UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE INGENIERÍA

CAPACIDAD ANTIFÚNGICA Y MICOPARASITISMO *in vitro* DE *Trichoderma* spp., PARA *Neopestalotiopsis rosae*

POR

CHRISTIAN ALAN ORTIZ RAMOS

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA

SALTILLO, COAHUILA **AGOSTO 2026**

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE INGENIERÍA

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BÁSICAS

Capacidad Antifúngica y Micoparsitismo *in vitro* de *Trichoderma* spp., para *Neopestalotiopsis rosae*

Por:

CHRISTIAN ALAN ORTIZ RAMOS

Y que somete a consideración del H. Jurado examinador como requisito parcial para obtener el título profesional de

Ingeniero en biotecnología

Aprobada

DRA. SONIA NOEMÍ RAMÍREZ BARRÓN

PRESIDENTA

DR. GABRIEL GALLEGOS MORALES

SINODAL

DR. JESÚS EDUARDO RAMÍREZ MÉNDEZ

Sinodal

M.C. CARLOS ALBERTO GARCÍA AGUSTINCE

suplente

DIVISIÓN DE INGENIERÍA

M.C SERGIO SANCHEZ MARTINEZ

Coordinador De La División De ingeniería

Saltillo, Coahuila, México

Agosto 2026

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE INGENIERÍA

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BÁSICAS

Capacidad Antifúngica y Micoparsitismo *in vitro* de *Trichoderma* spp., para *Neopestalotiopsis rosae*

Por:

CHRISTIAN ALAN ORTIZ RAMOS

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

Ingeniero En Biotecnología

Aprobada por el Comité De Asesoría

DR. GABRIEL GALLEGOS MORALES

Asesor

DR. JESÚS EDUARDO RAMÍREZ MÉNDEZ

Coraceros

DRA. SONIA NOEMÍ RAMÍREZ BARRÓN

Coasesora

Saltillo, Coahuila, México

Agosto 2026

Dedicatoria

Dedico esta investigación en primer lugar a Dios y la virgen por siempre acompañarme en todo este tiempo y nunca soltarme de la mano ni dejar que me rinda, esto nunca hubiese sido posible sin la bendición de dios y de la virgen.

A mi mamá Josefina Ramos Santos que siempre ha sido un ejemplo a seguir, gracias por siempre estar conmigo y por todo el amor incondicional, gracias por el ejemplo y la educación que me brindaste y por enseñarme a nunca rendirme.

A mis hermanos Daniel Ortiz Ramos y Yesica Ortiz Ramos por ser un ejemplo para mí, gracias por creer en mí, por siempre estar presentes dándome ánimos y por contar con ustedes en todo.

A mis abuelos maternos Florentino Ramos Cruz y Gudelia Santos por siempre darme consejos y bendiciones, siempre preocuparse por mí y tenerme presente en sus oraciones gracias.

A los que ya no están presentes como mi padre Roberto Ortiz Cruz, mi bisabuela Virginia Cruz y mi abuelo paterno Zeferino Ortiz este proyecto también les pertenece gracias por sus bendiciones, por los consejos recibidos en vida y por siempre interceder por mi para que me vaya bien en la vida.

A mis perritos bruno, Chata y lobito, así como a mis perritos que ya no están como roky, luca, casimira, solin y simba, gracias por acompañarme en etapas de mi vida y ser un refugio para mi gracias por los muchos o pocos años que me han dado gracias por pertenecer a mí y por la lealtad que siempre me dieron en esta vida y en la siguiente.

A mis amigos Fernanda, Axel y Giselle por ser mis amigos de toda la carrera y soportarme tanto tiempo, gracias por las risas y las buenas anécdotas.

Y por último a mí mismo por el esfuerzo y la perseverancia demostrada, así como por nunca rendirme y siempre ser un necio en todo.

Agradecimientos

Agradezco a mi asesor de tesis el Dr. Gabriel Gallegos morales por sus enseñanzas, así como por confiar en mi para este proyecto.

Al mi coasesor Jesús Eduardo Ramírez Méndez por estar presente en este proyecto, por sus enseñanzas, su paciencia y por el apoyo recibido.

A la Dra. Sonia Ramírez Barron por ser una excelente persona siempre contar con sus enseñanzas y ser una buena amiga.

Al Maestro Carlos Agustince por ser un excelente amigo y profesor, por las enseñanzas y la confianza para trabajar con él, así como por los proyectos realizados y a realizar.

A la Maestra Carmen Julia de ciencias básicas, por los proyectos realizados, así como por la confianza y por la amistad brindada.

Al Dr. Armando Rodríguez, jefe del departamento de difusión cultural, por sus consejos y por el excelente trabajo realizado durante mi gestión en el grupo, por su ejemplo a seguir como líder y por ser un excelente amigo.

A Karina secretaria del departamento de difusión cultural, por el apoyo y las gestiones realizadas, así como por ser una amiga leal y excelente persona.

A mis amigos Carlos, Issac, Ángel, Quezalli y Alondra por las risas y anécdotas vividas.

A mis compañeros y amigos de grupo buitre por el trabajo realizado, por las risas y anécdotas en el grupo

A mi compare y amigo Víctor Almonte por el respaldo recibido y el respeto mutuo en los proyectos realizados.

A las bandas musicales donde trabaje, como la banda San Sebastián, la tierra saltillense, la constante y la After, por siempre darme la mano y por las buenas experiencias y buenos tratos.

A juanita Sifuentes, mi controlista por siempre apoyarme en los procesos administrativos de la carrera.

A todos los buenos maestros de la primaria, secundaria y prepa, por siempre ser una inspiración a seguir y por las buenas enseñanzas recibidas en el transcurso del tiempo que estuve en esas instituciones.

Resumen

El género *Trichoderma* agrupa especies reconocidas por su capacidad para actuar como agentes de control biológico para diversos fitopatógenos. En este estudio se evaluó la capacidad antifúngica y micoparasitismo *in vitro* de *T. longibrachiatum, T. asperellum y T. harzianum* sobre *Neopestalotiopsis rosae*, agente causal de la pudrición de la raíz y corona en el cultivo de fresa. La capacidad antifúngica se evaluó mediante pruebas de confrontación dual, determinando el porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) y el grado de antagonismo según la escala de Bell *et al.* (1982). Además, se determinó el micoparasitismo en medio líquido Sabouraud mediante observación microscópica. Los resultados muestran que *T. longibrachiatum* presentó el mayor nivel de micoparasitismo, cubriendo completamente al patógeno (Clase I), mientras que *T. asperellum* y *T. harzianum* demostraron actividad inhibitoria clase II según la escala de Bell, con menor velocidad de sobrecrecimiento. El PICR fue de 35.19, 22.80 y 20.49 % para *T. longibrachiatum*, *T. asperellum* y *T. harzianum*, respectivamente, al cuarto día de evaluación; sin embargo, todas las especies de *Trichoderma* alcanzaron un nivel de inhibición del 100 % a partir del quinto día. En cuanto al micoparasitismo, se observó enrollamiento, adhesión y penetración de hifas de *Trichoderma* spp. sobre *N. rosae*, las que fueron más evidentes en *T. longibrachiatum*. Además de alteraciones morfológicas como vacuolización de hifas del fitopatógeno. Estos resultados evidencian el potencial biocontrolador de *Trichoderma* spp. frente a *N. rosae* mediante diferentes mecanismos de acción. Sin embargo, es necesario confirmar su efectividad en campo.

Palabras clave: Biocontrol, micoparasitismo, *Trichoderma*, pudrición raíz-corona fresa, *Neopestalotiopsis.*

Abstract

The genus *Trichoderma* comprises species widely recognized for their ability to act as biological control agents against various plant pathogens. This study evaluated the antifungal activity and *in vitro* mycoparasitism of *T. longibrachiatum*, *T. asperellum*, and *T. harzianum* against *Neopestalotiopsis rosae*, the causal agent of root and crown rot in strawberry crops. Antifungal activity was evaluated using dual-confrontation tests, determining the percentage of Radial Growth Inhibition (PRGI) and the degree of antagonism according to the scale developed by Bell *et al*. (1982). In addition, mycoparasitism was assessed in Sabouraud liquid medium through microscopic observation. The results showed that *T. longibrachiatum* exhibited the highest level of mycoparasitism, completely covering the pathogen (class I). On the other hand, *T. asperellum* and *T. harzianum* also exhibited inhibitory activity (class II), although with a slower rate of overgrowth. The PRGI was 35.19%, 22.80%, and 20.49% for *T. longibrachiatum*, *T. asperellum*, and *T. harzianum*, respectively, on the fourth day of evaluation; however, all *Trichoderma* species reached 100% inhibition starting on the fifth day. Regarding mycoparasitism, coiling, adhesion, and penetration of *Trichoderma* spp. hyphae into *N. rosae* were observed, most evident in *T. longibrachiatum*. Additionally, morphological alterations such as vacuolization of the phytopathogen's hyphae were noted. These results demonstrate the biocontrol potential of *Trichoderma* spp. against *N. rosae* through various mechanisms of action. However, their effectiveness must be confirmed in the field.

Keywords: biocontrol, mycoparasitism, *Trichoderma*, strawberry crown and root rot, *Neopestalotiopsis*.

ÍNDICE

Dedicatoria i
Agradecimientos ii
Resumen iv
Abstract v
I. Introducción 1
II. Revisión de literatura 3
2.1. Biología e infección de los hongos fitopatógenos 3
2.2. Impacto de los hongos fitopatógenos en la producción agrícola 3
2.3. Género *Neopestalotiopsis* 4
2.4. *Neopestalotiopsis rosae* 5
2.4.1. Antecedentes de *Neopestalotiopsis rosae* en México 6
2.4.2. Taxonomía y características morfológicas de *Neopestalotiopsis rosae* 6
2.5. Estrategias de manejo de *Neopestalotiopsis rosae* 7
2.5.1. Control cultural 8
2.5.2. Control químico 8
2.5.3. Control biológico 9
2.6. Género *Trichoderma* spp. 10
2.6.1. Taxonomía del género *Trichoderma* 10
2.6.2. Características morfológicas del género *Trichoderma* 10
2.6.3. *Trichoderma asperellum* 11
2.6.4. *Trichoderma harzianum* 12
2.6.5. *Trichoderma longibrachiatum* 13
2.7. Mecanismos de acción de *Trichoderma* contra hongos fitopatógenos 14
2.7.1. Competencia por nutrientes y espacio 15
2.7.2. Micoparasitismo 16
2.7.3. Antibiosis 17
2.7.4. Producción de enzimas hidrolíticas 18
2.7.5. Resistencia Sistémica Inducida (RSI) 19

2.8. *Trichoderma* spp. sobre *Neopestalotiopsis rosae* 19
III. Hipótesis 20
IV. Objetivos 20
4.1. Objetivo general 20
4.2. Objetivos específicos 20
V. Materiales y Métodos 21
5.1. Obtención de *Trichoderma* spp. y *Neopestalotiopsis rosae* 21
5.2. Actividad antifúngica y sobrecrecimiento de *Trichoderma* spp. sobre *Neopestalotiopsis rosae* 21
5.3. Capacidad micoparasítica de *Trichoderma* spp. sobre *Neopestalotiopsis rosae..* 24
5.4. Análisis Estadístico 24
VI. Resultados y Discusión 25
6.1. Determinación de la capacidad antagonista y sobrecrecimiento de *Trichoderma* spp. sobre *Neopestalotiopsis rosae* 25
6.2. Capacidad micoparasítica de *Trichoderma* spp. sobre *Neopestalotiopsis rosae..* 29
VII. Conclusiones 33
VIII. Apéndices 34
IX. Literatura Consultada 35
X. Anexos 44

I. Introducción

Los hongos fitopatógenos son una de las principales amenazas en la agricultura moderna debido a su capacidad para causar enfermedades en diferentes especies de vegetales (Agrios, 2019). A nivel mundial, estas generan pérdidas en la producción agrícola. Factores como el cambio climático, la intensificación de la agricultura y el incremento del comercio internacional han favorecido la dispersión y el establecimiento de nuevos agentes causales de enfermedades vegetales (FAO, 2021).

En este contexto, uno de los fitopatógenos que en la actualidad ha cobrado relevancia es *Neopestalotiopsis rosae* agente causal de la enfermedad conocida como pudrición de la raíz y la corona de la fresa (*Fragaria* × *ananassa*), cuyos síntomas son marchitez y atizonamiento foliar (Figura 1). Las raíces presentan pudrición y necrosis de color café oscuro a negro, mientras que la corona desarrolla una pudrición interna con tejido de color café rojizo a café oscuro, que puede extenderse y provocar el colapso y la muerte de la planta (Rebollar-Alviter *et al*., 2020; Gaire *et al*., 2026).

Esta enfermedad se ha reportado en diversos países productores de fresa, como China, Estados Unidos, India y México, lo que indica una amplia y creciente distribución geográfica, así como un elevado potencial para convertirse en una limitante importante para la producción de este cultivo (Rebollar-Alviter *et al*., 2020; Sun *et al*., 2021; Lawrence *et al*., 2022; Acosta-González *et al*., 2026).

Aunque la fresa constituye el principal hospedero de *N. rosae*, investigaciones recientes han demostrado que esta especie también puede infectar otros cultivos como el nogal pecanero (*Carya illinoinensis*), especies pertenecientes a las familias *Myrtaceae* y *Caprifoliaceae*, y plantas ornamentales. Donde ocasiona atizonamiento y muerte regresiva de ramas (Aiello *et a*l., 2024; EPPO, 2025). La ampliación del rango de hospederos de este fitopatógeno, así como su capacidad de dispersarse mediante material vegetal infectado, ha hecho necesaria la implementación de

estrategias dirigidas a controlar y reducir su propagación (Rebollar-Alviter *et al*., 2020).

Actualmente, el manejo de *N. rosae* se basa principalmente en el uso de fungicidas químicos (Rebollar-Alviter *et al*., 2020; Acosta-González *et al*., 2024). Sin embargo, esta estrategia presenta limitaciones debido a los elevados costos de aplicación y al riesgo de favorecer el desarrollo de resistencia del fitopatógeno a los fungicidas. Ante esta problemática, el control biológico representa una alternativa sostenible para su manejo, uno de estos es el uso de especies del género *Trichoderma*, debido a su capacidad para inhibir el crecimiento y micoparacitar a los fitopatógenos mediante diversos mecanismos de acción (Guzmán-Guzmán *et al*., 2023; Saldaña-Mendoza *et al*., 2023).

Entre las especies más reconocidas de *Trichoderma* destacan: *T. asperellum,* la cual es una especie ampliamente utilizada en el control biológico de enfermedades de las plantas, al igual que favorece el crecimiento vegetal y mejora la tolerancia frente al estrés biótico (Woo *et al*., 2014; Cai & Druzhinina, 2021). Asimismo, *T*. *harzianum* es una de las especies más estudiada por su eficacia en el control de fitopatógenos mediante micoparasitismo, competencia por nutrientes y la producción de enzimas y metabolitos antifúngicos (Benítez *et al*., 2004; Xiao *et al*., 2023). En este marco, *T. longibrachiatum* destaca por su rápido crecimiento y elevada capacidad antagonista, asociada a la producción de enzimas hidrolíticas y metabolitos antifúngicos (Kubicek *et al*., 2019; Cai & Druzhinina, 2021).

Recientemente, se han reportado estudios sobre el uso de especies de *Trichoderma* para el control de *N. rosae* (Olivares-Rodríguez *et al*., 2024; Juárez-Cruz *et al*., 2026). Entre ellas, *T. harzianum* y *T. asperellum* han demostrado capacidad inhibitoria de *N. rosae* (Cervantes-Zúñiga *et al*., 2026; Schierling *et al*., 2026). Sin embargo, hasta el momento no se encontraron estudios sobre el efecto de *T. longibrachiatum* contra este fitopatógeno.

Con base en lo anterior, el presente trabajo se centró en evaluar el potencial antifúngico y de micoparasitismo de *T. asperellum*, *T. harzianum* y *T. longibrachiatum* sobre *N. rosae* mediante bioensayos *in vitro*, con el propósito de

contribuir al desarrollo de alternativas sostenibles para el manejo de este fitopatógeno emergente.

II. Revisión de literatura

2.1. Biología e infección de los hongos fitopatógenos

Los hongos fitopatógenos son microorganismos pertenecientes al reino Fungi capaces de infectar tejidos vegetales mediante diversos mecanismos, entre los que se encuentran la formación de estructuras especializadas de infección, como la formación de apresorios, que favorecen la adhesión y penetración del hospedero; la degradación enzimática de la cutícula y pared celular, así como la secreción de enzimas hidrolíticas y proteínas efectoras, las cuales facilitan el establecimiento de la infección (Tucker & Talbot, 2001; Talbot *et al*., 2023).

Una vez establecida la infección, estos fitopatógenos colonizan los tejidos de la planta, provocando alteraciones anatómicas y fisiológicas que afectan su crecimiento y originan los síntomas característicos de la enfermedad los cuales incluyen clorosis, necrosis, marchitez, pudriciones y muerte de tejidos, cuya severidad depende de la interacción entre el fitopatógeno, el hospedero y las condiciones ambientales (Agrios, 2019).

2.2. Impacto de los hongos fitopatógenos en la producción agrícola

La agricultura es uno de los sectores más importantes tanto en México como en el mundo ya que es la base para la producción de alimentos y el desarrollo económico de muchos países. Sin embargo, la producción agrícola se enfrenta continuamente a diversos factores que impiden y limitan el crecimiento, así como el rendimiento de los cultivos (Fisher *et al*., 2012; Agrios, 2019)

Los hongos fitopatógenos representan una de las principales causas de pérdidas económicas y de producción, esto debido a su capacidad para infectar una amplia variedad de cultivos y reducir el rendimiento como la calidad de las cosechas (Savary *et al*., 2019; FAO, 2021). Se estima que estos ocasionan pérdidas del 20 al 40% de la producción mundial en los cultivos cada año, lo que genera pérdidas

económicas estimadas en 100 a 150 mil millones de dólares anuales. Esto constituye una amenaza para la seguridad alimentaria ya que disminuye también la disponibilidad de alimentos y aumentan los costos destinados a su prevención y control (Fisher *et al*., 2012; FAO, 2021)

2.3. Género *Neopestalotiopsis*

En los últimos años, el género *Neopestalotiopsis* ha generado gran interés debido a su importancia como agente causal de enfermedades en diversas especies de vegetales. Su clasificación taxonómica ha sido objeto de múltiples revisiones esto gracias a los avances en técnicas de identificación morfológica y molecular, las cuales han permitido delimitar con una mayor precisión las especies que integran este grupo (Yang *et al*., 2012; Maharachchikumbura *et al*., 2014).

Históricamente, las especies que actualmente pertenecen a *Neopestalotiopsis* fueron incluidas dentro del género *Pestalotia*, debido a que compartían características morfológicas como la presencia de conidios multicelulares provistos de apéndices apicales. Posteriormente, estudios basados en diferencias morfológicas, principalmente en la estructura y características de los conidios, dieron lugar a la transferencia de varias especies al género *Pestalotiopsis*. Estas diferencias incluyeron el número de células pigmentadas, el color y la ornamentación de las células medianas, así como la longitud, número y disposición de los apéndices apicales y basales, caracteres que demostraron ser útiles para la delimitación de las especies (Yang *et al*., 2012; Maharachchikumbura *et al*., 2014).

El desarrollo de la filogenia molecular permitió demostrar que *Pestalotiopsis* no constituía un grupo polifilético. A partir del análisis conjunto de caracteres morfológicos y de secuencias de regiones genéticas como el espaciador transcrito interno (ITS), el gen de la β-tubulina (TUB2) y el factor de elongación de la traducción 1α (TEF1α), se propuso una nueva delimitación taxonómica que dio origen a tres géneros independientes: *Pestalotiopsis*, *Neopestalotiopsis* y *Pseudopestalotiopsis* (Maharachchikumbura *et al*., 2014).

2.4. *Neopestalotiopsis rosae*

Dentro del género *Neopestalotiopsis, N. rosae* es actualmente una de las especies de mayor importancia debido a su creciente impacto en diversos cultivos. Entre ellos, la fresa destaca como uno de los hospederos de mayor importancia debido a las pérdidas que pueden llegar a mermar del 50 al 70% de rendimiento en la producción (Maharachchikumbura *et al*., 2014; Acosta-González *et al*., 2024; Castro-Rosalez *et al*., 2025).

Los síntomas más notables en este cultivo se presentan en las hojas, peciolos, corona, raíces y frutos, siendo las hojas uno de los primeros órganos afectados. En un inicio se observan manchas de color café oscuro a marrón, generalmente de aproximadamente 1 mm de diámetro, que aumentan de tamaño hasta fusionarse y formar áreas necróticas extensas. Conforme avanza la enfermedad, el tejido afectado desarrolla atizonamiento foliar, caracterizado por la muerte progresiva de la lámina foliar, mientras que sobre las lesiones pueden formarse acérvulos de color negro que contienen las estructuras reproductivas del hongo, esta enfermedad ha llegado a ser un problema el cual merece especial atención ya que han generado pérdidas económicas importantes en diferentes países productores como son México, Estados Unidos, China, Taiwán, Egipto, España, Italia, Argentina, Uruguay, Corea del Sur y Canadá (Rebollar-Alviter *et al*., 2020; Acosta-González *et al*., 2024; Baggio *et al*., 2021; Gaire *et al*., 2026).

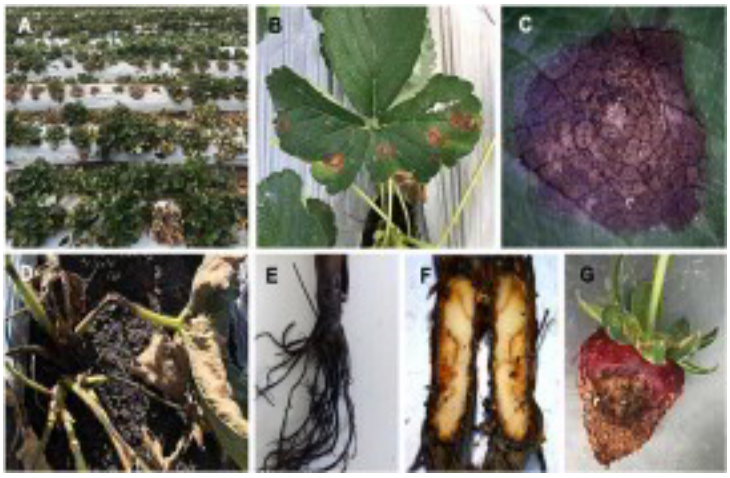


Figura 1. Síntomas de la pudrición de raíz y corona causada por *N. rosae* en fresa. Fuente: Rebollar-Alviter *et al.* (2020).

2.4.1. Antecedentes de *Neopestalotiopsis rosae* en México

El primer antecedente de *N. rosae* en el cultivo de fresa en México corresponde a un estudio realizado en el valle de Zamora, Michoacán. Los investigadores aislaron el hongo a partir de plantas de fresa de la variedad Albion y Festival con síntomas de mancha foliar y pudrición de corona y raíz en la cual confirmaron su identidad mediante análisis morfológicos y herramientas filogenéticas, y demostraron experimentalmente su capacidad patogénica al cumplir los postulados de Koch. Este hallazgo representó el primer reporte oficial de la especie causando enfermedades en fresas dentro del país (Rebollar-Alviter *et al*., 2020).

En estudios recientes realizados dentro de México, se ha logrado identificar este patógeno en diferentes regiones del país los cuales han mostrado diferencias en el nivel de infección, lo que indica la existencia de variabilidad genética y patogénica, esto puede influir en la severidad de la enfermedad y hacer menos eficaz las estrategias en su manejo (Acosta-González *et al*., 2026).

2.4.2. Taxonomía y características morfológicas de *Neopestalotiopsis rosae*

N. rosae es una especie de hongo fitopatógeno perteneciente al reino Fungi, filo *Ascomycota*, clase *Sordariomycetes*, orden *Amphisphaeriales* y familia *Sporocadaceae* (Maharachchikumbura *et al*., 2014).

Morfológicamente, *N. rosae* se caracteriza por desarrollar colonias de color blanco a amarillo pálido con un abundante micelio aéreo y conidios negros sobre medio PDA (Potato Dextrose Agar). Asimismo, sus conidios son fusiformes, rectos o ligeramente curvos y están constituidos por cinco células separadas por cuatro septos, características que permiten diferenciar esta especie de otros miembros del género (Maharachchikumbura *et al*., 2014; Rebollar-Alviter *et al*., 2020).

Su célula basal y la apical son hialinas mientras que las tres células centrales presentan pigmentación café y paredes rugosas. También, en sus conidios poseen un apéndice basal y tres apéndices apicales filiformes (Maharachchikumbura *et al*., 2014; Rebollar-Alviter *et al*., 2020).

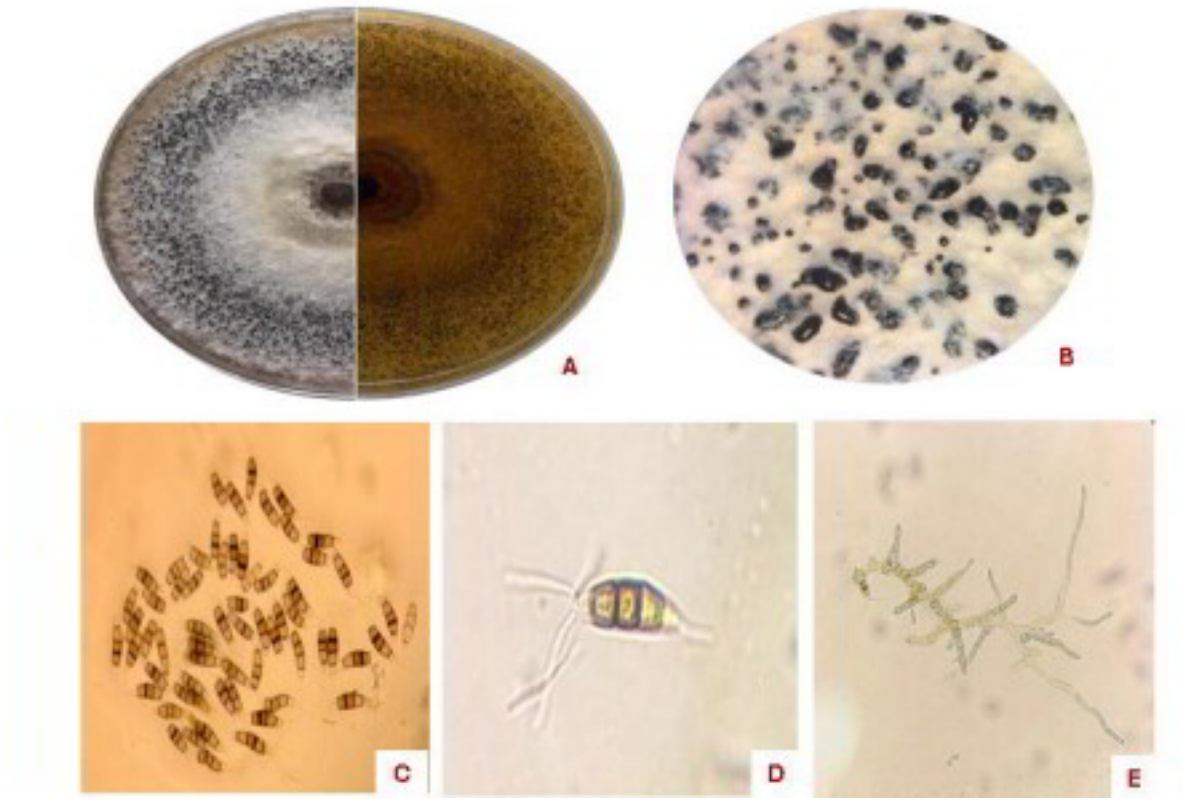


Figura 2. Características morfológicas de *Neopestalotiopsis rosae* en medio de cultivo PDA después de dos semanas de incubación. A) Desarrollo de la colonia en medio de cultivo; B) formación de acérvulos; C-D) conidios del hongo; y E) germinación de un conidio.

2.5. Estrategias de manejo de *Neopestalotiopsis rosae*

El manejo de *N. rosae* representa un reto importante debido a su capacidad para sobrevivir en residuos de cultivos y persistir entre los ciclos de producción que en condiciones favorables sobreviven incluso hasta un año o más (Rebollar-Alviter *et al*., 2020).

Además, el patógeno se dispersa con facilidad mediante conidios producidos en acérvulos, los cuales son transportados principalmente por salpicaduras de lluvia o riego, así como por herramientas y material vegetal infectado. Estas estructuras reproductivas favorecen la colonización de nuevos tejidos cuando predominan

condiciones de alta humedad y temperaturas favorables (Rebollar-Alviter *et al*., 2020; Baggio *et al*., 2021).

2.5.1. Control cultural

Las prácticas culturales constituyen una de las primeras estrategias empleadas para el manejo de fitopatógenos, ya que contribuyen a disminuir la incidencia de la enfermedad. El principal objetivo es reducir la cantidad de inóculo presente en el campo y evitar que se generen condiciones ambientales favorables para el desarrollo y propagación del fitopatógeno (Agrios, 2019).

En el caso específico de *N. rosae*, las prácticas culturales adquieren especial importancia debido a que el patógeno puede sobrevivir en hojas, pecíolos, coronas y otros residuos vegetales infectados, los cuales actúan como fuente de inóculo para nuevos ciclos de infección. Por ello, se recomienda evitar el riego por aspersión cuando sea posible, mejorar la ventilación del cultivo mediante un adecuado espaciamiento entre plantas y eliminar oportunamente los tejidos infectados para reducir la propagación de la enfermedad (Rebollar-Alviter *et al*., 2020; Baggio *et al*., 2021).

2.5.2. Control químico

El control químico constituye una de las estrategias más utilizadas para el manejo de enfermedades causadas por hongos fitopatógenos (Agrios, 2019). En el caso de *N. rosae*, la aplicación de fungicidas representa una de las principales medidas de manejo, especialmente en grandes sistemas de producción (Mertely *et al*., 2019; Rebollar-Alviter *et al*., 2020).

Entre los fungicidas utilizados para el control de *N. rosae* se encuentran el captan, un fungicida de contacto de amplio espectro cuyo mecanismo de acción consiste en la alteración de procesos metabólicos esenciales del hongo, lo que inhibe la germinación de las esporas y el crecimiento de las hifas (Yang *et al*., 2011; Acosta-González *et al*., 2024). Asimismo, el azoxystrobin y el pyraclostrobin, pertenecientes al grupo de las estrobilurinas, actúan mediante la inhibición de la respiración mitocondrial al bloquear la transferencia de electrones en el complejo III de la

cadena respiratoria, impidiendo la síntesis de ATP y provocando la muerte del fitopatógeno (Bartlett *et al*., 2002; Acosta-González *et al*., 2024). Por su parte, el boscalid, fungicida del grupo de las carboxamidas, inhibe la enzima succinato deshidrogenasa (complejo II), bloqueando la cadena respiratoria y reduciendo drásticamente la producción de ATP (Avenot y Michailides, 2010; Acosta-González *et al*., 2024). En tanto, el fluazinam actúa como desacoplador de la fosforilación oxidativa, interrumpiendo la producción de ATP y ocasionando un colapso energético en las células fúngicas (Leroux, 1996; Acosta-González *et al*., 2024). Finalmente, la mezcla de cyprodinil + fludioxonil combina dos mecanismos de acción complementarios: el cyprodinil inhibe la biosíntesis de metionina y la secreción de enzimas implicadas en el proceso de infección, mientras que el fludioxonil altera la regulación osmótica de las células fúngicas, inhibiendo el crecimiento y desarrollo del patógeno (Rebollar-Alviter *et al*., 2020; Acosta-González *et al*., 2024).

Es importante señalar que la eficacia del control químico depende en gran medida de que las aplicaciones se realicen de forma preventiva o durante las primeras etapas de la infección. Ya que una vez que el fitopatógeno ha colonizado extensamente los tejidos vegetales, disminuye la efectividad de los fungicidas (Mertely *et al*., 2019; Rebollar-Alviter *et al*., 2020).

Sin embargo, el uso frecuente e indiscriminado de estos productos puede favorecer la selección de poblaciones resistentes, reduciendo progresivamente su eficacia e incrementando los costos de producción debido a la pérdida de efectividad de los tratamientos (FRAC, 2024). Así mismo, puede afectar a organismos benéficos presentes en el campo y ocasionar impactos negativos sobre el medio ambiente (Zubrod *et al*., 2019).

2.5.3. Control biológico

En los últimos años el control biológico ha tomado una gran relevancia en la agricultura, debido a la importancia que esta tiene como alternativa sostenible en contra de las enfermedades ocasionadas por hongos fitopatógenos (FAO, 2021). En este caso, esta estrategia constituye una opción para el control de *N. rosae*, ya que

puede reducir el uso de fungicidas sintéticos y disminuye el riesgo de resistencia del fitopatógeno (Benítez *et al*., 2004; Sun *et al.,* 2021).

Entre los agentes de control biológico más utilizados se encuentran las especies de hongos del género *Trichoderma*, los cuales ejercen su efecto antagonista a través de mecanismos como el micoparasitismo, la competencia por nutrientes y espacio, la producción de enzimas y metabolitos con actividad antifúngica y la inducción de mecanismos de defensa en la planta hospedera (Stenberg *et al*., 2021; Villavicencio-Vásquez *et al*., 2025).

El caso de *N. rosae*, estudios recientes han demostrado que especies como *T. harzianum* y *T. asperellum* poseen una elevada capacidad antagonista frente a especies del género *Neopestalotiopsis* (Cervantes-Zúñiga *et al*., 2026; *Schierling et al*., 2026). Por su parte, *T. longibrachiatum* presenta un amplio potencial como agente de control biológico frente a diversos fitopatógenos; sin embargo, hasta el momento no existen reportes sobre su eficacia contra *N. rosae*.

2.6. Género *Trichoderma* spp.

2.6.1. Taxonomía del género *Trichoderma*

El género *Trichoderma* pertenece al reino Fungi, filo ascomycota, clase *Sordariomycetes,* y familia *Hypocreaceae*. Fue descrito por primera vez en 1974 por Persoon y actualmente comprende más de 400 especies distribuidas en el mundo. Se caracterizan por encontrarse ampliamente presentes en suelos agrícolas, donde desempeñan un papel fundamental en la transformación de nutrientes y el equilibrio de las comunidades microbianas (Kubicek *et al*., 2019; Cai & Druzhinina, 2021).

2.6.2. Características morfológicas del género *Trichoderma*

Morfológicamente se caracterizan por presentar hifas hialinas, septadas y ramificadas, con conidióforos altamente ramificados y fiálides de las cuales se originan conidios unicelulares, generalmente de forma globosa y elipsoidal y de color verde debido a la pigmentación de las masas de esporas. Estas especies también se caracterizan por presentar un crecimiento rápido y abundante de micelio y una elevada capacidad de colonizar diferentes sustratos, algunas especies

pueden producir clamidosporas, estructura de resistencia que favorecen su supervivencia bajo condiciones ambientales adversas (Samuels & Hebbar, 2015).

Entre las especies de mayor interés agrícola destacan *T. asperellum*, *T. harzianum* y *T. longibrachiatum*, debido a su elevada capacidad antagonista contra diversos fitopatógenos de importancia económica (Kubicek *et al*., 2019; Harman *et al*., 2021).

2.6.3. *Trichoderma asperellum*

Esta especie es una de las más utilizadas en programas de manejo integrado de enfermedades, debido a su alta eficiencia antagonista y su capacidad para establecerse en la rizosfera de numerosas especies vegetales (Chen *et al*., 2017; Cai & Druzhinina, 2021). Se caracteriza por presentar fiálides largas y delgadas, conidióforos alargados y abundantes clamidosporas (Samuels & Hebbar, 2015; Cai & Druzhinina, 2021).

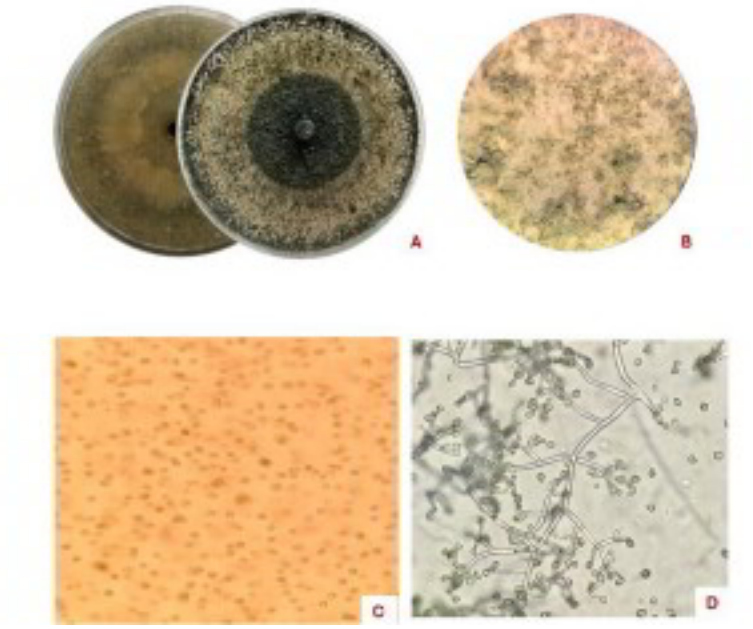


Figura 3. Características morfológicas de *Trichoderma asperellum* en medio de cultivo PDA después de una semana de incubación. A) Desarrollo de la colonia en medio de cultivo; B) Micelio y estructuras de esporulación observados bajo estereoscopio; C, D) conidios y conidióforos del hongo. *Imágenes de autoría propia.

Su actividad biocontroladora se basa en la competencia por espacio y nutrientes, la producción de metabolitos con actividad antifúngica, el desarrollo de micoparasitismo sobre diversos hongos fitopatógenos como *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, *Botrytis cinerea*, *Sclerotium rolfsii*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Macrophomina phaseolina*, Colletotrichum spp. y N. *rosae* y la secreción de enzimas hidrolíticas como son quitinasas, β-1,3-glucanasas, proteasas y xilanasas, los cuales se encargan de degradar componentes estructurales de la pared celular de los hongos y favorecer la invasión del micelio durante el proceso de micoparasitismo. Cabe señalar que de igual manera se ha demostrado que esta especie puede inducir mecanismos de resistencias sistémicas en las plantas y promover su crecimiento mediante la producción de fitohormonas y la mejora de la absorción de nutrientes, lo que incrementa la tolerancia frente a factores de estrés biótico y abiótico (Woo *et al*., 2014; Chen *et al*., 2017; Nguyen *et al*., 2020; Cai & Druzhinina, 2021).

2.6.4. *Trichoderma harzianum*

Se trata de una de las especies más estudiadas y empleadas comercialmente como agente de control biológico debido a su eficacia contra hongos fitopatógenos. Su actividad biocontroladora favorece el crecimiento y el desarrollo de las plantas mediante la estimulación del sistema radical, el incremento de la disponibilidad de nutrientes y la activación de respuestas de defensa, lo que ha permitido que esta especie sea altamente estudiada y utilizada en formulaciones comerciales destinadas al manejo de enfermedades en diversos cultivos agrícolas (Elad, 2000; Shoresh *et al*., 2010; Xiao *et al*., 2023).Se distingue por fiálides cortas con base ensanchada, conidios lisos y conidióforos muy ramificados (Samuels & Hebbar, 2015; Cai & Druzhinina, 2021).

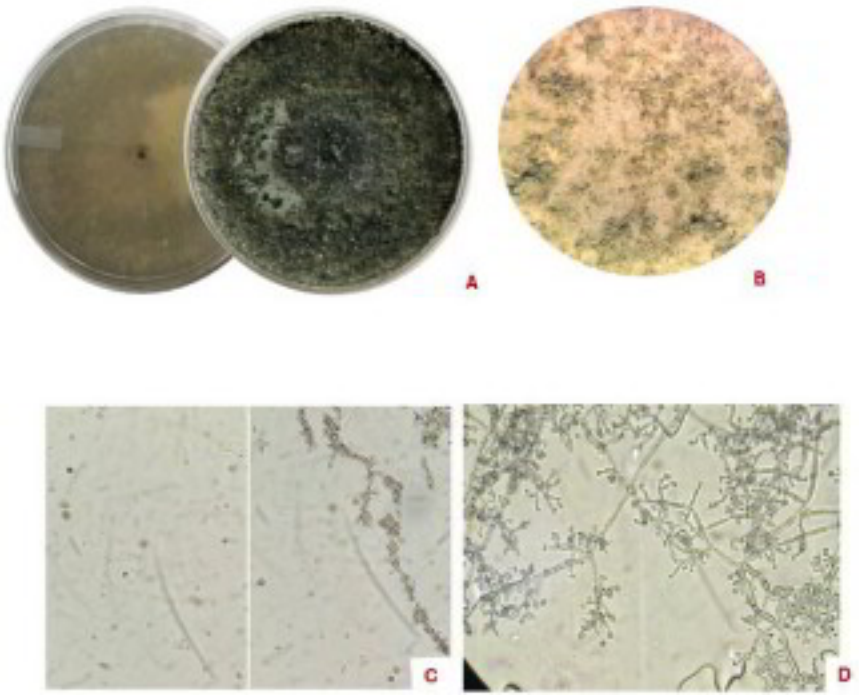


Figura 4. Características morfológicas de *Trichoderma harzianum* en medio de cultivo PDA después de una semana de incubación. A) Desarrollo de la colonia en medio de cultivo; B) Micelio y estructuras de esporulación observados bajo estereoscopio; C) conidios y conidióforos del hongo.

2.6.5. *Trichoderma longibrachiatum*

Es una especie que se caracteriza por estar ampliamente distribuida en suelos agrícolas y otros materiales ricos en material orgánico. Cuenta con un crecimiento rápido, una elevada capacidad de colonización y producción de abundantes enzimas hidrolíticas como quitinasas, β-1,3-glucanasas, proteasas y celulasas que son importantes en la degradación de la pared celular de diversos hongos fitopatógenos (Benítez *et al*., 2004; Harman *et al*., 2004; Kubicek *et al*., 2019). Por lo cual ha demostrado un elevado potencial como agente de control biológico teniendo reportes como una de las especies con mayor capacidad de micoparasitismo frente a diversos fitopatógenos de importancia agrícola gracias a los metabolitos antifúngicos y compuestos volátiles que inhiben el crecimiento de los fitopatógenos (Benítez *et al*., 2004; Zhang *et al*., 2018; Kubicek *et al*., 2019; Harman *et al*., 2021). Se caracteriza por presentar fiálides largas y delgadas,

conidióforos alargados y abundantes clamidosporas (Samuels & Hebbar, 2015; Cai & Druzhinina, 2021).

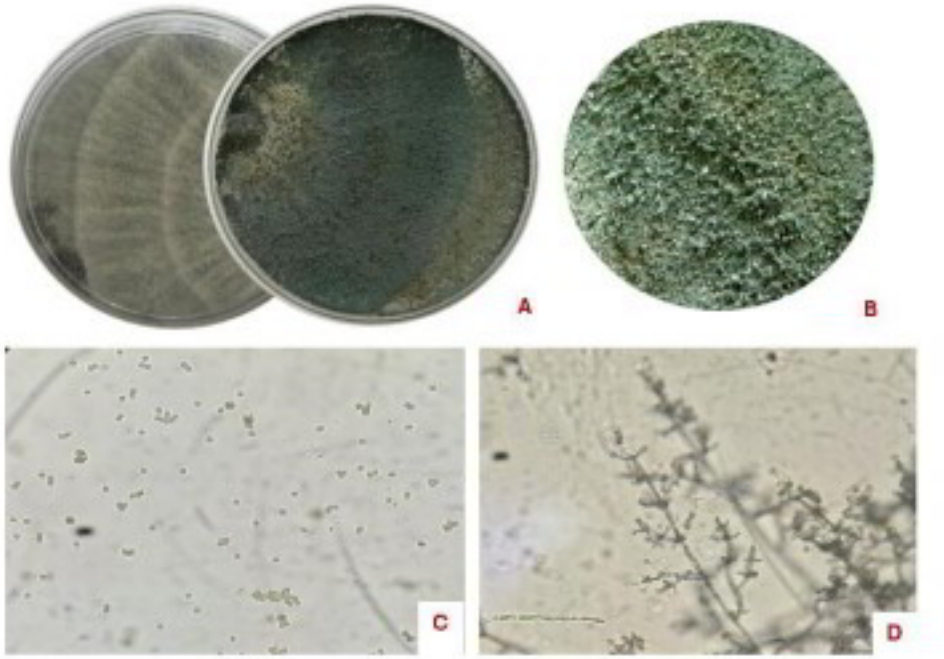


Figura 5. Características morfológicas de *Trichoderma longibrachiatum* en medio de cultivo PDA después de una semana de incubación. A) Desarrollo de la colonia en medio de cultivo; B) Micelio y estructuras de esporulación observados bajo estereoscopio; C, D) conidios y conidióforos del hongo. *Imágenes de autoría propia.

2.7. Mecanismos de acción de *Trichoderma* contra hongos fitopatógenos

En las últimas décadas, las especies de *Trichoderma* han adquirido gran importancia en la agricultura esto se debe a su capacidad para actuar como agente de control biológico frente a una gran cantidad de hongos fitopatógenos (Benítez *et al*., 2004; Harman *et al*., 2004).

La combinación de diversos mecanismos de acción, entre los que destacan el micoparasitismo, la competencia por espacio y nutrientes, la producción de metabolitos con actividad antifúngica, la secreción de enzimas hidrolíticas con capacidad para degradar la pared celular de los patógenos y la inducción de mecanismo de defensa en las plantas pueden actuar de manera simultánea, aumentando la eficiencia de control biológico y reduciendo la incidencia de enfermedades (Woo *et al*., 2014; Harman *et al*., 2021).

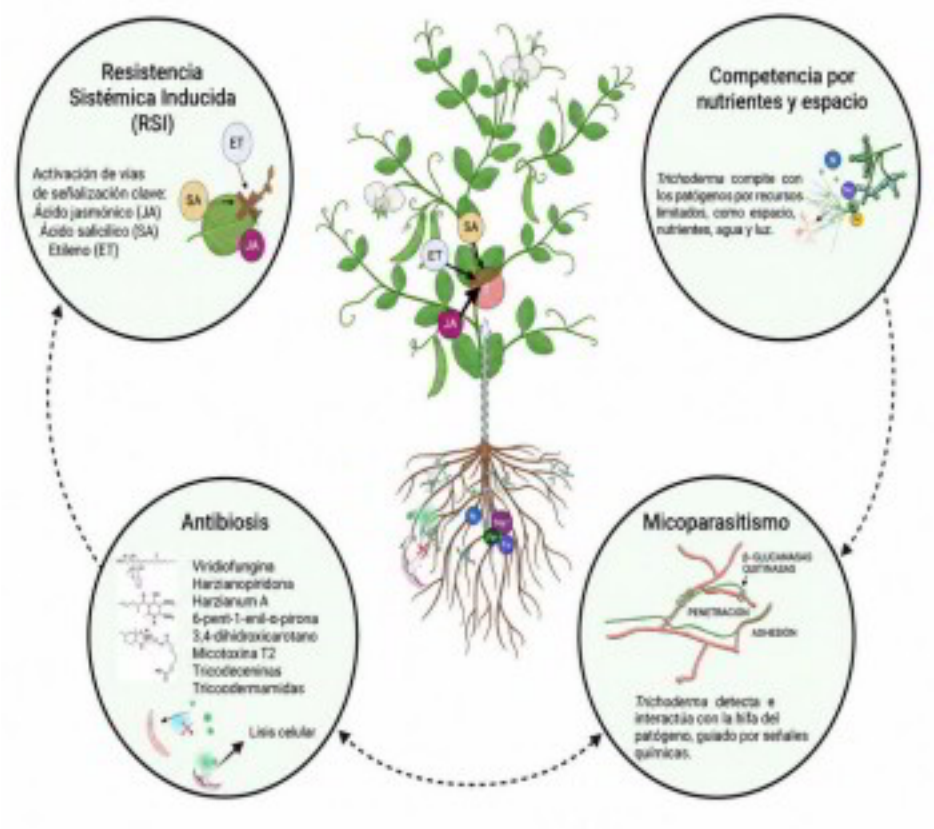


Figura 6. Mecanismo de biocontrol utilizados por *Trichoderma* spp. contra hongos fitopatógenos. Fuente: Villavicencio-Vásquez *et al*. (2025).

2.7.1. Competencia por nutrientes y espacio

Es un mecanismo que constituye una de las primeras líneas mediante la cual *Trichoderma* limita el establecimiento de los fitopatógenos, ya que, gracias a su rápido crecimiento, esporula y coloniza con mayor eficacia la rizosfera, y otros sustratos, este hongo consume rápidamente los nutrientes disponibles e invade los

sitios susceptibles de colonización, restringiendo el desarrollo del patógeno (Contreras-Cornejo *et al*., 2016).

2.7.2. Micoparasitismo

El micoparasitismo es uno de los principales mecanismos mediante los cuales *Trichoderma* ejerce el control biológico de hongos fitopatógenos. Este proceso comprende una serie de eventos coordinados que comienzan con el reconocimiento molecular del hospedero. En el cual *Trichoderma* reconoce fragmentos derivados de la pared celular del fitopatógeno, principalmente oligómeros de quitina y β-glucanos. Estas señales activan rutas de transducción de señales que inducen la expresión de genes relacionados con el micoparasitismo y orientan el crecimiento de las hifas mediante quimiotropismo hacia el hongo objetivo (Benítez *et al*., 2004; Harman *et al*., 2021).

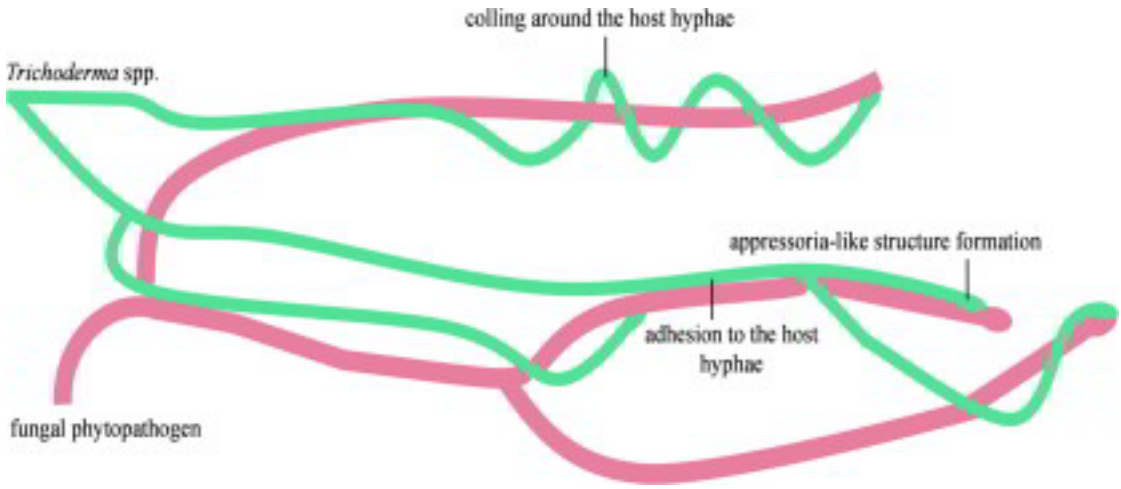


Figura 7. Mecanismo de micoparasitismo de *Trichoderma* sobre hongos fitopatógenos. Fuente: Riaz *et al*. (2026).

Posteriormente ocurre el contacto físico entre ambos hongos. Las hifas de *Trichoderma* se adhieren a la superficie del fitopatógeno mediante proteínas de adhesión, como las hidrofobinas y proteínas con afinidad por carbohidratos presentes en la pared celular, como son proteínas de unión a quitina (CBOs) y proteínas de unión a carbohidratos (CMB). Una vez establecida la adhesión, las hifas se enrollan alrededor del micelio del fitopatógeno y forman estructuras

semejantes a apresorios, las cuales facilitan el anclaje y favorecen la penetración de la pared celular (Benítez *et al*., 2004; Harman *et al*., 2004; Kubicek *et al*., 2019).

Una vez iniciada la colonización, *Trichoderma* activa la expresión de genes relacionados con el micoparasitismo, entre ellos genes homólogos a *ech42*, *chit33*, *nag1*, *bgn13.1* y *prb1*, que da como resultado el incremento de la producción de enzimas hidrolíticas y metabolitos secundarios con actividad antifúngica, los cuales actúan de manera complementaria para degradar la pared celular del fitopatógeno y facilitar su colonización. La acción coordinada de estos mecanismos provoca la pérdida de la integridad estructural del patógeno, permitiendo que *Trichoderma* utilice los nutrientes liberados para su crecimiento y reduciendo la capacidad del fitopatógeno para sobrevivir e infectar nuevos tejidos (Benítez *et al*., 2004; Harman *et al*., 2021).

2.7.3. Antibiosis

La antibiosis consiste en la producción de metabolitos secundarios con actividad antifúngica capaces de inhibir el crecimiento o desarrollo de otros microorganismos. Estos compuestos actúan mediante diferentes mecanismos, como la alteración de la permeabilidad de la membrana celular, la inhibición de procesos metabólicos esenciales y la reducción de la germinación de esporas, contribuyendo al control de diversos hongos fitopatógenos (Vinale *et al*., 2008).

Entre los principales metabolitos producidos por especies del género *Trichoderma* se encuentran los peptaiboles, como la alameticina y las trichorzianinas. Estos péptidos, ricos en aminoácidos no proteicos como el ácido α-aminoisobutírico (Aib), forman canales en la membrana celular del fitopatógeno, provocando pérdida del equilibrio iónico y alteraciones en la permeabilidad celular. Estos metabolitos han sido reportados principalmente en *T. harzianum* y *T. longibrachiatum* (Degenkolb & Brückner, 2008).

Asimismo, *T. asperellum* y *T. harzianum* han sido reportados como productores de la pirona 6-pentil-α-pirona (6-PP), un compuesto orgánico volátil con actividad antifúngica que inhibe el crecimiento micelial y la germinación de esporas de diversos hongos fitopatógenos (Vinale *et al*., 2008).

Por otro lado, *T. harzianum* y *T. longibrachiatum* sintetizan peptaiboles, mientras que *T. asperellum* produce ácido harziánico y harzianolida, metabolitos que contribuyen al antagonismo frente a hongos fitopatógenos (Vinale *et al*., 2008; Degenkolb & Brückner, 2008).

Además de estos compuestos, especies de *Trichoderma* producen diversos policétidos y otros metabolitos secundarios con actividad antifúngica que contribuyen al antagonismo frente a numerosos fitopatógenos. Sin embargo, la producción de metabolitos específicos varía entre especies y cepas, por lo que no todos los compuestos se encuentran presentes en todas las especies del género (Howell, 2003; Vinale *et al*., 2008).

Es importante mencionar que, aunque *T. asperellum*, *T. harzianum* y *T. longibrachiatum* pueden emplear la antibiosis como mecanismo de antagonismo, la composición y concentración de los metabolitos secundarios producidos dependen principalmente de la identidad genética de la cepa, las condiciones ambientales y la interacción con el fitopatógeno (Vinale *et al*., 2008).

2.7.4. Producción de enzimas hidrolíticas

Las especies de *Trichoderma* producen diversas enzimas hidrolíticas extracelulares que participan en la degradación de la pared celular de los hongos fitopatógenos. Entre las más importantes se encuentran las quitinasas responsables de hidrolizar la quitina, β-1,3-glucanasas que degradan los β-glucanos, proteasas que hidrolizan las proteínas estructurales de la pared celular y de la membrana y celulasas que contribuyen a la degradación de polisacáridos presentes en algunos componentes de la pared celular y del material vegetal colonizado. La acción conjunta de estas enzimas favorece la penetración del antagonista durante el micoparasitismo y contribuye a la lisis del patógeno (Harman *et al*., 2004; Kubicek *et al*., 2019).

En el caso de *T. harzianum*, *T. asperellum* y *T. longibrachiatum* se ha documentado la producción de quitinasas, β-1,3-glucanasas y proteasas como parte de su arsenal enzimático para el control biológico de diversos hongos fitopatógenos. Sin embargo, la actividad de estas enzimas puede variar según la cepa, la especie y las

condiciones ambientales o de interacción con el patógeno (Benítez *et al*., 2004; Kubicek *et al*., 2019).

2.7.5. Resistencia Sistémica Inducida (RSI)

Además de sus metabolitos con actividad biológica, *Trichoderma* produce fitohormonas, como auxinas, citoquininas y giberelinas, las cuales favorecen el crecimiento y desarrollo de las plantas (Estrada-Rivera *et al*., 2019). Asimismo, este hongo es capaz de activar la resistencia sistémica inducida (RSI; Induced Systemic Resistance, ISR), fortaleciendo los mecanismos de defensa de la planta y aumentando su capacidad para responder al ataque de fitopatógenos (Villavicencio-Vásquez *et al*., 2025).

Adicionalmente, este hongo contribuye a la protección de la planta mediante la producción de compuestos antimicrobianos, la inducción de la lignificación de las paredes celulares y la activación de las vías de señalización dependientes del ácido jasmónico (JA) y del etileno (ET), procesos que son determinantes en la respuesta al estrés biótico (Alizadeh *et al*., 2020).

2.8. *Trichoderma* spp. sobre *Neopestalotiopsis rosae*

Actualmente, existen reportes que evidencian el potencial de especies del género *Trichoderma* para el control de *Neopestalotiopsis rosae*. Por ejemplo, Olivares-Rodríguez *et al*. (2024) demostraron que diferentes cepas de *Trichoderma* inhibieron el crecimiento radial de *Neopestalotiopsis* spp. alcanzando un porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) de entre 63 y 70 %. Asimismo, mediante observaciones microscópicas se documentó el enrollamiento de las hifas de *Trichoderma* alrededor de las del patógeno, así como la adhesión y posterior lisis de estas, evidenciando su capacidad micoparasítica.

Recientemente, Schierling *et al*. (2026) evaluaron el potencial de los extractos de *T. harzianum*, *T. asperellum* y *T. koningiopsis* para el control de *N. rosae*. Entre las especies evaluadas, *T. koningiopsis* destacó por inhibir más del 92 % del crecimiento micelial y de la producción de conidios de *N. rosae*, mientras que *T. harzianum* y *T. asperellum* redujeron la producción de conidios en un 45.0 y 62.7 %, respectivamente. Además, en condiciones de invernadero, *T. koningiopsis* mostró

una eficacia comparable a la del fungicida comercial Switch para el control de la enfermedad.

Por otro lado, Cervantes-Zúñiga *et al*. (2026) demostraron, mediante ensayos de confrontación dual *in vitro*, que *T. harzianum* inhibió el crecimiento de *N. rosae*, alcanzando porcentajes de inhibición que oscilaron entre el 58.94 y el 81.63 %. Por su parte, Juárez-Cruz *et al*. (2026) reportaron que los aislados de *T. afroharzianum* inhibieron el crecimiento micelial de *N. rosae* entre un 71 y un 73 % en ensayos de confrontación dual, superando la eficacia del fungicida comercial ciprodinil + fludioxonil, cuya inhibición promedio fue del 50 %.

III. Hipótesis

Las especies de *Trichoderma* presentan diferencias en su capacidad antifúngica y micoparasítica contra *Neopestalotiopsis rosae* bajo condiciones *in vitro*, debido a la variabilidad en sus mecanismos de antagonismo.

IV. Objetivos

4.1. Objetivo general

Evaluar la capacidad antifúngica y micoparasítica de *Trichoderma* spp. sobre *Neopestalotiopsis rosae* bajo condiciones *in vitro.*

4.2. Objetivos específicos

Determinar la actividad antifúngica de *T. longibrachiatum*, *T. asperellum* y *T. harzianum* contra *N. rosae* mediante bioensayos de confrontación dual.

Evaluar la capacidad micoparasítica de *T. longibrachiatum*, *T. asperellum* y *T. harzianum* sobre *N. rosae* mediante la observación de las interacciones hifales en cultivo líquido.

V. Materiales y Métodos

5.1. Obtención de *Trichoderma* spp. y *Neopestalotiopsis rosae*

Las especies de *Trichoderma* (*T. longibrachiatum*, *T. asperellum* y *T. harzianum*) fueron obtenidas de la colección microbiológica del Laboratorio de Microbiología del Departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

El aislado de *N. rosae* codificado como 466 fue proporcionado por el Centro Universitario Regional Centro Occidente de la Universidad Autónoma Chapingo. Este fue obtenido a partir de plantas de fresa con síntomas con daños foliares característicos de esta enfermedad de cultivares 'Albion', en parcelas comerciales de los municipios de Zamora y Jacona, Michoacán. Dicho aislado fue caracterizado molecularmente en la investigación realizada por Rebollar-Alviter *et al*. (2020). Para su conservación, los aislados se mantuvieron en medio Agar Papa Dextrosa (PDA) y refrigerados a 4 °C hasta su uso.

5.2. Actividad antifúngica y sobrecrecimiento de *Trichoderma* spp. sobre *Neopestalotiopsis rosae*

La capacidad antagonista de *Trichoderma* spp. sobre *N. rosae* se evaluó siguiendo la metodología de Valencia de Ita *et al*. (2020), mediante la técnica de confrontación dual (CD).

Se colocó un disco de micelio de 5 mm de diámetro de *Trichoderma* spp. y otro de *N. rosae* en extremos opuestos de cajas Petri de 8 cm de diámetro con medio de cultivo PDA, incubándose a 25 ± 2 °C. Se evaluaron siete tratamientos:

Tratamiento	Descripción
T1	*T. longibrachiatum* + *N. rosae*
T2	*T. asperellum* + *N. rosae*
T3	*T. harzianum* + *N. rosae*
T4	*N. rosae* (testigo)
T5	*T. longibrachiatum* (testigo)
T6	*T. asperellum* (testigo)
T7	*T. harzianum* (testigo)

Cada tratamiento se estableció con tres repeticiones (cajas Petri) bajo un diseño completamente al azar. El crecimiento micelial se monitoreó periódicamente hasta el contacto entre las colonias en los tratamientos de CD y, en los tratamientos absolutos, hasta que las colonias cubrieron por completo las cajas Petri.



Las mediciones del crecimiento radial se realizaron cada 24 h con apoyo de un vernier (ADIR 11684).



Con los datos obtenidos, se determinó el porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) mediante la ecuación.

$$PICR = \left(\frac{R1 - R2}{R1}\right) * 100$$

Donde:

R1: Diámetro promedio del crecimiento radial del control de *N. rosae.*

R2: Diámetro del crecimiento radial de *N. rosae* en presencia de *Trichoderma* spp.

Los valores de R1 y R2 se calcularon a partir del promedio de las réplicas correspondientes a cada tratamiento. Para complementar la evaluación de la capacidad antagonista de *Trichoderma* spp. sobre *N. rosae*, cada ensayo de CD se clasificó de acuerdo con la escala propuesta por Bell *et al*. (1982), la cual categoriza el grado de sobrecrecimiento del antagonista sobre el fitopatógeno en cinco clases (Tabla 1).

Tabla 1. Escala de capacidad de antagonismo de *Trichoderma* spp. de Bell *et al*. (1982).

Clase	Características
I	Crecimiento de *Trichoderma* sp., que cubrió toda la superficie del medio y redujo la colonia del patógeno.
II	Crecimiento de *Trichoderma* sp., que cubrió al menos 2/3 partes del medio.
III	*Trichoderma* sp. y el patógeno vegetal crecieron en la mitad y la mitad de la superficie del medio, sin superponerse uno sobre el otro.
IV	El hongo patógeno creció ocupando al menos 2/3 del medio y resistió la invasión de *Trichoderma* sp.
V	Crecimiento del patógeno que cubrió toda la superficie del medio.

5.3. Capacidad micoparasítica de *Trichoderma* spp. sobre *Neopestalotiopsis rosae*

El micoparasitismo de *Trichoderma* spp. sobre *N. rosae* se evaluó en medio líquido Sabouraud, compuesto por peptona (10 g L^{-1}) y dextrosa (40 g L^{-1}). Para ello, se inocularon dos explantes de 5 mm de diámetro de *N. rosae* en un matraz con 250 mL de medio de cultivo Sabouraud durante tres días para permitir su establecimiento y crecimiento del fitopatógeno. Posteriormente, se añadieron explantes de 5 mm de diámetro de cada aislado de *Trichoderma* (*T. longibrachiatum*, *T. asperellum* y *T. harzianum*) en matraces independientes. La interacción entre ambos hongos se evaluó a las 72 h después de la inoculación de las especies de *Trichoderma*. La capacidad micoparasítica se determinó con base en el grado de colonización de *Trichoderma* spp. sobre *N. rosae.* Las evidencias observadas se realizaron con un microscopio óptico (Zeiss, modelo 392575-9003) a aumentos de 10 y 40×, equipado con una cámara digital Dino-Lite®. La captura de imágenes se efectuó mediante el software DinoCapture 2.0.

5.4. Análisis Estadístico

Los datos de crecimiento radial de *N. rosae* y *Trichoderma* spp. se registraron diariamente y se utilizaron para calcular la velocidad de crecimiento micelial de cada tratamiento. El experimento incluyó cuatro tratamientos: *N. rosae* en testigo absoluto (TA), *Trichoderma* spp. en testigo absoluto (TA), *N. rosae* en cultivo dual (CD), *Trichoderma* spp. en cultivo dual (CD). Los datos obtenidos se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) de una vía, considerando el tratamiento como factor de estudio. Cuando se detectaron diferencias significativas, las medidas se compararon mediante una prueba de Tukey con un nivel de significancia de $p \leq 0.05$. Los resultados se expresaron como medida ± desviación estándar (DE).

VI. Resultados y Discusión

6.1. Determinación de la capacidad antagonista y sobrecrecimiento de *Trichoderma* spp. sobre *Neopestalotiopsis rosae*

Los resultados obtenidos sobre la capacidad antagonista mostraron que *T. longibrachiatum* desde el día tres tuvo contacto sobre *N. rosae* en las cajas Petri con medio de PDA, para el octavo día este ya se encontraba cubriendo al fitopatógeno por completo, lo cual lo pone en la clase I, en la escala de Bell *et al*. (1982) (Figura 8).

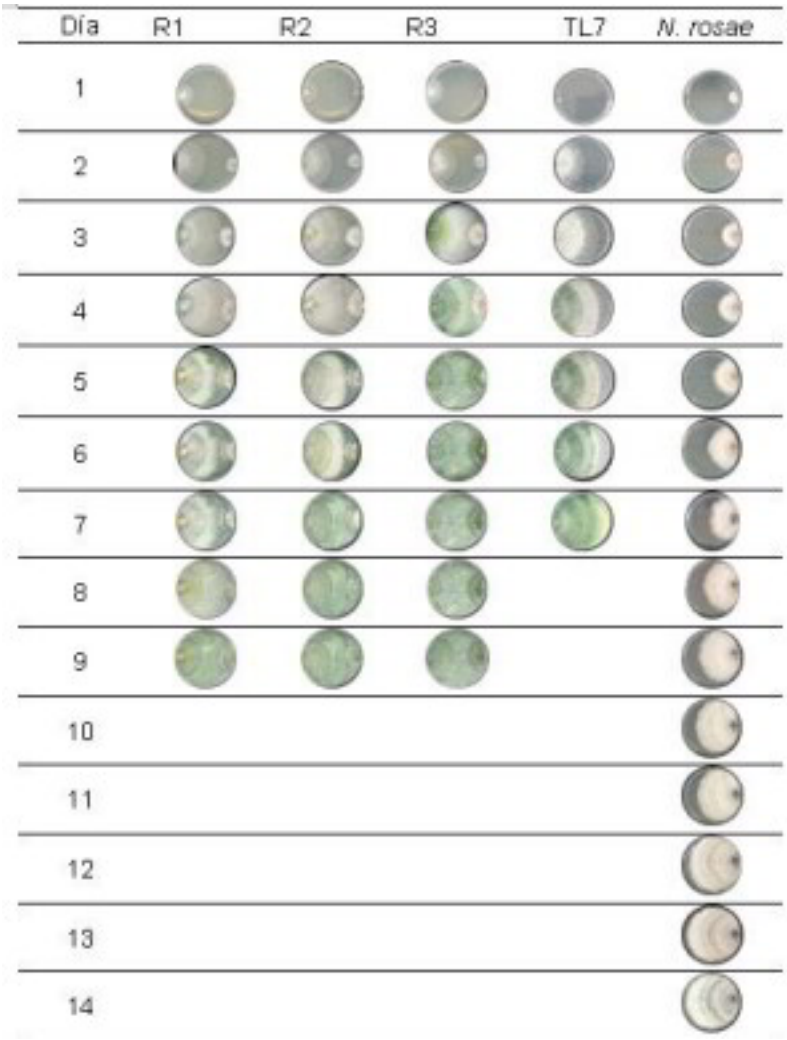


Figura 8. Confrontación dual entre *Trichoderma longibrachiatum* (L7) sobre *Neopestalotiopsis rosae*, a los 9 días después de la inoculación.

Por otro lado, *T. asperellum*, el comportamiento fue diferente, ya que para el quinto día dos de las tres repeticiones ya se encontraban en el punto de contacto entre *Trichoderma* sobre *N. rosae*, sin embargo, en una repetición se observó un halo de inhibición por el cual no se logró el contacto entre estos hasta el día siete en esta repetición, cabe resaltar que inclusive para el día nueve ninguno cubrió por completo a *N. rosae,* por lo cual este se colocó en la clase II de Bell *et al*. (1982) (Figura 9).



Figura 9. Confrontación dual en medio PDA entre *Trichoderma asperellum* (TA) sobre *Neopestalotiopsis rosae*, evaluada a los 9 días después de la siembra.

Por último, en *T. harzianum* el contacto entre este con *N. rosae* se mostró en el cuarto día (Figura 10). Sin embargo, de igual manera que en *T. asperellum*, en dos repeticiones para este día se mostró un halo de inhibición, lo cual puede responder a la resistencia de *N. rosae* a ser micoparasitado, sin embargo, ya para el quinto este mostró una clara evidencia de crecimiento de *T. harzianum* sobre *N. rosae*, finalmente, para el día nueve este no cubrió del todo a *N. rosae*, por lo cual de igual manera se colocó en la escala II de Bell *et al*. (1982).

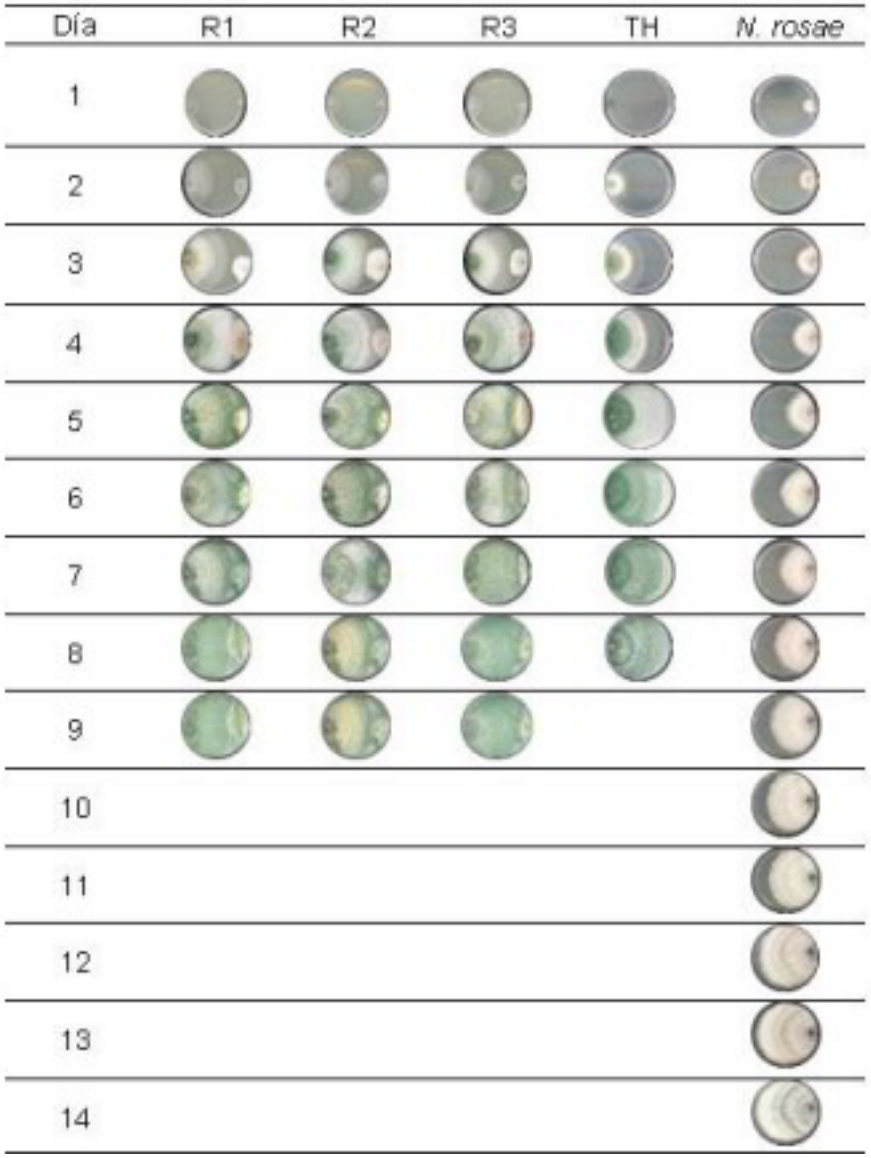


Figura 10. Confrontación dual en medio PDA entre *Trichoderma harzianum* (TH) sobre *Neopestalotiopsis rosae*, evaluada a los 9 días después de la siembra.

En cuanto al crecimiento radial evaluado, *N. rosae* fue menor en CD con *T. longibrachiatum* (Figura 13 (C)). Durante los primeros cuatro días de evaluación, el porcentaje de inhibición del PICR evaluado al cuarto día fue de 35.19 %. A partir del quinto día, *T. longibrachiatum* inhibió completamente el crecimiento del patógeno. Además, el antagonista colonizó totalmente la placa a los cinco días, evidenciando una elevada capacidad competitiva y antagónica frente a *N. rosae*.

El crecimiento radial de *N. rosae* fue menor en CD con *T. asperellum* en comparación con el testigo absoluto (Figura 13 (B)). Durante los primeros cuatro días de evaluación, el PICR al cuarto día fue de 22.80 %. A partir del quinto día, *T. asperellum* inhibió completamente el crecimiento del patógeno, registrando un PICR del 100 %. Asimismo, el antagonista colonizó totalmente la placa al octavo día. El crecimiento radial de *N. rosae* y *T. harzianum* (Figura 13 (A)) mostró diferencias significativas entre los tratamientos evaluados durante el período de incubación. En los TA, *N. rosae* alcanzó un diámetro promedio de 8.0 cm a los 14 días, mientras que *T. harzianum* llenó la caja a partir del sexto día de evaluación. En CD, el crecimiento de *N. rosae* fue progresivamente reducido en presencia de *T. harzianum* registrándose porcentajes de inhibición del 20.49 % durante los primeros cuatro días de evaluación. A partir del quinto día, no se observó crecimiento de *N. rosae* en CD, lo que correspondió a una inhibición del 100 %. Estudios recientes evidencian el efecto antagónico de especies de *Trichoderma* sobre *Neopestalotiopsis* spp. Amrutha & Vijayaraghavan (2018) observaron una inhibición del 66 % de *N. clavispora* por *T. asperellum*. Asimismo, Morales-Mora *et al*. (2020) reportaron que *T. harzianum* inhibió el crecimiento de *Neopestalotiopsis* sp. en un 71,11 %, mientras que Liu *et al*. (2024) registraron inhibiciones de 79,67 % y 69,84 % mediante metabolitos volátiles y de fermentación de *T. asperellum*, respectivamente. Por otro lado, Olivares-Rodríguez *et al*. (2024) reportaron que *Trichoderma* spp. inhibieron el crecimiento *in vitro* de *Neopestalotiopsis* sp., con valores de PICR entre 63 % y 70 %. La capacidad antagonista es uno de los mecanismos por el cual *Trichoderma* spp. es utilizado actualmente para el control de hongos fitopatógenos, esto se debe principalmente a diversos mecanismos como lo es la producción de metabolitos secundarios y la competencia por espacio y nutrientes (Tyśkiewicz *et al*., 2022).

Estos resultados concuerdan con lo reportado por diversos autores, quienes señalan que, en condiciones *in vitro*, *Trichoderma* spp. es capaz de detectar señales quimiotrópicas emitidas por hongos hospederos y dirigir su crecimiento hacia ellos. Este proceso está asociado con la activación de genes y mecanismos relacionados con el micoparasitismo, los cuales favorecen el reconocimiento, la colonización y el antagonismo sobre el hospedero (Mukherjee *et al*., 2013).

6.2. Capacidad micoparasítica de *Trichoderma* spp. sobre *Neopestalotiopsis rosae*

El comportamiento de micoparasitismo de *Trichoderma* spp. mostrado sobre *N. rosae* se encontró de manera diferente en los distintos aislados, ya que *T. longibrachiatum* fue el que más evidenció como las hifas de este hongo enrollaron y penetraron a las de *N. rosae* (Figura 11 (D y J)). Estos resultados concuerdan con investigaciones realizadas por otros autores, los cuales mencionan que las hifas de *Trichoderma* no solo se adhieren y enrollan alrededor de las hifas del hospedero, sino que también penetran su pared celular, esto gracias a enzimas como quitinasas, β glucanasas y proteasas (Vázquez-Garcidueñas *et al*., 1998; Dutta *et al*., 2023).

Por otro lado, *T. asperellum* se observó este mismo proceso en el cual sus hifas se encontraban sujetando las de *N. rosae*, proceso que después sigue por enrollar al fitopatógeno (Figura 11 (H y K)). Dicha actividad se encuentra muy bien documentada en la cual *Trichoderma* produce papilas estructuras similares a apresorios que se adhieren a la pared celular del huésped (Chet *et al*., 1981; Dutta *et al*., 2022).

Por último, *T. harzianum* mostró un comportamiento en donde las hifas de este se bifurcan para sujetar al fitopatógeno hospedero (Figura 11 (I y L)). Estos resultados concuerdan con lo reportado por otros autores, quienes mencionan que una vez que el micoparásito llega al huésped, sus hifas a menudo se enrollan a su alrededor o se adhieren a él formando estructuras en forma de gancho (Mukherjee *et al*., 2013). Este mecanismo ha sido muy descrito ya que se sabe que el micoparasitismo es un

proceso programado, el cual se realiza desde la detección del hongo huésped hasta la invasión y, finalmente, la muerte de este último (Mukherjee *et al*., 2022).

Trichoderma spp. son conocidos por su capacidad como micoparásitos necrotróficos que detectan, invaden y destruyen otros hongos (Mukherjee *et al*., 2013). Este proceso fisiológico complejo, implica la producción de enzimas como quitinasas, las β-glucanasas y las proteasas, las cuales degradan las paredes celulares de los hongos hospederos, lo cual favorece que *Trichoderma* spp. pueden parasitar al hongo hospedero (Tyśkiewicz *et al*., 2022).

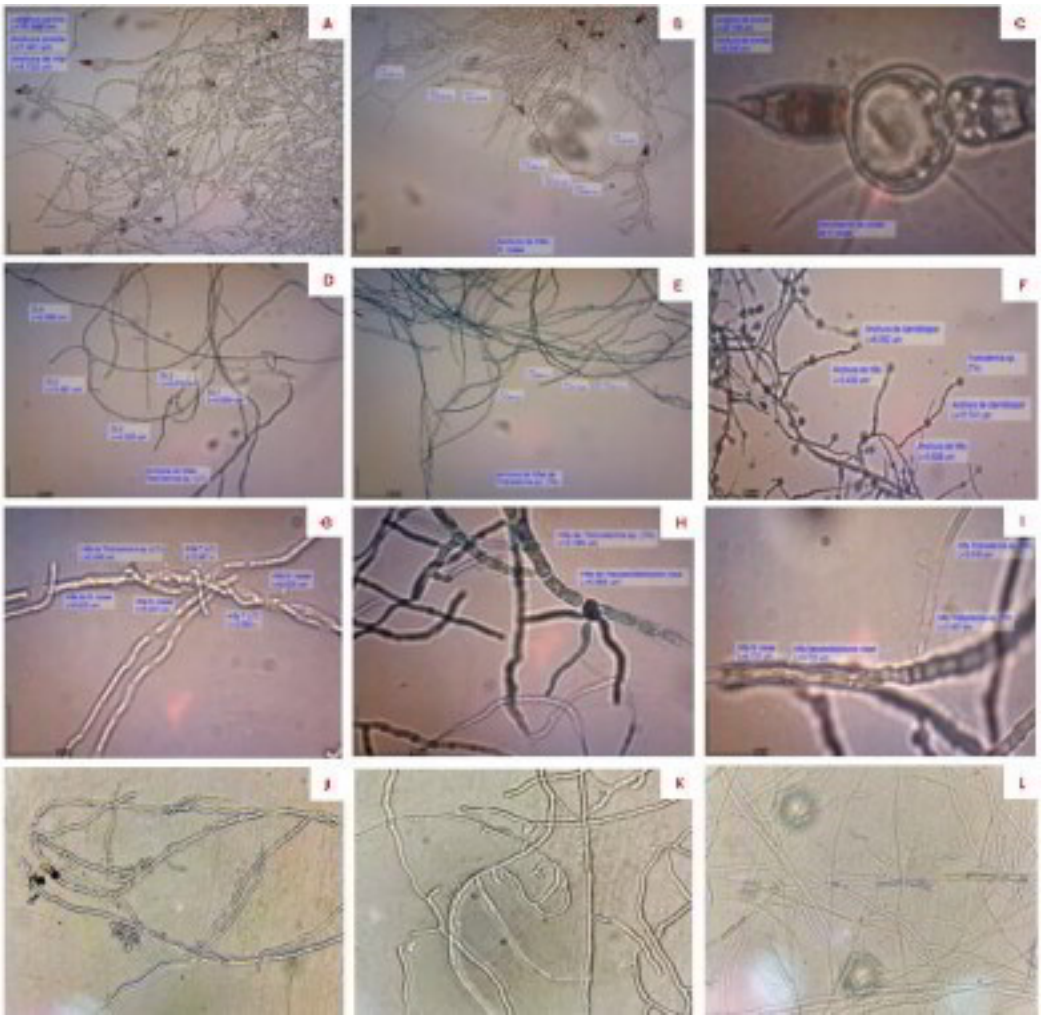


Figura 11. A, B y C) Control absoluto *N. rosae*; D) Control absoluto *T. longibrachiatum*; E) Control absoluto *T. asperellum*; F) Control absoluto *T. harzianum*; G y J) Micoparasitismo de *T. longibrachiatum* sobre *N. rosae;* H y K) Micoparasitismo de *T. asperellum* sobre *N. rosae;* I y L) Micoparasitismo de *T. harzianum* sobre *N. rosae.*

Adicionalmente, se observaron alteraciones morfológicas en *N. rosae*, entre ellas la formación de una estructura arqueada en una hifa, asociada con múltiples prolongaciones en los septos del fitopatógeno durante su interacción con *T. longibrachiatum* (Figura 12A). No se encontraron reportes de este proceso que describan este tipo de alteración morfológica en *N. rosae* durante su interacción con especies de *Trichoderma.* Por lo tanto, la naturaleza y el origen de esta estructura no pueden establecerse con certeza a partir de los resultados obtenidos, por lo que se requieren estudios adicionales para determinar si corresponde a una respuesta del patógeno frente al antagonista o a una modificación derivada del proceso de confrontación de *Trichoderma* spp. sobre hongos fitopatógenos. Asimismo, *T. longibrachiatum* mostró una aparente vacuolización citoplasmática en las hifas de *N. rosae* (Figura 12B). Este mecanismo ya se ha documentado con alteraciones citológicas y estructurales del hospedero (Mukherjee *et al*., 2022). También, se observó que las esporas de *T. longibrachiatum* aparentemente se adherían a las hifas de *N. rosae*, sobre las cuales posteriormente germinaban (Figura 12C), este fenómeno ha sido descrito previamente como parte del proceso de reconocimiento y colonización del hospedero, en el cual las señales químicas liberadas por el patógeno estimulan la germinación de los conidios y el crecimiento dirigido de las hifas de *Trichoderma* spp. lo que favorece el establecimiento del micoparasitismo (Mukherjee *et al*., 2012; Mukherjee *et al*., 2022).

Por su parte, *T. asperellum* mostró algunas alteraciones morfológicas en las hifas de *N. rosae* evidenciadas por crecimientos anormales en sus hifas (Figura 12D-F). Estudios reportan que el micoparasitismo de *Trichoderma* spp. comprende reconocimiento del hospedero, adhesión, enrollamiento, penetración y crecimiento sobre las hifas del patógeno, acompañado de cambios morfológicos progresivos en el hospedero (Mukherjee *et al*., 2022).

Por último, en *T. harzianum*, al igual que en *T. longibrachiatum*, se observó que las esporas se adhieren a las hifas de *N. rosae*, sobre las cuales posteriormente germinaban. Asimismo, las hifas de *T. harzianum* mostraron crecimiento dirigido hacia las hifas del patógeno, favoreciendo el establecimiento del contacto y el inicio

del proceso de adhesión (Figura 12I), un fenómeno ampliamente reconocido en especies de *Trichoderma* durante la interacción micoparasítica.

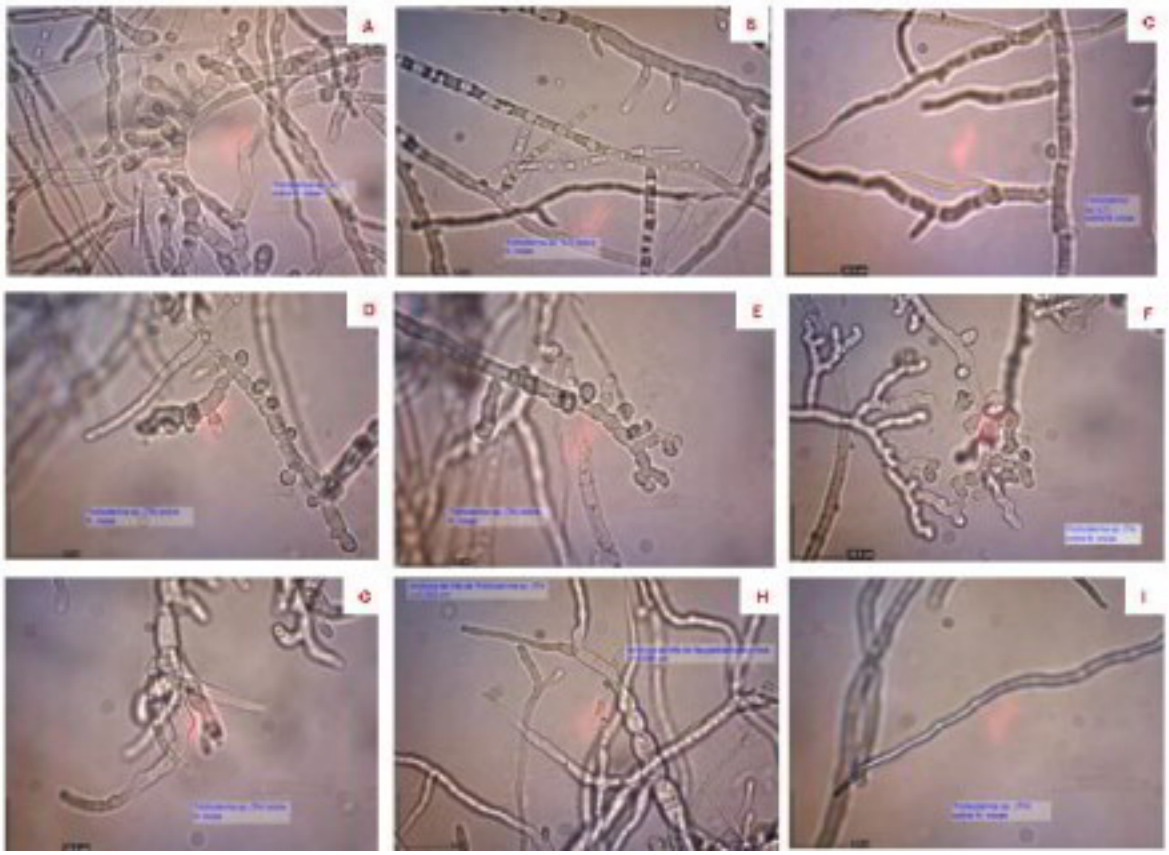


Figura 12. Otros daños ocasionados por *Trichoderma* spp. en estructuras de *N. rosae*. A) Prolongaciones en múltiples septos de las hifas de *N. rosae* ocasionadas por la interacción con *T. longibrachiatum*; B) vacuolización citoplasmática en hifas de *N. rosae* causada por la interacción con *T. longibrachiatum*; C) conidio de *T. longibrachiatum* adherido a una hifa de *N. rosae*; D-F) alteraciones morfológicas en hifas de *N. rosae* ocasionadas por la interacción con *T. asperellum*; G) conidio de *T. harzianum* adherido a una hifa de *N. rosae*; y H) hifa de *T. harzianum* adherida a una hifa de *N. rosae*.

VII. Conclusiones

Los resultados obtenidos demuestran que los aislados de Trichoderma evaluados poseen una alta capacidad antagonista frente a *N. rosae* bajo condiciones *in vitro*. El aislamiento *T. longibrachiatum* destacó por su rápida colonización del medio, su mayor velocidad de crecimiento y su capacidad de sobrecrecimiento total del patógeno. *T. asperellum* y *T. harzianum* también mostraron actividad antagonista relevante, aunque con variaciones en el grado de inhibición y tiempo de interacción. El micoparasitismo observado confirmó mecanismos clásicos del género *Trichoderma*, como adhesión, enrollamiento, penetración de hifas y producción de estructuras especializadas, acompañados de alteraciones morfológicas en el patógeno. En conjunto, estos hallazgos refuerzan el potencial de *Trichoderma* spp. como agente de biocontrol contra *N. rosae*, destacando su acción multifactorial basada en competencia, micoparasitismo y producción de metabolitos. Sin embargo, se recomienda validar estos resultados en condiciones *in vivo* para confirmar su eficacia en campo y su potencial aplicación en programas de manejo integrado de enfermedades en cultivos de fresa.

VIII. Apéndices

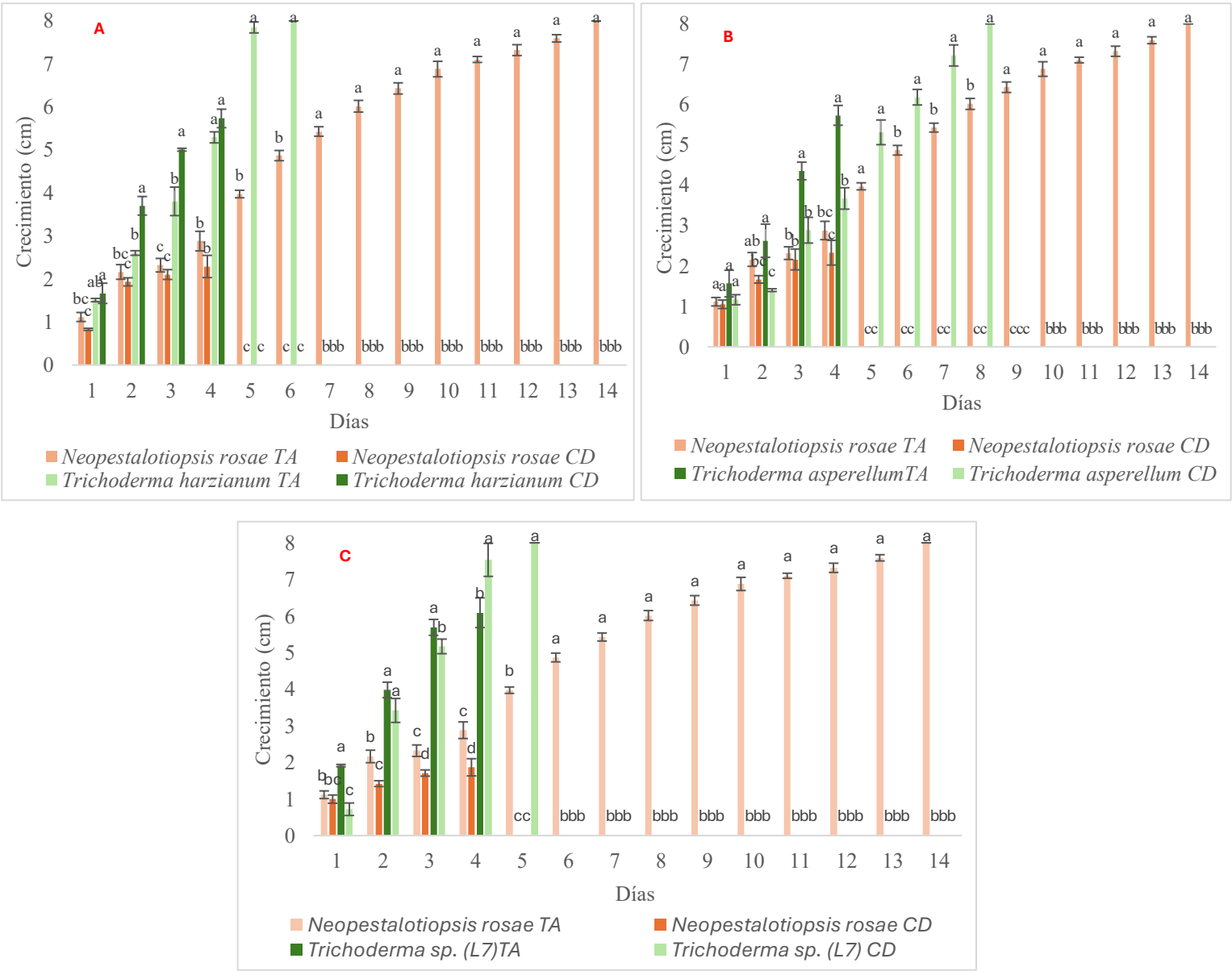


Figura 13. Crecimiento radial de *Trichoderma* spp. sobre *Neopestalotiopsis rosae* en cultivo dual (CD) y en sus respectivos testigos absolutos (TA) durante el período de evaluación; A) *T. harzianum* contra *N. rosae*; B) *T. asperellum* sobre *N. rosae*; C) *T. longibrachiatum* sobre *N. rosae*. Las medias con letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos de acuerdo con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$). Las barras representan la media ± error estándar (DE).

IX. Literatura Consultada

1. Acosta-González, U., García-García, G., Silva-Rojas, H. V., Peres, N. A., Marin, M. V., Rebello, C. S., Fuentes-Aragón, D., Leyva-Mir, S. G., & Rebollar-Alviter, A. (2026). Molecular, cultural and pathogenic characterization of *Neopestalotiopsis rosae* from strawberry in Mexico. *Plant Disease, 110(4)*. https://doi.org/10.1094/PDIS-01-26-0031-RE
2. Acosta-González, U., Leyva-Mir, S. G., Silva-Rojas, H. V., & Rebollar-Alviter, A. (2024). Preventive and curative effects of treatments to manage strawberry root and crown rot caused by *Neopestalotiopsis rosae*. *Plant Disease, 108*(5), 1278–1288. https://doi.org/10.1094/PDIS-05-23-0958-RE
3. Agrios, G. N. (2019). Agrios' plant pathology (6th ed.). Academic Press.
4. Aiello, D., Gusella, G., Leonardi, G. R., Polizzi, G., & Voglmayr, H. (2024). Bottlebrush and myrtle twig canker caused by *Neopestalotiopsis* species: An emerging canker-causing group of fungi in Italy. *MycoKeys, 106*, 133–151. https://doi.org/10.3897/mycokeys.106.120661
5. Alizadeh, M., Vasebi, Y., & Safaie, N. (2020). Microbial antagonists against plant pathogens in Iran: A review. *Open Agriculture, 5*(1), 404–440. https://doi.org/10.1515/opag-2020-0031
6. Amrutha, P., & Vijayaraghavan, R. (2018). Evaluation of fungicides and biocontrol agents against *Neopestalotiopsis clavispora* causing leaf blight of strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.). *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences,* 7(8), 622–628. https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.708.067
7. Avenot, H. F., & Michailides, T. J. (2010). Progress in understanding molecular mechanisms and evolution of resistance to succinate dehydrogenase inhibiting (SDHI) fungicides in phytopathogenic fungi. *Crop Protection, 29*(7), 643–651. https://doi.org/10.1016/j.cropro.2010.02.019
8. Baggio, J. S., Forcelini, B. B., Wang, N.-Y., Ruschel, R. G., Mertely, J. C., & Peres, N. A. (2021). Outbreak of leaf spot and fruit rot in Florida strawberry

caused by *Neopestalotiopsis* spp. *Plant Disease, 105*(2), 305–315. https://doi.org/10.1094/PDIS-06-20-1290-RE

9. Bartlett, D. W., Clough, J. M., Godwin, J. R., Hall, A. A., Hamer, M., & Parr-Dobrzanski, B. (2002). The strobilurin fungicides. *Pest Management Science, 58*(7), 649–662. https://doi.org/10.1002/ps.520
10. Bell, D. K., Wells, H. D., & Markham, C. R. (1982). *In vitro* antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. Phytopathology, 72(4), 379–382. https://doi.org/10.1094/Phyto-72-379
11. Benítez, T., Rincón, A. M., Limón, M. C., & Codón, A. C. (2004). Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. *International Microbiology, 7*(4), 249–260. https://doi.org/10.2436/20.1501.01.10
12. Cai, F., & Druzhinina, I. S. (2021). In honor of John Bissett: Authoritative guidelines on molecular identification of *Trichoderma*. *Fungal Diversity, 107*, 1–69. https://doi.org/10.1007/s13225-021-00464-4
13. Castro-Rosalez, L., Juárez-Maldonado, A., Benavides-Mendoza, A., González-Morales, S., García-León, E., Rebollar-Alviter, Á., & Pérez-Labrada, F. (2025). *In vitro* sensitivity of isolates of *Neopestalotiopsis rosae*, causal agent of strawberry crown rot, to usnic acid. *Horticulturae, 11*(7), 812. https://doi.org/10.3390/horticulturae11070812
14. Cervantes-Zúñiga, M. M., Peña-Carrillo, K. I., Hernández-Juárez, A., Gallegos-Morales, G., Delgado-Ortiz, J. C., & Castro-del Ángel, E. (2026). Biological control effect of *Trichoderma harzianum* and *Bacillus amyloliquefaciens* on *Neopestalotiopsis rosae* under controlled conditions. *Tropical and Subtropical Agroecosystems, 29*, Article 022. https://doi.org/10.56369/tsaes.6709
15. Chen, J., Sun, R., Wu, Q., Sun, Y., Yu, J., Li, Y., Ni, M., Dou, K., Ren, J., & Yu, C. (2017). Identification of a novel fungus, *Trichoderma asperellum* GDFS1009, and comprehensive evaluation of its biocontrol efficacy. *PLoS ONE, 12*(6), e0179957. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0179957

16. Chet, I., Harman, G. E., & Baker, R. (1981). *Trichoderma hamatum*: Its hyphal interactions with *Rhizoctonia solani* and *Pythium* spp. Microbial Ecology, 7(1), 29–38. https://doi.org/10.1007/BF02010476
17. Contreras-Cornejo, H. A., Macías-Rodríguez, L., del-Val, E., & Larsen, J. (2016). Ecological functions of *Trichoderma* spp. and their secondary metabolites in the rhizosphere. *FEMS Microbiology Ecology, 92*(4), fiw036. https://doi.org/10.1093/femsec/fiw036
18. Degenkolb, T., & Brückner, H. (2008). *Peptaibiomics: Towards a Myriad of Bioactive Peptides Containing Cα-dialkylamino acids? Chemistry & Biodiversity, 5*(9), 1817–1843. https://doi.org/10.1002/cbdv.200890171
19. Dutta, P., Deb, L., & Pandey, A. K. (2022). *Trichoderma*: From lab bench to field application: Looking back over 50 years. Frontiers in Agronomy, 4, Article 932839. https://doi.org/10.3389/fagro.2022.932839
20. Dutta, P., Mahanta, M., Singh, S. B., Thakuria, D., Deb, L., Kumari, A., & Upamanya, G. K. (2023). Molecular interaction between plants and *Trichoderma* species against soil-borne plant pathogens. Frontiers in Plant Science, 14, Article 1145715. https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1145715
21. Elad, Y. (2000). Biological control of foliar pathogens by means of *Trichoderma harzianum* and potential modes of action. *Crop Protection, 19*(8–10), 709–714. https://doi.org/10.1016/S0261-2194(00)00094-6
22. EPPO. (2025). *Neopestalotiopsis rosae*: Host plants. *EPPO Global Database*. https://gd.eppo.int/taxon/NPESRS/hosts
23. Estrada-Rivera, M., Rebolledo-Prudencio, O. G., Pérez-Robles, D. A., Rocha-Medina, M. C., González-López, M. C., & Casas-Flores, S. (2019). *Trichoderma* histone deacetylase HDA-2 modulates multiple responses in *Arabidopsis*. *Plant Physiology, 179*(4), 1343–1361. https://doi.org/10.1104/pp.18.01092
24. Fisher, M. C., Henk, D. A., Briggs, C. J., Brownstein, J. S., Madoff, L. C., McCraw, S. L., & Gurr, S. J. (2012). Emerging fungal threats to animal, plant and ecosystem health. *Nature, 484*(7393), 186–194. https://doi.org/10.1038/nature10947

25. Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2021). *Scientific review of the impact of climate change on plant pests*. FAO.
26. Fungicide Resistance Action Committee. (2024). *FRAC code list 2024: Fungicides sorted by mode of action*. FRAC.
27. Gaire, S., Muzhinji, N., Louws, F. J., & Adhikari, T. B. (2026). *Neopestalotiopsis* spp., an invasive fungal pathogen, is a major threat to strawberry production: The current status, challenges, and future directions. *Frontiers in Plant Science, 17*, 1725321. https://doi.org/10.3389/fpls.2026.172532
28. Guzmán-Guzmán, P., Kumar, A., de los Santos-Villalobos, S., & Parra-Cota, F. I. (2023). *Trichoderma* species: Our best fungal allies in the biocontrol of plant diseases—A review. *Plants, 12*(3), 432. https://doi.org/10.3390/plants12030432
29. Harman, G. E., Doni, F., Khadka, R. B., & Uphoff, N. (2021). Endophytic strains of *Trichoderma* increase plants' photosynthetic capability. *Journal of Applied Microbiology, 130*(3), 529–546. https://doi.org/10.1111/jam.14368
30. Harman, G. E., Howell, C. R., Viterbo, A., Chet, I., & Lorito, M. (2004). *Trichoderma* species—Opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews Microbiology, 2*(1), 43–56. https://doi.org/10.1038/nrmicro797
31. Howell, C. R. (2003). Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: The history and evolution of current concepts. *Plant Disease, 87*(1), 4–10. https://doi.org/10.1094/PDIS.2003.87.1.4
32. Juárez-Cruz, K. J., Jiménez-Pérez, A., Castrejón-Ayala, F., Trejo-Tapia, G., Soto-Rojas, L., Solano-Báez, A. R., & Márquez-Licona, G. (2026). Antifungal activity of native *Trichoderma afroharzianum* and *Arcopilus cupreus* against *Neopestalotiopsis rosae* causing strawberry root and crown rot in Mexico. *Journal of Fungi, 12*(6), 388. https://doi.org/10.3390/jof12060388
33. Kubicek, C. P., Druzhinina, I. S., & Herrera-Estrella, A. (2019). *Trichoderma: Biology and applications* (2nd ed.). CABI.

34. Lawrence, D., Brittain, G., Aglave, B., & Sances, F. (2022). First report of *Neopestalotiopsis rosae* causing crown and root rot of strawberry in California. *Plant Disease, 106*(8), 2470–2471. https://doi.org/10.1094/PDIS-04-22-0871-PDN
35. Leroux, P. (1996). Recent developments in the mode of action of fungicides. *Pesticide Science, 47*(2), 191–197. https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9063(199606)47:2<191::AID-PS415>3.0.CO;2-I
36. Liu, P., Yang, R., Wang, Z., Ma, Y., Ren, W., Wei, D., & Ye, W. (2024). Biocontrol potential of *Trichoderma asperellum* CMT10 against strawberry root rot disease. Horticulturae, 10(3), Article 246. https://doi.org/10.3390/horticulturae10030246
37. Maharachchikumbura, S. S. N., Hyde, K. D., Groenewald, J. Z., Xu, J., & Crous, P. W. (2014). *Pestalotiopsis* revisited. *Studies in Mycology, 79*, 121–186. https://doi.org/10.1016/j.simyco.2014.09.005
38. Mertely, J. C., Peres, N. A., & Paret, M. L. (2019). *Florida strawberry production guide: Disease management*. University of Florida IFAS Extension.
39. Morales-Mora, L. A., Andrade-Hoyos, P., Valencia-de Ita, M. A., Romero-Arenas, O., Silva-Rojas, H. V., & Contreras-Paredes, C. A. (2020). Characterization of strawberry associated fungi and *in vitro* antagonistic effect of *Trichoderma harzianum*. *Revista Mexicana de Fitopatología, 38*(3), 434–449. https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.2005-7
40. Mukherjee, M., Mukherjee, P. K., Horwitz, B. A., Zachow, C., Berg, G., & Zeilinger, S. (2012). *Trichoderma*–plant–pathogen interactions: Advances in genetics of biological control. Indian Journal of Microbiology, 52(4), 522–529. https://doi.org/10.1007/s12088-012-0308-5
41. Mukherjee, P. K., Horwitz, B. A., Herrera-Estrella, A., Schmoll, M., & Kenerley, C. M. (2013). *Trichoderma* research in the genome era. Annual Review of Phytopathology, 51, 105–129. https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-082712-102353

42. Mukherjee, P. K., Mendoza-Mendoza, A., Zeilinger, S., & Horwitz, B. A. (2022). Mycoparasitism as a mechanism of *Trichoderma*-mediated suppression of plant diseases. Fungal Biology Reviews, 39, 15–33. https://doi.org/10.1016/j.fbr.2021.11.004
43. Nguyen, H. L., Huy, N. D., Quang, H. T., Lan, T. T., & Ha, T. T. T. (2020). Characterisation and antifungal activity of extracellular chitinase from a biocontrol fungus, *Trichoderma asperellum* PQ34. *Mycology, 11*(1), 38–48. https://doi.org/10.1080/21501203.2019.1703839
44. Olivares-Rodríguez, G., Ángeles-Núñez, J. G., Mondragón-Rojas, F., Rivas-Valencia, P., Zárate-Castrejón, J. L., Mariscal-Amaro, L. A., Díaz-Espino, L. F., & Martínez-Martínez, T. O. (2024). Control *in vitro* de *Neopestalotiopsis* sp. aislada de fresa empleando *Trichoderma* y fungicidas comerciales. *Revista Mexicana de Fitopatología, 42*(Número especial), RMF2024-28. https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2024-28
45. Riaz, M., Javed, M. W., Atiq, M., & Alfatah, R. F. (2026). Biomanagement tactics towards phytopathogens: A mini review. *Discover Plants, 3*, Article 20. https://doi.org/10.1007/s44372-026-00482-7
46. Rebollar-Alviter, A., Silva-Rojas, H. V., Fuentes-Aragón, D., Acosta-González, U., Martínez-Ruiz, M., & Parra-Robles, B. E. (2020). An emerging strawberry fungal disease associated with root rot, crown rot and leaf spot caused by *Neopestalotiopsis rosae* in Mexico. *Plant Disease, 104*(8), 2054–2059. https://doi.org/10.1094/PDIS-11-19-2493-SC
47. Saldaña-Mendoza, S. A., Pacios-Michelena, S., Palacios-Ponce, A., Chávez-González, M. L., & Aguilar, C. N. (2023). *Trichoderma* as a biological control agent: Mechanisms of action, benefits for crops and development of formulations. *World Journal of Microbiology and Biotechnology, 39*(10), 269. https://doi.org/10.1007/s11274-023-03695-0
48. Samuels, G. J., & Hebbar, P. K. (Eds.). (2015). *Trichoderma: Identification and agricultural applications*. APS Press.
49. Savary, S., Willocquet, L., Pethybridge, S. J., Esker, P., McRoberts, N., & Nelson, A. (2019). The global burden of pathogens and pests on major food

crops. *Nature Ecology & Evolution, 3*(3), 430–439. https://doi.org/10.1038/s41559-018-0793-y

50. Schierling, T. E., Voegele, R. T., & El-Hasan, A. (2026). *In vitro* and *in planta* evaluation of *Trichoderma* spp. for the control of *Neopestalotiopsis rosae* on strawberry. *Applied Microbiology, 6*(3), Article 46. https://doi.org/10.3390/applmicrobiol6030046
51. Shoresh, M., Harman, G. E., & Mastouri, F. (2010). Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents. *Annual Review of Phytopathology, 48*, 21–43. https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-073009-114450
52. Stenberg, J. A., Sundh, I., Becher, P. G., Björkman, C., Dubey, M., Egan, P. A., Friberg, H., Gil, J. F., Jensen, D. F., Jonsson, M., Khachatourians, G. G., Kowalska, J., Nilsson, U., Sarrocco, S., & Yourstone, J. (2021). When is it biological control? A framework of definitions, mechanisms of action, and classifications of biocontrol. *Journal of Pest Science, 94*(3), 665–676. https://doi.org/10.1007/s10340-021-01422-7
53. Sun, Q., Harishchandra, D., Jia, J., Zuo, Q., Zhang, G., Wang, Q., Yan, J., Zhang, W., & Li, X. (2021). Role of *Neopestalotiopsis rosae* in causing root rot of strawberry in Beijing, China. *Crop Protection, 147*, 105710. https://doi.org/10.1016/j.cropro.2021.105710
54. Talbot, N. J., Yan, X., & Wang, Y. (2023). Appressoria—Small but incredibly powerful structures in plant–pathogen interactions. *International Journal of Molecular Sciences, 24*(3), 2141. https://doi.org/10.3390/ijms24032141
55. Tucker, S. L., & Talbot, N. J. (2001). Surface attachment and pre-penetration stage development by plant pathogenic fungi. *Annual Review of Phytopathology, 39*, 385–417. https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.39.1.385
56. Tyśkiewicz, R., Nowak, A., Ozimek, E., & Jaroszuk-Ściseł, J. (2022). *Trichoderma*: The current status of its application in agriculture for the biocontrol of fungal phytopathogens and stimulation of plant growth.

International Journal of Molecular Sciences, 23(4), 2329. https://doi.org/10.3390/ijms23042329

57. Valencia de Ita, M. A., Parraguirre Lezama, C., Báez Simón, A., Morales Mora, L. A., Huerta Lara, M., Laug García, B., & Romero-Arenas, O. (2020). *In vitro* antagonism of strains of *Trichoderma* spp. on pathogenic fungi of nopal vegetable. Journal of Pure and Applied Microbiology, 14(2), 1345–1352. https://doi.org/10.22207/JPAM.14.2.31
58. Vázquez-Garcidueñas, S., Leal-Morales, C. A., & Herrera-Estrella, A. (1998). Analysis of the β-1,3-glucanolytic system of the biocontrol agent *Trichoderma harzianum*. Applied and Environmental Microbiology, 64(4), 1442–1446. https://doi.org/10.1128/AEM.64.4.1442-1446.1998
59. Villavicencio-Vásquez, M., Espinoza-Lozano, F., Espinoza-Lozano, L., & Coronel-León, J. C. (2025). Biological control agents: Mechanisms of action, selection, formulation and challenges in agriculture. *Frontiers in Agronomy, 7*, 1578915. https://doi.org/10.3389/fagro.2025.1578915
60. Vinale, F., Sivasithamparam, K., Ghisalberti, E. L., Marra, R., Woo, S. L., & Lorito, M. (2008). *Trichoderma*-plant-pathogen interactions. *Soil Biology and Biochemistry, 40*(1), 1–10. https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2007.07.002
61. Woo, S. L., Ruocco, M., Vinale, F., Nigro, M., Marra, R., Lombardi, N., Pascale, A., Lanzuise, S., Manganiello, G., & Lorito, M. (2014). *Trichoderma*-based products and their widespread use in agriculture. *The Open Mycology Journal, 8*, 71–126. https://doi.org/10.2174/1874437001408010071
62. Xiao, Z., Zhao, Q., Li, W., Gao, L., & Liu, G. (2023). Strain improvement of *Trichoderma harzianum* for enhanced biocontrol capacity: Strategies and prospects. *Frontiers in Microbiology, 14*, 1146210. https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1146210
63. Yang, C., Hamel, C., Vujanovic, V., & Gan, Y. (2011). Fungicide: Modes of action and possible impact on nontarget microorganisms. *International Journal of Agronomy, 2011*, Article 130289. https://doi.org/10.1155/2011/130289

64. Yang, X. L., Zhang, J. Z., & Luo, D. Q. (2012). The taxonomy, biology and chemistry of the fungal *Pestalotiopsis* genus. *Natural Product Reports, 29*(6), 622–641. https://doi.org/10.1039/C2NP00073C
65. Zhang, S., Xu, B., Zhang, J., & Gan, Y. (2018). Identification of the antifungal activity of *Trichoderma longibrachiatum* T6 and assessment of bioactive substances in controlling phytopathogens. *Pesticide Biochemistry and Physiology, 147*, 59–66. https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2018.02.006
66. Zubrod, J. P., Bundschuh, M., Arts, G., Brühl, C. A., Imfeld, G., Knäbel, A., Payraudeau, S., Rasmussen, J. J., Rohr, J., Scharmüller, A., Smalling, K., Stehle, S., Schulz, R., & Schäfer, R. B. (2019). Fungicides: An overlooked pesticide class? *Environmental Science & Technology, 53*(7), 3347–3365. https://doi.org/10.1021/acs.est.8b04392

X. Anexos

Trichoderma asperellum (TA)



Sistema SAS 14:40 Sunday, June 29, 2025 6

Procedimiento GLM

Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para valor

NOTA: Esta test controla el índice de error experimentales de tipo I, pero normalmente tiene un índice de error de tipo II más elevado que REGWQ.

Alfa	0.05
Error de grados de libertad	8
Error de cuadrado medio	0.053018
Valor crítico del rango estudentizado	4.52089
Diferencia significativa mínima	0.6611

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Tukey Agrupamiento	Media	N	tratamiento
A	1.5667	3	4
A			
A	1.1667	3	3
A			
A	1.1167	3	1
A			
A	1.0133	3	2

Sistema SAS 14:40 Sunday, June 29, 2025 5

Procedimiento GLM

Variable dependiente: valor

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	3	0.48002500	0.16134167	3.04	0.0344
Error	8	0.42566667	0.05320833		
Total corregido	11	0.91269167			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	valor Medio
0.526441	18.87534	0.230667	1.225833

Fuente	DF	Tipo I SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
tratamiento	3	0.48002500	0.16134167	3.04	0.0344

Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
tratamiento	3	0.48002500	0.16134167	3.04	0.0344



Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para valor

NOTA: Esta test controla el índice de error experimentales de tipo I, pero normalmente tiene un índice de error de tipo II más elevado que REGWQ.

Alfa	0.05
Error de grados de libertad	8
Error de cuadrado medio	0.074275
Valor crítico del rango estudentizado	4.52089
Diferencia significativa mínima	0.7126

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Tukey Agrupamiento	Media	N	tratamiento
A	2.6267	3	4
A			
B A	2.1633	3	1
B			
B C	1.5700	3	2
C			
C	1.4033	3	3



Sistema SAS 14:40 Sunday, June 29, 2025 5

Procedimiento GLM

Variable dependiente: valor

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	3	2.68000167	0.89333389	11.84	0.0026
Error	8	0.60400000	0.07550000		
Total corregido	11	3.28400167			

R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	valor Medio
0.816313	11.86356	0.274774	2.316667

Fuente	DF	Tipo I SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
tratamiento	3	2.68000167	0.89333389	11.84	0.0026

Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
tratamiento	3	2.68000167	0.89333389	11.84	0.0026

Sistema SAS 14:40 Sunday, June 29, 2025 6

Figura A1. Día 1.*T. asperellum* sobre *N. rosae*: comparación de las medidas de los tratamientos mediante Tukey (*P*≤ 0.05).

Figura A2. Día 2. *T. asperellum* sobre *N. rosae*: comparación de las medidas de los tratamientos mediante Tukey (*P*≤ 0.05).



Figura A3. Día 3. *T. asperellum* sobre *N. rosae*: comparación de las medidas de los tratamientos mediante Tukey (*P*≤ 0.05).



Figura A4. Día 4. *T. asperellum* sobre *N. rosae*: comparación de las medidas de los tratamientos mediante Tukey (*P*≤ 0.05).



Figura A5. Día 5. *T. asperellum* sobre *N. rosae*: comparación de las medidas de los tratamientos mediante Tukey (*P*≤ 0.05).



Figura A6. Día 6. *T. asperellum* sobre *N. rosae*: comparación de las medidas de los tratamientos mediante Tukey (*P*≤ 0.05).



Figura A7. Día 7.*T. asperellum* sobre *N. rosae*: comparación de las medidas de los tratamientos mediante Tukey (*P*≤ 0.05).



Figura A8. Día 8. *T. asperellum* sobre *N. rosae*: comparación de las medidas de los tratamientos mediante Tukey (*P*≤ 0.05).

***Trichoderma harzianum* (TH)**



Figura A9. Día 1. *T. harzianum* sobre *N. rosae*: comparación de las medidas de los tratamientos mediante Tukey (*P*≤ 0.05).



Figura A10. Día 2. *T. harzianum* sobre *N. rosae*: comparación de las medidas de los tratamientos mediante Tukey (*P*≤ 0.05).



Figura A11. Día 3.*T. harzianum* sobre *N. rosae*: comparación de las medidas de los tratamientos mediante Tukey (*P*≤ 0.05).



Figura A12. Día 4.*T. harzianum* sobre *N. rosae*: comparación de las medidas de los tratamientos mediante Tukey (*P*≤ 0.05).



Figura A13. Día 5. *T. harzianum* sobre *N. rosae*: comparación de las medidas de los tratamientos mediante Tukey (*P*≤ 0.05).



Figura A14. Día 6 *T. harzianum* sobre *N. rosae*: comparación de las medidas de los tratamientos mediante Tukey (*P*≤ 0.05).

***Trichoderma longibrachiatum* (L7)**



Figura A15. Día 1. *T. longibrachiatum* sobre *N. rosae*: comparación de las medidas de los tratamientos mediante Tukey (*P*≤ 0.05).



Figura A16. Día 2. *T. longibrachiatum* sobre *N. rosae*: comparación de las medidas de los tratamientos mediante Tukey (*P*≤ 0.05).



Figura A17. Día 3. *T. longibrachiatum* sobre *N. rosae*: comparación de las medidas de los tratamientos mediante Tukey (*P*≤ 0.05).



Figura A18. Día 4.*T. longibrachiatum* sobre *N. rosae*: comparación de las medidas de los tratamientos mediante Tukey (*P*≤ 0.05).



Figura A19. Día 5. *T. longibrachiatum* sobre *N. rosae*: comparación de las medidas de los tratamientos mediante Tukey (*P*≤ 0.05).