



## Caracterización de *Sclerotium rolfsii* y especies de *Trichoderma* en cultivos comerciales de papa en Sonora y Sinaloa, México

María Belén Irazoqui-Acosta<sup>1</sup>, Rubén Félix-Gastelum<sup>1\*</sup>, Karla Yeriana Leyva-Madriral<sup>1</sup>, Rosa Maria Longoria-Espinoza<sup>1</sup>, Gabriel Herrera-Rodríguez<sup>2</sup>, Sara Elodia Armenta-López<sup>2</sup>. <sup>1</sup>Universidad Autónoma de Occidente, Unidad Los Mochis, Departamento de Ciencias Naturales y Exactas, Boulevard Macario Gaxiola y Carretera Internacional, S/N, Los Mochis, Sinaloa, CP. 81223. <sup>2</sup>Junta Local de Sanidad Vegetal del Valle del Fuerte. Lázaro Cárdenas, 315 Pte. Col. Centro, Los Mochis Sinaloa, CP. 81200. México.

**\*Autor de Correspondencia:**

Rubén Félix-Gastelum  
ruben.felix@uadeo.mx

**Sección:**  
Edición periódica

**Recibido:**  
09 Agosto, 2024  
**Aceptado:**  
22 Agosto, 2025  
**Publicado:**  
28 Agosto, 2025

**Cita:**  
Irazoqui-Acosta MB, Félix-Gastelum R, Leyva-Madriral KY, Longoria-Espinoza RM, Herrera-Rodríguez G, et al. 2025. Caracterización de *Sclerotium rolfsii* y especies de *Trichoderma* en cultivos comerciales de papa en Sonora y Sinaloa, México. Revista Mexicana de Fitopatología 43(3): 85.  
<https://doi.org/10.18781/R.ME.X.FIT.2408-1>

### RESUMEN

**Antecedentes/Objetivo.** *Sclerotium rolfsii* causa pérdidas en la producción de papa (*Solanum tuberosum*) de hasta 20 % en los estados de Sonora y Sinaloa. No existen estudios sustentados con el método científico sobre la identificación del hongo, ni de las especies de *Trichoderma* presentes en suelo con potencial para control de *S. rolfsii*. Los objetivos del presente estudio fueron: a) Obtener aislados de *S. rolfsii* de predios de papa de Sonora y Sinaloa, y determinar la densidad poblacional de esclerocios del hongo; b) Aislar, cuantificar la densidad poblacional e identificar morfológica y molecularmente aislados de *Trichoderma* spp., en los mismos suelos con el fin de emplearlos en estudios subsiguientes para el control y d) Determinar la patogenicidad de *S. rolfsii* en tubérculos de papa en condiciones de laboratorio.

**Materiales y Métodos.** Los aislados se recolectaron en 239 predios comerciales de papa en Sonora y Sinaloa. La densidad poblacional se determinó por conteo de esclerocios de *S. rolfsii* y las Unidades Formadoras de Colonias (UFC g<sup>-1</sup>) de *Trichoderma*. La identificación se realizó mediante estudios morfométricos y moleculares a través de PCR, secuenciación y análisis filogenético del Espaciador Transcrito Interno (ITS) de *S. rolfsii* y la subunidad de ARN polimerasa II (RPB2) de *Trichoderma* spp. La patogenicidad de *S. rolfsii* se determinó en tubérculos de papa var. Fianna.

**Resultados.** Se identificaron 20 aislados de *S. rolfsii* cuya densidad poblacional varió de 2 a 24 esclerocios kg<sup>-1</sup> de suelo. Por otro lado, se identificaron 26 aislados de *Trichoderma* spp., de los cuales 16 correspondieron a *T. asperellum*, cinco a *T. asperelloides*, cuatro a *T. afroharzianum* y uno a *T. azevedoi* con densidad poblacional de 2 a 8 UFC g<sup>-1</sup> de suelo. Los aislados de *S. rolfsii* resultaron patógenos en tubérculos de papa var. Fianna, con diferentes grados de agresividad.

**Conclusión.** Se demostró la presencia de *Sclerotium rolfsii* en 8.4 % de los 239 predios de papa muestreados en Sonora y Sinaloa durante los ciclos 2019-2022, con densidades de 2 a 24 esclerocios kg<sup>-1</sup> de suelo. La confirmación del patógeno mediante métodos convencionales y moleculares, así como su capacidad para inducir pudrición blanda en tubérculos var. Fianna, evidencia su impacto potencial productivo. La agresividad de los aislados fue variable, destacando el aislado Scr4, con penetración de hasta 16.9 mm y 10.5 % de pudrición. Paralelamente, se identificaron 26 aislados de *Trichoderma* spp. en 10.9 % de los predios, con densidades de 2 a 8 UFC g<sup>-1</sup> de suelo. *T. asperellum* en Sinaloa y *T. asperilloides* en Sonora fueron los más prevalentes.

Estos hallazgos subrayan la importancia de incorporar estrategias sustentables de manejo, considerando tanto la variabilidad del patógena como la posible aplicación de antagonistas nativos. Además, resaltan la necesidad de investigar la dinámica del patógeno y las prácticas agrícolas que minimicen su prevalencia y carga de inóculo regional.

**Palabras clave:** Hongo, Identificación, Densidad poblacional, Patogenicidad, Agresividad



## INTRODUCCIÓN

La papa (*Solanum tuberosum*) es considerada uno de los cultivos más importantes en cuanto a su producción mundial, después del trigo (*Triticum* spp.) y el arroz (*Oryza sativa*) (FAO, 2024). En México, la producción de papa se estima en 1,986198 t (SIAP, 2023), siendo los estados de Sonora y Sinaloa los principales productores donde resaltan las variedades: Fianna, Orquesta, Atlantic, FL-1867, FL-2027, FL-2395 y FL-2312, representando el 52.4 % de la producción nacional (SIAP, 2023). El rendimiento está determinado por diversos factores en el manejo del cultivo, entre los cuales destacan las enfermedades de origen biótico, que afectan el desarrollo de la planta y la calidad de los tubérculos (Herrera y Scott, 1993). Los hongos, bacterias, nematodos y virus que afectan al tubérculo producen: manchas foliares, agallas, mosaicos, pudriciones, entre otros (Fiers *et al.*, 2012).

La pudrición blanda, es una enfermedad ocasionada por el hongo *Sclerotium rolfsii*. Los síntomas consisten en lesiones color marrón en tallo y tubérculos, y en estados avanzados de la enfermedad se observa pudrición blanda con lesiones ligeramente hundidas. Los signos se caracterizan por el desarrollo de micelio blanco y presencia de esclerocios redondeados de color marrón, de 2 a 4 mm de diámetro sobre el tejido infectado (Garibaldi *et al.*, 2007; Roca *et al.*, 2016). Las pérdidas causadas por la enfermedad han alcanzado hasta el 60 % en otras partes del mundo (Haque y Khan, 1977). En Sinaloa, los daños se han estimado en un 20 % en lotes comerciales de papa.

*S. rolfsii* es un hongo necrotrófico habitante del suelo, con alta capacidad de desarrollo saprófito; se considera un patógeno de gran importancia económica en la agricultura, por su amplio rango de hospedantes, amplia distribución geográfica y su capacidad de supervivencia mediante la formación de esclerocios y micelio, logrando sobrevivir en materia orgánica muerta u hospedantes alternativos (Aycok, 1966; Punja, 1985).

En años recientes, en Sinaloa y Sonora se han observado síntomas de pudrición blanda en el cultivo de papa. Cabe resaltar que se han realizado estudios para el control de esta enfermedad, en los que se han determinado las dosis adecuadas de fungicidas para su control (Browne *et al.*, 2002). Sin embargo, el alto costo, las regulaciones ambientales y la toxicidad de los fumigantes limitan el uso de este tipo de moléculas en el manejo de la enfermedad (García-González *et al.*, 2022). También se ha recurrido a la aplicación de especies de *Trichoderma* como agentes de biocontrol, las cuales han mostrado ser eficaces (Guzmán *et al.*, 2014; Zúñiga y Ceja, 2017). Martínez-Martínez *et al.* (2020) realizaron un estudio en México, en el cual se utilizaron cepas de diferentes especies de *Trichoderma* contra el crecimiento micelial de *S. rolfsii*, resultando en una alternativa viable, tanto *in vitro* como *in planta*, para el control de este fitopatógeno en garbanzo. Sin embargo, no se ha realizado investigación en México sobre esta enfermedad en el cultivo de papa.

Por lo anterior, los objetivos del presente estudio fueron: a) obtener aislados de *S. rolfsii* de suelos sometidos al cultivo de papa (*S. tuberosum*) en los estados de Sonora y Sinaloa, y determinar la densidad poblacional de esclerocios del hongo; b) aislar, cuantificar la densidad poblacional e identificar morfológica y molecularmente aislados de *Trichoderma* spp., en los mismos suelos con el fin de emplearlos en estudios subsiguientes para el control de la enfermedad y d) determinar la patogenicidad de *S. rolfsii* en tubérculos de papa en condiciones de laboratorio.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Recolecta de muestras.** Durante el desarrollo del trabajo, se recolectaron muestras de suelo de 239 predios de zonas productoras de papa en Sonora y Sinaloa, en los ciclos agrícolas otoño-invierno 2019-2020, 2020-2021 y 2021-2022. Se seleccionaron predios comerciales de papa de 10 hectáreas, en los que se colectaron cinco submuestras de 500 g por el método de ‘cinco de oros’. Las submuestras se homogenizaron, tomando 1 kg como muestra final. Las muestras se etiquetaron y procesaron en condiciones de laboratorio.

**Densidad poblacional, aislamiento y caracterización morfológica de aislados de *S. rolfsii*.** Para determinar las poblaciones de *S. rolfsii*, se extrajeron esclerocios de las muestras de suelo, utilizando la técnica de flotador de Fenwick (Van-Bezooijen, 2006). Se utilizaron 500 g de muestra de suelo seco y se depositaron en un tamiz número 20 (850 µm), sobre el flotador. En la salida de agua, se colocó un tamiz número 60 (250 µm). Posteriormente, las partículas retenidas se secaron a la sombra, sobre papel absorbente durante 24 h. Las partículas se observaron bajo el microscopio estereoscópico (Carl Zeiss®; SteREO Discovery.V20, Alemania); se colectaron y cuantificaron los esclerocios obtenidos en la muestra. Enseguida, se desinfestaron en una solución de hipoclorito de sodio al 1 % por un min y se sembraron en medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA) (BD Bioxon®) suplementado con cloranfenicol (15 µg mL<sup>-1</sup>) (Armenta-López *et al.*, 2021). Las cajas se incubaron a 27 °C por 48 h (Yamato Scientific Co., LTD®; Economy Incubator IN804, Tokio, Japón). Del punto de crecimiento de la colonia, se tomó y transfirió un disco de 5 mm de diámetro a cajas Petri con PDA y se incubó a 27 °C.

Para la identificación morfológica de *Sclerotium* spp. se colocó un disco de PDA de 5 mm de diámetro con crecimiento activo de cada aislado, en el borde de tres cajas Petri de 90 mm con el mismo medio. Las cajas se incubaron a 27 °C hasta que el hongo llenó la caja. Para determinar la tasa de crecimiento micelial, se utilizó la fórmula:  $TC = (\text{Crecimiento final} - \text{Crecimiento inicial}) / \text{tiempo de incubación}$  (Guigón-López *et al.*, 2010). Se describió la morfología colonial: color de colonia en la caja (anverso y reverso); forma y tipo de micelio. Además, se registraron las características de las hifas y la formación de fibulas y el color de los esclerocios (Paparú *et al.*, 2020). Adicionalmente, se evaluó el número promedio de esclerocios producidos y se determinó su tamaño en una muestra de 30 esclerocios por caja Petri en cada uno de los aislados (Prasad *et al.*, 2012).

**Densidad poblacional, aislamiento y caracterización morfológica de aislados de *Trichoderma* spp.** Para la obtención de aislados de *Trichoderma* spp., de cada muestra se pesó 0.5 g de suelo (Ohaus Corporation®; YS600, China), se espolvoreó sobre la superficie de una caja Petri con PDA y se incubó por 10 días a 27 °C. Una vez desarrolladas las colonias con morfología típica del género (Gary y Prakash, 2015), se realizó la cuantificación de estas por caja Petri, se transfirieron a cajas con el mismo medio y se incubaron a 27 °C. Las colonias de *Trichoderma* se purificaron con la técnica de cultivo monospórico de Estrada *et al.* (1997). De cada aislado de *Trichoderma* se tomaron discos de micelio de 5 mm de diámetro y se transfirieron a PDA, Spezieller Nährstoffarmer Agar (SNA) (modificado por Nirenberg, 1976) y Harina de Maíz Agar (HMA) (BD BBL®), en el borde de cajas Petri de 90 mm de diámetro (tres réplicas por cada medio). Las cajas se incubaron durante siete días en cámara bioclimática (Thermo Scientific®; Precision 3759, USA), utilizando luz fluorescente blanca-fría a 25 °C (Pacheco *et al.*, 2016). El crecimiento

micelial se midió cada 24 h, hasta que éste llenó la caja en PDA y SNA. Se registraron las medidas desde el borde del disco de inóculo hasta el punto más distante de la colonia. Para determinar la tasa de crecimiento se utilizó la fórmula anteriormente descrita (Guigón-López *et al.*, 2010). En el medio PDA y SNA se evaluó el color y borde de la colonia, tipo de micelio, mientras que en HMA se determinó el tamaño de pústula conidial, tipo de desarrollo, la forma del conidióforo, posición de la clamidospora, forma y tamaño de fiálides y conidios. Las estructuras se montaron en portaobjetos, utilizando la técnica de cinta adhesiva y glicerina (Gary y Prakash, 2015), y se observaron bajo el microscopio compuesto con el objetivo 100x (Carl Zeiss®; Axio Imager M2, Alemania). Se registró la forma y dimensión ( $\mu\text{m}$ ) de 30 fiálides y 30 conidios, en cada aislado.

**Identificación molecular de *S. rolsii* y *Trichoderma* spp.** Se colocaron tres discos de cada aislado en tubos de centrifuga que contenían 25 mL de caldo nutritivo. Los cultivos se incubaron a 27 °C con agitación constante durante cinco días a 150 rpm (Labnet International, Inc.®; Labnet Incubator Shaker 311DS, USA). El micelio se colocó en tubos Eppendorf de 2 mL. El ADN genómico se obtuvo empleando el método de CTAB al 2 % (Sanger *et al.*, 1977) y al final se ajustó a 50 ng  $\mu\text{L}^{-1}$ . La presencia e integridad de ADN se verificó mediante electroforesis (Thermo Scientific®; Electrophoresis Power Supply EC1000XL, China) en gel de agarosa al 1 %. Se observaron las bandas en un fotodocumentador (BIORAD®; Universal Hood II, USA). La concentración y calidad de ADN se determinó en un NanoDrop (Thermo Scientific®; NanoDrop One ND-ONE, USA).

La identificación molecular de los aislados de *Sclerotium*, se realizó mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), para amplificar un fragmento de  $670 \pm \text{pb}$  del Espaciador Transcrito Interno (ITS: Internal Transcribed Spacer) con los oligonucleótidos ITS1 (5' TCC GTA GGT GAA CCT TGC GG 3') e ITS4 (5' TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC 3') (White *et al.*, 1990). Los oligonucleótidos fRPB2-5F (5' GAT CGA TCA CGA TGA TCA TCT TTC GG 3') y fRPB2-7cR (5' CCC ATA GGC TTG TCT TAG CCC AT 3') (Liu *et al.*, 1999), se utilizaron para amplificar un fragmento de  $1100 \pm \text{pb}$  de la subunidad de ARN polimerasa II (RPB2) (Chaverril *et al.*, 2003). La mezcla de reacción para cada muestra fue de 25  $\mu\text{L}$ , la cual contenía 1X de buffer, 0.2  $\mu\text{g}$   $\mu\text{L}^{-1}$  de BSA, 0.2 mM de dNTP's, 1.5 mM de  $\text{MgCl}_2$ , 0.5  $\mu\text{M}$  de cada oligonucleótido, 0.1 U  $\mu\text{L}^{-1}$  de Taq polimerasa (Promega®) y 50 ng de ADN. El volumen final se ajustó con agua ultrapura. Las condiciones de amplificación fueron las siguientes: desnaturalización inicial de 94 °C durante 5 min, 35 ciclos de desnaturalización a 94 °C por 30 s, alineamiento (57 °C para ITS y 54 °C para RPB2) por 40 s y extensión a 72 °C por 45 s, seguidos de una extensión final a 72 °C por 5 min, en un Termociclador (BIORAD®; C1000 Thermal Cycler CFX96, Singapore). Se utilizaron 5  $\mu\text{L}$  de producto de reacción y 1X de buffer de carga (Promega®), para realizar la electroforesis en gel de agarosa al 1.5 %. Los fragmentos amplificados fueron observados utilizando el fotodocumentador y enviados para secuenciación a la compañía Macrogen® Seúl, Corea.

Las secuencias de la región ITS para *S. rolsii* y el gen RPB2 para *Trichoderma*, se editaron en el programa BioEdit versión 7.2.5 (Hall, 1999), y se compararon en la base de datos GenBank, utilizando el algoritmo BLASTn. Las secuencias obtenidas se alinearon con secuencias de referencia, pertenecientes a cepas tipo de las distintas especies de los complejos de *Trichoderma*: p.e. *T. harzianum* y *T. viride*, y cepas tipo pertenecientes a *Sclerotium rolsii*, utilizando el software MUSCLE (Edgar, 2004) implementado en MEGA

X versión 10.2.4 (Kumar *et al.*, 2018). Las secuencias de *Ceratobasidium cornigerum* (AJ302006) y *Protocrea pallida* (CBS 121552) fueron utilizadas como grupo externo en el análisis filogenético de *Sclerotium* y *Trichoderma*, respectivamente. El alineamiento se sometió a una prueba de ajuste de modelo de sustitución nucleotídica y esquema de particiones en el programa PartitionFinder v1.1.1 (Lanfear *et al.*, 2012), siguiendo el algoritmo greedy y el criterio de información de Akaike (AIC). La inferencia filogenética de *Trichoderma* se realizó mediante Máxima Verosimilitud (MV) en el programa RAxML v7.2.8 (Stamatakis, 2006) e Inferencia Bayesiana (IB) en MrBayes 3.2.7 (Ronquist *et al.*, 2012) mientras que la de *Sclerotium* sólo se hizo por MV. En ambos análisis se utilizó el modelo General Time Reversible con distribución gamma y sitios invariables (GTRGAMMAI) y el esquema de particiones definido por PartitionFinder. En el análisis de MV se emplearon 1,000 réplicas bootstrap, y para el de IB se emplearon dos corridas simultáneas de 1 millón de generaciones con seis cadenas de Markov y Monte Carlo, muestreos cada 1,000 árboles filogenéticos y la eliminación (burnin) del 20 % de los árboles. La estabilidad y convergencia de las corridas se evaluó en Tracer ver. 1.7.2 (Rambaut *et al.*, 2018). Los Filogramas se editaron en FigTree v1.4.0 (Rambaut, 2014).

**Patogenicidad de *Sclerotium rolfii* en tubérculos de papa.** Se evaluó la patogenicidad de 20 aislados de *S. rolfii* (Scr2, Scr3, Scr4, Scr5, Scr6, Scr7, Scr8, Scr9, Scr10, Scr11, Scr12, Scr13, Scr14, Scr17, Scr47, Scr48, Scr49, Scr50, Scr51 y Scr54) obtenidos del muestreo de suelos cultivados con papa en Sonora y Sinaloa. Se utilizaron tubérculos de papa variedad Fianna, éstos se lavaron y desinfectaron superficialmente con alcohol al 70 %. Se usaron cinco tubérculos sanos por tratamiento y se colocaron en cámaras húmedas para lograr alta humedad relativa. En los tubérculos se provocó una lesión superficial con un sacabocado de 5 mm de diámetro, y sobre la lesión se colocó un disco de 5 mm de PDA con crecimiento activo del hongo. Como testigo, se inocularon tubérculos con discos de PDA sin el hongo. Los tubérculos inoculados y testigos se colocaron en cámara bioclimática a 27 °C (Daami-Remadi *et al.*, 2012). Los datos de temperatura y humedad dentro de la cámara húmeda se registraron con un Data Logger (MadgeTech®; RFRHTemp2000A, Wireless Temperature / Humidity Data Logger, USA) cada hora durante la prueba.

La patogenicidad y virulencia de los aislados en los tubérculos, se determinó ocho días después de la inoculación con el patógeno, para lo cual los tubérculos se cortaron transversalmente, en el centro de la lesión y se midieron el ancho máximo (A) y profundidad (PR) de la lesión, para determinar la penetración del patógeno (P), la cual se calculó recurriendo a la fórmula de Lapwood *et al.* (1984):  $P \text{ (mm)} = (A / 2 + (PR - 6)) / 2$ . También se estimó el porcentaje de pudrición blanda del tejido de los tubérculos, utilizando la metodología de Bourne *et al.* (1981) y Hildenbrand y Ninnemann (1994), que consiste en pesar cada tubérculo (PT), posteriormente extraer el tejido dañado (podrido) y pesar de nuevo (PS). Para determinar el porcentaje de tejido con pudrición se utilizó la siguiente fórmula (%):  $\% = (PT - PS / PT) \times 100$ . Posteriormente, se aisló al patógeno del tejido que presentó síntomas característicos de la enfermedad, y se identificó morfológicamente para completar los postulados de Koch. El experimento se desarrolló en dos ocasiones.

**Análisis estadísticos de datos.** La normalidad de los datos sobre penetración y porcentaje de pudrición blanda por el patógeno se verificó mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov con el paquete estadístico SAS 9.0. Los análisis mostraron que la distribución de

los datos no fue normal, por lo que se sometieron a análisis no paramétrico de Kruskal-Wallis con un valor de ( $P>0.05$ ).

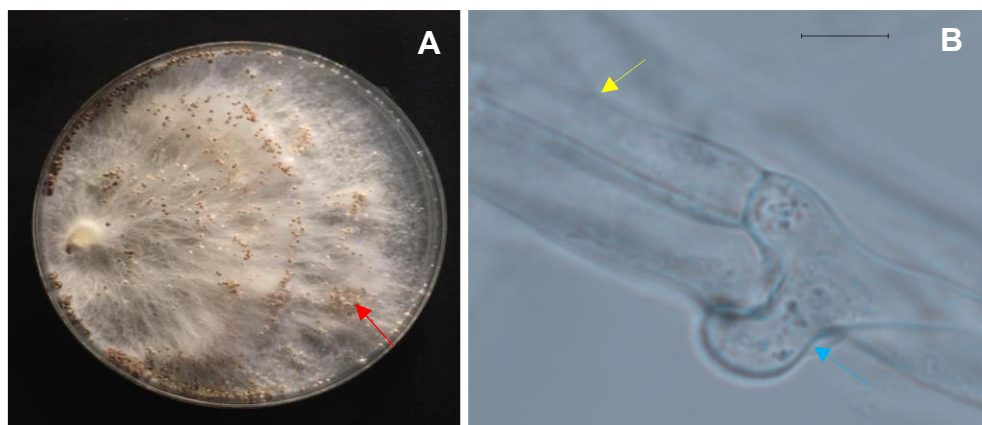
## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Densidad poblacional y caracterización morfológica y molecular de aislados de *S. rolfsii*.** Se obtuvieron 20 aislados de *S. rolfsii* de un mismo número de predios de un total de 239 predios muestreados en Sonora y Sinaloa, lo cual representó el 8.4 % de los lotes con presencia del hongo; la densidad poblacional varió de 2 a 24 esclerocios por kg de suelo (Cuadro 1). Los aislados presentaron micelio de color blanquecino con apariencia fibrosa y algodonosa, en forma de abanico (Figura 1A). Hifas hialinas, septadas, con presencia de fibulas (Figura 1B). Se observaron tonalidades de blanquecina a amarillenta en el reverso de las colonias similar a lo reportado por Paparu *et al.* (2020). Según Mahadevakumar *et al.* (2018), *S. rolfsii* presenta distintas características morfológicas, tanto en su colonia como en los esclerocios, influenciado por la amplia gama de hospedantes y condiciones climáticas en donde se desarrolla. Los aislados presentaron un crecimiento radial de 4-16 mm/día, hasta alcanzar 90 mm de diámetro en la caja Petri, entre cinco y ocho días de incubación (Prasad *et al.*, 2012). Okereke y Wokocha, (2007) reportaron que la variación en el crecimiento de los aislados se debe a diferencias en los niveles de nutrientes, ecología o diferencias genéticas. Los esclerocios se desarrollaron de 10 a 20 días después de la siembra, y variaron de 0.5 a 2 mm de diámetro. Los aislados formaron entre 18 a 153 esclerocios por caja Petri. Los esclerocios exhibieron color marrón claro a marrón oscuro conforme a su grado de maduración, similares a las estructuras morfológicas publicadas por Zhou *et al.* (2019). Asimismo, el tamaño de los esclerocios fue similar a lo registrado por Díaz-Nájera *et al.* (2018).

**Cuadro 1.** Identificación, densidad poblacional y origen de colecta 20 aislados de *S. rolfsii* obtenidos de suelo de 20 predios comerciales de papa (*S. tuberosum*) de un total 239 predios muestreados en Sonora y Sinaloa.

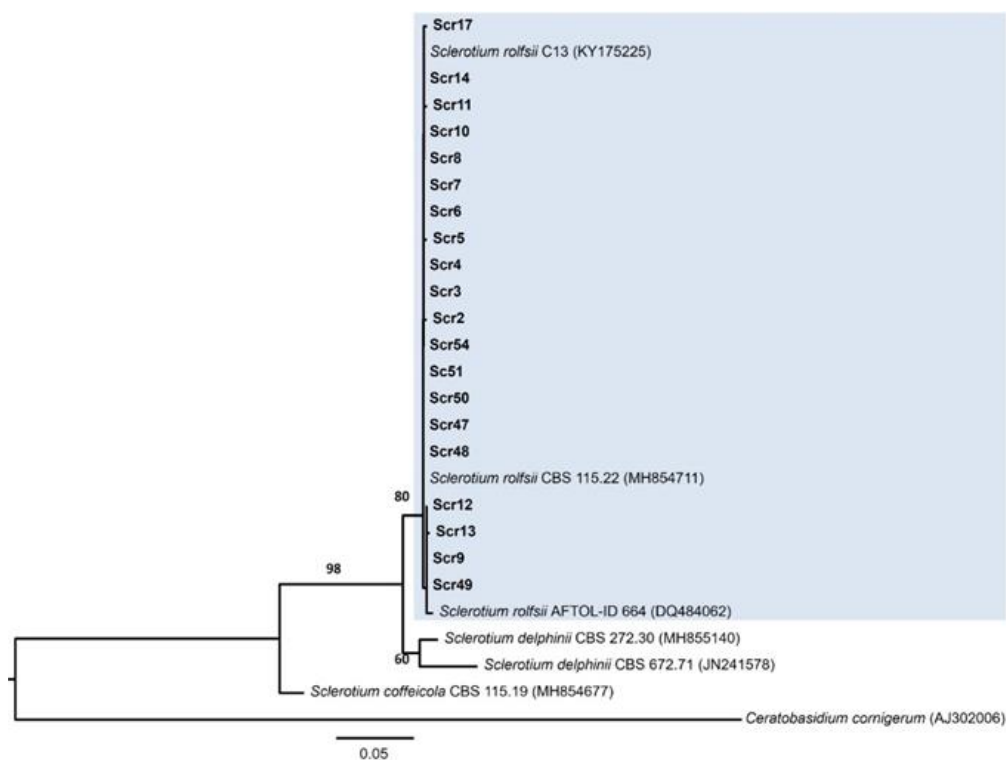
| Código | Identificación    | Esclerocios/kg de suelo | Ciclo agrícola | Municipio/Estado   | Coordenadas           | Código GenBank |
|--------|-------------------|-------------------------|----------------|--------------------|-----------------------|----------------|
| Scr2   | <i>S. rolfsii</i> | 8                       | 2019-2020      | El Fuerte, Sinaloa | 25.942500 -108.809166 | OR514111       |
| Scr3   | <i>S. rolfsii</i> | 10                      | 2019-2020      | Ahome, Sinaloa     | 25.777500 -109.040277 | OR514112       |
| Scr4   | <i>S. rolfsii</i> | 24                      | 2019-2020      | Ahome, Sinaloa     | 25.701944 -109.043333 | OR514113       |
| Scr5   | <i>S. rolfsii</i> | 6                       | 2019-2020      | Ahome, Sinaloa     | 25.851944 -108.885000 | OR514114       |
| Scr6   | <i>S. rolfsii</i> | 12                      | 2019-2020      | Ahome, Sinaloa     | 25.669722 -109.006111 | OR514115       |
| Scr7   | <i>S. rolfsii</i> | 10                      | 2019-2020      | Ahome, Sinaloa     | 25.769444 -109.045000 | OR514116       |
| Scr8   | <i>S. rolfsii</i> | 20                      | 2019-2020      | Ahome, Sinaloa     | 25.836944 -108.926388 | OR514117       |
| Scr9   | <i>S. rolfsii</i> | 4                       | 2019-2020      | Ahome, Sinaloa     | 25.691944 -109.010277 | OR514118       |
| Scr10  | <i>S. rolfsii</i> | 6                       | 2019-2020      | El Fuerte, Sinaloa | 25.944917 -108.908333 | OR514119       |
| Scr11  | <i>S. rolfsii</i> | 2                       | 2019-2020      | Ahome, Sinaloa     | 25.743611 -108.998610 | OR514120       |
| Scr12  | <i>S. rolfsii</i> | 4                       | 2019-2020      | Ahome, Sinaloa     | 25.876111 -108.835000 | OR514121       |
| Scr13  | <i>S. rolfsii</i> | 2                       | 2019-2020      | Guasave, Sinaloa   | 25.652500 -108.763888 | OR514122       |
| Scr14  | <i>S. rolfsii</i> | 8                       | 2019-2020      | Ahome, Sinaloa     | 25.789166 -108.895277 | OR514123       |
| Scr17  | <i>S. rolfsii</i> | 18                      | 2019-2020      | Ahome, Sinaloa     | 25.773330 -109.280277 | OR514124       |
| Scr47  | <i>S. rolfsii</i> | 2                       | 2021-2022      | Ahome, Sinaloa     | 25.465355 -108.542845 | OR514125       |
| Scr48  | <i>S. rolfsii</i> | 6                       | 2021-2022      | Ahome, Sinaloa     | 25.464949 -108.543231 | OR514126       |
| Scr49  | <i>S. rolfsii</i> | 16                      | 2021-2022      | Ahome, Sinaloa     | 25.465739 -108.541982 | OR514127       |
| Scr50  | <i>S. rolfsii</i> | 10                      | 2021-2022      | Ahome, Sinaloa     | 25.465119 -108.543142 | OR514128       |
| Scr51  | <i>S. rolfsii</i> | 14                      | 2021-2022      | Ahome, Sinaloa     | 25.464987 -108.543004 | OR514129       |
| Scr54  | <i>S. rolfsii</i> | 18                      | 2021-2022      | Altar, Sonora      | 30.945163 -111.830293 | OR514130       |

Con respecto a la producción de esclerocios, los resultados del presente estudio coinciden con lo reportado por Ayed *et al.* (2018); su formación inició en el mismo periodo registrado por Mahadevakumar *et al.* (2018). Distinto a lo consignado por Paparu *et al.* (2020), quienes registran la producción de esclerocios 28 días después de su crecimiento en PDA.



**Figura 1.** Características morfológicas de *Sclerotium rolfsii* (Scr17). (A) Morfología colonial en medio PDA, y esclerocios (flecha roja); (B) Hifa hialina (flecha amarilla) y fibulas en septo (flecha azul) (100x). Escala: (B= 50  $\mu$ m).

El filograma de Máxima Verosimilitud, generado con las secuencias de la región ITS de los 20 aislados de *Sclerotium* provenientes de 20/239 predios se ilustra en la Figura 2.



**Figura 2.** Análisis filogenético de aislados de *Sclerotium rolfsii* de Sonora y Sinaloa (Cuadro 1). Árbol de máxima verosimilitud basado en el Espaciador Transcrito Interno (ITS) de 20 aislados de *S. rolfsii*. Los aislados caracterizados en este estudio aparecen en negritas. Los valores bootstrap mayores a 50 se muestran como porcentajes. La barra de escala indica el número esperado de sustituciones de nucleótidos.

El análisis demostró que los 20 aislados: Scr2, Scr3, Scr4, Scr5, Scr6, Scr7, Scr8, Scr9, Scr10, Scr11, Scr12, Scr13, Scr14, Scr17, Scr47, Scr49, Scr49, Scr50, Scr51 y Scr54 pertenecen a la especie *Sclerotium rolfsii*; puesto que se agrupan con las secuencias de los aislados tipo C13 (KY175225), CBS 115.22 (MH854711) y AFTOL-ID (DQ484062) de esta especie con homologías superior al 95 % y con un alto soporte bootstrap (80 %) (Figura 2), resultados que coinciden con lo reportado por Mahadevakumar *et al.* (2018).

**Densidad poblacional y caracterización morfológica y molecular de aislados de especies de *Trichoderma*.** Se obtuvieron 26 aislados de *Trichoderma* spp. de suelos de 26 / 239 predios de Sonora y Sinaloa, lo cual representó el 10.9 % de los lotes con presencia del hongo; con una densidad poblacional de 2 a 8 Unidades Formadoras de Colonias por gramo de suelo (UFC g<sup>-1</sup>) (Cuadro 2).

**Cuadro 2.** Identificación, densidad poblacional y origen de colecta de 26 aislados de *Trichoderma* obtenidos de suelos de predios comerciales de papa (*S. tuberosum*) en Sonora y Sinaloa.

| Código | Especies <sup>x</sup>   | UFC g <sup>-1</sup> | Ciclo agrícola | Municipio/ Estado  | Coordenadas           | Código GenBank |
|--------|-------------------------|---------------------|----------------|--------------------|-----------------------|----------------|
| TES19  | <i>T. asperelloides</i> | 4                   | 2020-2021      | Caborca, Sonora    | 31.041666 -112.331111 | OR521159       |
| TES20  | <i>T. asperelloides</i> | 2                   | 2020-2021      | Altar, Sonora      | 31.062222 -111.834722 | OR521160       |
| TAF21  | <i>T. afroharzianum</i> | 6                   | 2020-2021      | Altar, Sonora      | 30.909444 -111.804444 | OR521161       |
| TAM22  | <i>T. asperellum</i>    | 4                   | 2020-2021      | Caborca, Sonora    | 30.541388 -112.273611 | OR521162       |
| TES23  | <i>T. asperelloides</i> | 8                   | 2020-2021      | Caborca, Sonora    | 31.995555 -112.360277 | OR521163       |
| TES24  | <i>T. asperelloides</i> | 6                   | 2020-2021      | Caborca, Sonora    | 31.066660 -112.338333 | OR521164       |
| TES26  | <i>T. asperelloides</i> | 4                   | 2020-2021      | Caborca, Sonora    | 30.660000 -111.270550 | OR521165       |
| TAM27  | <i>T. asperellum</i>    | 2                   | 2019-2020      | Guasave, Sinaloa   | 25.722955 -108.740276 | OR521166       |
| TAM30  | <i>T. asperellum</i>    | 2                   | 2019-2020      | El Fuerte, Sinaloa | 25.944916 -108.908333 | OR521167       |
| TAM31  | <i>T. asperellum</i>    | 2                   | 2019-2020      | Guasave, Sinaloa   | 25.655277 -108.561944 | OR521168       |
| TAF33  | <i>T. afroharzianum</i> | 4                   | 2020-2021      | S. de Leyva, Sin.  | 25.952500 -108.406388 | OR521169       |
| TAM35  | <i>T. asperellum</i>    | 4                   | 2020-2021      | Ahome, Sinaloa     | 25.760550 -109.266388 | OR521170       |
| TAM37  | <i>T. asperellum</i>    | 6                   | 2020-2021      | Guasave, Sinaloa   | 25.712500 -108.782222 | OR521171       |
| TAF38  | <i>T. afroharzianum</i> | 8                   | 2020-2021      | Guasave, Sinaloa   | 25.580833 -108.603055 | OR521172       |
| TAM57  | <i>T. asperellum</i>    | 8                   | 2021-2022      | Ahome, Sinaloa     | 25.481112 -108.571717 | OR521173       |
| TAM59  | <i>T. asperellum</i>    | 6                   | 2021-2022      | Guasave, Sinaloa   | 25.679176 -108.665316 | OR521174       |
| TAM64  | <i>T. asperellum</i>    | 4                   | 2021-2022      | Ahome, Sinaloa     | 25.819266 -108.955429 | OR521175       |
| TES65  | <i>T. asperelloides</i> | 4                   | 2021-2022      | Ahome, Sinaloa     | 25.491132 -108.571830 | OR521176       |
| TAM67  | <i>T. asperellum</i>    | 2                   | 2021-2022      | Ahome, Sinaloa     | 25.491299 -108.571854 | OR521177       |
| TAM68  | <i>T. asperellum</i>    | 2                   | 2021-2022      | Ahome, Sinaloa     | 25.491496 -108.571569 | OR521178       |
| TAM69  | <i>T. asperellum</i>    | 2                   | 2021-2022      | Ahome, Sinaloa     | 25.491299 -108.571854 | OR521179       |
| TAM70  | <i>T. asperellum</i>    | 4                   | 2021-2022      | Ahome, Sinaloa     | 25.498320 -108.571704 | OR521180       |
| TAI73  | <i>T. azevedoi</i>      | 2                   | 2021-2022      | Ahome, Sinaloa     | 25.498320 -108.572148 | OR521181       |
| TAM74  | <i>T. asperellum</i>    | 4                   | 2021-2022      | Ahome, Sinaloa     | 25.491445 -108.571659 | OR521182       |
| TAF75  | <i>T. afroharzianum</i> | 4                   | 2021-2022      | Ahome, Sinaloa     | 25.498320 -108.572148 | OR521183       |
| TAM76  | <i>T. asperellum</i>    | 6                   | 2020-2021      | Caborca, Sonora    | 31.995555 -112.360277 | OR521184       |

<sup>x</sup> Las especies se identificaron con base a las características morfológicas y moleculares.

Con base en las características morfológicas, se determinó que los aislados de *Trichoderma* pertenecían a dos complejos de especies: 21 aislados pertenecieron al complejo *T. viride* (TES19, TES20, TAM22, TAM23, TES24, TES26, TAM27, TAM30, TAM31, TAM35, TAM37, TAM57, TAM59, TAM64, TES65, TAM67, TAM68, TAM69, TAM70, TAM74 y TAM76) (Cuadro 3; Figura 3) y cinco pertenecieron al complejo *T. harzianum* (TAF21, TAF33, TAF38, TAI73 y TAF75) (Cuadro 3; Figura 4).

Los aislados del complejo *T. viride* presentaron una tasa de crecimiento en PDA de 10-18 mm/día, y en SNA de 8-14 mm/día (Cuadro 3), similar a lo reportado por Guigón-López *et al.* (2010). La morfología colonial fue similar para todos los aislados en HMA, donde el color de la colonia varió de verde claro a verde oscuro a medida que estas maduraban, el borde fue ondulado y suave, con apariencia flocosa a aracnoidea, micelio de color blanco acuoso e hifas hialinas (Cuadro 3; Figura 3A y B) (Rai *et al.*, 2019). Pústulas conidiales de color verde oscuro de 1-2 mm de diámetro (Cuadro 3; Figura 3C). Conidióforos largos y ramificados (Cuadro 3; Figura 3D y E). Conidios subglobosos a ovoides, lisos, de 2.5-3.8 µm de largo y 2.0-3.0 µm de ancho (Cuadro 3; Figura 3F). Fiálides lageniformes-delgadas con terminación ramificada, de 4.2-14.3 µm de largo y 2.6-5.0 µm de ancho (Cuadro 3; Figura 3D y E). No se observó presencia de clamidosporas (Cuadro 3) (Gary y Prakash, 2015).

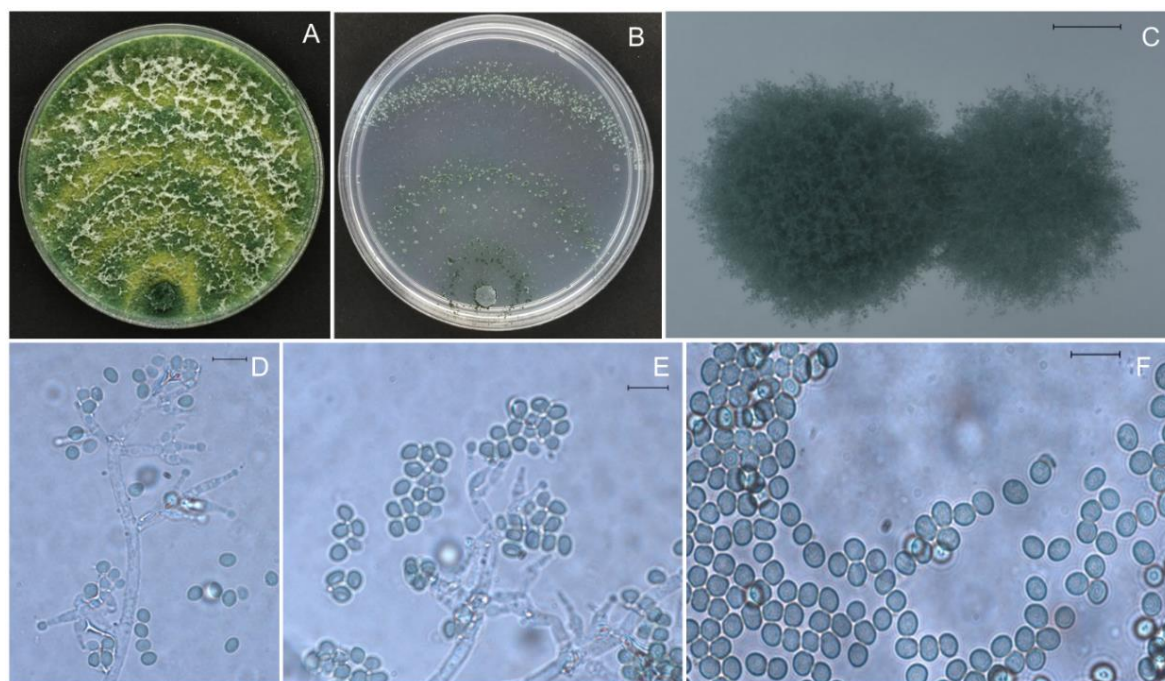
En contraste, los aislados del complejo *T. harzianum* presentaron tasa de crecimiento de 11-19 mm/día en PDA y 11-17 mm/día en SNA (Cuadro 3; Figura 4A y B), concordando con los rangos reportados por Gary y Prakash, (2015). En HMA, las pústulas conidiales mostraron color verde claro (Cuadro 3; Figura 4C) (Rai *et al.*, 2019), conidios subglobosos, lisos, de 2.0-3.0 µm de largo y 1.6-2.3 µm de ancho (Cuadro 3; Figura 4H). Fiálides ampuliformes con cuello distintivo y estrecho en la punta de 5.8-7.2 µm largo y 2.5-3.0 µm de ancho (Cuadro 3; Figura 4F y G). Se observó la presencia de clamidosporas intercalares y terminales (Cuadro 3; Figura 4D y E) (Gary y Prakash, 2015).

**Cuadro 3.** Características morfológicas de aislados de los complejos de especies *Trichoderma viride* y *Trichoderma harzianum* en tres medios de cultivo.

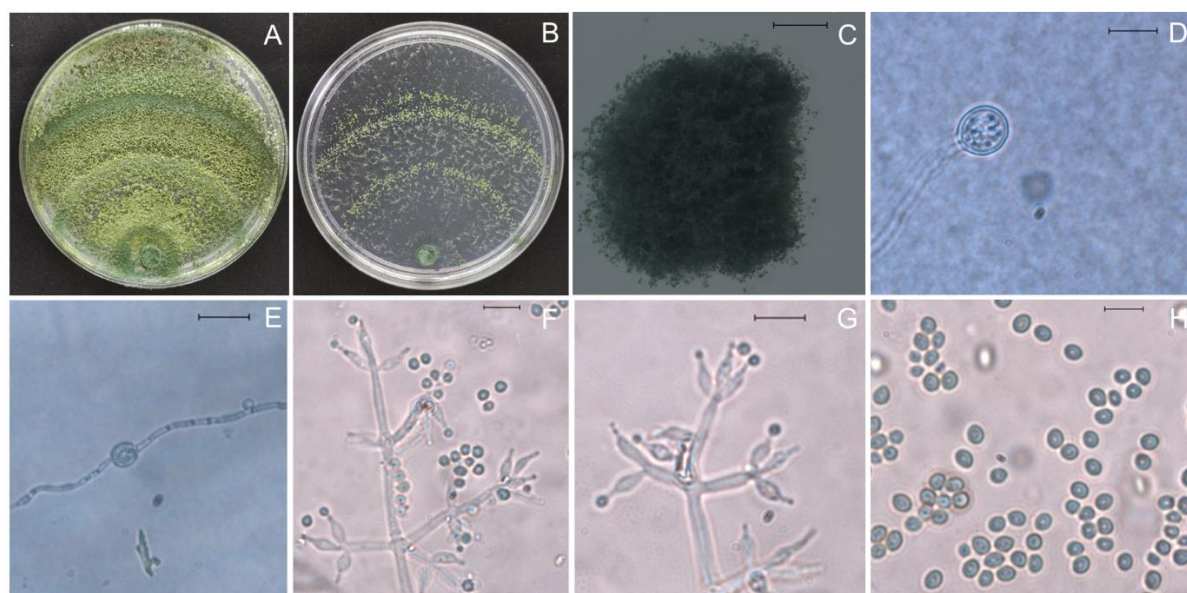
| Características morfológicas <sup>Z</sup> |                             | Medio de cultivo | <i>T. viride</i>                     | <i>T. harzianum</i>              |
|-------------------------------------------|-----------------------------|------------------|--------------------------------------|----------------------------------|
| Colonia                                   | Crecimiento radial (mm/día) | PDA              | 10 - 18                              | 11 - 19                          |
|                                           |                             | SNA              | 8 - 14                               | 11 - 17                          |
|                                           | Color                       | PDA              |                                      |                                  |
|                                           |                             | SNA<br>HMA       | Verde claro a verde oscuro           | Verde claro a verde oscuro       |
| Pústula conidial                          | Tamaño (mm)                 | HMA              | 1 - 2                                | 1 - 2                            |
| Micelio                                   | Forma                       | PDA y            | Flocosa y aracnoideo                 | Flocosa y aracnoideo             |
|                                           | Color de hifas              | HMA              | Hialinas                             | Hialinas                         |
| Conidio                                   | Forma                       | HMA              | Subglobosos, ovoide, liso, verrugoso | Subglobosos, liso                |
|                                           | Tamaño (largo)              |                  | 2.47-3.78 µm                         | 2.03-2.99 µm                     |
|                                           | Tamaño (ancho)              |                  | 2.02-3.05 µm                         | 1.64-2.30 µm                     |
| Conidióforos                              | Forma                       | HMA              | Largo y ramificado                   | Ramificados                      |
| Clamidosporas                             | Posición                    | HMA              | <b>Sin presencia</b>                 | <b>Terminales e intercaladas</b> |
| Fiálides                                  | Forma                       | HMA              | <b>Lageniformes y delgadas</b>       | <b>Ampuliformes</b>              |
|                                           | Tamaño (Largo)              |                  | 4.2-14.3 µm                          | 5.8-7.2 µm                       |
|                                           | Tamaño (Ancho)              |                  | 2.6-5.0 µm                           | 2.5-3.0 µm                       |

<sup>Z</sup>Las características morfológicas se determinaron en colonias de 2 a 3 días de edad con régimen de 12 horas luz. En negritas características más distintivas.

El filograma de Máxima Verosimilitud del gen RPB2 para el complejo *T. viride* identificó a dos especies entre los 16 aislados analizados. Los aislados TAM76, TAM67, TAM30, TAM35, TAM37, TAM57, TAM23, TAM59, TAM27, TAM69, TAM22, TAM31, TAM70, TAM68, TAM64 y TAM74 se agruparon con las secuencias de las cepas



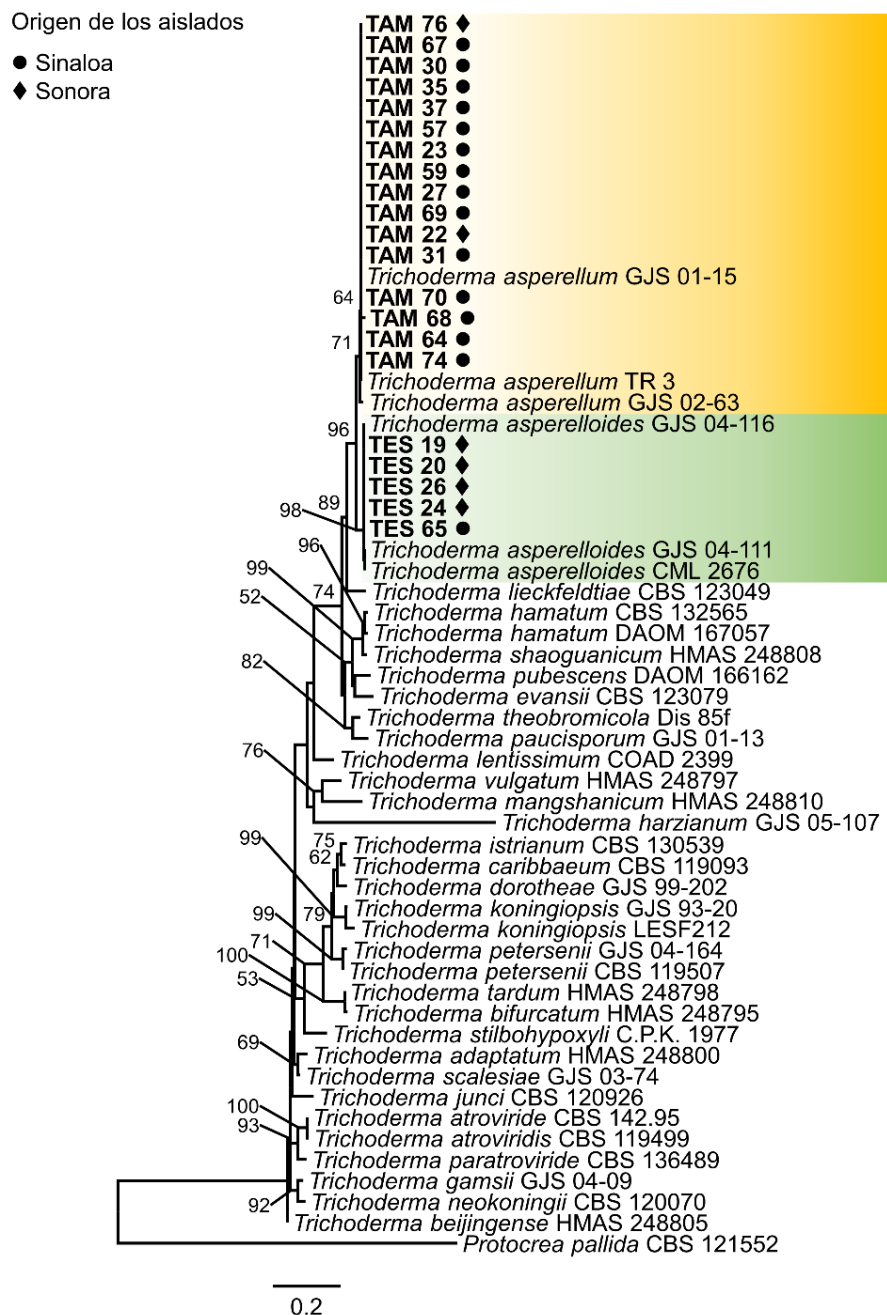
**Figura 3.** Morfología colonial y microscópica de *T. asperelloides* (TES19). (A) colonia en medio de cultivo PDA. (B) colonia en medio de cultivo SNA. (C) pústulas conidiales. (D y E) conidióforos y (F) conidios (100x). (C-F) en medio HMA. Escala: (C= 2 mm) (D= 10  $\mu$ m) (E y F= 5  $\mu$ m). Especie del complejo *T. viride*.



**Figura 4.** Morfología colonial y microscópica de *Trichoderma afroharzianum* (TAF33). (A) colonia en medio de cultivo PDA. (B) colonia en medio de cultivo SNA. (C) pústulas conidiales. (D y E) clamidosporas y (F y G) conidióforos (H) conidios (100x). (C-H) en medio HMA. Escala: (C= 2 mm) (D y H= 5  $\mu$ m) (E, F y G= 10  $\mu$ m). Especie del complejo *T. harzianum*.

GJS 01-15, TR3(T) y GJS 02-63 de *Trichoderma asperellum*, con un soporte bootstrap de 78 % y PP de 0.99, mientras que los aislados TES19, TES20, TES26, TES24 y TES65 se agruparon con las cepas GJS 02-63, GJS 04-111(T) y CML 2676 de *Trichoderma asperelloides* (Bootstrap 98 %; PP 1; Figura 5). Por otro lado, el filograma del complejo *T. harzianum* confirmó que los aislados TAF21, TAF38, TAF75 y TAF33 pertenecen a la especie *Trichoderma afroharzianum*, ya que se agrupan con las secuencias de las cepas de esta especie, CEN1417, CEN1410, GJS 04-186(T) y CBS 466.94, con un alto soporte

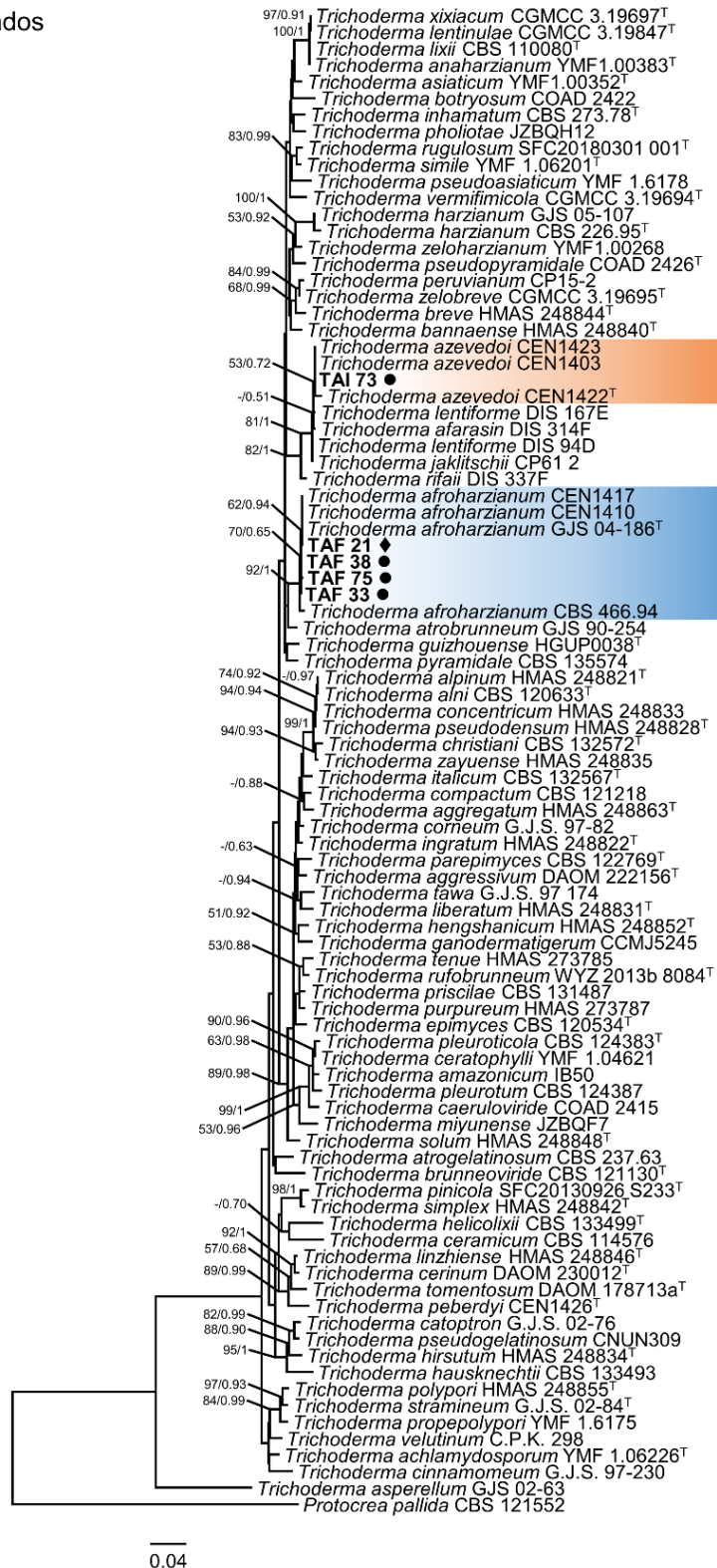
bootstrap (92 %) y alta probabilidad (1). Por otro lado, el aislado TAI73 se identificó como *Trichoderma azevedoi*, al formar un clado con las cepas de esta especie, CEN1423, CEN1403 y CEN1422(T) (Bootstrap 53 % y PP 0.72) (Figura 6). Estas especies están ampliamente distribuidas, por ejemplo, Jaklitsch y Voglmayr (2015) y Athafah *et al.* (2020) reportan tres especies de *Trichoderma* con base a la región RPB2 (*T. asperellum*, *T. asperelloides* y *T. afroharzianum*) de zonas boscosas. Por otra parte, Inglis *et al.* (2020) identificaron a *T. azevedoi* con la misma región genómica, en muestras de suelo recolectadas de cultivos de ajo y cebolla en ocho sitios diferentes en Brasil.



**Figura 5.** Filograma de Máxima Verosimilitud del complejo de especies *Trichoderma viride*, basado en la subunidad de ARN polimerasa II (RPB2). Los 21 aislados de *Trichoderma*, obtenidos de predios comerciales de papa de Sonora y Sinaloa, caracterizados en este estudio (Cuadro 2), aparecen en negrita. Los valores bootstrap >50 y de probabilidad posterior >0.5 se muestran en los nodos. La barra de escala indica el número esperado de sustituciones de nucleótidos.

Origen de los aislados

- Sinaloa
- ◆ Sonora



**Figura 6.** Filograma de Máxima Verosimilitud del complejo de especies *Trichoderma harzianum*, basado en la subunidad de ARN polimerasa II (RPB2). Los cinco aislados de *Trichoderma* obtenidos de predios comerciales de papa de Sonora y Sinaloa caracterizados en este estudio (Cuadro 2), aparecen en negrita. Los valores Bootstrap >50 y de probabilidad posterior >0.5 se muestran en los nodos. La barra de escala indica el número esperado de sustituciones de nucleótidos.

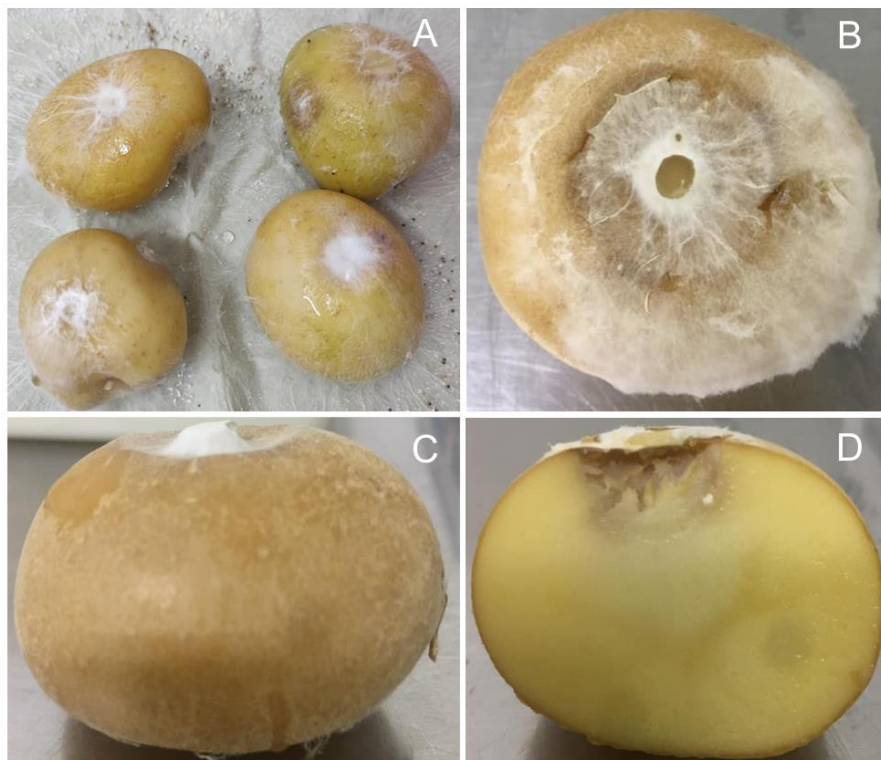
**Patogenicidad de *Sclerotium rolfii* en tubérculos de papa.** Después de ocho días de la inoculación, todos los tubérculos de papa var. Fianna inoculados con los aislados de *S. rolfii* mostraron síntomas de pudrición blanda (Paparú *et al.*, 2020; Paul *et al.*, 2021) (Cuadro 4) con variación en los niveles de agresividad entre aislados; característica importante a considerar cuando se evalúa la resistencia genética de variedades de papa contra la enfermedad. Los síntomas fueron similares a las lesiones inducidas por el hongo en campo. Los tubérculos presentaron pudrición blanda circular e irregular, con borde café (Figura 7), mientras que los tubérculos testigo permanecieron sanos durante el período experimental. La penetración de los 20 aislados en los tubérculos varió de 9.5 a 16.9 mm, con diferencias significativas ( $P > 0.05$ ). La mayor penetración se presentó con el aislado Scr4 (16.9 mm), mientras que el aislado Scr9 mostró la menor penetración (9.5 mm). El aislado Scr7 causó una penetración de 15.2 mm, y no mostró diferencias significativas respecto a los aislados Scr17, Scr48 y Scr10, con una penetración de 14.0, 13.7 y 13.6 mm de forma respectiva (Cuadro 4). Por otro lado, los porcentajes de pudrición variaron de 1.4 a 10.5 % con diferencias significativas ( $P > 0.05$ ), entre los aislados. El máximo porcentaje de pudrición lo causó el aislado Scr4 (10.5 %) y el mínimo se presentó con el aislado Scr9 (1.4 %), el cual no mostró diferencias significativas respecto a los aislados Scr3, Scr47 y Scr5 con porcentajes de 2.0, 3.9 y 4.5 % de forma respectiva, pero sí respecto al resto de los aislados ( $P > 0.05$ ). El aislado Scr4, no mostró diferencias significativas ( $P > 0.05$ ), respecto a los aislados Scr7, Scr10, Scr17, Scr51 y Scr6 con porcentajes de 9.3, 8.4, 8.0, 8.0 y 7.7 %, respectivamente (Cuadro 4). Se observaron síntomas y signos de la enfermedad, similares a los que ocurren en campo lo que coincide con los resultados de Daami-Remadi *et al.* (2007) cuando demostraron la patogenicidad del hongo en papa var. Spunta. Esto resultados confirma los postulados de Koch y sugieren variabilidad patogénica del hongo a nivel regional.

**Cuadro 4.** Penetración de *Sclerotium rolfii* y porcentaje de pudrición blanda en tubérculos de papa variedad Fianna con inoculación artificial de discos 5mm/PDA-hongo.

| Penetración del hongo (mm) |    |                    | % de pudrición blanda |    |                    |
|----------------------------|----|--------------------|-----------------------|----|--------------------|
| Aislado                    | N  | Media <sup>x</sup> | Aislado               | N  | Media <sup>x</sup> |
| Control                    | 10 | 0.0 a              | Control               | 10 | 0.0 a              |
| Scr9                       | 10 | 9.5 ab             | Scr9                  | 10 | 1.4 ab             |
| Scr3                       | 10 | 10.0 ab            | Scr3                  | 10 | 2.0 abc            |
| Scr49                      | 10 | 11.0 abc           | Scr47                 | 10 | 3.9 abcd           |
| Scr5                       | 10 | 11.1 abc           | Scr5                  | 10 | 4.5 abcde          |
| Scr13                      | 10 | 11.1 abc           | Scr13                 | 10 | 4.5 bcde           |
| Scr2                       | 10 | 11.2 abcd          | Scr12                 | 10 | 5.1 cdef           |
| Scr12                      | 10 | 11.5 bcde          | Scr8                  | 10 | 5.3 defg           |
| Scr8                       | 10 | 12.2 cdef          | Scr49                 | 10 | 5.6 defg           |
| Scr14                      | 10 | 12.3 def           | Scr2                  | 10 | 6.0 efg            |
| Scr50                      | 10 | 12.4 def           | Scr48                 | 10 | 6.1 efgh           |
| Scr47                      | 10 | 12.6 efg           | Scr14                 | 10 | 6.2 fgh            |
| Scr6                       | 10 | 12.7 fg            | Scr50                 | 10 | 6.2 fghi           |
| Scr11                      | 10 | 12.8 fg            | Scr11                 | 10 | 7 ghij             |
| Scr51                      | 10 | 12.9 fg            | Scr54                 | 10 | 6.9 ghij           |
| Scr54                      | 10 | 13.2 fgh           | Scr6                  | 10 | 7.7 hijk           |
| Scr10                      | 10 | 13.6 ghi           | Scr51                 | 10 | 8.0 hijk           |
| Scr48                      | 10 | 13.7 ghi           | Scr17                 | 10 | 8.0 ijk            |
| Scr17                      | 10 | 14.0 ghi           | Scr10                 | 10 | 8.4 jk             |
| Scr7                       | 10 | 15.2 hi            | Scr7                  | 10 | 9.3 jk             |
| Scr4                       | 10 | 16.9 i             | Scr4                  | 10 | 10.5 k             |

<sup>x</sup> Medias con al menos una letra común no son significativamente diferentes ( $P > 0.05$ ), Kruskal-Wallis.

N=Repeticiones



**Figura 7.** Síntomas de pudrición blanda en tubérculos de papa variedad Fianna, causados por el aislado Scr17 de *S. rolfsii* mediante inoculación artificial. (A) Tubérculos con síntomas de *S. rolfsii* en cámara húmeda. (B y C) lesiones con micelio algodonoso causadas por el hongo. (D) Corte transversal de tubérculo de papa con pudrición blanda.

Los resultados del presente trabajo son relevantes, pues implican nuevas líneas de investigación, donde se podrían incluir estudios sobre la patogenicidad de *S. rolfsii* en diferentes cultivos agrícolas, rotación de cultivos y su impacto en las poblaciones de esclerocios como inóculo primario; así como la evaluación de especies de *Trichoderma* adaptadas regionalmente en la disminución de producción de esclerocios de *S. rolfsii* y su correlación con la disminución de la incidencia de la enfermedad en campo. Lo anterior, debido a que *Trichoderma* se ha identificado como agente de control biológico prometedor contra patógenos facultativos adaptados al suelo como *S. rolfsii* en el cultivo de papa (Rubayet and Bhuiyan, 2016; Chowdhury *et al.*, 2023). El potencial empleo especies endémicas de *Trichoderma* obtenidas de predios comerciales papa, los cuales se han expuesto a la presión de diversos fungicidas, sugiere que han adquirido resistencia a este tipo de moléculas; lo que implica, que se podrían emplear, alternadamente o en mezcla con fungicidas a los que resulten resistentes, para el manejo de la pudrición blanda de la papa. Una estrategia potencialmente viable bajo una visión sostenible para reducir la cantidad de ingrediente activo total de fungicidas sintéticos.

## CONCLUSIONES

Se muestrearon 239 predios comerciales de papa en Sonora y Sinaloa durante los ciclos agrícolas 2019-2020, 2020-2021 y 2021-2022. El 8.4 % de los predios resultaron positivos para la presencia de *S. rolfsii*, con una densidad poblacional de 2 a 24 esclerocios por kg de suelo, indicando alto potencial de inóculo e inductividad del sistema productivo y ambiente. La identidad del hongo se confirmó mediante técnicas convencionales y herramientas moleculares. Se confirmó la capacidad de *S. rolfsii*, para inducir

artificialmente la pudrición blanda en tubérculos de papa var. Fianna, con variación en agresividad entre aislados. La penetración del patógeno osciló entre 9.5 y 16.9 mm, mientras que el porcentaje de pudrición por tubérculo varió de 1.4 a 10.5 %, destacando el aislado Scr4 como el más agresivo. Estos datos indican el potencial de pérdidas productivas que puede causar *S. rolfssii*.

Se obtuvieron 26 aislados de *Trichoderma* spp., lo cual representó el 10.9 % de los predios comerciales con presencia de este género (26/239); con una densidad poblacional de 2 a 8 UFC g<sup>-1</sup> de suelo. La caracterización morfológica y molecular permitió la identificación de *T. asperellum* y *T. asperelloides*, y de *T. afroharzianum* y *T. azevedoi*, pertenecientes a los complejos *T. viride* y *T. harzianum*, respectivamente. *T. asperellum*, en Sinaloa y *T. asperilloides* en Sonora fueron los más prevalentes.

Los hallazgos de este trabajo tienen implicaciones significativas para el manejo de la pudrición blanda de los tubérculos de papa. La identificación de especies de *Trichoderma* nativas con potencial antagónico implica futuras líneas de investigación relativas a la implementación de estrategias de control biológico, especialmente en sistemas donde la resistencia a fungicidas es una limitante. Además, la variabilidad en la agresividad de *S. rolfssii* sugiere la necesidad de estudios adicionales para entender su interacción con el hospedante y el ambiente, así como para desarrollar prácticas culturales sostenibles que reduzcan la supervivencia de esclerocios en el suelo.

**Limitaciones.** Este trabajo no incluyó pruebas de confrontación *in vitro* o *in vivo* de *Trichoderma* y *S. rolfssii*.

**Conflicto de interés.** No existente.

**Financiamiento.** Universidad Autónoma de Occidente y Junta Local de Sanidad Vegetal, Valle del Fuerte, Sinaloa.

**Agradecimientos.** Los autores agradecen a productores de papa de Sinaloa y Sonora por su disposición para la realización de este trabajo.

**Contribución de los autores.** Los primeros cuatro autores contribuyeron con el trabajo de laboratorio, análisis e interpretación. El segundo autor fue responsable de la concepción experimental, escritura y revisión del escrito. Los autores quinto y sexto se responsabilizaron de la gestión de campo y muestreo.

## REFERENCIAS

- Armenta-López SE, Valenzuela-Solano C and Hernández-Martínez R. 2021. Identification and molecular analysis of races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* isolated from tomato in Baja California, Mexico. Revista Mexicana de Fitopatología 39:266-288. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.2103-4>
- Athafah AT, Sabah IAA, Li B and Jing-Ze Z. 2020. A new species of *Trichoderma* and gliotoxin role: A new observation in enhancing biocontrol potential of *T. virens* against *Phytophthora capsici* on chili pepper. Biological Control 145:1-11. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2020.104261>
- Aycock R. 1966. Stem rot and other diseases caused by *Sclerotium rolfssii* or the status of Rolf's fungus after 70 years. North Carolina Agricultural Experiment Station Technical Bulletin. Editor North Carolina Agricultural Experiment Station 174:202.
- Ayed F, Jabnoun KH, Aydi B, Abdallah R and Daami RM. 2018. Effect of temperatures and culture media on *Sclerotium rolfssii* mycelial growth, sclerotial formation and germination. Journal of Plant Pathology and Microbiology 9:1-9. <https://doi.org/10.4172/2157-7471.1000446>
- Bourne WF, McCalmont DC and Wastie RL. 1981. Assessing potato tubers for susceptibility to bacterial soft rot (*Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*). Potato Research. 24:409-415. <https://doi.org/10.1007/BF02357323>

- Browne WR, DeTar B and Sanden CJ. 2002. Phene Comparison of drip and sprinkler irrigation systems for applying metam sodium and managing stem rot on potato. *Plant Disease* 86:1211-1218. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2002.86.11.1211>
- Chaverri P, Castlebury LA, Overton BE and Samuels GJ. 2003. *Hypocrea/Trichoderma*: species with conidiophore elongations and green conidia. *Mycologia* 95:1100-1140. <https://doi.org/10.1080/15572536.2004.11833023>
- Chowdhury Md.R, Ahmed SF, Khalid B, Ferdaous BZ, Ferdoushi AJ, *et al.* 2023. Biocontrol efficiency of microencapsulated *Trichoderma harzianum* coupled with organic additives against potato stem rot caused by *Sclerotium rolsii*. *Plant Stress* 9:1-9 <https://doi.org/10.1016/j.stress.2023.100181>
- Daami-Remadi M, Jabnoun-Khiareddine H, Ayed F, Hibar K and Mahjoub M. 2007. First report of *Sclerotium rolsii* causing atypical soft rot on potato tubers in Tunisia. *Tunisian Journal of Plant Protection* 2:59-62. <https://www.researchgate.net/publication/265427357>
- Daami-Remadi M, Jabnoun-Khiareddine H, Sdiri A and El Mahjoub M. 2012. Comparative reaction of potato cultivars to *Sclerotium rolsii* assessed by stem rot and tuber decay severity. *Pest Technology* 6: 54-59. [https://www.researchgate.net/publication/311651863\\_Comparative\\_Reaction\\_of\\_Potato\\_Cultivars\\_to\\_Sclerotium\\_rolsii\\_Assessed\\_by\\_Stem\\_Rot\\_and\\_Tuber\\_Decay\\_Severity](https://www.researchgate.net/publication/311651863_Comparative_Reaction_of_Potato_Cultivars_to_Sclerotium_rolsii_Assessed_by_Stem_Rot_and_Tuber_Decay_Severity)
- Díaz-Nájera JF, Sahagún-Castellanos J, Vargas-Hernández M, Ayvar-Serna S, Alvarado-Gómez OG, *et al.* 2018. Diagnosis and integrated management of fruit rot in *Cucurbita argyrosperma*, caused by *Sclerotium rolsii*. *Plant Pathology Journal* 34:171–181. <https://doi.org/10.5423/PPJ.OA.08.2017.0185>
- Edgar RC. 2004. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Research* 32:1792-1797. <https://doi.org/10.1093/nar/gkh340>
- Estrada VMN, Vélez APE y López NJC. 1997. Estandarización de una metodología para obtener cultivos monospóricos del hongo *Beauveria bassiana*. *Cenicafé* 48:59-65.
- Fiers M, Edel-Hermann V, Chatot C, Le-Hingrat Y, Alabouvette C, *et al.* 2012. A review. *Agronomy for Sustainable Development*. Potato soil-borne diseases 32:93-132. <https://doi.org/10.1007/s13593-011-0035-z>
- Food Agricultural Organization of The United Nations (FAO). 2024. International Day of Potato: At inaugural celebration, FAO highlights crop's significance and further potential. <https://www.fao.org/newsroom/detail/international-day-of-potato--at-inaugural-celebration--fao-highlights-crop-s-significance-and-further-potential/en>
- García-González J, Mehl HL, Langston DB and Rideout SL. 2022. Planting date and cultivar selection to manage southern blight in potatoes in the mid-Atlantic United States. *Crop Protection* 162:1-8. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2022.106077>
- Garibaldi A, Gilardi G and Gullino ML. 2007. First Report of Southern Blight Incited by *Sclerotium rolsii* on Potato (*Solanum tuberosum*) in Northern Italy. *The American Phytopathological Society* 90:1114. <https://doi.org/10.1094/PD-90-1114C>
- Gary JS and Prakash KH. 2015. *Trichoderma*: Identification and Agricultural Applications. The American Phytopathological Society. USA. 196p.
- Guigón-López C, Guerrero-Prieto V, Vargas-Albores F, Carvajal-Millán E, Ávila-Quezada GD, *et al.* 2010. Identificación molecular de cepas nativas de *Trichoderma* spp. su tasa de crecimiento *in vitro* y antagonismo contra hongos fitopatógenos. *Revista Mexicana de Fitopatología* 28:87-96. versión On-line ISSN 2007-8080 versión impresa ISSN 0185-3309. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61218468002>
- Guzmán VP, Bravo LL, Montes BR, Guigón LC and Sepúlveda JG. 2014. Induction of resistance to *Sclerotium rolsii* in different varieties of onion by inoculation with *Trichoderma asperellum*. *European Journal of Plant Pathology* 138:223-229. <https://doi.org/10.1007/s10658-013-0336-y>
- Haque S and Khan AA. 1977. A study of the differences in susceptibility of some potato varieties to *Sclerotium* wilt. *Journal of the Bangladesh Agricultural Sciences* 1:89-92.
- Hall TA. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium. Series.* 41:95-98.
- Herrera JE y Scott GJ. 1993. Factores limitantes a la producción y usos de la papa: resultados de la encuesta a los programas nacionales de América Latina. *Revista Latinoamericana de La Papa.* 5/6:122-134. [https://www.researchgate.net/publication/267808125\\_Factores\\_limitantes\\_a\\_la\\_produccion\\_y\\_uso\\_de\\_la\\_papa\\_resultados\\_de\\_la\\_encuesta\\_a\\_los\\_programas\\_nacionales\\_de\\_america\\_latina](https://www.researchgate.net/publication/267808125_Factores_limitantes_a_la_produccion_y_uso_de_la_papa_resultados_de_la_encuesta_a_los_programas_nacionales_de_america_latina)
- Hildenbrand S and Ninnemann H. 1994. Kinetics of phytoalexin accumulation in potato tubers of different genotypes infected with *Erwinia carotovora* ssp. Atroseptic. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 44:335-347. [https://doi.org/10.1016/S0885-5765\(05\)80047-5](https://doi.org/10.1016/S0885-5765(05)80047-5)
- Inglis PW, Mello SCM, Martins I, Silva JBT, Macêdo K, *et al.* 2020. *Trichoderma* from Brazilian garlic and onion crop soils and description of two new species: *Trichoderma azevedoi* and *Trichoderma peberdyi*. *PLoS ONE* 15:1-23. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0228485>
- Jaklitsch WM and Voglmayr H. 2015. Biodiversity of *Trichoderma* (Hypocreaceae) in Southern Europe and Macaronesia. Publisher: Westerdijk Fungal Biodiversity Institute. *Studies in Mycology* 80:1-87. <http://dx.doi.org/10.1016/j.simyco.2014.11.001>
- Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C y Tamura K. 2018. MEGA X: Análisis de genética evolutiva molecular en plataformas informáticas. *Biología Molecular y Evolución* 35:1547-1549. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>

- Lanfear R, Calcott B, Ho S and Guindon S. 2012. PartitionFinder: combined selection of partitioning schemes and substitution models for phylogenetic analyses. *Molecular Biology and Evolution* 29:1695-1701. <https://doi.org/10.1093/molbev/mss020>
- Lapwood DH, Read PJ and Spokes J. 1984. Methods for assessing the susceptibility of potato tubers of different cultivars to rotting by *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* and *carotovora*. *Plant Pathology* 33:13-20. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.1984.tb00581.x>
- Liu YJ, Whelen S and Hall BD. 1999. Phylogenetic relationships among ascomycetes: evidence from an RNA polymerase II Subunit. *Molecular Biology and Evolution* 16:1799-1808. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a026092>
- Mahadevakumar S, Chandana C, Deepika YS, Sumashri KS, Vandana Y, *et al.* 2018. Pathological studies on the southern blight of China aster (*Callistephus chinensis*) caused by *Sclerotium rolfsii*. *European Journal of Plant Pathology* 151:1081-1087. <https://doi.org/10.1007/s10658-017-1415-2>
- Martínez-Martínez TO, Guerrero-Aguilar BZ, Pecina-Quintero V, Rivas-Valencia P, González-Pérez E, *et al.* 2020. Antagonismo de *Trichoderma harzianum* contra la fusariosis del garbanzo y su efecto biofertilizante. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 11:1135-1147. <https://doi.org/10.29312/remexca.v11i5.2325>
- Nirenberg HI. 1976. Untersuchungen über die morphologische und biologische differenzierung in der *Fusarium*-Sektion *Liseola*. Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Berlin-Dahlem. Kommissionsverlag Paul Parey, Berlin 169:1-117. <https://doi.org/10.5073/20210624-085725>
- Okereke VC and Wokocha RC. 2007. *In vitro* growth of four isolates of *Sclerotium rolfsii* Sacc in the humid tropics. *African Journal of Biotechnology* 6:1879-1881. <https://doi.org/10.5897/AJB2007.000-2279>
- Paparu P, Acur A, Kato F, Acam C, Nakibuule J, *et al.* 2020. Morphological and pathogenic characterization of *Sclerotium rolfsii*, the Causal agent of southern blight disease on common bean in Uganda. *Plant Disease* 104:2130-2137. <https://doi.org/10.1094/PDIS-10-19-2144-RE>
- Paul SK, Mahmud NU and Gupta DR. 2021. Characterization of *Sclerotium rolfsii* Causing Root Rot of Sugar Beet in Bangladesh. *Sugar Tech* 23:1199-1205. <https://doi.org/10.1007/s12355-021-00984-6>
- Prasad LS, Sujatha K, Naresh N and Chander SR. 2012. Variability in *Sclerotium rolfsii* associated with collar rot of sunflower. *Indian Phytopathology* 65:161-165. <https://doi.org/10.13140/2.1.3722.8168>
- Punja ZK, Smith VL, Campbell CL and Jenkins SF. 1985. Sampling and extraction procedures to estimate numbers, spatial pattern, and temporal distribution of sclerotia of *Sclerotium rolfsii* in soil. *Plant Disease* 69:469-474.
- Rai S, Kumar SM, Chandrol SA and Surapathrudu K. 2019. Biocontrol potential of *Trichoderma* spp.: current understandings and future outlooks on molecular techniques. In: Ansari, R., Mahmood, I. (eds) *Plant Health Under Biotic Stress*. Springer, Singapore. *Plant Health Under Biotic Stress* 7:129-160. [https://doi.org/10.1007/978-981-13-6040-4\\_7](https://doi.org/10.1007/978-981-13-6040-4_7)
- Rambaut A. 2014. FigTree v. 1.4: tree figure drawing tool. <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>
- Rambaut A, Drummond AJ, Xie D, Baele G and Suchard MA. 2018. Posterior summarisation in Bayesian phylogenetics using Tracer 1.7. *Systematic Biology* 67: 901-904. <https://doi.org/10.1093/sysbio/syy032>
- Roca LF, Raya MC, Luque F, Brisach CA, Romero J, *et al.* 2016. First Report of *Sclerotium rolfsii* causing soft rot of potato tubers in Spain. *The American Phytopathological Society* 100:2535-2535. <https://doi.org/10.1094/PDIS-12-15-1505-PDN>
- Ronquist F, Teslenko M, Mark PVD, Ayres DL, Darling A, *et al.* 2012. MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology* 61:539-542. <https://doi.org/10.1093/sysbio/sys029>
- Rubayet MT and Bhuiyan MKA. 2016. Integrated management of stem rot of potato caused by *Sclerotium rolfsii*. *Bangladesh Journal Plant Pathology* 32:7-14. [https://www.researchgate.net/publication/328476753\\_INTEGRATED\\_MANAGEMENT\\_OF\\_STEM\\_ROT\\_OF\\_POTATO\\_CAUSED\\_BY\\_SCLEROTIUM\\_ROLFSII](https://www.researchgate.net/publication/328476753_INTEGRATED_MANAGEMENT_OF_STEM_ROT_OF_POTATO_CAUSED_BY_SCLEROTIUM_ROLFSII)
- Sanger F, Nicklen S and Coulson AR. 1977. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America* 74:5463-5467. <https://doi.org/10.1073/pnas.74.12.5463>
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). 2023. <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/> Consulta, enero 2024
- Stamatakis A. 2006. RAXML-VI-HPC: maximum likelihood-based phylogenetic analyses with thousands of taxa and mixed models. *Bioinformatics* 22:2688-2690. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btl446>
- Van-Bezooijen J. 2006. Methods and techniques for nematology, revised version. Wageningen, Netherlands 54-55. <http://www.nematologia.com.br/files/tematicos/5.pdf>
- White TJ, Bruns T, Lee S and Taylor J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal rna genes for phylogenetics. Part Three. *Genetics and Evolution. PCR Protocols* 315-322. [https://www.researchgate.net/publication/262687766\\_Amplification\\_and\\_Direct\\_Sequencing\\_of\\_Fungal\\_Ribosomal\\_RNA\\_Genes\\_for\\_Phylogenetics](https://www.researchgate.net/publication/262687766_Amplification_and_Direct_Sequencing_of_Fungal_Ribosomal_RNA_Genes_for_Phylogenetics)
- Zhou L, Huang P, Yu L, Sun M and Fang Y. 2019. Southern blight on macleaya microcarpa caused by *Sclerotium rolfsii* in China. *The American Phytopathological Society* 103:2136-2136. <https://doi.org/10.1094/PDIS-12-18-2172-PDN>
- Zúñiga M and Ceja-Torres LF. 2017. *In vitro* antagonism of *Trichoderma harzianum* on *Sclerotium cepivorum* Berk. and *S. rolfsii* Sacc., causal agents of onion rot. *Phyton International Journal of Experimental Botany* 86:7-13. <https://doi.org/10.32604/phyton.2017.86.007>