

Antagonismo de cepas nativas y foráneas de *Trichoderma* spp., contra *Colletotrichum gloeosporioides* causante de antracnosis en maracuyá

Antagonism of native and foreign strains of *Trichoderma* spp., against *Colletotrichum gloeosporioides* which causes anthracnose in passion fruit

Sergio Ayvar-Serna¹, José Francisco Díaz-Nájera^{1*}, Edna F. Valdez-Hernández², Edgar Jesús Delgado-Núñez³, Antonio Mena-Bahena¹

¹ Colegio Superior Agropecuario del Estado de Guerrero. Iguala de la Independencia. Guerrero, México.

² Universidad Autónoma de Chapingo. Departamento de Fitotecnia. Texcoco, México.

³ Universidad Autónoma de Guerrero. Iguala de la Independencia. Guerrero, México.



 10.57201/ieuna2423323

Sección: Comunicación corta

*Autor correspondiente:
francisco.najera@csaegro.edu.mx

Editor de área:

Andrea A. Arrúa Alvarenga,
Universidad Nacional de Asunción.
Centro Multidisciplinario de
Investigaciones Tecnológicas
(CEMIT). San Lorenzo, Paraguay.

Editor invitado:

Guillermo Enciso, Centro de
Desarrollo e Innovación
Tecnológica (CEDIT). Hohenau,
Itapúa, Paraguay.

Recibido:

19 de abril de 2023

Revisado:

3 de mayo de 2023

Aceptado:

27 de junio de 2023

Recibido en versión modificada:

2 de diciembre de 2024

Este es un artículo publicado en
acceso abierto bajo una Licencia
Creative Commons "CC BY 4.0".



Declaración de conflicto: Los
autores declaran no tener conflicto
de intereses.

e-ISSN 2709-0817

Como citar: Ayvar Serna, S., Díaz Nájera, J. F., Valdez-Hernández, E. F., Delgado-Núñez, E. J. y Mena-Bahena, A. (2023). Antagonismo de cepas nativas y foráneas de *Trichoderma* spp., contra *Colletotrichum gloeosporioides* causante de antracnosis en maracuyá. *Revista investigaciones y estudios - UNA*, 15(2), pp. 110-116.

Resumen. La antracnosis causada por *Colletotrichum gloeosporioides* provoca defoliación, aborto de flores, lesiones en frutos y reduce la producción y calidad de maracuyá. Aunque es controlada con fungicidas químicos, éstos contaminan el medio ambiente y son peligrosos para la salud, por lo que se ha incrementado la investigación en el control biológico con *Trichoderma* spp. Los objetivos de la investigación fueron aislar, identificar, determinar la patogenicidad del agente causal de la antracnosis y evaluar el antagonismo frente a cepas nativas mexicanas: *T. asperellum* (TaCh y TaST), *Trichoderma* sp. (TsRV, TsCo, TsCh y TsLF); además, frente a especies foráneas: *Trichoderma virens* G-41[®], *T. harzianum* T-22[®], *Trichoderma* sp. (Bactiva[®]) y *Trichoderma* sp. (Fithan[®]), mediante la técnica de cultivo dual. Se evaluaron: el día del primer contacto entre hifas, el antagonismo y el porcentaje de esporulación e inhibición de *Trichoderma* spp., contra el hongo patógeno. De frutos de maracuyá infectados se aisló e identificó *C. gloeosporioides*, el cual provocó infección en los frutos sanos a los 10 días después de la inoculación del aislado fungoso. *Trichoderma* y el patógeno hicieron contacto entre 1,6 (TsLF) y 3,8 (TaST) días. Todas las cepas evaluadas excepto TsLF y Bactiva[®], presentaron entre 97,56 y 100 % de esporulación. TsRV, TsCh, Fithan[®], TaCh, G-41[®] y T-22[®] sobrecrecieron al patógeno y cubrieron toda la superficie del PDA (antagonismo 1). Asimismo, TsRV, Bactiva[®], Fithan[®] y TaCh inhibieron 88,1; 76,0; 73,5 y 72,8 % el crecimiento micelial de *C. gloeosporioides* y se consideran candidatas para el manejo integrado de la antracnosis en maracuyá.

Palabras clave: control biológico, cultivo dual, competencia, antibiosis.

Abstract. Anthracnose caused by *Colletotrichum gloeosporioides* can cause defoliation, flower abortion, fruit lesions and reduce the production and quality of passion fruit. Although it is controlled with chemical fungicides, they contaminate the environment and are dangerous to health, which is why research into biological control with *Trichoderma* spp has increased. This research had the objectives of isolating, identifying and testing the pathogenicity of the causal agent of fruit anthracnose and comparing it with native Mexican strains: *T. asperellum* (TaCh and TaST), *Trichoderma* sp. (TsRV, TsCo, TsCh and TsLF); and, against foreign and commercial species: *Trichoderma virens* G-41[®], *T. harzianum* T-22[®], *Trichoderma* sp. (Bactiva[®]) and *Trichoderma* sp. (Fithan[®]), using the dual culture technique. The following was evaluated: the day of the first contact among hyphae, the type of antagonism and percentages of sporulation and inhibition of *Trichoderma* spp. against the pathogenic fungus. From infected diseased passion fruit fruits, *C. gloeosporioides* was isolated and identified, which caused infection in healthy fruits 10 days after inoculation of the fungal isolate. *Trichoderma* and the pathogen made contact between 1,6 (TsLF) and 3,8 (TaST) days. All the *Trichoderma* spp., strains evaluated, except TsLF and Bactiva[®], presented abundant sporulation between 97.56 and 100 % of sporulation. The TsRV, TsCh, Fithan[®], TaCh, G-41[®] and T-22[®] strains also had level 1 antagonism, overgrew the pathogen and covered the entire surface of the PDA (antagonism 1). Likewise, the strains TsRV, Bactiva[®], Fithan[®] and TaCh caused the greatest inhibition with 88,1 inhibitions; 76,0; 73,5 and 72,8 % of the mycelial growth of *C. gloeosporioides*, respectively, and are considered the most promising candidates for the integrated management of anthracnose in passion fruit.

Keywords: biological control, dual culture, competition, antibiosis.

Introducción

El fruto de maracuyá (*Passiflora edulis* Sims.) es apreciado por el sabor exquisito para consumo fresco y en productos procesados. Se cultiva en Brasil, Colombia e Indonesia (Cleves et al., 2009). En 2019 en México se produjeron 7332,72 t cosechadas en 657 ha. La calidad y el rendimiento puede disminuir por el ataque de *Colletotrichum gloeosporioides* que, en el epicarpio del fruto, provoca manchas necróticas claras, circulares, rodeadas de un halo clorótico y al final se tornan pardas; también causa daños severos en pos cosecha (Campo et al., 2015). El control convencional de la enfermedad se basa en la aplicación de fungicidas a base de cobre, captan, maneb (fungicidas de contacto), benzimidazoles (benomil, carbendazim, tiofanato metílico) y estrobilurinas (azoxitrobin, piraclostrobin) (sistémicos) (Siddiqui y Ali, 2014). No obstante, estos productos sintéticos provocan contaminación del medio ambiente, son peligrosos para la salud de los consumidores y afectan la inocuidad de los alimentos (Yan et al., 2018); por lo que, la tendencia actual es disminuir, complementar o sustituir el uso de agroquímicos, por otras alternativas más inocuas como el control biológico con *Trichoderma* spp., el cual es uno de los agentes biocontroladores más investigados y utilizados por la gran capacidad antagonista frente a hongos fitopatógenos (Michel-Aceves et al., 2019). Este hongo antagónico destaca por presentar rápido desarrollo, plasticidad ecológica y capacidad de producir estructuras de resistencia (Wu et al., 2022). Es excelente agente biocontrolador debido a que actúa mediante múltiples mecanismos combinados como la antibiosis, el micoparasitismo y la competencia por espacio y nutrientes (Sanmartín et al., 2012); también compite por espacio, nutrientes y produce diversos metabolitos volátiles como alcoholes, cetonas, lactonas, así como compuestos no volátiles, incluyendo micotoxinas, enzimas (celulasas, quitinasas y glucanasas) y es capaz de infectar y destruir el micelio de muchos hongos patógenos de la parte aérea de la planta y de la raíz (Stoppacher et al., 2010). A pesar de que existen fungicidas biológicos formulados con cepas de *Trichoderma* utilizadas como ingredientes bioactivos individualmente o en combinación, es necesario conocer la efectividad que éstas tienen para reducir o suprimir el crecimiento de hongos patógenos como *C. gloeosporioides*, el cual predomina en las regiones agrícolas y existe especial interés por controlar su aparición en diversas zonas agrícolas. Además, es de suma importancia evaluar los niveles de antibiosis que presentan las cepas nativas y las especies foráneas de *Trichoderma*, debido a los reportes que éstas últimas pueden presentar menor efectividad que las autóctonas para el control de enfermedades fungosas aéreas y de la raíz de los cultivos (Michel-Aceves et al., 2019).

Los objetivos de la investigación fueron confirmar el diagnóstico de la antracnosis, probar la patogenicidad del hongo aislado y determinar la efectividad de cepas nativas y comerciales para inhibir el crecimiento del micelio de *Colletotrichum gloeosporioides* aislado de frutos de maracuyá.

Materiales y métodos

La investigación se desarrolló en el laboratorio de Fitopatología del Centro de Estudios Profesionales (CEP) del Colegio Superior Agropecuario del Estado de Guerrero (CSAEGro). Se seleccionaron al azar 10 frutos infectados de maracuyá cultivado en 1 ha; se estimó la incidencia 7 % de antracnosis en 10 plantas seleccionadas al azar, en la localidad Río Verde, municipio de Chilpancingo de Los Bravo, Guerrero, México. Se obtuvieron tres aislamientos monospóricos mediante la técnica de Hauser (2006); se realizó identificación morfológica (Weir et al., 2012) y molecular (White et al., 1990) y los postulados de Koch (Agrios, 2005). Se seleccionó el aislamiento más virulento y se confrontó en cultivo dual con cepas nativas mexicanas: T1= *Trichoderma* sp. TsRV, T2= *T. asperellum* TaCh, T3= *T. asperellum* TaST), T4= *Trichoderma* sp. TsCo, T5= *Trichoderma* sp. TsCh, T6= *Trichoderma* sp. TsLF; así como contra las foráneas: T7= *T. virens* G-41, T8= *T. harzianum* T-22, T9= *Trichoderma* sp. (Bactiva®) y T10= *Trichoderma* sp. (Fithan®). Además, se utilizaron como testigo cinco repeticiones de *C. gloeosporioides* y diez de *Trichoderma* en cultivo individual. Las cepas de *Trichoderma* spp. se obtuvieron de la colección micológica en el laboratorio mencionado; se evaluaron mediante la técnica de cultivo dual (De la Cruz-Quiroz et al., 2018; Michel-Aceves et al., 2019) en diseño experimental completamente al azar con cinco repeticiones. Se utilizó como unidad experimental una placa Petri (tamaño 9.0 x 9.5 cm) con 20 mL de PDA. Las placas con las interacciones antagonista-patógeno se incubaron a temperatura ambiente (≈ 28 °C) y fotoperiodo natural (12 h luz/oscuridad) y ≈ 40 % de humedad relativa en el laboratorio. Se midieron las variables: Número de días transcurridos al primer contacto entre hifas, porcentaje de inhibición de *Trichoderma* spp. sobre el patógeno (PIP), clase de antagonismo medido con la escala de Bell et al. (1982) y porcentaje de inhibición del crecimiento micelial del fitopatógeno (PICM) calculado con la fórmula propuesta por Patil et al. (2014). Los datos de PIP y PICM se analizaron para el análisis de varianza y la separación de medias con la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$) utilizando el programa Statistical Analysis System (SAS, 2015).

Resultados y Discusión

Los aislamientos monospóricos en medio de cultivo PDA presentaron crecimiento micelial blanco algodonoso y produjeron acérvulos con masas anaranjadas de conidios en círculos concéntricos típicos de *Colletotrichum gloeosporioides*. Los conidios son hialinos, unicelulares, ovoides a cilíndricos, con extremos redondeados (Weir et al., 2012). Además, los productos de la amplificación por PCR, presentaron tamaños de 460 y 630 pares de bases y tuvieron 99 % de homología con las accesiones KX578807.1, KX578813.1, KX578809.1 y KX578806.1 de *C. gloeosporioides* existentes en el GenBank. Los aislados puros de *C. gloeosporioides* provocaron 100 % de infección a los 7 días después de la inoculación del hongo en los frutos de maracuyá. En la confrontación de *C. gloeosporioides* contra *Trichoderma* spp., se encontraron diferencias altamente significativas en todas las variables de estudio

($p < 0,0001$). En el número de días al primer contacto de hifas de estos dos hongos, se observó que *Trichoderma* sp. TsLF creció más rápido y a los 1,6 días hizo contacto con el patógeno; sin embargo, este promedio no fue significativamente diferente de 3,4; 2,8 y 2,8 días obtenidos en las cepas TaCh, T-22 y Fithan, respectivamente. También, hubo 100 % de esporulación en ocho cepas de *Trichoderma* sobre el fitopatógeno, y estos promedios fueron significativamente diferentes de 68,2 % y 31,22 % registrados en las cepas TsLF y Bactiva®. Además, se determinó que TsRV, TsCh, Fithan®, TaCh, G-41 y T-22 presentaron antagonismo nivel 1 debido a que sobrecrecieron completamente a la colonia de *C. gloeosporioides* y cubrieron toda la superficie del medio de cultivo PDA (Bell et al., 1982). Asimismo, la cepa TsRV nativa del mismo ecosistema del patógeno, tuvo la máxima inhibición, con 88,1%; sin embargo, no fue significativamente diferente de TaCh (72,8 %), Bactiva® (76,0 %) y Fithan® (73,5 %). Todas las cepas de *Trichoderma* ejercieron actividad fungistática, debido a que retrasaron el crecimiento micelial del patógeno fueron capaces de aprovechar mejor que el hongo patógeno, los nutrientes y el espacio disponible; aunado a que *Trichoderma* produce metabolitos extracelulares volátiles y otros difusibles en el PDA, incluyendo micotoxinas, enzimas hidrolíticas (quitinasas, celulasas y proteasas) que actúan interactivamente en el biocontrol del patógeno. Estos resultados son similares a los reportados en otras investigaciones, incluyendo a De los Santos-Villalobos et al. (2013) quienes reportaron que *T. asperellum* T8a inhibió 80 % a *C. gloeosporioides* en cultivo dual. Landero-Valenzuela et al. (2015) encontraron que, *T. longibranchiatum* y *T. harzianum* redujeron 55,82 y 53,26 % el crecimiento del hongo, respectivamente. Aunque, Maheshwari y Vidhya (2016) encontraron 69 % de inhibición y 55,6 % de sobrecrecimiento de *T. harzianum* sobre *Colletotrichum capsici*. Asimismo, De la Cruz-Quiroz et al. (2018) observaron que *Trichoderma harzianum*, *T. longibranchiatum*, *T. yunnanense*, *T. asperellum* (T2-10 y T2-31) y *Trichoderma* sp. presentaron excelente potencial como agentes biocontroladores de *C. gloeosporioides* (asialdo de Chile) y *Phytophthora capsici* (tomate). Asimismo, los resultados obtenidos indican que, las cepas autóctonas y foráneas de *Trichoderma* son biocontroladores promisorios del agente causal de la antracnosis en mango en Guerrero, específicamente TsRV, TaCh y *Trichoderma* spp. (Bactiva® y Fithan®), debido a que presentan menor tiempo de contacto entre hifas, antagonismo elevado y alto nivel de inhibición, por lo que fueron dominantes y sobrecrecieron la colonia de *C. gloeosporioides* y cubrieron por completo la superficie del medio de cultivo. Estos hallazgos coinciden con los encontrados en otras investigaciones donde se ha confrontado en cultivo dual a *Trichoderma* con otros hongos fitopatógenos y se ha determinado que algunas cepas nativas fueron más agresivas para competir y contrarrestar el crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* (Rodríguez-García y Wang-Wong, 2020), *Sclerotium rolfsii* (Michel et al., 2005), *F. oxysporum*, *Botrytis cinerea*, *Penicillium crustosum*, *Aspergillus nidulans* y *Alternaria alternata* (Ríos Velasco et al., 2016).

Conclusión

Las cepas nativas TsRV, TaCh y *Trichoderma* spp. (Bactiva® y Fithan®), presentaron mayor capacidad de competencia, debido a que tuvieron crecimiento rápido, alto nivel de antagonismo, esporulación abundante y efectividad para inhibir el crecimiento del micelio del patógeno, por lo que resultan promisorias como agentes de control biológico del aislado de *C. gloeosporioides* en maracuyá. Las cepas nativas TsRV y TaCh tienen la ventaja de ser autóctonas y estar adaptadas a las condiciones ambientales de las regiones donde se siembra este cultivo.

Contribución de autores: Concepción del estudio: S.A.S., J.F.D.N., E.F.V.H., E.J.D.N., A.M-B.
Diseño del experimento: S.A.S., J.F.D.N. **Ejecución del experimento:** S.A.S., E.F.V.H., E.J.D.N.
Verificación del experimento: S.A.S. **Análisis/interpretación de datos:** J.F.D.N., E.F.V.H.
Análisis estadísticos: J.F.D.N. **Preparación del manuscrito:** S.A.S., A.M-B. **Edición y revisión del manuscrito:** S.A.S., J.F.D.N., E.F.V.H., E.J.D.N., A.M-B. **Aprobación de la versión final del manuscrito:** S.A.S., J.F.D.N., A.M-B.

Fuente de Financiamiento: Sin financiamiento externo.

Disponibilidad de datos: Los datos utilizados en esta investigación podrán ser solicitados al autor de correspondencia según pertinencia.

Referencias bibliográficas

- Agrios, G. N. (2005). *Plant Pathology* (5th ed.). Elsevier Academic Press.
- Bell, D. K., Wells, H. D. y Markham, C. R. (1982). *In vitro* antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogen. *Phytopathology*, 72, 379-382. <https://doi.org/10.1094/Phyto-72-379>
- Cleves, A., Jarma, A. de J., y Fonseca, J. (2009). Manejo integrado del cultivo de maracuyá. En D. Miranda, G. Fischer, C. Carranza, S. Magnitskiy, F. Casierra, W. Piedrahíta y Flórez, L. E. (Eds.), *Cultivo, poscosecha y comercialización de las pasifloráceas en Colombia: maracuyá, granadilla, gulupa y curuba* (pp. 97- 157). Sociedad Colombiana de Ciencias Hortícolas.
- Campo, A. R., Escobar-López, F., y Segura-Cepeda, L. (2015). Patogenicidad de cepas de *Colletotrichum gloeosporioides* aisladas en distintos órganos de la planta de maracuyá amarillo (*Pasiflora edulis* F. *flavica* O. Deg). *Fitopatología Colombiana*, 39 (2), 41-44. <https://www.researchgate.net/publication/309735681>
- De la Cruz-Quiroz, R., Roussos, S., Rodríguez-Herrera, R., Hernandez-Castillo, D., & Aguilar, C. N. (2018). Growth inhibition of *Colletotrichum gloeosporioides* and *Phytophthora capsici* by native Mexican *Trichoderma* strains. *Karbalá International Journal of Modern Science*, 4(2), 237-243. <https://doi.org/10.1016/j.kijoms.2018.03.002>
- De los Santos-Villalobos, S., Guzmán-Ortiz, D. A., Gómez, M. L., Délano-Frier, J. P., de Folter, S., Sanchez-García, P., & Peña-Cabriales, J. J. (2013). Potential use of *Trichoderma asperellum* (Samuels, Liechfeldt et Nirenberg) T8a as a biological control agent against anthracnose in mango

(*Mangifera indica* L.). *Biological Control*, 64(1), 37-44.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.biocontrol.2012.10.006>

- Hauser, J. T. (2006). *Techniques for studying bacteria and fungi*. Carolina Biological Supply Company.
https://www.fishersci.com/content/dam/fishersci/en_US/documents/programs/education/brochures-and-catalogs/brochures/carolina-biological-techniques-studying-bacteria-fungi-brochure.pdf.
- Landero-Valenzuela, N., Nieto-Angel, D., Téliz-Ortiz, D., Alatorre-Rosas, R., Ortíz-García, C.F., & Orozco-Santos, M. (2015). Biological control of anthracnose by postharvest application of *Trichoderma* spp. on maradol papaya fruit. *Biological Control*, 91, 88-93.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.biocontrol.2015.08.002>
- Maheshwari, N. U., y Vidhya, K. (2016) Antagonistic effect of *Trichoderma* species against various fruit pathogens. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 36(1), 1-9.
<http://www.globalresearchonline.net/>
- Michel, A., Reyes, A., Otero, M., Rebolledo, O., & Lezama, R. (2005). Potencial Antagónico de *Trichoderma* spp. sobre *Fusarium oxysporum* Schlechtend.:Fr. f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder y Hansen y *Sclerotium rolfsii* (Sacc.) *in vitro* e invernadero. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 23, 284-291.
- Michel-Aceves, A. C., Hernández-Morales, J., Toledo-Aguilar, R., Sabino López, J. E., & Romero-Rosales, T. (2019). Capacidad antagónica de *Trichoderma* spp. nativa contra *Phytophthora parasitica* y *Fusarium oxysporum* aislados de cultivos de Jamaica. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 42 (3), 235-241.
http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-73802019000300235&lng=es&tlng=es
- Patil, N. N., Waghmo, de M. S., Gaikwad, P. S., Gajbhiye, M. H., Gunjal, A. B., Nowan, N., & Kapadnis, B. P. (2014). Potential of *Microbispora* sp. v2 as biocontrol of southern blight of *Zea mays* L. (Baby corn) *in vitro* studies. *Indian Journal of Experimental Biology*, 52(1), 1147-1151.
- Ríos Velasco, C., Caro Cisneros, J.M., Berlanga Reyes, D.I., Ruiz Cisneros, M.F., Ornelas Paz, J.J., Salas Marina, M.Á., & Guerrero Prieto, V.M. (2016). Identificación y actividad antagónica *in vitro* de aislados de *Bacillus* spp. y *Trichoderma* spp. contra hongos fitopatógenos comunes. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 34(1), 85-99.
- Rodríguez-García, D., y Wang-Wong, A. (2020). Efectividad a nivel *in vitro* de *Trichoderma* spp. nativos e importados contra *Fusarium oxysporum*. *Agronomía Costarricense*, 44(2), 109-125.
<https://doi.org/10.15517/RAC.V44I2.43096>
- Sanmartín, N. P., López, X., Pemberthy, M. P., Granada, S. D., y Rueda, L. E. A. (2012). Análisis del modo de acción y de la capacidad antagónica de *Trichoderma asperellum* sobre *Colletotrichum gloeosporioides* y *Fusarium* sp. *Revista Tumbaga* 2(7), 29-49.
<https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4550287>
- SAS (2015). *SAS user's guide: Statistics*. Release 6.03. Ed. SAS Institute incorporation, Cary, N.C. USA.
- Siddiqui, Y., & Ali, A. (2014). *Colletotrichum gloeosporioides* (Anthracnose). In S. Bautista-Baños. (Ed.), *Postharvest decay. Control strategies*. Chapter 11 (337-371). Academic Press. Elsevier Inc.
<http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-411552-1.00011-9>
- Stoppacher, N., Kluger, B., Zeilinger, S., Krsk, R., y Schuhmacher R. (2010). Identification and profiling of volatile metabolites of the biocontrol fungus *Trichoderma atroviride* by HS-SPME-GC-MS. *Journal of Microbiological Methods*, 817-193. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mimet.2010.03.011>
- Weir, B. S., Johnston, P. R., & Damm, U. (2012). The *Colletotrichum gloeosporioides* species complex. *Studies in Mycology*, 73(1), 115-180. <https://doi.org/10.3114/sim0011>
- White, T.J., Bruns, T., Lee, S., y Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenies. In M.A. Inns, D.H. Gelfland, J.J. Sninsky, and T. J. White (eds.), *PCR Protocols* (pp. 315-322). Academic Press.

- Wu, J., Hu, S., Ye, B., Hu, X., Xiao, W., Yu, H. y Zhang, C. (2022). Diversity and Resistance to Thiophanate-Methyl of *Colletotrichum* spp. in Strawberry Nursery and the Development of Rapid Detection Using LAMP Method. *Agronomy* 12(11), 2815. <https://doi.org/10.3390/agronomy12112815>
- Yan, X., Li, H. y Su, X. (2018). Review of optical sensors for pesticides. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 103, 1–20. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.03.004>