menos una letra en común en misma columna son estadísticamente iguales (Tukey $\alpha = 0.05$). DMS = Diferencia mínima significativa.

La sensibilidad de *S. rolfsii* a fungicidas y extractos vegetales también se encontraron diferencias significativas en los cuatro periodos de evaluación ($P < 0.0001$). Los fungicidas y extractos vegetales inhibieron el crecimiento micelial de *S. rolfsii* de manera diferenciada según al tipo de extracto, fungicida y dosis. Todos los tratamientos evaluados suprimieron totalmente el crecimiento micelial de *S. rolfsii*, con excepción de CERCOWIN® M (tiofanato de metilo) (Cuadro 2). Diferentes estudios han evaluado la sensibilidad de *S. rolfsii* a diferentes fungicidas; por ejemplo, Amule et al. (2014) evaluaron el fungicida piraclostrobin contra *S. rolfsii*, aislado de garbanzo (*Cicer arietinum*), con inhibición completa (100 %) del crecimiento del hongo, análogo al presente estudio. Este fungicida pertenece la clase que afecta principalmente la respiración mitocondrial y producción de energía con efectos letales en hongos (Fillinger y Walker, 2016). También se ha comprobado el efecto fungicida del clorotalonil, cymoxanil, clorotalonil + benomil en *S. cepivorum* aislado de ajo (*Allium sativum*) (Pérez et al., 2015).

En este estudio, el tiofanato de metilo fue el único fungicida que no inhibió el 100 % del crecimiento del patógeno, aunque difirió estadísticamente con el testigo en las primeras 48 h. Esto posiblemente se debe a la baja dosis empleada. Este hallazgo, coincide con lo reportado por Suryawanshi et al. (2015), quienes reportan una inhibición del 63.81 % mientras que Díaz et al. (2018) reportaron inhibición del 4.17 % de *S. rolfsii* aislado de calabaza (*Cucurbita argyrosperma*). Por el contrario, quintozeno controló al 100 % el crecimiento de *S. rolfsii*, similar a resultados de Díaz et al. (2018). El quintozeno interfiere

con la síntesis de lípidos y membranas celulares, lo que afecta directamente el crecimiento micelial de hongos (Fillinger y Walker, 2016).

Cuadro 2. Sensibilidad *in vitro* – PDA de *Sclerotium rolfsii*, aislado de chile criollo de Guerrero (*Capsicum annum*), a fungicidas y extractos vegetales comerciales evaluados a intervalos de 4 días.

Tratamientos	Dosis ^y (mL g ⁻¹)	días después de la siembra <i>in vitro</i>			
		4 ^z	8	12	16
REGALIA® MAXX (<i>Reynoutria sachalinensis</i>)	0.05	0.0 b	0.0 c	0.0 c	0.0 c
LIPPOIL® (<i>Lippia graveolens</i> + <i>L. berlanderi</i>)	0.30	0.0 b	0.0 c	0.0 c	0.0 c
NEEMACAR® CE (<i>A. indica</i> + <i>Cinnamomum verum</i>)	0.30	0.0 b	0.0 c	0.0 c	0.0 c
NEEMIX® 4.5 % CE (<i>Azadirachta indica</i>)	0.30	0.0 b	0.4 c	1.8 b	4.3 b
COMET® (sulfato de cobre)	0.10	0.0 b	0.0 c	0.0 c	0.0 c
DACONIL 72 F® (clorotalonil)	0.07	0.0 b	0.0 c	0.0 c	0.0 c
PENTACLOLOR 600 F® (quintozeno)	0.15	0.0 b	0.0 c	0.0 c	0.0 c
CERCOBIN® M (tiofanato de metilo)	0.02	0.2 b	2.6 b	5.7 a	8.1 a
PROMYL® (benomilo)	0.03	0.0 b	0.0 c	0.0 c	0.0 c
HEADLINE® (piraclostrobin)	0.03	0.0 b	0.0 c	0.0 c	0.0 c
Testigo	-	1.3 a	3.5 a	6.9 a	8.5 a
DMS		0.1684	0.6696	1.1427	0.7331

^yDosis utilizada por cada 20 mL de PDA en cada caja Petry

^zValores medios del diámetro de colonia de *S.rolfsii* en cm, con al menos una letra en común dentro de la misma columna son estadísticamente iguales (Tukey $\alpha = 0.05$). DMS = Diferencia mínima significativa. En negritas, los menores efectos respecto al testigo.

La mayoría de los extractos vegetales inhibieron el 100 % de crecimiento micelial de *S. rolfsii*. Estos niveles están bien documentados *in vitro* con extractos de ajo (*Allium sativum*), yuquilla (*Schefflera gleasonii*), matarrata (*Gliricidia sepium*) y orégano (*Origanum vulgare*) (Flores *et al.*, 2017). Niveles moderados (71.4 %) se han observado con extractos etanólicos de orégano silvestre *Lippia organoides* (Alvarado *et al.*, 2011). El producto NEEMIX 4.5 % CE, elaborado a base de *Azadirachta indica*, con aparente acción fungistática (Jebaraj *et al.*, 2016), no inhibió exitosamente a *S. rolfsii* ya que presentó el porcentaje de inhibición más bajo, coincidente con estudios de Alvarado *et al.* (2011), aunque en las cuatro evaluaciones contrastó significativamente con el testigo. Interesantemente, Flores *et al.* (2017), documentaron 100 % de efectividad el extracto de neem *in vitro* del agente causal de la marchitez sureña del chile.

Se ha documentado ampliamente el efecto inhibitorio de diversos extractos *in vitro* contra *S. rolfsii*, como *Lupinus rotundiflorus* y *L. exaltatus* (Bernal *et al.*, 2005), higuierilla (*Ricinus communis*), albahaca (*Ocimum basilicum*), mastuerzo (*Lepidium virginicum*), ajo (*Allium sativum*) (Marcano *et al.*, 2005) *Coronopus didymus* (Drakshan y Javaid, 2011), ajo (*A. sativum*) y jengibre (*Zingiber officinale*) (Yasmin, 2016), ajo y cebolla (Banakar *et al.*, 2017). Aunque el empleo de extractos parece una alternativa promisorio (Zapata *et al.*, 2020), es necesario realizar estudios en campo para evaluar el efecto sobre el inóculo primario constituido por el esclerocio para incidir en el manejo *S. rolfsii* y otros hongos, con un enfoque preventivo.

En conclusión, con base en la caracterización patogénica, cultural, morfológica y molecular (PV569903, número de accesoión NCBI), el agente causal del tizón sureño aislado de plantas de chile criollo en Cocula, Guerrero, se identificó como *Agroathelia rolfsii* (*Sclerotium rolfsii*). *Trichoderma asperellum* (nativa de Cocula), *Trichoderma* sp. (nativa de Iguala) y *T. virens* (PHC® ROOTMATE) inhibieron el crecimiento *in vitro* de *S. rolfsii*.

El hongo también exhibió alta sensibilidad *in vitro* a los fungicidas sulfato de cobre, clorotalonil, quintozeno, benomilo y piraclostrobin y a los extractos vegetales comerciales a base de *Reynoutria sachalinensis*, *Lippia graveolens* + *L. berlanderi*, *A. indica* + *Cinnamomum verum*. Se postula que estas cepas de *Trichoderma*, fungicidas y extractos vegetales pueden ser una alternativa viable para su validación en campo y posible integración en un programa de manejo sostenible del tizón sureño del chile criollo causado por *S. rolfsii* en Guerrero.

Limitaciones

No se incluyeron validaciones de los tratamientos de *in vivo* en condiciones de campo.

Conflictos de interés

Todos los autores declaran no tener conflicto de interés en relación con esta investigación

Financiamiento

Fondos institucionales fueron proporcionados por el CSAEGRO y UPAEP.

Contribución de los autores

Concepción del trabajo, JFDN, JTS; conceptualización, JFDN, JTS, SAS y JLAV; metodología, JFDN, JTS, SAS y JFAB; análisis estadístico, JFDN y MVH; obtención de datos, JFDN, JTS, SAS, JFAB; preparación del manuscrito original, revisión y edición, JFDN, JTS, SAS, MVH, MAB, JLAV, JFAB; obtención de financiamiento, JFDN, JTS, SAS. Todos los autores han leído y aceptado la versión publicada del manuscrito.

REFERENCIAS

- Alvarado LS, Ulacio DO, Sanabria CME y Jiménez TM. 2011. Compatibilidad *in vitro* de extractos vegetales y *Trichoderma harzianum* y su efecto en el crecimiento de *Sclerotium rolfsii* Sacc. y *Sclerotium cepivorum* Berk. Boletín del Centro de Investigaciones Biológicas 45(3): 217-343. <https://produccioncientificaluz.org/index.php/boletin/article/view/296>
- Akarapisan A, Kumvinit A and Ruamrungsri S. 2017. Bulb Rot of Amaryllis Caused by *Sclerotium rolfsii* and Effect of Fungicides on *in vitro* Inhibition of Mycelial Growth. Asian Journal Plant Pathology 11 (2): 95-101. <https://doi.org/10.3923/ajppaj.2017.95.101>
- Amule R, Gupta O and Mishra M. 2014. Techniques for screening of chickpea genotypes against collar rot, its management through host plant resistance and fungicides. Legume Research 37:110-114. <https://doi.org/10.5958/j.0976-0571.37.1.017>
- Ayvar SS, Mena BA and Durán RJA. 2007. El Cultivo de Chile Criollo y su Manejo Integrado. Iguala, Gro, México. 79 p.
- Balamurugan A, Ashajyothi M, Charishma K, Prakash G and Kumar A. 2022. *Athelia rolfsii* causing sprout and shoot rot of sugarcane in India. Australasian Plant Pathol. 51, 597–600. <https://doi.org/10.1007/s13313-022-00887-4>
- Banakar SN, Sanath VBK and Thejesha AG. 2017. *In vitro* evaluation of bioagents and fungicides against foot rot pathogen (*Sclerotium rolfsii* Sacc.) of tomato. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences. 6(3): 1591-1598. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.603.183>
- Baysal-Gurel F and Bika R. 2021. Management of powdery mildew on ninebark using sanitizers, biorational products, and fungicides. HortScience 56:532-537. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI15691-21>
- Bernal AA, Zamora JF, Virgen NG and Nuño CRR. 2005. Actividad biológica *in vitro* de extractos de *Lupinus* spp. sobre hongos fitopatógenos. Revista Mexicana de Fitopatología. 23(2): 140-146. <https://www.redalyc.org/pdf/612/61223205.pdf>
- Barnett HL and Hunter BB. 2000. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. 4th edition. 218 p.
- Bindu MG and Bhattiprolu SL. 2011. Integrated disease management of dry root rot of chilli incited by *Sclerotium rolfsii* (sacc.). International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences. 1(2): 31-37. <https://www.researchgate.net/publication/259753683>
- DNASTAR. (2001). Lasergene Expert Sequence Analysis Software, User manual. Version 5. Wisconsin, USA: DNASTAR Inc. Madison.

- Díaz NJF, Alvarado GOG, Leyva MSG, Ayvar SS, Michel AAC and Vargas HM. 2015. Identification and control of fungi causing fruits rot in pipiana pumpkin (*Cucurbita argyrosperma* Huber). African Journal of Agricultural Research. 10:1150-1157. DOI:10.5897/AJAR2015.9486
- Díaz NJF, Vargas HM, Ayvar SS, Alvarado GOG, Solís AJF, Durán RJA, Díaz CHL and Hernández AA. 2014. Morphological and PCR identification of *Rhizoctonia solani* KÜHN isolated from pipiana pumpkin fruits and greenhouse management. Biotecnia 16:17-21. DOI:10.18633/bt.v16i3.107
- Díaz NJF, Sahagún CJ, Vargas HM, Ayvar SS, Alvarado GOG, Villanueva VC and Acosta RM. 2018. Diagnosis and integrated management of fruit rot in *Cucurbita argyrosperma*, caused by *Sclerotium rolfsii*. Plant Pathology Journal 34(3): 171-181. <https://doi.org/10.5423/PPJ.OA.08.2017.0185>
- Drakshan I and Javadi A. 2011. Bioassays guided fractionation of *Coronopus didymus* for its antifungal activity against *Sclerotium rolfsii*. Natural Product Research. 26(17): 1638-1644. <https://doi.org/10.1080/14786419.2011.587421>
- Fillinger S and Walker AS. 2016. Chemical Control and Resistance Management of *Botrytis* Diseases. Pp: 189-216. In. Fillinger S. & Elad Y.; Springer.
- Elad Y. (eds.). 2016. Botrytis: The Fungus, the Pathogen and its Management in Agricultural Systems. Springer Cham Heidelberg New York Dordrecht London. 486p.
- Flores Y, Romero A and Mujica Y. 2017. Efectividad de extractos vegetales y microorganismos eficientes sobre el crecimiento *in vitro* de *Sclerotium rolfsii*. Revista Unellez de Ciencia y Tecnología. 32: 82-90. <https://docplayer.es/45267291-Efectividad-de-extractos-vegetales-y-microorganismos-eficientes-sobre-el-crecimiento-in-vitro-de-sclerotium-rolfsii.html>
- Gopalakrishnan S, Beale MH, Ward JL and Strange RN. 2005. Chickpea wilt: identification and toxicity of methyl fusarubin from *Fusarium acutatum*. Phytochemistry. 66: 1536-1539. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2005.04.037>
- Hirpara DG, Gajera HP, Hirpara HZ and Golakiya BA. 2017. Antipathy of *Trichoderma* against *Sclerotium rolfsii* Sacc.: evaluation of cell wall-degrading enzymatic activities and molecular diversity analysis of antagonists. Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology 27:22-28. <https://doi.org/10.1159/000452997>
- Huang B, Huang J, Guo Z, Zheng J and Liu Q. 2023. First Report of Southern Blight Caused by *Athelia rolfsii* on Pepper in Yiyang, China. Plant Disease. 107:3287. <https://doi.org/10.1094/PDIS-03-23-0462-PDN>
- Jebaraj DM, Aiyannathan AKE and Tamil N. 2016. *In vitro* of fungicides against *Sclerotium rolfsii* (Sacc.) causing stem rot in groundnut. International Journal of Scientific Research. 5(6): 2251-2257. DOI: 10.36106/ijsr
- Kotasthane A, Agrawal T, Kushwah R and Rahatkar V. 2015. *In vitro* antagonism of *Trichoderma* spp. against *Sclerotium rolfsii* and *Rhizoctonia solani* and their response towards growth of cucumber, bottle gourd and bitter melon. European Journal of Plant Pathology, 141 (3): 523-543. <https://doi.org/10.1007/s10658-014-0560-0>
- Le B Z, Gaudin F, Robledo GF, Cosson P, Hastoy C, Rolin D and Schurdi LV. 2019. First Report of *Sclerotium* Stem Rot Caused by *Athelia rolfsii* on *Stevia rebaudiana* in Southwestern France. Plant disease 104 (2): 23. <https://doi.org/10.1094/PDIS-04-19-0696-PDN>
- Mahadevakumar S, Tejaswini GS, Yadav V, Gottravalli RJ. 2015. First report of *Sclerotium rolfsii* causing southern blight and leaf spot on common bean (*Phaseolus vulgaris*) in India. Plant disease. 99 (9): 1280. <https://doi.org/10.1094/PDIS-01-15-0125-PDN>
- Marcano AD, Vargas N and Pire A. 2005. Efecto de extractos vegetales y fungicidas sintéticos sobre el crecimiento micelial *in vitro* de *Sclerotium rolfsii* y *Thielaviopsis basicola*. Revista de la Facultad de Agronomía. 22 (84): 315-323. https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-78182005000400001
- Margaritopoulou T, Toufexi E, Kizis D, Balayiannis G, Anagnostopoulos C, Theocharis A, and Markellou E. 2020. *Reynoutria sachalinensis* extract elicits SA-dependent defense responses in courgette genotypes against powdery mildew caused by *Podosphaera xanthii*. Scientific Reports 10:3354. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-60148-6>
- Michel AAC, Otero SMA, Ariza FR, Barrios AA and Alarcón CN. 2013. Eficiencia biológica de cepas nativas de *Trichoderma* spp., en el control de *Sclerotium rolfsii* Sacc., en cacahuete. Avances en Investigación Agropecuaria. 17(3): 89-107. <http://www.ucol.mx/revaia/portal/pdf/2013/sept/7.pdf>
- Michel AAC, Otero Sánchez MA, Solano PLY, Ariza FR, Barrios AA and Rebolledo MA. 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. <https://www.scielo.org.mx/pdf/rmfi/v27n1/v27n1a3.pdf>
- Parmar HJ, Bodar NP, Lakhani HN, Patel SV, Umrani VV and Hassan MM. 2015. Production of lytic enzymes by *Trichoderma* strains during *in vitro* antagonism with *Sclerotium rolfsii*, the causal agent of stem rot of groundnut. African Journal Microbiology Research. 9:365-372. <https://www.researchgate.net/publication/273086879>
- Patil NN, Waghmo MS, Gaikwad PS, Gajbhiye MH, Gunjal AB, Nawani N and Kapadnis BP. 2014. Potential of *Microbispora* sp. V2 as biocontrol agent against *Sclerotium rolfsii*, the causative agent of southern blight of *Zea mays* L. (Baby corn) *in vitro* studies. Indian Journal of Experimental Biology. 52:1147-1151. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25434111/>
- Pérez ML, Belmonte VJR, Núñez PHG, Guzmán MR and Mendoza CB. 2015. *In vitro* sensitivity of two species of *Sclerotinia* spp. and *Sclerotium cepivorum* to agents of biological control and fungicides. Revista Mexicana de Fitopatología 33:256-267. <https://www.scielo.org.mx/pdf/rmfi/v33n2/2007-8080-rmfi-33-02-00256.pdf>

- Rao KLN, Raju KS and Ravisankar H. 2015. Antifungal properties of native *Trichoderma* isolates against *Sclerotium rolfsii* and *Pythium aphanidermatum* infecting tobacco. Journal of Environmental Biology. 36: 1349-1353. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26688972/>
- Rasu T, Sevugapperumal N, Thiruvengadam R and Ramasamy S. 2013. Biological control of sugarbeet root rot caused by *Sclerotium rolfsii*. International Journal of Biological, Ecological and Environmental Sciences. 2(1): 7-10. <https://es.scribd.com/document/228653955/Biological-Control-of-Sugarbeet-Root-Rot-Caused-by-Sclerotium-Rolfsii>
- Remesal E, Lucena C, Azpilicueta A, Landa BB and Navas CJA. 2010. First report of southern blight of pepper caused by *sclerotium rolfsii* in southern Spain. Plant Disease 94(2): 280. <https://doi.org/10.1094/PDIS-94-2-0280C>
- SADER, Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. 2025. <https://www.gob.mx/agricultura/dgsiap/acciones-y-programas/produccion-agricola-33119>. Consulta, mayo de 2025.
- Santos-Esteban D, Ayvar-Serna S, Díaz-Nájera JF and Bahena AM. 2021. Control orgánico de *Fusarium oxysporum* aislado de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). Foro de estudios sobre guerrero 8:227-230. <https://revistafesagro.cocytieg.gob.mx/index.php/revista/article/view/103/6>
- Sequencher. 2014. Sequence analysis software Version 5.3. Ann Arbor, MI, USA: Gene Codes Corporation.
- Shoresh M and Harman GE. 2008. The molecular basis of shoot responses of maize seedlings to *Trichoderma harzianum* T22 inoculation of the root: a proteomic approach. Plant Physiology. 147:2147-2163. <https://doi.org/10.1104/pp.108.123810>
- Sun S, Sun F, Deng D, Zhu X, Duan C and Zhu Z. 2019. First report of southern blight of mung bean caused by *Sclerotium rolfsii* in China. Crop Protection. 130:105055. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2019.105055>
- Sun R, Lu G, Wang F, Sun X, Gao L, Li Y and Luo Q. 2023. First report of southern blight caused by *Athelia rolfsii* on spotted laurel (*Aucuba japonica*) in China. Plant Disease 107:1949. <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-22-2138-PDN>
- Suryawanshi AP, Borgaonkar AS, Kuldhar DP and Dey U. 2015. Integrated management of collar rot (*Sclerotium rolfsii*) of brinjal (*Solanum melongena*). Indian Phytopathology. 68 (2) :189-195. <https://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.1006.7133&rep=rep1&type=pdf>
- Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipowski A and Kumar S. 2013. MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. Molecular Biology and Evolution 30(12): 2725–2729. <https://doi.org/10.1093/molbev/mst197>
- Tang W, Zhu YZ, He HQ and Qiang S. 2010. First report of southern blight on Canadian goldenrod (*Solidago canadensis*) caused by *Sclerotium rolfsii* in China. Plant Disease 94(9):1172. <https://doi.org/10.1094/PDIS-94-9-1172B>
- Terrones SJ, Ortega ASA, Ortega AC, Rodríguez EM, Sánchez RFJ, Palemón AF and Vallejo PMR. 2023. First report of *Athelia rolfsii* (= *Sclerotium rolfsii*) causing southern blight on *Pachyrhizus erosus* in Mexico. Plant Disease. 107:225. <https://doi.org/10.1094/PDIS-04-22-0874-PDN>
- Terrones SJ, Carrettillo MCD, Díaz NJF, Ayvar SS, Arispe VL, Flores DAC y Álvarez AN. 2025. Sensibilidad de *Colletotrichum truncatum* aislado de plantas de *Echeveria gibbiflora* a diferentes biofungicidas. Revista Mexicana de Fitopatología 43(4): 59. <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2024-16>
- Watanabe T. 2002. Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi. Morphologies of Cultures Fungi and Key to Species. Second edition. CRC PRESS. Boca Ratón, Florida. USA. 486 p.
- White TJ, Bruns T, Lee S and Taylor J. 1990. Amplification and Direct Sequencing of Fungal Ribosomal RNA Genes for Phylogenetics. In: PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications (Innis, M.A., Gelfand, D.H., Sninsky, J.J., White, T.J., eds), Academic Press, San Diego: 315–322.
- Yasmin S. 2016. *In vitro* evaluation of botanical extracts against some soil and seed borne fungi of economic importance. Journal of Agriculture and Ecology Research International. 8(2): 1-11. <https://doi.org/10.9734/JAERI/2016/26222>
- You JM, Liu H and Huang BJ. 2015. First report of southern blight caused by *Sclerotium rolfsii* on *Macleaya cordata* in China. Plant Disease 100 (2): 530. <https://doi.org/10.1094/PDIS-06-15-0675-PDN>
- Zapata NYA, Gómez MMR and Botina ABL. 2020. Evaluation of microbial antagonists and essential oils to control *Sclerotium cepivorum* in garlic under controlled conditions. Revista Mexicana de Fitopatología 38(2): 182-197. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.2002-2>