

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO



**MANEJO DE CONSORCIOS MICROBIANOS COMO BIOCONTROL
DE LA MARCHITEZ DEL CULTIVO DE CHILE (*Capsicum annuum* L.)**

TESIS

Que presenta CÉSAR ALEJANDRO ESPINOZA AHUMADA como requisito para
obtener el grado de DOCTOR EN CIENCIAS EN PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA

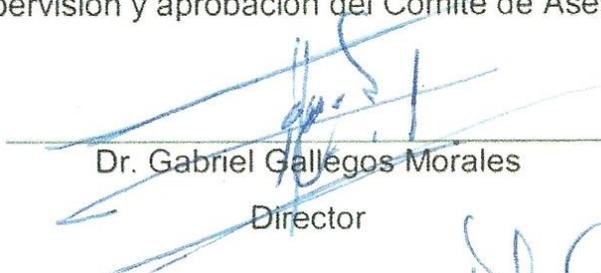
Saltillo, Coahuila, México

Marzo de 2020

**MANEJO DE CONSORCIOS MICROBIANOS COMO BIOCONTROL
DE LA MARCHITEZ DEL CULTIVO DE CHILE (*Capsicum annum* L.)**

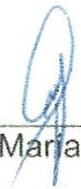
TESIS

Elaborada por CÉSAR ALEJANDRO ESPINOZA AHUMADA como requisito parcial para obtener el grado de Doctor en Ciencias en Parasitología Agrícola con la supervisión y aprobación del Comité de Asesoría



Dr. Gabriel Gallegos Morales

Director



Dra. Yisa María Ochoa Fuentes

Asesor



Dr. Francisco Daniel Hernández Castillo

Asesor



Dr. Reinaldo Méndez Aguilar

Asesor



Dr. Raúl Rodríguez Guerra

Asesor



Dr. Marcelino Cabrera De La Fuente

Subdirector de Postgrado

UAAAN

Saltillo, Coahuila, México

Marzo de 2020

AGRADECIMIENTOS

A DIOS, por darme salud, fortaleza y sabiduría para poder culminar los estudios de **DOCTORADO EN PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA**.

A la **UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO**, al **DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA** y sus **PROFESORES** por el apoyo brindado en la trayectoria del postgrado.

Agradezco ampliamente al **DR. GABRIEL GALLEGOS MORALES**, por darme la oportunidad de trabajar en esta investigación, donde se realizaron diferentes actividades que me ayudaron a desenvolverme personal y profesionalmente. Me es muy grato referirme a usted como un maestro, pero también como un amigo.

A la **DRA. YISA MARÍA OCHOA FUENTES**, por su apoyo como Jefa de Programa del Postgrado de Parasitología Agrícola, así como por su colaboración y aportaciones en el desarrollo de la investigación.

Al **DR. FRANCISCO DANIEL HERNÁNDEZ CASTILLO**, por los conocimientos impartidos en clases, además de lo aportado a esta investigación científica.

Al **DR. REINALDO MÉNDEZ AGUILAR**, por haberme recibido en estancias en el INIFAP y su colaboración en este proyecto de investigación.

Al **DR. RAÚL RODRÍGUEZ GUERRA**, por colaborar en este proyecto de investigación, además, por su disponibilidad y extenso conocimiento que aportó a mi persona y ayudó a este proyecto de investigación.

Al **DR. ERNESTO CERNA CHÁVEZ**, por su amistad, brindándome un saludo y un comentario positivo cada mañana.

DEDICATORIA

A mi esposa **ALMA LETICIA SALAS GÓMEZ**, por el amor que me expresas cada día y que te correspondo, por pasar toda una vida juntos.

A mi papa **BLAS ESPINOZA PÉREZ** y a mi mamá **MAGDALENA AHUMADA JUÁREZ**, por encomendarme a DIOS, darme su apoyo y sus sabios consejos. Le doy gracias a DIOS por darme unos padres como ustedes, ya que me criaron para la vida y me enseñaron a hacer frente a los retos que se me han presentado, lo anterior, me ha dado fortaleza y convicción de hacer las cosas.

A mis hermanos **SERGIO, BLAS** y **BENJAMÍN**, ya que hemos vivido muchos momentos que quedan para ser recordados en nuestras reuniones y estar unidos siempre.

A mi hijo **CÉSAR ALEJANDRO ESPINOZA AVELINO**, por ser parte de mi fortaleza para continuar y ser un buen ejemplo a seguir para ti.

A mis compañeros y amigos **LIZETH ALMENDRA, FRANCISCO RODRÍGUEZ, FRANCISCO MONZON, RENATO VILLEGAS, OMAR JIMÉNEZ, ANCELMO HERNÁNDEZ**, entre otros.

Texcoco, Estado de México, 08 de agosto de 2019

Dr. César Alejandro Espinoza Ahumada
Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro
Presente.

Por medio de la presente se hace constar que el manuscrito titulado: “**Antagonistas microbianos para biocontrol de la marchitez y su efecto promotor en el rendimiento de chile serrano**” del cual son autores (as): **Gabriel Gallegos Morales, César Alejandro Espinoza Ahumada, Yisa María Ochoa Fuentes, Francisco Daniel Hernández Castillo, Reinaldo Méndez Aguilar y Raúl Rodríguez Guerra**, fue aceptado para ser publicado en el Volumen Especial Número 23 en la Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas.

Sin otro particular, le envío un cordial saludo.

Atentamente



DRA. DORA MA. SANGERMAN-JARQUÍN
EDITORA EN JEFA DE LA REVISTA
MEXICANA DE CIENCIAS AGRÍCOLAS

c.c.p. * Archivo
DMSJ/igap

Carretera Los Reyes- Texcoco, km 13.5. Coatlinchán, Texcoco, Estado de México, México. C. P. 56250
E-mail: revista_atm@yahoo.com.mx. Tel. 55-38-71-87-00 - Ext. 85353

Tropical and Subtropical Agroecosystems

[Servicio de ayuda de la revista](#)

IDIOMA

Escoge idioma

Español (España)

TAMAÑO DE FUENTE

OPEN JOURNAL SYSTEMS

INFORMACIÓN

- [Para lectores/as](#)
- [Para autores/as](#)
- [Para bibliotecarios/as](#)

INICIO ACERCA DE ÁREA PERSONAL BUSCAR ACTUAL ARCHIVOS AVISOS

Inicio > Usuario/a > Autor/a > Envíos > #3098 > Resumen

#3098 Resumen

RESUMEN REVISIÓN EDICIÓN

Envío

Autores/as César Alejandro Espinoza Ahumada, Gabriel Gallegos Morales, Yisa María Ochoa Fuentes, Francisco Daniel Hernández Castillo, Reinaldo Méndez Aguilar, Raúl Rodríguez Guerra

Título COMPATIBILIDAD DE ESPECIES DE Trichoderma PARA BIOCONTROL DE MARCHITEZ Y AUMENTO DE LA PRODUCCIÓN DEL CHILE (Capsicum annuum L.)

Archivo original [3098-13026-3-SM.DOCX](#) 2019-11-21

Archivos comp. [3098-13027-1-SP.DOCX](#) 2019-11-21 [AÑADIR UN ARCHIVO COMPLEMENTARIO](#)

Emisor/a Hola César César Alejandro Espinoza Ahumada 

Fecha de envío November 21, 2019 - 03:33 PM

Sección Artículos de Investigación

Editor/a Ninguno asignado/a

Comentarios del autor/a Buenas tardes, es grato comunicarnos con usted por este medio, estamos muy complacidos de enviar el presente trabajo en su modalidad de artículo científico "COMPATIBILIDAD DE ESPECIES DE Trichoderma PARA BIOCONTROL DE MARCHITEZ Y AUMENTO DE LA PRODUCCIÓN DEL CHILE (Capsicum annuum L.)", esperamos la resolución de este trabajo, ya que nos sería muy grato se considerara para su publicación. Nos despedimos esperando estar en contacto, reciba nuestros saludos.

Estado

Estado Asignación en espera

Iniciado 2019-11-21

Modificado por última vez 2019-11-21

Metadatos del envío

[EDITAR METADATOS](#)

Autores/as

Nombre César Alejandro Espinoza Ahumada 

URL <http://orcid.org/0000-0002-6846-2581>

Institución Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro

País México

Resumen biográfico Departamento de Parasitología Doctorado

Nombre Gabriel Gallegos Morales 

ORCID iD <http://orcid.org/0000-0001-9041-6904>

Institución Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro

País México

Resumen biográfico Departamento de Parasitología Profesor Investigador

Contacto principal para la correspondencia editorial.

Nombre Yisa María Ochoa Fuentes 

ORCID iD <http://orcid.org/0000-0001-7859-8434>

Institución Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro

País México

Resumen biográfico Departamento de Parasitología Profesor Investigador

Nombre Francisco Daniel Hernández Castillo 

ORCID iD <http://orcid.org/0000-0002-1096-0959>

Institución Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro

País México

Resumen biográfico Departamento de Parasitología Profesor Investigador

Nombre Reinaldo Méndez Aguilar 

ORCID iD <http://orcid.org/0000-0003-2797-5767>

Institución INIFAP, Campo Experimental Las Huastecas

País México

Resumen biográfico Programa de Horticultura Investigador

Nombre Raúl Rodríguez Guerra 

ORCID iD <http://orcid.org/0000-0001-6767-0736>

Institución INIFAP, Campo Experimental General Teran, NL

País México

Resumen biográfico Programa de Fitopatología Investigador

Título y resumen

Título COMPATIBILIDAD DE ESPECIES DE Trichoderma PARA BIOCONTROL DE MARCHITEZ Y AUMENTO DE LA PRODUCCIÓN DEL CHILE (Capsicum annuum L.)

Resumen La marchitez del chile en México es una de las principales enfermedades de este cultivo, el manejo de la enfermedad se basa en el control químico, teniendo un efecto negativo en el medio ambiente y generándose resistencia en las moléculas activas de estos fungicidas. Una alternativa es utilizar Trichoderma en los agroecosistemas, ya que este hongo tiene un efecto benéfico y biofungicida en las plantas cultivadas. Se planteó determinar la compatibilidad de cuatro especies de Trichoderma y su efecto en el rendimiento y biocontrol de la marchitez en el cultivo del chile. Se realizaron pruebas de compatibilidad de Trichoderma asperellum (TA), T. harzianum (THZ), T. lignorum (TL) y T. yunnanense (TY) en laboratorio y en condiciones de campo donde se evaluaron los microorganismos solos y en combinación. Se encontró que las cepas TA-TL, TA-THZ y TA-TL-THZ fueron compatibles y expresaron aumento en el rendimiento por planta hasta del 86 %, número de frutos en 79 %, además, disminuyó la incidencia y severidad de la enfermedad en 71 y 59 %, respectivamente. La cepa de T. lignorum expresó la actividad de Ácido Indol Acético, además, en todas las combinaciones que expresaron aumento en producción y control de la enfermedad.

Indexación

Palabras clave Compatibilidad, Trichoderma, marchitez del chile, biocontrol

Idioma es

Organismos colaboradores

Organismos CONACYT

USUARIO/A

Ha iniciado sesión como...

caea1984

- [Mis revistas](#)
- [Mi perfil](#)
- [Cerrar sesión](#)

AUTOR/A

Envíos

- [Activo/a \(1\)](#)
- [Archivar \(0\)](#)
- [Nuevo envío](#)

CONTENIDO DE LA REVISTA

Buscar

Ámbito de la búsqueda

Todo

Examinar

- [Por número](#)
- [Por autor/a](#)
- [Por título](#)
- [Otras revistas](#)

0.29 ²⁰¹⁸
CiteScore

19th percentile
Powered by **Scopus**

PALABRAS CLAVE

Crecimiento Zea mays
cábras cambio climático
composición química
consumo crecimiento
degradación digestibilidad
factores antinutricionales
forraje maíz ovejas OVINOS
pasto prevalencia
productividad rendimiento
rumiantes sustentabilidad uso
del suelo

RESUMEN

MANEJO DE CONSORCIOS MICROBIANOS COMO BIOCONTROL
DE LA MARCHITEZ DEL CULTIVO DE CHILE (*Capsicum annuum* L.)

POR

CÉSAR ALEJANDRO ESPINOZA AHUMADA

DOCTORADO EN CIENCIAS
EN PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DR. GABRIEL GALLEGOS MORALES – DIRECTOR-

Saltillo, Coahuila, México

Marzo de 2020

RESUMEN

El cultivo del chile es severamente afectado por la marchitez, reportándose el 80 % de pérdidas en la producción, asociadas a los fitopatógenos *Fusarium oxysporum*, *Phytophthora capsici*, *Pythium* sp. y *Rhizoctonia solani*. El uso de microorganismos con efecto de biocontrol es de gran valor para el manejo de la enfermedad. Una alternativa factible es el uso de consorcios microbianos que interactúan en la rizosfera para establecer el equilibrio del agroecosistema y un mayor control de la enfermedad. Se planteó identificar los agentes asociados a la marchitez del chile y evaluar la actividad antifúngica de consorcios microbianos para su manejo integrado. En condiciones de laboratorio se realizaron pruebas de compatibilidad de *Trichoderma asperellum* (TA), *T. harzianum* (THZ), *T. lignorum* (TL) y *T. yunnanense* (TY) y en campo se evaluaron los microorganismos solos y en combinación. Se identificó a *F. oxysporum* y *R. solani* como agentes causales y se estableció una parcela experimental de 800 m², donde se aplicó diferentes especies de *Trichoderma*, *Bacillus*, Mezcla de Fermento Propagativo Microbiano, Tiabendazol y Testigo absoluto. Se encontró que las cepas TA-TL, TA-THZ y TA-TL-THZ fueron compatibles y expresaron aumento en el rendimiento por planta hasta del 86 %, número de frutos en 79 %, disminuyendo la incidencia y severidad de la enfermedad en 71 y 59 % respecto al testigo, respectivamente. Además, la combinación de especies de *Trichoderma* y Fermento Propagativo mostraron bajos porcentajes de incidencia y severidad, altos rendimientos con *Trichoderma* en los genotipos de chile HS- 52 y Coloso (15.67 y 13.89 ton/ha). Existe compatibilidad entre especies de *Trichoderma*, además aumentan la producción y disminuyen la incidencia y severidad de la enfermedad, del mismo modo se encontró una respuesta favorable en el Fermento Propagativo.

ABSTRACT

MANAGEMENT OF MICROBIAL CONSORTS AS BIOCONTROL
OF THE MARCHITEZ OF THE CHILE CROP (*Capsicum annuum* L.)

BY

CÉSAR ALEJANDRO ESPINOZA AHUMADA

DOCTOR IN SCIENCES

AGRICULTURAL PARASITOLOGY

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DR. GABRIEL GALLEGOS MORALES

Saltillo, Coahuila, México

March 2020

ABSTRACT

Chili cultivation is severely affected by wilt, reporting 80% of production losses associated with the phytopathogens *Fusarium oxysporum*, *Phytophthora capsici*, *Pythium* sp. and *Rhizoctonia solani*. The use of microorganisms with biocontrol effect is of great value for the management of the disease. A feasible alternative is the use of microbial consortia that interact in the rhizosphere to establish the balance of the agroecosystem and greater control of the disease. It was proposed to identify the agents associated with the wilt of the chili and to evaluate the antifungal activity of microbial consortia for their integrated management. Compatibility tests of *Trichoderma asperellum* (TA), *T. harzianum* (THZ), *T. lignorum* (TL) and *T. yunnanense* (TY) were carried out under laboratory conditions and the microorganisms alone and in combination were evaluated in the field. *F. oxysporum* and *R. solani* were identified as causal agents and an experimental plot of 800 m² was established, where different species of *Trichoderma*, *Bacillus*, Microbial Propagative Ferment Mix, Tiabendazole and absolute witness were applied. Strains TA-TL, TA-THZ and TA-TL-THZ were found to be compatible and expressed an increase in yield per plant of up to 86%, number of fruits by 79%, decreasing the incidence and severity of the disease by 71 and 59% with respect to the witness, respectively. Furthermore, the combination of *Trichoderma* and Propagative Ferment species showed low incidence and severity percentages, high yields with *Trichoderma* in the HS-52 and Coloso chili genotypes (15.67 and 13.89 ton / ha). There is compatibility between *Trichoderma* species, in addition to increasing production and decreasing the incidence and severity of the disease, a favorable response was also found in the Propagative Ferment.

INTRODUCCIÓN

El cultivo del chile es de gran importancia a nivel mundial, se reporta una producción de 58.85 millones de ton (MMt), donde los principales países productores son China (17.82 MMt), China Continental (17.80 MMt), México (3.30 MMt), Turquía (2.61 MMt) e Indonesia (2.36 MMt), que en conjunto contribuyen con el 74.58 % de la producción mundial de chile (FAOSTAT, 2017). En particular, el 75 % de la producción de México se concentra en los estados de Sinaloa (8.59 miles de toneladas (Mt)), Chihuahua (6.76 Mt), Zacatecas (4.24 Mt), San Luis Potosí (3.27 Mt) y Sonora (2.46 Mt). El rendimiento promedio nacional es de 21.55 ton/ha. Los más altos rendimientos en producción se obtienen en Sonora (48.22), Sinaloa (48.19), Querétaro (47.72), Tamaulipas (43.45) y Baja California Sur (41.78) (SIAP, 2018).

Una de las principales enfermedades del cultivo es la marchitez, a nivel nacional, esta enfermedad ha provocado pérdidas del 80 % en la producción, reportándose estos daños en la región de Tlacotepec de José Manzo, Puebla, en el norte del estado de Aguascalientes, la región de Vega de Metztlán, Hidalgo, en la región Centro Sur del estado de Chihuahua, por mencionar algunos. En el estado de Tamaulipas existe escasa información de la situación actual de la enfermedad en las zonas productoras de chile, en este contexto, Espinoza *et al.*, (2018) realizaron muestreos dirigidos a plantas de chile con síntomas de marchitez en los municipios de Altamira y González, donde aislaron e identificaron a los hongos *Fusarium oxysporum* y *F. solani*, los cuales, fueron agentes causales de la enfermedad al provocar la muerte de plántulas de chile.

Para el manejo de la enfermedad se recomienda evitar los excesos de humedad, realizar siembras y plantaciones en bordos elevados, aplicar en forma preventiva biofungicidas con ingrediente activo de *Bacillus subtilis*, además, el control químico al realizar aplicaciones al drench de Propamocarb y Carbendazim (Ramírez *et al.*, 2015). Por su parte, Manure *et al.*, (1995) demostraron que la enfermedad se controla con la solarización del suelo con plástico transparente combinado con el uso de fungicidas y la incorporación de materia orgánica.

El uso de microorganismos con efecto de biocontrol a los agentes causales de la marchitez del chile es de gran valor para el manejo de la enfermedad, sin embargo, los trabajos de investigación se orientan al uso de agentes microbianos por separado. Una alternativa factible es usar consorcios microbianos, estos son asociaciones de dos o más poblaciones microbianas de diferentes especies, que interactúan en conjunto dentro de una comunidad que coexisten cercanamente (López *et al.*, 2007). Los consorcios microbianos, como organizaciones son vitales para el equilibrio del agroecosistema, estas asociaciones microbianas han demostrado ser sostenibles, estables y eficientes (Carreño y Restrepo, 2010). Ramos *et al.*, (2010) demostraron que los ascomicetos *Xylaria poitei* y otro referido como ascomiceto desconocido (AD) contra *P. capsici*, causante de la marchitez del chile, protege a las plántulas de chile y ayuda en la sobrevivencia. Por lo anterior, se planteó identificar los agentes asociados a la marchitez del chile y evaluar la actividad antifúngica de consorcios microbianos para el manejo de la enfermedad.

REVISIÓN DE LITERATURA

Importancia del cultivo del chile

Los frutos del chile se consumen tanto en fresco como seco para proporcionar color, sabor y aroma a infinidad de platillos, lo que lo sitúa entre los principales cultivos agrícolas de importancia en el mundo. Esta planta cultivada es muy apreciada, teniendo un grado simbólico que se le reconoce en el sureste asiático (por considerarse el área donde se cultivan tipos de chile picantes a muy picantes), la cocina húngara por la pprika, una variante de chile, y España al ser reconocido por las denominaciones de origen “Pimentón de la Vera” (Cáceres, España) y “Pimentón de Murcia” (Murcia, España). También es reconocido por sus propiedades medicinales, su alto contenido en vitamina C y la presencia de capsicinas como sustancias responsables del sabor picante del chile (Rincon *et al.*, 2010).

La mayor diversidad de *Capsicum annuum* se encuentra en México, donde se cultiva prácticamente en todo el territorio nacional (Aguilar, 2012). En la época prehispánica, los mexicanos tenían una dieta balanceada a base de maíz, frijol y chile. Después de la conquista, las salsas se enriquecieron con la cebolla, ajo y cilantro, y se incorporaron los moles y adobos a base de los diferentes chiles mexicanos y productos como la carne de res y de puerco, que en la actualidad ofrece una gastronomía muy rica en México (Román *et al.*, 2013).

El cultivo del chile, al poseer un gran valor en la gastronomía y propiedades medicinales, se produce a nivel mundial. Para el año 2017, la producción fue de 58.85 MMt, donde los principales países productores fueron China (17.82 MMt), China Continental (17.80 MMt), México (3.30 MMt), Turquía (2.61 MMt), Indonesia (2.36 MMt), India (2.10 MMt), España (1.28 MMt), Estados Unidos de América (9.63 miles de ton(Mt)), Nigeria (7.49 Mt) y Egipto (6.23 Mt). Los países antes mencionados contribuyen con el 84 % de la producción mundial de chile (FAOSTAT, 2017).

En particular, México ocupa el tercer lugar en producción mundial, los principales estados productores de chile son Sinaloa con 8.59 Mt, Chihuahua 6.76 Mt, Zacatecas

4.24 Mt, San Luis Potosí 3.27 Mt y Sonora 2.46 Mt, los cuales contribuyen con el 75 % de la producción nacional. El rendimiento promedio nacional es de 21.55 ton/ha, altos rendimientos, producción en ton/ha, se obtienen en Sonora (48.22), Sinaloa (48.19), Querétaro (47.72), Tamaulipas (43.45) y Baja California Sur (41.78) (SIAP, 2018).

Principales enfermedades del chile

Este cultivo es afectado principalmente por fitopatógenos de diferentes especies de hongos, bacterias, nematodos y virus, los cuales pueden afectar en la fase de almácigo, a lo largo del proceso de producción y frecuentemente después de la cosecha. Estos microorganismos provocan la reducción en la población de plantas, abaten su potencial productivo y afectan negativamente la calidad y cantidad de chiles. La incidencia y severidad de las infecciones por estos patógenos varía de año a año y de parcela a parcela, haciendo necesario mantener el monitoreo del cultivo para establecer el manejo de las enfermedades detectadas.

Al inicio del cultivo, en su etapa de almacigo, la principal enfermedad es el damping off causada por los fitopatógenos *Pythium* sp., *Fusarium* spp. y *Rhizoctonia* spp. La semilla de chile es considerada como el principal vehículo de diseminación de hongos, sin embargo, la movilización de plántulas infectadas y sustrato contaminado contribuyen a que se presente la enfermedad (Arcos, 2017).

La marchitez por pudrición de la raíz es la enfermedad más importante del cultivo de chile en México. La enfermedad provoca síntomas de marchitez, clorosis, defoliación, pérdida de estructuras reproductivas y necrosis de raíces, entre otros. La enfermedad es causada por uno o la combinación de los fitopatógenos *Phytophthora* spp., *Fusarium* spp., *Rhizoctonia* spp., *Pythium* spp. y *Verticillium* spp.

Marchitez del chile en México

La marchitez del chile ha causado pérdidas de hasta el 80% del cultivo en México. El primer estudio de la enfermedad en la región de Tlacotepec de José Manzo, el Verde,

Puebla, demostró que los fitopatógenos asociados a la enfermedad son *F. oxysporum*, *P. capsici*, *Pythium* sp., *R. solani* y *Sclerotium rolfsii*. Para su control los agricultores utilizan fungicidas químicos, demostrándose en esta investigación que son eficaces en condiciones *in vitro* (González *et al.*, 2004). En el norte del estado de Aguascalientes se atribuye que *P. capsici* es el principal agente causal de la enfermedad, sin embargo, no es totalmente concluyente, ya que se reporta la presencia de *Fusarium* spp. y *Rhizoctonia* spp., los cuales pueden ser responsables de la marchitez del resto de las plantas enfermas. También se encuentran los fitopatógenos *Verticillium* sp., *Pythium* sp. y *Rhizopus* sp., los cuales son potenciales agentes causales de la enfermedad (Zapata *et al.*, 2012). Por su parte, bajo las condiciones de la región de Vega de Metztlán, Hidalgo, se reportan grandes pérdidas en el rendimiento del cultivo del chile por la marchitez y muerte de plantas. Bajo las condiciones de esta región, se aislaron de plantas con síntomas de la enfermedad a los fitopatógenos *F. oxysporum*, *R. solani* y *P. capsici*, sin embargo, solamente *P. capsici* produjo los síntomas de la enfermedad. Ellos reportan un control total de la enfermedad, al realizar aplicaciones recurrentes de metalaxil, fosetil aluminio o propamocarb, además, un mejor efecto realizando alternancia de metalaxil con fosetil aluminio o propamocarb (Lozano *et al.*, 2015). El oomyceto *P. capsici* causa pudrición de raíz y marchitez del chile jalapeño en la región Centro Sur del estado de Chihuahua. En la década del año 2000, al utilizar aun el riego rodado en esta región, se estudió la dispersión, espacio–tiempo, de *P. capsici* en cultivos de chile con riego rodado, se encontró que el patógeno es el primer foco de infección, dispersándose hasta diez plantas (4.5 m) de manera continua en la dirección del riego rodado y hasta cuatro plantas contiguas (2 m) a través del surco en dirección del encharcamiento. El fitopatógeno se dispersa de plantas enfermas a plantas sanas por zoosporangios que liberan zoosporas que se diseminan por el movimiento superficial del agua, ya sea por el arrastre o por encharcamiento (Silva *et al.*, 2009).

Marchitez del chile en Tamaulipas

Existe escasa información de la situación actual de la enfermedad en las zonas productoras de chile de Tamaulipas. Espinoza *et al.*, (2018) realizaron muestreos

dirigidos a plantas de chile con síntomas de marchitez en los municipios de Altamira y González, Tamaulipas, donde aislaron e identificaron a los hongos *F. oxysporum*, *F. solani* y *R. solani*, los cuales, fueron agentes causales de la enfermedad al provocar la muerte de plántulas de chile. Ramírez *et al.*, 2015 hacen reconocen que la marchitez del chile está asociada al omiceto *P. capsici* y el ahogamiento o secadera por el complejo *Pythium* spp., *F. oxysporum*, *R. solani* y *P. capsici*. Las recomendaciones para el manejo de la enfermedad son evitar los excesos de humedad, realizar siembras y plantaciones en bordos elevados, aplicar en forma preventiva biofungicidas con ingrediente activo *Bacillus subtilis*, además, el control químico al realizar aplicaciones de Propamocarb y Carbendazim al drench a la base de la planta.

Manejo de la marchitez del chile

La correcta preparación del terreno ayuda en el control de la marchitez del chile, es fundamental que el terreno esté libre de malezas y sin terrones que dificulten las labores de cultivo y el control de la enfermedad. Generalmente se recomienda realizar las labores de barbecho, rastreo, nivelación y surcado con suficiente anticipación. La correcta preparación del terreno facilitará la aireación, contribuye en la incorporación de materia orgánica que favorece al incremento de microorganismos benéficos en la rizosfera de las plantas de chile y disminuye el inoculo al exponer a los rayos del sol a los hongos fitopatógenos asociados a la marchitez del chile. Posteriormente, se realiza el rastreo, con lo que se logra romper los terrones y dejar el suelo mullido; en el manejo de la marchitez esta actividad ayuda en la correcta distribución de fumigantes en el suelo haciendo una actividad eficiente al bajar la cantidad de inoculo. La nivelación del terreno es para eliminar montículos y depresiones del terreno, evitando con esta actividad los encharcamientos del agua de lluvia o de riego rodado. Por último, se realiza el surcado en camas de 1.5 a 1.8 m y una altura de 0.6 m, que ayudara a mantener a las plantas separadas del fondo del surco donde se incrementa el inoculo de la enfermedad. Las labores culturales, antes mencionadas, son la primera herramienta a considerar y es de alto valor para disminuir la incidencia y severidad de la enfermedad (González *et al.*, 2009).

El control genético es una medida promisorio para el manejo de la marchitez del chile, en este contexto, se ha documentado la resistencia del chile serrano criollo de Morelos a *P. capsici*, además, se reporta la resistencia en las accesiones BG102 y BG107. Todos estos materiales son nativos del estado de Morelos, las cuales se pueden utilizar en los programas de mejoramiento genético, para incorporar resistencia a la marchitez en los diferentes tipos de chile comerciales, principalmente contra *P. capsici* (Anaya *et al.*, 2011), sin embargo, no existe resistencia absoluta de esta enfermedad. Manure *et al.*, (1995), demostraron que la solarización del suelo con plástico transparente, sólo o combinado con el uso de fungicidas y la incorporación de materia orgánica se tiene el mayor control de la enfermedad. Sin embargo, el manejo de la enfermedad debe incorporar el uso de fungicidas con actividad sistémica, variedades resistentes y prácticas culturales.

Agentes microbianos para el biocontrol de la Marchitez del chile

Los microorganismos de la rizosfera tienen un efecto de biocontrol de la marchitez del chile, donde, los agentes causales de la enfermedad son antagonizados por ellos. Es un hecho que se ha expandido la marchitez del chile a nuevas plantaciones y zonas productoras de chile en México, donde es difícil su control, haciendo factible realizar un manejo integrado de la enfermedad. Para lo cual, se ha evaluado la capacidad antagónica de *Bacillus thuringiensis* sobre *R. solani*, *P. capsici* y *F. oxysporum*, los principales agentes causales de la enfermedad, donde se encontró que 16 cepas *B. thuringiensis* redujeron significativamente el crecimiento radial micelial de *R. solani*, 19 para *P. capsici* y ocho para *F. oxysporum*. Por otra parte, las mejores cepas bacterianas evaluadas incrementan el porcentaje de germinación de semillas de chile (Mojica *et al.*, 2009). Una cepa de *Bacillus velezensis* de la rizosfera de *Sporobolus airoides*, un pasto del centro-norte de México, fue aislado y mostró biocontrol a los aislados virulentos de los fitopatógenos *P. capsici*, *F. solani*, *F. oxysporum* y *R. solani*. Además, la bacteria es un productor de ácido indolacético e indujo la expresión de PR1, que es un gen relacionado con la resistencia sistémica inducida en plántulas de chile (Martínez *et al.*, 2017). De igual forma, Hernández *et al.*, (2014) demostraron que

tres cepas bacterianas rizosféricas del género *Bacillus* inhibieron significativamente la actividad infectiva de los hongos fitopatógenos *P. capsici*, *R. solani* y *F. oxysporum*, además, de estimular el crecimiento vegetativo, peso de raíz y frutos, y rendimiento total de plantas de Chile. Por su parte, los hongos *Trichoderma viride*, *T. harzianum* y *T. asperellum* tienen una alta actividad antagonista contra esos fitopatógenos obtenidos de raíces de plantas de Chile con síntomas de la marchitez. Sus altos potenciales inhibitorios los hacen factibles para evaluarlos en condiciones de invernadero y a campo abierto, y su posterior uso en la agricultura comercial (Hoyos *et al.*, 2019). Por otro lado, los actinomicetos del género *Streptomyces* son considerados como habitantes del suelo, que pueden ejercer diferentes actividades biológicas benéficas para los cultivos, como fijar el nitrógeno atmosférico, haciéndolos promisorios para ser incorporados en los bioformulados como agentes de biofertilización (Condori *et al.*, 2019). También producen metabolitos secundarios con actividad antagonista a los fitopatógenos *Alternaria* sp., *Rhizoctonia* sp., *Fusarium* sp. y *Colletotrichum* sp. (Medina *et al.*, 2013).

Consortios microbianos para el biocontrol de la Marchitez del Chile

El Consorcio Microbiano se refiere a la asociación natural de dos o más poblaciones microbianas de diferentes especies, que interactúan en conjunto dentro de una comunidad formando un sistema complejo, sus miembros mantienen la compatibilidad metabólica y ecológica, permitiendo que ellos coexistan cercanamente, aun cuando existan transformaciones ambientales (López *et al.*, 2007). Los consorcios microbianos, como organizaciones son vitales para el equilibrio del agroecosistema, estas asociaciones microbiológicas han demostrado ser sostenibles, estables y eficientes (Carreño y Restrepo, 2010). Los consorcios microbianos basados en cepas promotoras del crecimiento se han estudiado, particularmente en condiciones ambientales difíciles y para la restauración de comunidades microbianas beneficiosas en ambientes de suelo perturbados. Se ha demostrado el crecimiento de raíces y brotes al mejorar la adquisición de macronutrientes, lo anterior, se asocia a la expresión aumentada del gen AuxIAA5 del tejido de la raíz (Bradáčová *et al.*, 2019). Hernández *et*

al., (2016) identificaron cianobacterias filamentosas fijadoras de nitrógeno y proteobacterias que conforman un consorcio microbiano, destacando que existen interacción entre ellas y un intercambio de metabolitos entre todos los organismos dentro de la comunidad, lo que les permite sobrevivir en diferentes ambientes. La compatibilidad entre microorganismos fue estudiada por Ramos *et al.*, (2010), ellos demostraron que los ascomicetos *Xylaria poitei* y otro referido como ascomiceto desconocido (AD) contra *P. capsici*, causante de la marchitez del chile, protege a las plántulas de chile y ayuda en la sobrevivencia de plántulas. De igual forma, la confrontación triple de ambos ascomicetos incrementa la inhibición a los 12 días de establecida la confrontación contra *P. capsici*. Lo anterior, demuestra que existe sinergismo al combinar los dos ascomicetos contra *P. capsici* al tener una actividad antagónica superior, que cuando se hacen confrontaciones duales de cada ascomiceto por separado frente al fitopatógeno. Espinoza *et al.*, (2019) encontraron que la mezcla de diferentes especies de *Trichoderma* y un fermento propagativo, a partir de metabolitos de *Trichoderma* spp. y *Bacillus* spp., disminuyen la incidencia y severidad de la marchitez del chile ocasionada por hongos *F. oxysporum* y *R. solani*, además, incrementan el rendimiento en híbridos de chile serrano.

En este contexto, Srivastava *et al.*, (2010) evaluaron la efectividad biológica de los microorganismos benéficos *Pseudomonas* sp., *T. harzianum* y *Glomus intraradices* (un hongo micorrízico arbuscular AMF), en la marchitez del tomate, la cual es provocada por *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Los bioagentes utilizados redujeron significativamente la incidencia de marchitez y al combinar *Pseudomonas* sp., *T. harzianum* y *G. intraradices*, resultó ser más efectivo que al aplicar cada microorganismo por separado, además, aumentaron el rendimiento hasta en un 20%.

Micoparasitismo por *Trichoderma*

El hongo *Trichoderma* tiene actividad micoparasítica, para que este microorganismo empiece a parasitar a su huésped se expresan cambios morfológicos, para dar paso al enrollamiento y formación de estructuras parecidas a apresorios, con forma de bulbo o gancho, que se adhieren a la pared del huésped y penetran, y al crecer dentro del

anfitrión este se encoge, colapsa y finalmente se desintegra (Chet *et al.*, 1981). La interacción micoparasitaria empieza con la detección del hongo presa, seguido de la atracción, adhesión, enrollamiento y lisis por enzimas hidrolíticas, donde interfieren metabolitos secundarios (Mukerjee *et al.*, 2012). La proteína Epl-1 de *T. harzianum* induce defensas locales y sistémicas en las plantas y desempeña un papel esencial en el proceso de micoparasitismo, se demostró esta actividad al confrontarlo con hongos los fitopatógenos *Sclerotinia sclerotiorum*, *R. solani* y *F. solani*, donde Epl- 1 interactúa en el reconocimiento, regulación de la expresión génica y modulación del enrollamiento de hifas relacionadas en el micoparasitismo, además de regular la inducción de genes relacionados con la defensa de la planta (Gomes *et al.*, 2015). Por otra parte, Atanasova *et al.*, (2013), demostraron que existen diferencias en las respuestas transcripcionales en el proceso de micoparasitismo de *R. solani* ejercida por los controladores biológicos *T. atroviride*, *T. virens*, estas respuestas transcriptómicas se observaron aún antes del contacto físico con el fitopatógeno. Para *T. atroviride* se expresaron genes implicados en la producción de metabolitos secundarios, glucanasas GH16, varias proteasas y pequeñas proteínas ricas en cisteína. Por su parte, *T. virens* expresó genes para la biosíntesis de gliotoxinas, sus respectivos precursores y también el glutatión. Elamathi *et al.*, (2018) encontraron que las enzimas que degradan la pared celular producidas por *T. harzianum* tienen un gran potencial en el micoparasitismo y se relacionan a genes que codifican para quitinasa (chit33), endocitinasa (endo42), β -1, 3-glucanasa (glu), exochitinasa 1 (exc1) y exochitinasa 2 (exc2), estos genes se reportan en una expresión a la alza durante y después del contacto; en el contacto se mostraron a la alza los genes relacionados con proteasas como la proteinasa alcalina (prb1), proteasa de tipo tripsina (Pra1) y serina proteasa de tipo subtilina (ssp). En la interacción *Trichoderma* y *F. solani* se ha investigado genes que codifican enzimas de degradación de la pared celular que están involucradas en el micoparasitismo. Se informa que el gen gluc31, que codifica una β -1,3-glucanasa, en *T. harzianum* regulado positivamente durante las últimas etapas de la interacción entre *Trichoderma* y el fitopatógeno, lo que lleva a una función dinámica en la pared celular en el micoparasitismo de *Trichoderma* spp. (Suriani *et al.*, 2019).

Metabolitos secundarios producidos por agentes microbianos

Los microorganismos producen metabolitos secundarios que juegan un papel importante en las actividades antagónicas de fitopatógenos, con un alto valor en el biocontrol de enfermedades de las plantas y aumento en el rendimiento de los cultivos. Los agentes microbianos, para ejercer antibiosis produce enzimas extracelulares y metabolitos secundarios (Vinale *et al.*, 2008). En particular, *Trichoderma* spp. produce tres grandes compuestos que pueden tener actividad antagonista al inhibir e interferir en el desarrollo de fitopatógenos, los cuales son peptaiboles, policétidos y terpenos. Los peptaiboles son compuestos de alto peso molecular que actúan directamente en la interacción con otros microorganismos, por su parte, los policétidos y terpenos son compuestos volátiles de bajo peso molecular que pueden actuar a ciertas distancias inhibiendo a fitopatógenos y mejorando el desarrollo de las plantas (Cardoza *et al.*, 2005). Entre los metabolitos secundarios que produce *Trichoderma* se han identificado compuestos del tipo de las alquil-pironas (6-a-pentil-pirona), isonitrilos (isonitrina), poliquétidos (harzianolida), peptaiboles (trichodermina, atroviridina, alameticina, suzucacilina y trichozianina), dicetopiperacinas (gliovirina y gliotoxina), sesquiterpenos (ácido heptelídico) y esteroides (viridina). Estos metabolitos secundarios también pueden relacionarse con la expresión de genes relacionadas en la defensa de las plantas a través de las vías de señalización de ácido salicílico, jasmonato y etileno (Cai *et al.*, 2013; Martínez *et al.*, 2013). Recientemente, Vinale *et al.*, (2008) caracterizaron un grupo de metabolitos secundarios (azapilona, butenolide, 6-pentil-á-pirona, 1-hidroxi-3-metil-antraquinona, 1,8-dihidroxi-3-metil-antraquinona, koninginina, ácido heptelídico, trichoviridina, ácido harziánico, gliotoxina, gliovirina, viridina, viridiol) obtenidos de la interacción entre *R. solani* y dos cepas comerciales de *T. harzianum*.

Entre los compuestos producidos por *Bacillus* sp., se incluyen la surfactina, fengicina, iturina A, B, y C, micosubtilinas y bacilomicinas, y biosurfactantes activos de membrana con potentes actividades antimicrobianas (Muaaz *et al.*, 2007). Reportan que *B. subtilis* produce Iturina A, un polipéptido cíclico que contiene 7 residuos de α -aminoácidos (L-Asn-D-Tyr-D-Asn-L-Gln-LPro-D-Asn-L-Ser-) y un residuo de β -aminoácido. Al extraer este metabolito y someterlo a pruebas de antagonismo *in vitro* contra *Fusarium* sp. se

inhibió 70 a 100 % del crecimiento, demostrando la gran capacidad de la Iturina A como control biólogo frente a fitopatógenos (Ariza *et al.*, 2012).

Por otra parte, se informa que existe competencia en la co-inoculación de *T. asperellum* y *Bacillus amyloliquefaciens*, este efecto influye en la tasa de crecimiento, expresión diferencial de genes y metabolitos vitales durante la fermentación. La interacción competitiva entre *T. asperellum* y *B. amyloliquefaciens* regula negativamente la expresión de genes y metabolitos vitales de *Trichoderma* y una disminución en los metabolitos de *Bacillus*. Con estos resultados, se demuestra que la expresión metabólica y genética de *T. asperellum* y *B. amyloliquefaciens* podría ser inducido por el método de cocultivo, estos metabolitos, producidos en el cocultivo, mejoran el crecimiento de las plantas de maíz y el potencial de defensa en condiciones normales y de estrés biótico (Wu *et al.*, 2018).

Inducción de defensa de las plantas por agentes microbianos

Para defenderse de los fitopatógenos, las plantas han desarrollado diferentes mecanismos de defensa, el punto de partida es el reconocimiento del patógeno donde se expresan genes asociados a la defensa, conocida como resistencia sistémica inducida, la cual puede estar mediada por microorganismos benéficos. La mayoría de los mecanismos de defensa de las plantas son bioquímicos, donde existen antioxidantes que les permiten actuar como agentes reductores, donadores de hidrógeno y extintores de oxígeno (Samaniego *et al.*, 2017). Dentro de las enzimas más importante en la resistencia sistémica inducida está la fenilalanina amonio-liasa (FAL), la cual es el punto de entrada en la ruta de biosíntesis del fenilpropanoide que conduce a la síntesis de fitoalexinas o fenoles, que tienen funciones de defensa en las plantas, como el refuerzo de la pared celular (Nicholson and Hammerschmidt, 1992), la actividad antimicrobiana y la síntesis de compuestos de señalización como el ácido salicílico (Wen *et al.*, 2005). El aumento en el contenido fenólico (CF) tiene una relación positiva con el grado de resistencia de la planta contra los patógenos, lo anterior, porque los fenoles juegan un papel clave en el arsenal de defensa antimicrobiana de las plantas (Abo *et al.*, 2009). Las enzimas superóxido dismutasas (SD) y polifenol

oxidasa (PO), trabajan junto con otras enzimas del ciclo ascorbato-glutati3n para promover la eliminaci3n de radicales libres (Hern3ndez *et al.*, 2001), las actividades de las enzimas actúan de forma positiva contra enfermedades y plagas, estas son desencadenadas por interacciones entre plantas y microbios (Dutta *et al.*, 2008). Las Quitinasas de diversas fuentes vegetales inhiben el crecimiento de hongos pat3genos en sinergia con las β -1,3-glucanasas, adem3s, de la actividad antifúngica directa, tambi3n pueden estar involucrados en la inducci3n de la resistencia del hu3sped al ayudar en la liberaci3n de los olig3meros de las paredes celulares microbianas, que se comportan como inductores activos de otras respuestas de defensa (C3t3 y Hahn, 1994). El agente de biocontrol *Bacillus subtilis* desempeña un papel importante en la reducci3n de la severidad de la enfermedad del marchitamiento en las plantas de Chile causada por *R. solani*. La microscopía de fluorescencia combinada con diferentes colorantes demostr3 que *B. subtilis* induce una gran cantidad de oxígeno activo, por otro lado, la actividad enzimática por peroxidasa, catalasa, SD, PO y FAL mejora significativamente con *B. subtilis* (Wu *et al.*, 2019). Jain *et al.*, (2012) evalu3 consorcios de *B. subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* y *T. harzianum* en plantas de chícharo inoculadas con *Sclerotinia sclerotiorum*, demostrando un mayor nivel de fenoles en las hojas con los consorcios. En general, se encontr3 que el CF era m3ximo en consorcios de tres organismos, seguido de consorcios de especies duales y tratamiento con un solo bioagente. De igual forma, se reporta alta actividad de FAL en las plantas tratadas con el consorcio de los tres agentes de control biol3gico en comparaci3n con otras combinaciones microbianas y plantas de control no tratadas. Las enzimas SD y PO se expresan en las plantas, despu3s de la infecci3n por pat3genos, y es mayor el efecto al ser tratadas con el consorcio de tres microbios seguidos por el consorcio de dos microbios de *B. subtilis* y *P. aeruginosa* en comparaci3n con las plantas tratadas con cada microorganismo por separado y control no tratado. Los consorcios microbianos que comprenden los tres microbios seguidos del consorcio *B. subtilis* y *T. harzianum* inducen una m3xima expresi3n de Quitinasas y β -1,3-glucanasas.

**ANTAGÓNISTAS MICROBIANOS PARA BIOCONTROL DE LA MARCHITEZ Y SU
EFECTO PROMOTOR EN EL RENDIMIENTO DE CHILE SERRANO**

Artículo publicado en la Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas Publicación

Especial Número 23 28 de septiembre – 11 de noviembre, 2019

César Alejandro Espinoza-Ahumada¹

Gabriel Gallegos-Morales^{1*}

Yisa María Ochoa-Fuentes¹

Francisco Daniel Hernández-Castillo¹

Reinaldo Méndez-Aguilar²

Raúl Rodríguez-Guerra³

¹Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Calzada Antonio Narro 1923, Buenavista, 25315, Saltillo, Coahuila, México. ²Inifap. Carretera Tampico Mante Kilómetro 55, Esperanza, 89610 Estación Cuauhtémoc, Tamaulipas, México. ³Inifap. Carretera Montemorelos- China SN, Cerca de Hacienda las Anacuas, 67400, Cd General Terán, Nuevo León, México.

Correo autor: ggalmor@uaaan.edu.mx

ABSTRACT

Fusarium oxysporum and *Rhizoctonia solani* are causal agents of Serrano pepper wilt, which causes losses to this crop of up to 80 % in Mexico. The inadequate use of fungicides has generated problems of resistance, this are not observed with the microbial agents, therefore it was evaluated in the biocontrol of the wilting of the pepper

in experimental plots where *F. oxysporum* and *R. solani* were identified as causative agents of the disease. *Trichoderma* spp., *Bacillus* spp., Microbial Propagative Ferment Mixture, Thiabendazole and Control, were applied in plots from 800 m² with six chili varieties. The treatments *Trichoderma* and the Propagative Ferment showed low percentages of incidence and severity, high yield with *Trichoderma* in HS- 52 and Coloso (15.67 and 13.89 ton/ha). The treatments *Trichoderma* and Propagative Ferment promote the biocontrol of chili wilt caused by *F. oxysporum* and *R. solani* and increasing the yield.

Keywords: Chili wilt, *Trichoderma*, *Bacillus*, propagative ferment

RESUMEN

Fusarium oxysporum y *Rhizoctonia solani* son agentes causales de la marchitez del chile y provocan pérdidas hasta del 80 % en el cultivo en México. El uso inadecuado de fungicidas químicos ha generado problemas de resistencia, esto no se observa con agentes microbianos, por lo que se evaluaron en el biocontrol de la marchitez del chile en parcelas experimentales donde se identificó a *F. oxysporum* y *R. solani* como agentes causales de la enfermedad. *Trichoderma* spp., *Bacillus* spp., Mezcla de Fermento Propagativo Microbiano, Tiabendazol y Testigo, fueron aplicados en una parcela de 800 m² con seis variedades de chile. Los tratamientos *Trichoderma* y Fermento Propagativo mostraron bajos porcentajes de incidencia y severidad, altos rendimiento con *Trichoderma* en HS- 52 and Coloso (15.67 y 13.89 ton/ha). Los tratamientos *Trichoderma* y Fermento Propagativo promueven el biocontrol de la

marchitez del chile provocada por *F. oxysporum* y *R. solani* e incrementar el rendimiento.

Palabras clave adicionales: Marchitez del chile, *Trichoderma*, *Bacillus*, fermento propagativo

INTRODUCCIÓN

La marchitez del chile es una de las principales limitantes biológicas en la producción de este cultivo y es provocada por *Phytophthora capsici*, *Rhizoctonia solani* y *Fusarium oxysporum* (Albañil *et al.*, 2015). Existen reportes de marchitez del chile donde se asocia con frecuencia a *F. oxysporum*, el cual aprovecha el daño mecánico y aberturas naturales de la planta para infectar, sin embargo, se considera a *P. capsici* como el patógeno de mayor importancia por su capacidad de penetrar la epidermis de las raíces e invadir los haces vasculares (Zapata *et al.*, 2012). Esta enfermedad se reporta en todo México, estimando pérdidas hasta del 80% por pudriciones de raíz al invadir el sistema vascular de las plantas (González *et al.*, 2009). El control químico es el método más utilizado para controlar la enfermedad, es común reducir el inóculo al hacer desinfección del suelo con Metam Sodio, también se realizan aplicaciones de fungicidas con los ingredientes activos 2Tiocianometil (TCMTB), Metalaxyl, Azoxystrobin y Propanocar para controlar *P. capsici* (Pérez *et al.*, 2003), *R. solani* y *Fusarium* spp., son controlados con Tebuconazole, Carbendazim, Tiabendazol y Tiofanato de Metilo (Yossen y Conles, 2014). La alta variabilidad genética que existe en el complejo de hongos asociados a la enfermedad y el uso inadecuado de los

fungicidas ha provocado problemas de resistencia; en este contexto el control biológico a través de agentes microbianos no reporta resistencia de los fitopatógenos lo que los hace una alternativa factible para el manejo de la enfermedad (Bardin *et al.*, 2015). Diferentes especies de *Trichoderma* y *Bacillus* se reportan para el manejo de los géneros *Phytophthora*, *Sclerotium*, *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Alternaria*, entre otros, estos antagonistas promueven la producción de biomasa y el rendimiento de los cultivos (Astorga *et al.*, 2014; Mamani *et al.*, 2016; Arenas *et al.*, 2017); así como también activan la respuesta de defensa de las plantas, donde se involucran al etileno, jasmonato y ácido salicílico (Manganiello *et al.*, 2018), colonizan la rizosfera y producen metabolitos secundarios que generan antagonismo (Fan *et al.*, 2017; Saravanakumar *et al.*, 2017) y parasitismo al colonizar y penetrar al fitopatógeno (Druzhinina *et al.*, 2018). La eficiencia de los microorganismos para el manejo de enfermedades se ha demostrado al obtener un mayor efecto con formulados de *B. subtilis* y *T. asperellum* comparado con productos químicos de ingredientes activos como Propanocarb, Fosetil de Aluminio y Etridiazol (Villanueva, 2018). Se planteó evaluar la efectividad de agentes microbianos como biocontrol de la marchitez del cultivo de chile y efecto en el rendimiento de diferentes variedades de chile serrano.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del experimento

El trabajo de investigación se estableció en el año 2017 en el campo experimental el Bajío, donde existen antecedentes de la presencia de marchitez del chile, también se

trabajó en el laboratorio de fitopatología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN) de Saltillo, Coahuila, México.

Establecimiento experimental

Se evaluaron los materiales de chile serrano HS- 52, Coloso, HS- 44, Centauro, Paraíso y Tampiqueño 74, proporcionados por el Campo Experimental “Las Huastecas” INIFAP de Villa Cuauhtémoc, Tamaulipas, México. La planta se desarrolló en charolas de poliestireno de 200 cavidades, las que fueron desinfectadas con hipoclorito de sodio al 3 %, empacada con una mezcla de peatmoss-perlita en proporción de 2-1 y mantenidas en condiciones de invernadero por 40 días. La siembra en campo se realizó con plántulas de 10 cm de altura, trasplantadas en camas a 1.5 m a doble hilera. Los agentes microbianos de control fueron proporcionados por el Departamento de Parasitología de la UAAAN, como producto de investigación; *Trichoderma asperellum*, *T. harzianum* y *T. yunnanense* (Osorio *et al.*, 2011; Jimenez *et al.*, 2018), *Bacillus amyloliquefaciens*, *B. liqueniformis* y *B. subtilis* (Hernández *et al.*, 2014) y un Mezcla de Fermento Propagativo Microbiano (MFPM) a base de *Trichoderma* spp. - *Bacillus* spp. La mezcla de tres especies de *Trichoderma* (1×10^8) (Tratamiento 1), MFPM (Tratamiento 2), mezcla de tres especies de *Bacillus* (1×10^8) (Tratamiento 3), Tiabendazol (60 %) (Tratamiento 4) y un Testigo absoluto (Tratamiento 5), a una dosis de 1 l/ha para los tratamientos 1, 2 y 3, mientras para Tiabendazol fueron 0.5 kg/ha. La aplicación se realizó al drench con una aspersora manual a los 7, 28 y 49 días después del trasplante (ddt). Posteriormente a los 85, 105, 125 y 145 ddt se determinó el rendimiento por bloque (4.5 m^2) y se transformó a ton/ha, a partir de muestras de 10

frutos se determinó el peso del fruto (g) y tamaño (mm). En el primero y último corte se evaluó la incidencia transformada a porcentaje, la severidad se evaluó a través de la escala visual que muestra la Figura 1, donde 0= Sin síntomas visibles; 1= Inicial. Clorosis ligera, presencia de flores y frutos; 2= Intermedio. Marchitez parcial, clorosis severa, maduración prematura de frutos y 3= Avanzado. Marchitez total sin recuperación, las hojas y frutos se quedan pegados al tallo. Los datos de las escalas obtenidos en las evaluaciones del grado de severidad de la enfermedad, se transformaron mediante el uso de la siguiente fórmula citada por Carrión (2016):

$$s = \left(\frac{\sum(a * b)}{(n * k)} \right) * 100$$

Dónde: S = Severidad; $\sum (a * b)$ = Sumatoria del grado de afectación (0, 1, 2, 3); n = Número de plantas evaluadas; k = Grado mayor de la escala (3)

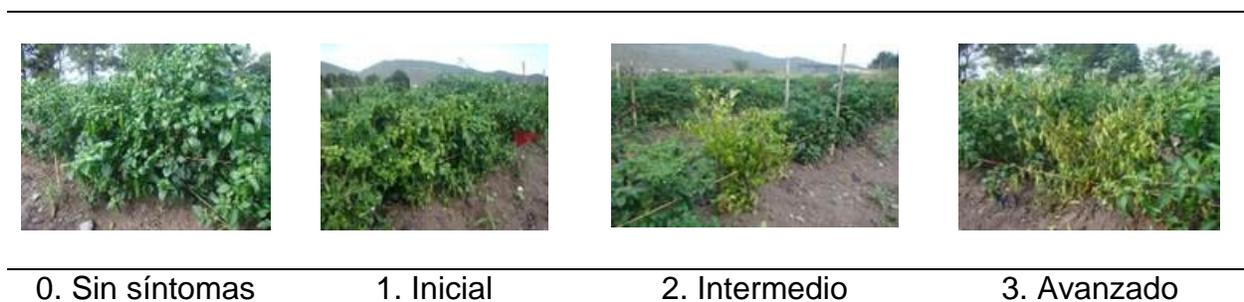


Figura 1. Fotografías utilizadas para determinar la severidad de la marchitez del chile

Aislamiento de hongos fitopatógenos

Se colectaron plantas con síntomas aparentes de la enfermedad y se trasladaron al laboratorio, donde se lavaron sus raíces con agua corriente y se hicieron cortes

transversales en la base del tallo. Posteriormente se desinfectaron superficialmente con una solución de hipoclorito de sodio al 1 %, donde fueron sumergidas las secciones de tallo por tres minutos y enjuagadas en tres pasos de agua estéril. Los tejidos fueron secados en papel estéril y depositados en cajas Petri con el medio de cultivo papa dextrosa agar (PDA), se incubó siete días para el desarrollo de los hongos y fueron aisladas las colonias con características diferentes. La purificación se realizó a las 24 horas por la técnica de punta de hifa, se incubaron por 15 días para realizar observaciones del crecimiento en PDA y al microscopio las características del micelio, estructuras de reproducción y de resistencia, fueron utilizadas claves taxonómicas de Sneh *et al.*, 1991, Barnett y Hunter (1998) y Leslie y Summerell (2006).

Prueba de patogenicidad

Se realizó mediante la técnica propuesta por Sánchez *et al.* (1975), con ligeras modificaciones, utilizando semillas de chile serrano de la variedad tampiqueño 74. Las semillas se desinfectaron por tres minutos en una solución de hipoclorito de sodio al 1%, se enjuagaron en tres pasos de agua estéril, para luego secarlas en papel estéril y transferirlas a cajas Petri conteniendo agar agua (AA) al 2% e incubadas a 28°C con ciclos de luz de 12 h. Se revisaron cada 24 h por tres días para seleccionar semillas libres del crecimiento de fitopatógenos, para después transferirlas en grupos de tres semillas germinadas a cajas Petri con el mismo medio donde se inocularon cerca del sistema radicular con un fragmento de los hongos de 0.5 cm de diámetro aproximadamente. Se incubaron a 28°C, durante 7 días y se evaluó la mortalidad de las plántulas.

Análisis estadístico

Se realizó mediante un diseño completamente al azar con tres repeticiones, a través de un análisis de varianza (ANVA) y una prueba de comparación de medias según Fisher's soportada por LSD test ($p < 0,05$), utilizando el programa estadístico R (R Development Core Team, 2007).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se recuperaron dos hongos fitopatógenos asociados a la marchitez del cultivo de chile de la parcela experimental establecida en Saltillo, Coahuila, a *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia solani*. El crecimiento de *F. oxysporum* en PDA mostró color blanco y microscópicamente se observaron microconidias unicelulares y bicelulares, de forma ovoide a elipsoide sobre fialides cortas agrupadas en falas cabezas y macroconidias de tres septos con las células apicales ligeramente curvadas. *R. solani* en PDA presentó crecimiento de micelio color marrón claro, bajo el microscopio las hifas tendían a ramificarse en ángulo recto con una ligera constricción cerca al punto de la formación del ángulo producido. Los hongos recuperados fueron confirmados como agentes causales por medio de las pruebas de patogenicidad, donde se observó menor cantidad de pelos absorbentes y necrosis en la raíz. *R. solani* fue más agresiva observándose muerte de las plántulas a 8 días y *F. oxysporum* hasta los 12 días. En la sintomatología de la enfermedad se observó amarillamiento, aborto de flores, marchitez, necrosis en el sistema radicular y madurez prematura de frutos, los cuales

quedaron adheridos a la planta (Figura 2). Al igual que en la presente investigación, Albañil *et al.*, (2015) reportaron a *F. oxysporum* y *R. solani* como agentes causales de la marchitez del chile en el Bajío y suroeste de Guanajuato. La sintomatología en la escala de severidad concuerda con el reporte en los estados de Aguascalientes y Zacatecas, donde se encontraron estos fitopatógenos en el mayor porcentaje de los aislamientos provocando marchitez, defoliación, cambios en color del follaje, pudrición terminal de la raíz, entre otros síntomas (Velásquez *et al.*, 2001).



Figura 2. Sintomatología de marchitez en condiciones de campo, a) Planta sana b) Amarillamiento en el estrato foliar de la planta c) Amarillamiento, aborto de flores y maduración prematura de frutos d) Frutos maduros y adheridos a plantas muertas por sequía

En el Tabla 1 se muestra la incidencia de la enfermedad, donde se observó diferencias estadísticas ($p \leq 0,05$) en los materiales HS-52 y Coloso. El tratamiento *Trichoderma* con la variedad HS- 52 tiene una incidencia de la enfermedad del 10.67 % que representó una disminución con respecto al testigo del 21.16 %. La variedad Coloso mostró bajos porcentajes de incidencia con tiabendazol donde existió un 6.83 %, lo anterior muestra excelente respuesta de la variedad a la aplicación del producto químico. Las variedades HS- 44, centauro, tampiqueño 74 y paraíso no presentaron diferencias estadísticas significativas, ubicándolas en un mismo grupo estadístico.

Tabla 1. Incidencia de la enfermedad (%) en chile serrano con respecto a cada tratamiento

Tratamientos	Variedades de chile serrano					
	HS- 52	Coloso	HS- 44	Centauro	Tampiqueño 74	Paraíso
<i>Trichoderma</i>	10.67 ^a	18.17 ^{ab}	16.84 ^a	19.17 ^a	12.50 ^a	10.00 ^a
MFPM	26.67 ^{ab}	15.50 ^{ab}	10.50 ^a	15.33 ^a	19.83 ^a	10.67 ^a
<i>Bacillus</i>	29.17 ^{ab}	29.67 ^b	20.07 ^a	20.5 ^a	21.83 ^a	19.50 ^a
Tiabendazol	21.00 ^{ab}	6.83 ^a	19.51 ^a	24.17 ^a	10.33 ^a	16.17 ^a
Testigo	31.83 ^b	21.33 ^{ab}	21.51 ^a	23.33 ^a	24.67 ^a	22.33 ^a

Valores medios en la misma columna con diferente letra minúscula diferencia estadística significativa ($p < 0,05$) según Fisher's soportada por la prueba LSD; NS, no significativo, valores de medias en la misma columna con letras iguales

En la Figura 3 se mostraron diferencias estadísticas significativas ($p \leq 0,05$) en porcentajes de incidencia de la enfermedad entre tratamientos en los seis materiales evaluados, donde *Trichoderma* y MFPM presentaron bajos porcentajes de incidencia

(14.39 y 16.39 %), siendo Testigo y *Bacillus* los que presentaron altos niveles de la presencia de síntomas (24.08 y 23.36 %).

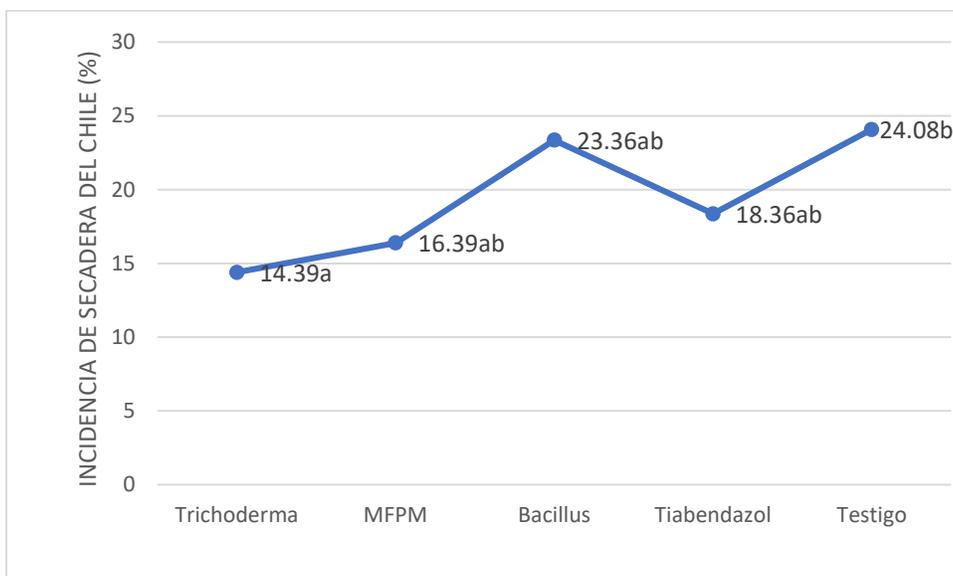


Figura 3. Incidencia de la enfermedad en los tratamientos con respecto a todas las variedades de chile serrano

La severidad de la enfermedad transformada a porcentaje (Tabla 2) mostró diferencias estadísticas ($p \leq 0,05$), donde el tratamiento MFPM con el material HS-52 expresó los mejores resultados con el 8.33 %, en esta misma variedad el tratamiento *Trichoderma* presentó porcentaje bajo de incidencia y severidad de 11.30 %. En la variedad Tampiqueño 74 la aplicación de tiabendazol tuvo el 6.54 % de severidad, seguido de *Trichoderma* con el 7.83 % y Testigo con el 17.96 %, observándose respuesta del material a la aplicación de los tratamientos antes mencionados. Por su parte, Paraíso con aplicación de la mezcla de MFPM y *Trichoderma* presentó bajos niveles de severidad (6.46 y 6.93 %,) representativos e inferiores al testigo, lo cual permitió una mejor cosecha. Al hacer pruebas con diferentes especies de *Bacillus* en el cultivo de

chile Guillén *et al.*, (2006) consignaron que la aplicación de estos microorganismos aumento la biomasa de las plantas y el rendimiento, esto posiblemente esté relacionado con el tipo de suelo arcillo-limoso donde se obtuvieron buenos resultados, tal efecto no se encontró en esta investigación donde el control de la enfermedad y rendimientos fueron bajos. La eficiencia biofungicida de *Trichoderma* spp. se atribuye al antagonismo (Reyes *et al.*, 2012) y micoparasitismo a hongos fitopatógenos, apreciable en esta investigación donde se redujo la incidencia y severidad de la marchitez del cultivo de chile (Atanasova *et al.*, 2013).

Tabla 2. Severidad de la enfermedad (%) en chile serrano con respecto a los tratamientos

Tratamientos	Variedades de chile serrano					
	HS- 52	Coloso	HS- 44	Centauro	Tampiqueño 74	Paraíso
<i>Trichoderma</i>	11.30 ^{ab}	18.43 ^a	10.80 ^a	6.83 ^a	7.83 ^{ab}	6.93 ^a
MFPM	8.33 ^a	16.28 ^a	24.45 ^a	12.76 ^a	14.35 ^{ab}	6.46 ^a
<i>Bacillus</i>	14.40 ^{ab}	19.16 ^a	15.09 ^a	11.54 ^a	17.60 ^b	16.22 ^{ab}
Tiabendazol	20.04 ^b	14.07 ^a	17.97 ^a	15.74 ^a	6.56 ^a	18.24 ^b
Testigo	19.45 ^{ab}	24.35 ^a	24.07 ^a	13.65 ^a	17.96 ^b	18.43 ^b

Valores medios en la misma columna con diferente letra minúscula diferencia estadística significativa ($p < 0,05$) según Fisher's soportada por la prueba LSD; NS, no significativo, valores de medias en la misma columna con letras iguales

En el Tabla 3 se observa que el tamaño de fruto fue estadísticamente superior ($p \leq 0.05$) en la variedad Centauro con los tratamientos MFPM (73.44 mm), *Bacillus* (67.94 mm) y *Trichoderma* (66.44 mm), observándose incremento del 28, 23 y 21%, con respecto al

Testigo. En la variedad Tampiqueño 74 los tratamientos *Bacillus*, MFPM y *Trichoderma* presentaron tamaños de 78.74, 74.73 y 73.63 mm, respectivamente. Para la variable peso de fruto, se encontró que el material HS-44 fue estadísticamente diferente, con mejor respuesta en *Bacillus* (10.83 g), MFPM (10.50 g) y *Trichoderma* (10.00 g) con respecto al testigo. En el rendimiento del cultivo (Cuadro 3) se observó diferencia estadística ($p \leq 0,05$) en las variedades HS-52, Paraíso y Centauro, en este contexto se observó que el tratamiento *Trichoderma* presentó un mejor comportamiento con 15.67 y 13.22 ton/ha en la variedad HS-52 y Centauro. La aplicación de *Trichoderma* incrementa la producción del 62% y 61% en las variedades antes mencionadas, con respecto al Testigo. La aplicación del MFPM reporta altos rendimientos en la variedad Centauro (11.52 ton/ha), Paraíso (10.59 ton/ha) y HS- 52 (10.37 ton/ha), el Testigo fue el de menor rendimiento. Se observó que la aplicación del MFPM incrementó en 76% el rendimiento con respecto al Testigo, con diferencia estadísticamente significativa ($p \leq 0,05$) respecto de los tratamientos Tiabendazol y Testigo (Cuadro 3). Se observó que *Trichoderma* aumentó el rendimiento, esto lo han evidenciado diferentes especies de *Trichoderma* en plantas de chile habanero (*Capsicum chinense*) (Candelero *et al.*, 2015), lechuga (*Lactuca sativa*), rábano (*Raphanus sativus*) (Ortuño *et al.*, 2013) y arveja (*Pisum sativum*) (Camargo y Ávila 2014). En el mismo contexto, Cubillos *et al.*, (2009) hicieron pruebas con *Trichoderma harzianum* en el cultivo de maracuyá (*Passiflora edulis*) donde pudieron determinar que es un antagonista a *F. oxysporum* y *F. solani*, además de estimular la germinación, aumento de biomasa y longitud de raíz.

Tabla 3. Longitud (mm), peso de fruto (g) y rendimiento (ton/ha) con los diferentes tratamientos evaluados del cultivo de chile serrano

Tratamientos	Variedades de chile serrano					
	HS-52			Coloso		
	Tamaño	Peso	Rendimiento	Tamaño	Peso	Rendimiento
<i>Trichoderma</i>	72.37 ^a	12.83 ^a	15.67 ^a	74.30 ^a	14.33 ^a	13.89 ^a
MFPM	78.78 ^a	14.67 ^a	10.37 ^{ab}	74.49 ^a	14.17 ^a	10.04 ^a
<i>Bacillus</i>	76.18 ^a	14.17 ^a	7.26 ^b	75.95 ^a	14.17 ^a	8.75 ^a
Tiabendazol	73.89 ^a	12.33 ^a	10.02 ^{ab}	74.13 ^a	13.17 ^a	9.02 ^a
Testigo	78.80 ^a	13.67 ^a	5.98 ^b	72.56 ^a	12.67 ^a	8.06 ^a
	Centauro			HS-44		
<i>Trichoderma</i>	66.44 ^{abc}	10.67 ^a	13.22 ^a	64.73 ^a	10.00 ^{ab}	7.55 ^a
MFPM	73.44 ^a	10.67 ^a	11.52 ^{ab}	67.44 ^a	10.50 ^{ab}	13.04 ^a
<i>Bacillus</i>	67.94 ^{ab}	9.83 ^a	8.18 ^{ab}	64.29 ^a	10.83 ^a	10.30 ^a
Tiabendazol	59.25 ^{bc}	7.50 ^a	8.69 ^{ab}	61.36 ^a	9.00 ^{ab}	10.62 ^a
Testigo	52.58 ^c	8.33 ^a	5.15 ^b	64.76 ^a	8.50 ^b	6.94 ^a
	Paraíso			Tampiqueño 74		
	Tamaño	Peso	Ton/h	Tamaño	Peso	Ton/h
<i>Trichoderma</i>	66.13 ^a	10.17 ^a	8.48 ^b	73.63 ^{abc}	11.00 ^a	12.26 ^a
MFPM	63.94 ^a	10.50 ^a	10.59 ^a	74.73 ^{ab}	11.67 ^a	13.30 ^a
<i>Bacillus</i>	66.18 ^a	11.00 ^a	5.41 ^b	78.74 ^a	10.50 ^a	8.74 ^a
Tiabendazol	61.18 ^a	8.17 ^a	7.44 ^b	68.10 ^c	10.33 ^a	9.77 ^a
Testigo	61.02 ^a	8.50 ^a	2.59 ^b	71.19 ^{bc}	11.00 ^a	6.26 ^a

Valores medios en la misma columna con diferente letra minúscula diferencia estadística significativa ($p < 0,05$) según Fisher's soportada por la prueba LSD; NS, no significativo, valores de medias en la misma columna con letras iguales

La interacción positiva entre *Trichoderma* y la planta hospedera se atribuye a una compleja actividad química de metabolitos secundarios volátiles y difusibles, liberación de fitohormonas y antibióticos en la rizosfera, los cuales promueven el desarrollo de la

raíz y una mayor absorción de nutrientes, que ayudan a controlar los fitopatógenos y aumentar el rendimiento (López *et al.*, 2015), lo que explica el efecto que produjo en esta investigación. Los Extractos microbianos como biofertilizantes tienen la capacidad de generar hormonas que estimulan el desarrollo e incrementan el rendimiento (Martínez *et al.*, 2017), lo cual se pudo constatar con la aplicación del MFPM del crecimiento de *Trichoderma* spp. y *Bacillus* spp. que mostraron efecto en el control de la enfermedad y en el desarrollo del cultivo en igual o mejor porcentaje que al emplear los microorganismos.

CONCLUSIONES

La aplicación de *Trichoderma* y el MFPM son excelentes alternativas para el control de la marchitez del chile provocada por *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia solani*, además de aumentar el rendimiento de los diferentes materiales de chile serrano bajo las condiciones del campo experimental El Bajío de la UAAAN en Saltillo, Coahuila.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Conacyt) por el apoyo económico por medio de una beca estudiantil, al M. C. Moisés Ramírez Meraz al proporcionar semillas de chile serrano utilizadas en este experimento y al M. C. Fidel Maximiano Peña Ramos por el apoyo en el análisis estadístico.

LITERATURA CITADA

- Albañil, J. J.; Mariscal, A. L.; Martínez, M. T.; Anaya, L. J.; Cisneros, L. H. y Pérez, R. H. 2015. Estudio regional de fitopatógenos asociados a la secadera del chile en Guanajuato, México. *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* 6 (SPE11):2191-2197.
- Arenas, O. R.; Amaro, J. L.; Huato, M. A.; de Ita, M. V.; Rivera, A. y Lara, M. H. 2017. Biopreparados de *Trichoderma* spp. para el control biológico de *Phytophthora capsici* en el cultivo de tomate de Puebla, México. ITEA, información técnica económica agraria. *Rev. de la Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario (AIDA)*. 113(4):313-324.
- Astorga, Q. K.; Meneses, M. K.; Zúñiga, V. C.; Brenes, M. J. A. y Rivera, M. W. 2014. Evaluación del antagonismo de *Trichoderma* sp. y *Bacillus subtilis* contra tres patógenos del ajo. *Rev. Tecnol. en Marcha*. 27(2):82-91.
- Atanasova, L.; Le, C. S.; Gruber, S.; Couplier, F.; Seidl, V.; Kubicek, C. P. and Druzhinina, I. S. 2013. Comparative transcriptomics reveals different strategies of *Trichoderma* mycoparasitism. *BMC genomics*. 14(121):1-15.
- Bardin, M.; Ajouz, S.; Comby, M.; Lopez, F. M.; Graillet, B.; Siegwart, M. and Nicot, P. C. 2015. Is the efficacy of biological control against plant diseases likely to be more durable than that of chemical pesticides? *Frontiers Plant Sci*. 6(566):1-14
- Barnett, H. L. and Hunter, B. B. 1998. Illustrated genera of imperfect fungi. APS Press, Minnesota. 218 p.
- Camargo, C. D. F. y Ávila, E. R. 2014. Efectos del *Trichoderma* sp. sobre el crecimiento y desarrollo de la arveja (*Pisum sativum* L.). *Ciencia y Agricultura*. 11(1):91-100.

- Candelero, D. J.; Cristóbal, A. J.; Reyes, R. A.; Tun, S. J.; Gamboa, A. M. y Ruíz, S. E. 2015. *Trichoderma* spp. promotoras del crecimiento en plántulas de *Capsicum chinense* Jacq. y antagónicas contra *Meloidogyne incognita*. *Phyton-Inter. J. Exp. Bot.* 84(1):113-119.
- Carrión, A. R.; Criollo, R. G.; Rojas, F. M.; Rodríguez, A. S. y Torres, G. R. 2016. Estudio de la patogenicidad de aislados de *Fusarium* spp., asociados a la marchitez vascular del babaco en Loja-Ecuador. Centro de Biotecnología. 3(1):63-74. <http://revistas.unl.edu.ec/index.php/biotecnologia/article/view/86/84>.
- Cubillos, H. J.; Valero, N. y Mejía, L. 2009. *Trichoderma harzianum* como promotor del crecimiento vegetal del maracuyá (*Passiflora edulis* var. *flavicarpa* Degener). *Agron. Colomb.* 27(1):81-86.
- Druzhinina, I. S.; Chenthamara, K.; Zhang, J.; Atanasova, L.; Yang, D.; Miao, Y. and Salim, K. A. 2018. Massive lateral transfer of genes encoding plant cell wall-degrading enzymes to the mycoparasitic fungus *Trichoderma* from its plant-associated hosts. *PLoS Genetics.* 14(4):1-33. doi:10.1371/journal.pgen.1007322.
- Fan, H.; Zhang, Z.; Li, Y.; Zhang, X.; Duan, Y. and Wang, Q. 2017. Biocontrol of bacterial fruit blotch by *Bacillus subtilis* 9407 via surfactin-mediated antibacterial activity and colonization. *Frontiers in Microbiol.* 8(1973):1-15. doi:10.3389/fmicb.2017.01973.
- González, M. M.; Villordo, P. E.; Pons, H. J.; Delgadillo, S. F.; Paredes, M. R.; Godoy, H. H.; Anaya, L. J.; Gámez, V. F.; Medina, C. T.; Rodríguez, G. R. y Ruiz, C. E. 2009. Guía para el manejo de la marchitez del chile en Guanajuato. Primera Edición. Prometeo Editores, SA de CV CEPROCH- Guanajuato. México, DF. 8 p.

- Guillén, C. R.; Hernández, C. F. D.; Gallegos, M. G.; Rodríguez, H. R.; Aguilar, G. C. N.; Padrón, C. E. y Reyes, V. M. H. 2006. *Bacillus* spp. como biocontrol en un suelo infestado con *Fusarium* spp., *Rhizoctonia solani* Kühn y *Phytophthora capsici* Leonian y su efecto en el desarrollo y rendimiento del cultivo de chile (*Capsicum annuum* L.). Rev. Mex. Fitopatol. 24(2):105-114. <https://www.redalyc.org/html/612/61224204/>.
- Hernández, C. F. D.; Lira, S. R. H.; Gallegos, M. G.; Hernández, S. M. y Solis, G. S. 2014. Biocontrol de la marchitez del chile con tres especies de *Bacillus* y su efecto en el crecimiento y rendimiento. Phytón (B. Aires). 83(1):49-55.
- Jiménez, M. D.; Hernández, F. D.; Alcalá, E. I. L.; Morales, G. G.; Valdés, R. A. and Reyes, F. C. 2018. Biological effectiveness of *Bacillus* spp. and *Trichoderma* spp. on apple scab (*Venturia inaequalis*) *in vitro* and under field conditions. Eur. J. Physical Agric. Sci. 6(2):7-17.
- Leslie, J. F. and Summerell, B. A. 2006. The *Fusarium* burkinafaso. Laboratory manual. First edition. Blackwell Publishing, State Avenue, Ames, Iowa. 212-218 pp.
- López, B. J.; Pelagio, F. R. y Herrera, E. A. 2015. *Trichoderma* como bioestimulante: explotando las propiedades multinivel de un hongo beneficioso para la planta. Sci. Hort. 196(10):109-123. doi:10.1016/j.scienta.2015.08.043.
- Mamani, R. P.; Limachi, V. J. y Ortuño, C. N. 2016. Uso de microorganismos nativos como promotores de crecimiento y supresores de patógenos en el cultivo de la papa en Bolivia. Revista Latinoamericana de la Papa. 17(1):74-96.
- Manganiello, G.; Sacco, A.; Ercolano, M. R.; Vinale, F.; Lanzuise, S.; Pascale, A. and Woo, S. L. 2018. Modulation of tomato response to *Rhizoctonia solani* by

- Trichoderma harzianum* and its secondary metabolite harzianic acid. *Frontiers in microbiology*. 9(1966):1-19. doi:10.3389/fmicb.2018.01966.
- Martínez, M.; Silvestre, A.; Figueroa, R.; Piña, J.; Castro, C.; Acevedo, L. y Aguilar, D. 2017. Evaluación de biofertilizantes y enraizador hormonal en jatropha (*Jatropha curcas* L.). *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* 8(2):463-469.
- Ortuño, N.; Miranda, C. y Claros, M. 2013. Selección de cepas de *Trichoderma* spp. generadoras de metabolitos secundarios de interés para su uso como promotor de crecimiento en plantas cultivadas. *J. Selva Andina Biosph.* 1(1):16-32.
- Osorio, H. E.; Hernández, C. F. D.; Gallegos, M. G.; Rodríguez, H. R. and Castillo, R. F. 2011. *In-vitro* behavior of *Trichoderma* spp. against *Phytophthora capsici* Leonian. *Afr. J. Agric. Res.* 6(19):4594-4600.
- Pérez, M. L.; Durán, O. L. J.; Ramírez, M. R.; Sánchez, P. J. R. y Olalde, P. V. 2003. Compatibilidad fisiológica y sensibilidad a fungicidas de aislamientos de *Phytophthora capsici* Leo. *Rev. Mex. Fitopatol.* 21(1):19:25.
- R Development Core Team. 2007. R: A Language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Reyes, R. A.; Alejo, J. C.; Ruiz, S. E. y Tun, S. J. M. 2012. Inhibición del crecimiento *in vitro* de *Fusarium* sp. aislado de chile habanero (*Capsicum chinensis*) con hongos antagonistas. *Fitosanidad*, 16(3):161-165.
- Sánchez, L. E.; Endo, R. M. and Leary, J. V. 1975. A rapid technique for identifying the clones of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* causing crown and root rot of tomato. *Phytopathology*. 65(6):726-727.

- Saravanakumar, K.; Li, Y.; Yu, C.; Wang, Q. Q.; Wang, M.; Sun, J. and Chen, J. 2017. Effect of *Trichoderma harzianum* on maize rhizosphere microbiome and biocontrol of *Fusarium* Stalk rot. Scientific Reports. 7(1):1-13. doi:10.1038/s41598-017-01680-w.
- Sneh, B.; Burpee, L. and Ogoshi, A. (1991). Identification of *Rhizoctonia* species. Am Phytopathol Soc Press, St. Paul, MN, USA. 133 pp.
- Velásquez, V. R.; Medina, A. M. M. and Luna, R. J. D. J. 2001. Sintomatología y géneros de patógenos asociados con las pudriciones de la raíz del chile (*Capsicum annuum* L.) en el Norte-Centro de México. Rev. Mex. Fitopat. 19(2):175-181. <http://www.redalyc.org/pdf/612/61219207.pdf>.
- Villanueva, D. M. L. 2018. Eficacia de biofungicidas frente a la caída de plántula de pepino, inducida por *Pythium aphanidermatum*. Rev. Invest. Agrop. Sustentable. 2(1):72-78.
- Yossen, V. E. and Conles, M. Y. 2014. Eficacia de fungicidas *in vitro* para el control de *Fusarium oxysporum* y *F. proliferatum*, agentes causales de marchitamiento en el cultivo de orégano en la Argentina. Revista industrial y agrícola de Tucumán. 91(1):19-25.
- Zapata, V. A.; Sánchez, S. M.; del Río, R. A.; Silos, E. H.; Perales, S. C.; Flores, B. S. y Valera, M. L. L. 2012. *Phytophthora capsici* Epidemic Dispersion on Commercial Pepper Fields in Aguascalientes, Mexico. The Sci. World J. 2012(ID 341764):1-5. doi:10.1100/2012/341764.

COMPATIBILIDAD DE ESPECIES DE *Trichoderma* PARA BIOCONTROL DE MARCHITEZ Y AUMENTO DE LA PRODUCCIÓN DEL CHILE (*Capsicum annuum* L.)

Trichoderma SPECIES COMPATIBILITY FOR WILT BIOCONTROL AND INCREASE OF PRODUCTION FROM CHILE (*Capsicum annuum* L.)

Manuscrito para artículo científico # 3098, enviado en la Revista Tropical and Subtropical Agroecosystems

César Alejandro Espinoza-Ahumada¹, Gabriel Gallegos-Morales^{1*}, Yisa María Ochoa-Fuentes¹,
Francisco Daniel Hernández-Castillo¹, Reinaldo Méndez-Aguilar², Raúl Rodríguez-Guerra³

¹Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Calzada Antonio Narro 1923, Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. CP. 25315. (espinozaiap@hotmail.com; ggalmor@uaaan.edu.mx yisa8a@yahoo.com.mx; fdanielhc@hotmail.com). ²INIFAP. Carretera Tampico Mante km 55, Esperanza, Estación Cuauhtémoc, Tamaulipas, México. CP. 89610. (mendez.reinaldo@inifap.gob.mx) ³INIFAP. Carretera Montemorelos-China s/n, Cerca de la Hacienda las Anacuas, Cd. General Terán, Nuevo León, México. CP. 67400. (raulrdzg@yahoo.com.mx)

Autor para correspondencia: ggalmor@uaaan.edu.mx

RESUMEN

La marchitez del chile en México es una de las principales enfermedades de este cultivo, el manejo de la enfermedad se basa en el control químico, teniendo un efecto negativo en el medio ambiente y generándose resistencia en las moléculas activas de estos fungicidas. Una alternativa es utilizar *Trichoderma* en los agroecosistemas, ya que este hongo tiene un efecto benéfico y biofungicida en las plantas cultivadas. Se planteó determinar la compatibilidad de cuatro especies de *Trichoderma* y su efecto en el rendimiento y biocontrol de la marchitez en el cultivo del chile. Se realizaron pruebas de compatibilidad de *Trichoderma asperellum* (TA), *T. harzianum* (THZ), *T. lignorum* (TL) y *T. yunnanense* (TY) en laboratorio y en condiciones de campo donde se evaluaron los microorganismos solos y en combinación. Se encontró que las cepas TA-TL, TA-THZ y TA-TL-THZ fueron compatibles y expresaron aumento en el rendimiento

por planta hasta del 86 %, número de frutos en 79 %, además, disminuyó la incidencia y severidad de la enfermedad en 71 y 59 %, respectivamente. La cepa de *T. lignorum* expresó la actividad de Ácido Indol Acético, además, en todas las combinaciones que expresaron aumento en producción y control de la enfermedad.

Palabras clave: Compatibilidad, *Trichoderma*, marchitez del chile, biocontrol

SUMMARY

The wilt of chili in Mexico is one of the main diseases of this crop, the management of the disease is based on chemical control, having a negative effect on the environment and generating resistance in the active molecules of these fungicides. An alternative is to use *Trichoderma* in agroecosystems, as this fungus has a beneficial and biofungicide effect on cultivated plants. It was considered to determine the compatibility of four species of *Trichoderma* and its effect on the yield and biocontrol of the wilt in the cultivation of chili peppers. Compatibility tests of *Trichoderma asperellum* (TA), *T. harzianum* (THZ), *T. lignorum* (TL) and *T. yunnanense* (TY) were performed in laboratory and field conditions where microorganisms were evaluated alone and in combination. The TA-TL, TA-THZ and TA-TL-THZ strains were found to be compatible and expressed increased yield per plant up to 86%, fruit number by 79%, and decreased the incidence and severity of the disease by 71% and 59%, respectively. The strain of *T. lignorum* expressed the activity of Acetic Indole Acid, in addition, in all combinations that expressed increased production and control of the disease.

Keywords: Compatibility, *Trichoderma*, wilt Chili, Biocontrol

INTRODUCCIÓN

El cultivo de chile verde representa para México una producción de 3.38 millones de ton, donde el 57.96 % se produce en los estados de Sinaloa (858,543.89 ton), Chihuahua (676, 462.51 ton) y Zacatecas (423, 757.02 ton) (SIAP, 2018). Los frutos de chile se utilizan como saborizantes en la cocina mexicana, se considera que tiene su origen en la Sierra norte de Puebla e Hidalgo, donde se domesticó y tiene su mayor

diversificación del país (Rincón *et al.*, 2010). Los factores que limitan la producción y bajos rendimientos están asociados a la pudrición del sistema radicular, provocada por los fitopatógenos *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum*, *Verticillium* sp., *Phytophthora* sp. y *Pythium* sp. (Albañil *et al.*, 2015; Pérez *et al.*, 2017; Velásquez y Reveles, 2017). En la actualidad el manejo de la enfermedad se basa en el control químico y tecnologías que conducen a la inestabilidad en los ecosistemas naturales, además, se genera resistencia a moléculas activas de fungicidas de diferentes mecanismos de acción (Sang *et al.*, 2018; De Ramón *et al.*, 2019). La rizosfera es uno de los ecosistemas más importantes, ya que existen interacciones entre microorganismos que son moduladas por factores bióticos o abióticos, mostrando un efecto sinérgico, antagonismo o competencia física o bioquímica (Probanza, 2012). En los agroecosistemas, las comunidades microbianas tienen un efecto directo como reguladores del rendimiento de las plantas, sin embargo, están determinadas por las interacciones entre el manejo agrícola y los procesos de selección del huésped (Schmidt *et al.*, 2019). Las especies de *Trichoderma* son microorganismos que pueden interactuar en beneficio de las plantas, al mejorar su crecimiento y desarrollo, inducen la formación de raíces laterales y pelos radiculares a través de la señalización de auxinas (Contreras *et al.*, 2014; Salazar *et al.*, 2015). El hongo *Trichoderma* puede aislarse de diferentes tipos de suelos, Mendoza *et al.*, (2015) al realizar muestreos de suelos agrícolas con diferentes características, aislaron a *T. harzianum* y *T. virens* que expresaron actividad antagónica a través de la competencia espacial, mientras que una cepa de *T. koningiopsis* mostró un alto nivel de micoparasitismo, efecto reportado contra *Macrophomina phaseolina*. Al estudiarse el proceso de micoparasitismo de *Trichoderma* spp. frente a *R. solani*, *Phytophthora capsici*, *Sclerotinia sclerotiorum* y *Botrytis cinérea*, se han identificado enzimas y efectores que se involucran en el reconocimiento y la degradación de la pared celular del huésped (Reithner *et al.*, 2011; Steindorff *et al.*, 2014; Atanasova *et al.*, 2018). Por lo anterior, se planteó determinar la compatibilidad de cuatro especies de *Trichoderma* y su efecto en el rendimiento y biocontrol de la marchitez en el cultivo del chile (*Capsicum annuum* L.), como una estrategia útil en el manejo de esta enfermedad.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación de los experimentos. El ensayo se realizó en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN) Saltillo, Coahuila, en el Laboratorio de Microbiología del Departamento de Parasitología y el ensayo de campo en una parcela experimental del Bajío, donde se ha reportado la presencia de marchitez del chile asociada a *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia solani* (Espinoza *et al.*, 2019).

Material biológico. Los microorganismos antagónicos fueron proporcionados del cepario de Microbiología de la UAAAN. Las cepas evaluadas fueron *Trichoderma asperellum* (TA), *T. harzianum* (THZ), *T. lignorum* (TL) y *T. yunnanense* (TY); las cuales fueron activadas en el medio de cultivo papa-dextrosa-agar (PDA) suplementado con 3 g/l de extracto de malta.

Compatibilidad *Trichoderma* spp. Las cepas de *Trichoderma* spp. se activaron en cajas Petri de 90 mm conteniendo medio de cultivo Papa-Dextrosa-Agar (PDA), transcurridos 10 días se realizaron confrontaciones entre dos, tres y cuatro especies. Para confrontar dos especies fueron sembradas en puntos equidistantes, con tres especies al sembrarlas en los puntos de intersección de un triángulo equilátero y las cuatro especies fueron sembradas en los cuatro puntos cardinales de la caja Petri con el medio PDA y se incubaron a 27 ± 2 °C. Con ayuda de un Vernier digital se realizaron mediciones del crecimiento frontal, y se determinó la compatibilidad con la fórmula de Concentración Inhibitoria Fraccionada (FIC) consultada en la investigación de Sueke *et al.*, (2010). Transcurridos ocho días después de la siembra se contaron las esporas con cámara de Neubauer y microscopio compuesto Motic BA210E, además se midió el ancho de barrera y se evaluó con los criterios que se muestran en el Cuadro 1.

Tabla 1. Criterios para determinar la compatibilidad por el ancho de barrera entre *Trichoderma* spp.

Ancho de barrera (cm)	Compatibilidad	Característica
0.7	Incompatible	Barrera firme
0.5 - 0.6	Incompatible	Barrera extensa
0.4 – 0.5	Confrontable	Barrera gruesa
0.2 – 0.3	Diferente	Barrera delgada
0.1 – 0.2	Compatible	Barrera perceptible
0	Compatible	Sin barrera

Ensayo en campo. En charolas de poliestireno fueron sembradas semillas de chile serrano de la variedad Tampiqueño 74, transcurridos 40 días después de la siembra (DDS) las plántulas de 10 cm de altura fueron sembradas a doble hilera en camas de 1.5 m, con riego por goteo y acolchado plástico. La fertilización se realizó al aplicar al fondo del surco y antes de la siembra a razón de 600 kg/ha de la mezcla física T-17 (17-17-17), la cual está compuesta de las bases MAP granulado (11-52-00), Urea (46-00-00) y Nitrato de Potasio (12-00-46). Los tratamientos aplicados fueron considerados con base en los resultados de compatibilidad de *Trichoderma* spp. y cada uno de ellos por separado. Las aplicaciones se realizaron a los 7, 21, 51 y 81 DDS, las cuales se realizaron al drench con una solución de conidias de 1×10^6 . La parcela se estableció en un diseño de bloques al azar con tres repeticiones. Transcurridos 85 días DDS se evaluaron las variables producción por planta, número de frutos por planta, y la incidencia y severidad de la enfermedad se evaluó como se describe en la investigación de Espinoza *et al.*, (2019).

Detección de ácido indol acético. Las cepas TA, THZ, TL y TY, fueron activadas en cajas Petri que contenían PDA e incubadas a 27 ± 2 °C, transcurridos siete días, un esplante de 5 mm fue depositado en medio líquido BT (modificado). El medio BT se preparó como sigue: Glucosa 5.0 g/L, $K_2 HPO_4$ 1.0 g/L, $NH_4 NO_3$ 0.4 g/L, NaCl 0.2 g/L, $MgSO_4 \cdot 7 H_2O$ 0.4 g/L, Triptona 2.0 g/L y se depositaron 50 ml de BT en matraces de 100 ml para ser esterilizados por 15 minutos a 120 lbp. Se inocularon los matraces

con un explante de 5 mm, de las cepas de *Trichoderma* spp., y se mantuvieron en agitación por 48 horas a 150 rpm y 30 °C. El caldo de cada fermentación se centrifugó a 12.500 rpm durante 15 min y 15 ° C, se recuperó el sobrenadante para cuantificar el ácido Indolacético. Posteriormente, se colocó 1 ml del fermento de TA, THZ, TL y TY en tubo de ensaye de 10 ml, se le agregó 1 ml de agua estéril y 1 ml de reactivo de Salkowski. También se preparó una reacción positiva con Índole-3-Acetic Acid (IAA; Heteroauxin, SIGMA). El reactivo Salkowski se preparó al hacer la reacción de H₂ SO₄ 15 ml, agua destilada 25 ml y FeCl₃ · 6H₂O 0.75 ml (0.5 M). La determinación de producción de Ácido Indol Acético se hizo por observación directa de las reacciones, al observar una coloración rosácea.

Análisis de datos. Las variables evaluadas se sometieron a un análisis de varianza (ANVA) y una prueba de comparación de medias según Tukey (p<0,05), utilizando el programa estadístico SAS (Versión 9.3).

RESULTADOS

Al confrontar las diferentes cepas de *Trichoderma*, se encontró que *T. lignorum* (TL) presento altas concentraciones de esporas por ml (4.42×10^7), seguido la combinación de TA-TL (2.04×10^7) y TY-TL (1.46×10^7). Las mejores combinaciones con tres especies de *Trichoderma* fue TA-TY-THZ y TA-TL-THZ en concentraciones de 9.92×10^6 y 9.28×10^6 , respectivamente; particularmente al combinar las cuatro cepas la esporulación fue baja. La respuesta en el crecimiento (Figura 1), muestra que existe diferencia estadística significativa ($p \leq 0,05$), donde la compatibilidad en crecimiento fue mejor en TA-TL, TA-TL-TZ, TA-THZ y TL-THZ, con crecimientos del 71 al 60 %. Al realizar las mediciones y observaciones de la barrera formada cuando se confrontan las diferentes especies de *Trichoderma* se pudo constatar que existe compatibilidad de TA-TL, TA-THZ y TA-TL-THZ, donde el ancho de barrera fue de 0.05, 0.06 y 0.08 cm, respectivamente.

Tabla 2. Esporulaci3n de especies de *Trichoderma* solo y en combinaci3n

COMBINACI3N	CONIDIOS/ml	COMBINACI3N	CONIDIOS/ml
TL	4.42x10 ⁷ a	TA-THZ	5.45x10 ⁶ def
TA-TL	2.04x10 ⁷ b	TA-TY	5.38x10 ⁶ ef
TY-TL	1.46x10 ⁷ bc	TY-TA-TL	5.02x10 ⁶ ef
TL-THZ	1.39x10 ⁷ bcd	TA-TL-THZ-TY	4.94x10 ⁶ ef
TA	1.29x10 ⁷ bcde	TY-THZ	4.63x10 ⁶ ef
TA-TY-THZ	9.92x10 ⁶ cdef	THZ	2.72x10 ⁶ f
TA-TL-THZ	9.28x10 ⁶ cdef	TY	1.66x10 ⁶ f

Figura 1. Crecimiento de especies de *Trichoderma* en combinaci3n

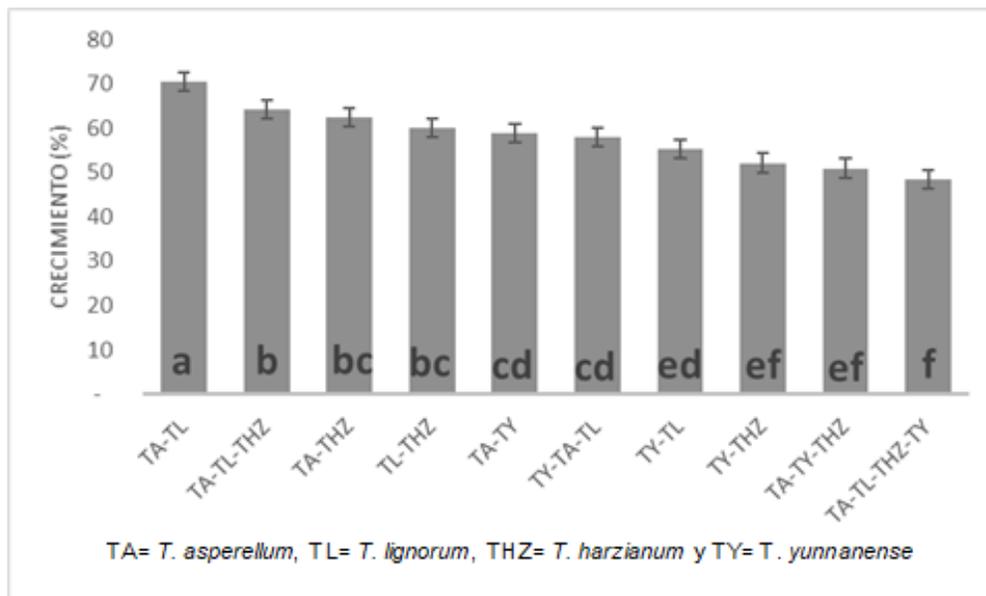
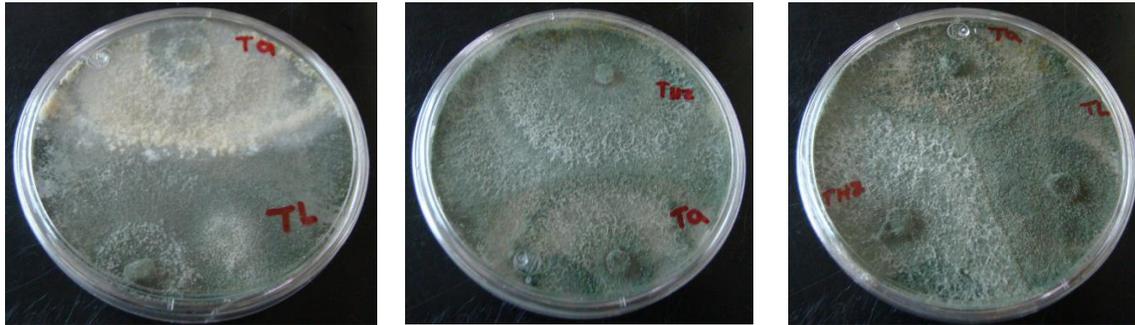


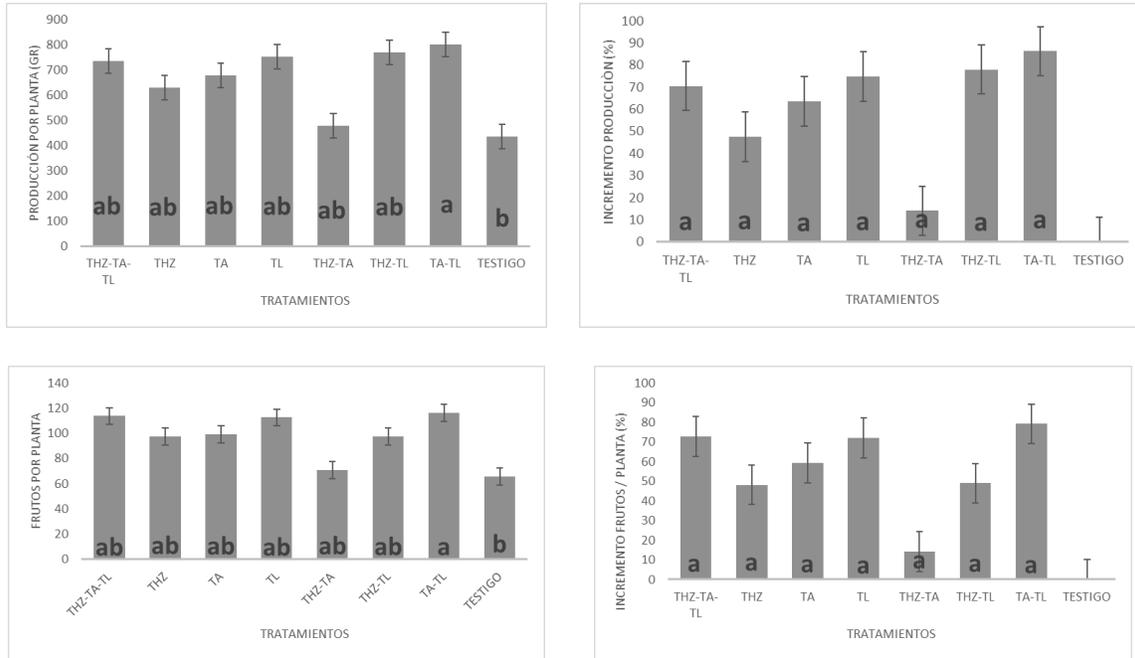
Figura 2. Prueba de compatibilidad de diferentes especies de *Trichoderma* a través del ancho de barrera



Producción y número de frutos por planta. Se encontraron diferencias estadísticas ($p \leq 0,05$), con diferentes grupos estadísticos (Figura 1). La mezcla de TA-TL presentó la mayor producción (802.2 g/planta), seguido de THZ-TL (769.8 g/planta), con respecto al testigo los tratamientos incrementaron la producción en 86 y 78 %, observándose bajos rendimientos en el testigo (434.4 g/planta). En la variable número de frutos por planta (Figura 2) se encontraron diferencias estadísticas ($p \leq 0,05$). La mejor respuesta de la planta a los tratamientos fue TA-TL (116.22), THZ-TA-TL (113.67) y TL (112.56), por su parte el testigo obtuvo 65.78 frutos. Los incrementos con respecto al testigo fueron estadísticamente iguales, sin embargo, numéricamente se situaron en porcentajes del 14 al 79 %. En plantas de chile serrano de la variedad Tampiqueño 74, la aplicación de las diferentes cepas de *Trichoderma* spp., solas y en combinación, aumentan la producción y el número de frutos con respecto al testigo.

Figura 3. Comportamiento de plantas de chile en producción de frutos bajo diferentes tratamientos de *Trichoderma*

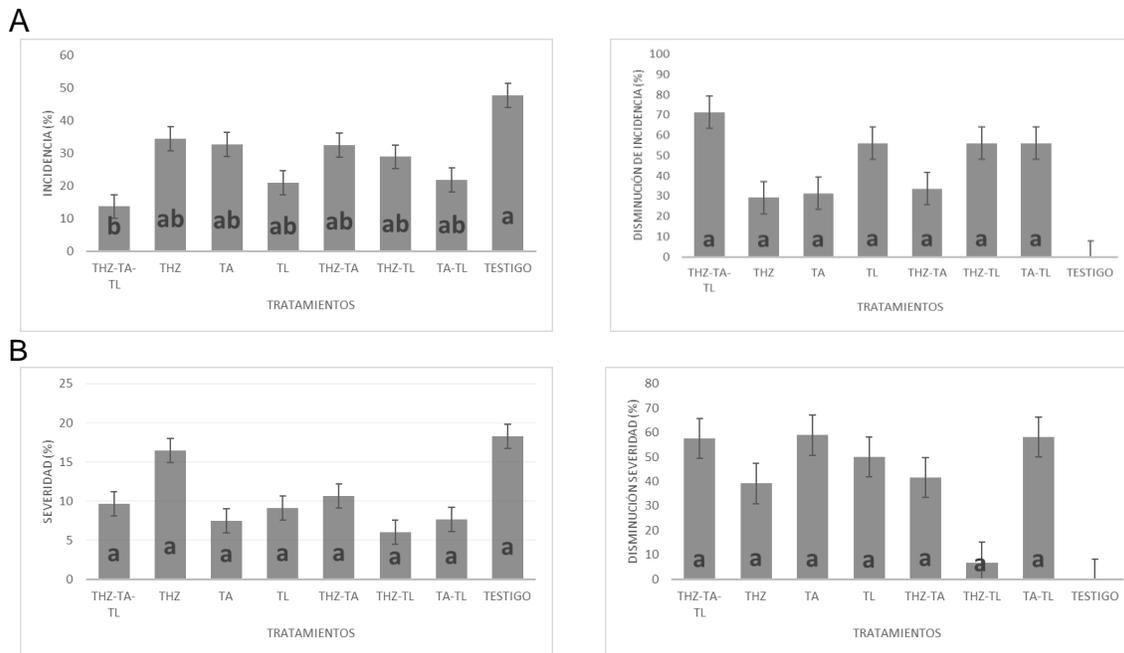
A



Incidencia y severidad de la enfermedad. En la incidencia de la enfermedad (Figura 3) se encontraron diferencias estadísticas marcadas ($p \leq 0,05$), donde el testigo expresó la enfermedad ubicándose con altos porcentajes (47.69 %), y la mejor respuesta se encontró con el tratamiento THZ-TA-TL con 13.67 %, con respecto al testigo disminuyó en un 71 % de la incidencia. En la figura 4 se muestra que la severidad de la enfermedad no expresó diferencias estadísticas ($p \leq 0,05$), donde se encuentran todos los tratamientos en un mismo grupo estadístico y con porcentajes en el testigo del 18.24 y 6.05 en THZ-TL, con una disminución de la severidad del 7 al 59 %, con respecto al testigo. Los efectos perjudiciales de la marchitez del chile se reducen con la aplicación de diferentes especies de *Trichoderma*, esto se pudo constatar en la presente investigación, de igual forma, Sánchez *et al.*, (2019) explican que al confrontar a *Trichoderma* spp. con *Pythium ultimum* existe antagonismo *in vitro* del fitopatógeno, además, en condiciones de campo se reduce la enfermedad en sintomatología en raíz

y área foliar. La combinación de microorganismos compatibles desencadenan e incrementan la respuesta de defensa en la planta, comparado cuando son suministrados microbios solos, además, coadyuban en la protección contra fitopatógenos (Jain *et al.*, 2012).

Figura 4. Comportamiento de marchitez del cultivo del chile bajo tratamientos de diferentes especies de *Trichoderma* solo y en combinación



Ácido indol acético (AIA). Como se muestra en la Figura 5, la cepa TL expreso una reacción Salkowski positiva al AIA, con una coloración rosácea, lo que no se observó en las cepas TA, THZ y TY.



Figura 5. Reacción Salkowski para determinar la presencia de Ácido Indol Acético

DISCUSIÓN

En nuestro estudio encontramos que algunas especies de *Trichoderma* son compatibles, lo que concuerda con la investigación de Ortuño *et al.*, (2013), además, ellos demostraron que cada cepa tiene la capacidad de producir metabolitos secundarios específicos, que serán promotores del crecimiento, aumentando el rendimiento, y controlar ciertas enfermedades, con estas características pueden ser compatibles y se pueden mezclar, dando como resultado un mayor efecto benéfico en las interacciones del agroecosistema. En condiciones de campo encontramos una interacción positiva al inocular combinaciones de *Trichoderma* spp., donde se aumentó la producción de las plantas. Alejo *et al.*, (2015), estudiaron y comprobaron que los aislamientos de *Trichoderma* spp. provenientes de patosistemas silvestres y agrícolas encontraron un efecto promotor de crecimiento en plantas de *Capsicum chinense* Jacq., donde reportan incrementos con respecto al testigo en altura (55.5 %) y biomasa seca aérea (47.05 %). En estudios con chile dulce (*Capsicum annum* L.) la aplicación

de *T. asperellum* estimula el crecimiento de las plántulas en la etapa de almácigo, en condiciones de invernadero el filtrado al 50 % de este microorganismo mejoró la elongación de la raíz, promovió el incremento en la biomasa de la raíz y el área foliar, mostrándose un buen desarrollo foliar de las plantas comparadas con el testigo (Brenes *et al.*, 2019). El aumento en el rendimiento lo podemos asociar a la producción de AIA, ya que se ha demostrado que las especies de *Trichoderma*, que interactúan en la rizosfera, lo sintetizan y actúa en la raíz de la planta y puede interferir con el desarrollo y alterar positivamente el equilibrio de auxina en las plantas (Nieto *et al.*, 2017).

CONCLUSIONES

Existe compatibilidad de *Trichoderma lignorum* con *T. asperellum* y *T. harzianum*, en laboratorio y campo, ya que en condiciones *in vitro* no se antagonizan, comparten espacio y permiten la esporulación en estas combinaciones. Se tiene una respuesta favorable a la inoculación de *Trichoderma lignorum* y sus combinaciones con *T. asperellum* y *T. harzianum*, evidenciándose el aumento del rendimiento y sanidad de las plantas de chile serrano tampiqueño 74 sensible a la enfermedad bajo las condiciones de campo de Buenavista, Saltillo, Coahuila.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo económico a través de una beca estudiantil, al M. C. Fidel Maximiliano Peña Ramos por el apoyo en la parte estadística de análisis de datos obtenidos.

REFERENCIAS

- Albañil, J. J. A., Mariscal, A. L. A., Martínez, M. T. O., López, A., Luis, J., Cisneros, L. H. C., Pérez, R. H. A. (2015). Estudio regional de fitopatógenos asociados a la secadera del chile en Guanajuato, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 6(SPE11): 2191-2197. Doi:10.29312/remexca.v0i11.797.
- Alejo, J. C. (2015). *Trichoderma* spp. promotoras del crecimiento en plántulas de *Capsicum chinense* Jacq. y antagónicas contra *Meloidogyne incognita*. *Phyton-International Journal of Experimental Botany*. 84(1): 113-119. <http://opu.to/a/pgEuU>.
- Atanasova, L., Gruber, S., Lichius, A., Radebner, T., Abendstein, L., Münsterkötter, M., Stralis, P., Pawel, P., Kreil, D., Zeilinger, S. (2018). The Gpr1-regulated Sur7 family protein Sfp2 is required for hyphal growth and cell wall stability in the mycoparasite *Trichoderma atroviride*. *Scientific Reports*. 8(1): 12064. Doi:10.1038/s41598-018-30500-y.
- Brenes, M. J., Zúñiga, V. C., Villalobos, A. M., Zúñiga, P. C., Rivera, M. W. (2019). Efectos de *Trichoderma asperellum* en la estimulación del crecimiento en chile dulce (*Capsicum annum*) variedad Nathalie en ambientes protegidos. *Revista Tecnología en Marcha*. 32(3): 79-86. Doi:10.18845/tm.v32i3.4481.
- Contreras, C. H. A., Macías, R. L., Alfaro, C. R., López, B. J. (2014). *Trichoderma* spp. improve growth of *Arabidopsis* seedlings under salt stress through enhanced root development, osmolite production, and Na⁺ elimination through root exudates. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 27(6): 503-514. Doi:10.1094/MPMI-09-13-0265-R.
- De Ramón, C. M., López, P. M., González, C. L., Sánchez, T. P. (2019). PdMFS1 Transporter contributes to *Penicillium digitatum* fungicide resistance and fungal virulence during citrus fruit infection. *Journal of Fungi*. 5(4): 100. Doi: 10.3390/jof5040100.

- Espinoza, A. C. A., Gallegos, M. G., Ochoa, F. Y. M., Hernández, C. F. D., Méndez, A. R., Rodríguez, G. R. (2019). Antagonistas microbianos para biocontrol de la marchitez y su efecto promotor en el rendimiento de chile serrano. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 23: 187-197. Doi:10.29312/remexca.v0i23.2020.
- Jain, A., Singh, S., Kumar Sarma, B., Bahadur, S. H. (2012). Microbial consortium-mediated reprogramming of defence network in pea to enhance tolerance against *Sclerotinia sclerotiorum*. *Journal of Applied Microbiology*. 112(3): 537-550. Doi:10.1111/j.1365-2672.2011.05220.x.
- Mendoza, J. L. H., Pérez, M. I. S., Prieto, J. M. G., Velásquez, J. D. Q., Olivares, J. G. G., Langarica, H. R. G. (2015). Antibiosis of *Trichoderma* spp. strains native to northeastern Mexico against the pathogenic fungus *Macrophomina phaseolina*. *Brazilian Journal of Microbiology*. 46(4): 1093-1101. Doi: 10.1590/S1517-838246420120177.
- Nieto, J. M. F., Steyaert, J. M., Salazar, B. F. B., Nguyen, D. V., Rostás, M., Braithwaite, M., Souza, D. J. T., Bremont, J. F., Ohkura, M., Stewart, A., Mendoza, M. A. (2017). Environmental growth conditions of *Trichoderma* spp. affects indole acetic acid derivatives, volatile organic compounds, and plant growth promotion. *Frontiers in plant science*, 8, 102. Doi:10.3389/fpls.2017.00102.
- Ortuño, N., Miranda, C., Claros, M. (2013). Selección de cepas de *Trichoderma* spp. generadoras de metabolitos secundarios de interés para su uso como promotor de crecimiento en plantas cultivadas. *Journal of the Selva Andina Biosphere*. 1(1). 16-32. http://www.scielo.org.bo/pdf/jsab/v1n1/v1n1_a03.pdf
- Pérez, A. C. E., Carrillo, R. J. C., Chávez, S. J. L., Perales, S. C., Enríquez, V. R., Villegas, A. Y. (2017). Diagnóstico de síntomas y patógenos asociados con marchitez del chile en Valles Centrales de Oaxaca. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 8(2): 281-293. Doi:10.29312/remexca.v8i2.50.

- Probanza, A. (2012). La rizósfera: un" criptoecosistema" vital. Aspectos básicos y aplicados. Congreso Nacional del Medio Ambiente, CONAMA 2012 Universidad CEU San Pablo, pp.17.
- Reithner, B., Ibarra, L. E., Mach, R. L., Herrera, E. A. (2011). Identification of mycoparasitism-related genes in *Trichoderma atroviride*. Appl. Environ. Microbiol. 77(13): 4361-4370. Doi:10.1128/AEM.00129-11.
- Rincón, V. H. A., Torres, T. C., López, P. L., Moreno, L. L., Meraz, M. R., Mendoza, H. V., Castillo, J. A. A. (2010). Los chiles de México y su distribución. SINAREFI, CP, INIFAP, IT-CONKAL, UANL y UAN, pp. 108.
- Salazar, B. F. B., Sánchez, R. D., Becerra, F. A., López, G. M., Nieto, J. F., Mendoza, M. A., Jiménez, B. J. F. (2015). *Arabidopsis thaliana* polyamine content is modified by the interaction with different *Trichoderma* species. Plant Physiology and Biochemistry. 95: 49-56. Doi.10.1016/j.plaphy.2015.07.003.
- Sánchez, M. B., Diánez, F., Moreno, G. A., Gea, F. J., Santos, M. (2019). Plant Growth Promotion and Biocontrol of *Pythium ultimum* by Saline Tolerant *Trichoderma* Isolates under Salinity Stress. International journal of environmental research and public health. 16(11): 2053. Doi:10.3390/ijerph16112053.
- Sang, H., Hulvey, J. P., Green, R., Xu, H., Im, J., Chang, T., Jung, G. (2018). A xenobiotic detoxification pathway through transcriptional regulation in filamentous fungi. American Society for Microbiology mBio. 9(4): e00457-18. Doi:10.1128/mBio.00457-18.
- Schmidt, J. E., Kent, A. D., Brisson, V. L., Gaudin, A. (2019). Agricultural management and plant selection interactively affect rhizosphere microbial community structure and nitrogen cycling. Microbiome. 7(1): 146. Doi:10.1186/s40168-019-0756-9.

- SIAP (2018). Servicios de Información Agroalimentaria y Pesquera. Anuario estadístico. Disponible en: <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>. Consultado en octubre del 2019.
- Steindorff, A. S., Ramada, M. H. S., Coelho, A. S. G., Miller, R. N. G., Pappas, G. J., Ulhoa, C. J., Noronha, E. F. (2014). Identification of mycoparasitism-related genes against the phytopathogen *Sclerotinia sclerotiorum* through transcriptome and expression profile analysis in *Trichoderma harzianum*. *BMC Genomics*. 15(1): 204. Doi:10.1186/1471-2164-15-204.
- Sueke, H., Kaye, S. B., Neal, T., Hall, A., Tuft, S., Parry, C. M. (2010). An *in vitro* investigation of synergy or antagonism between antimicrobial combinations against isolates from bacterial keratitis. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 51(8): 4151-4155. Doi:10.1167/iovs.09-4839.
- Velásquez, V. R., Reveles, T. L. R. (2017). Necrosis foliar; nuevo síntoma asociado a la pudrición de la raíz de chile (*Capsicum annuum*) en Durango y Zacatecas, México. *Revista Mexicana de Micología*. 46: 47-53. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-31802017000200047.

CONCLUSIONES GENERALES

La aplicación de *Trichoderma* y el MFPM (mezcla fermentativa de propagación microbiana) son excelentes alternativas para el control de la marchitez del chile provocada por *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia solani*, además, estos tratamientos aumentan el rendimiento, disminuyen la incidencia y severidad de la enfermedad de plantas de diferentes materiales de chile serrano, todo lo anterior, en las condiciones ambientales del campo experimental El Bajío de la UAAAN en Saltillo, Coahuila.

Por otra parte, las especies de *Trichoderma lignorum*, *T. asperellum* y *T. harzianum* son compatibles en condiciones *in vitro* al compartir espacio y esporular de forma normal, de la misma manera que se tiene una respuesta favorable a la inoculación de *Trichoderma lignorum* y sus combinaciones con *T. asperellum* y *T. harzianum*, evidenciándose el aumento del rendimiento y sanidad de las plantas de chile serrano tampiqueño 74 sensibles a la enfermedad.

REFERENCIAS

- Aguilar, R. V. H. (2012). Cultivo del chile en México. *Revista fitotecnia mexicana*, 35(4), 264-264. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S018773802012000400001.
- Anaya, L. J. L., González, C. M. M., Villordo, P. E., Rodríguez, G. R., Rodríguez, M. R., Guevara, G. R. G., Guevara, O. L., Montero, T. V., Torres, P. I. (2011). Selección de genotipos de chile resistentes al complejo patogénico de la marchitez. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 2(3), 373-383.
- Arcos, L. J. P. (2017). Determinación de la actividad antifúngica de las saponinas de la quinua frente a los agentes causales del damping off (*Fusarium* spp., *Rhizoctonia* sp., *Pythium* sp.). Tesis de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. pp. 65. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/6676/1/236T0266.pdf>.
- Ariza, Y., Sánchez, L. (2012). Determinación de metabolitos secundarios a partir de *Bacillus subtilis* con efecto biocontrolador sobre *Fusarium* sp. *Nova*, 10(18), 149-155. DOI. 10.22490/24629448.1003.
- Atanasova, L., Le Crom, S., Gruber, S., Couplier, F., Seidl-Seiboth, V., Kubicek, C. P., Druzhinina, I. S. (2013). Comparative transcriptomics reveals different strategies of *Trichoderma* mycoparasitism. *BMC genomics*, 14(1), 121. DOI: 10.1186/1471-2164-14-121.
- Bradáčová, K., Sittinger, M., Tietz, K., Neuhäuser, B., Kandeler, E., Berger, N., Uwe, L. Neumann, G. (2019). Maize Inoculation with Microbial Consortia: Contrasting Effects on Rhizosphere Activities, Nutrient Acquisition and Early Growth in Different Soils. *Microorganisms*, 7(9), 329. Doi. 10.3390/microorganisms7090329.
- Cai, F., Yu, G., Wang, P., Wei, Z., Fu, L., Shen, Q., Chen, W. (2013). Harzianolide, a novel plant growth regulator and systemic resistance elicitor from *Trichoderma*

- harzianum*. Plant physiology and biochemistry, 73, 106-113. DOI: 10.1016/j.plaphy.2013.08.011.
- Carreño, D. C. O., Restrepo, A. M. (2010). Consorcios microbianos: una metáfora biológica aplicada a la asociatividad empresarial en cadenas productivas agropecuarias. Revista de la Facultad de Ciencias Económicas: Investigación y Reflexión, 18(2), 55-74. <https://www.redalyc.org/pdf/909/90920053003.pdf>
- 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. DOI: 10.1007/BF02010476.
- Condori, P. S. J., Fernández, G. P. R., Valderrama, V. M. R. (2019). Aislamiento y caracterización de *Streptomyces* spp. rizosféricos promotores del crecimiento vegetal. Idesia (Arica), 37(2), 109-116. Doi:10.4067/S0718-34292019000200109.
- Elamathi, E., Malathi, P., Viswanathan, R., Sundar, A. R. (2018). Expression analysis on mycoparasitism related genes during antagonism of *Trichoderma* with *Colletotrichum falcatum* causing red rot in sugarcane. Journal of plant biochemistry and biotechnology, 27(3), 351-361. DOI: 10.1007/s13562-018-0444-z.
- Espinoza, A. C. A., Gallegos, M. G., Fuentes, O. Y. M., Hernández, C. F. D., Méndez, A. R., Rodríguez, G. R. (2018). Hongos asociados a la secadera del Chile en el Sur de Tamaulipas, p. s41. Memorias del XX Congreso Internacional y XLV Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología. Agosto del 2018, Saltillo, Coahuila.
- FAOSTAT. (2017). world production of chili cultivation. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>. Consultado el 26 de diciembre del 2019.
- González, C. M. M., Sánchez, F. D., Paredes, M. R., Godoy, H. M., Anaya, L. J., Gámez, V. M. F., Medina, C. T., Ruíz, C. E., Ruíz, L. A., Cárdenas, B. R., Cárdenas, A. J. R., Torres, P. I., Rendón, P. E., Martínez, S. J., Mojarro, D. F., Villaseñor, E. O. M., Guerrero, A. B. Z. (2009). GUÍA PARA EL MANEJO DE LA MARCHITEZ

DEL CHILE EN GUANAJUATO. Editorial Prometeo Editores S. A. de C. V. pp 1 – 34.

González, E., Yáñez, M. J., Santiago, V., Montero, Á. (2004). Biodiversidad fungosa en la marchitez del chile y algunos factores involucrados, en Tlacotepec de José Manzo, el Verde, Puebla. *Agrociencia*, 38(6), 653-661. <https://www.redalyc.org/pdf/302/30238609.pdf>

Hernández, C. F. D., Lira, S. R. H., Gallegos, M. G., Hernández, S. M., Solis, G. S. (2014). Biocontrol de la marchitez del chile con tres especies de *Bacillus* y su efecto en el crecimiento y rendimiento. *Phyton* (Buenos Aires), 83(1), 49-55. https://www.researchgate.net/profile/Ricardo_LiraSaldivar/publication/269708635_FYTON/links/54b3e6b30cf2318f0f969815.pdf.

Hernández, M. D. J., Carmona, J. J., Hidalgo, L. M. E., Dendooven, L., Marsch, M. R., Cañizares, V. R. O. (2016). Identificación morfológica y filogenética de un consorcio microbiano fotosintético de posible interés biotecnológico. *Hidrobiológica*, 26(2), 311-321. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0188-88972016000200311&lng=es&tlng=es.

Hoyos, P. A., Luna, C. A., Hernández, E. O., Gayosso, E. M., Valenzuela, N. L., Cureño, H. J. B. (2019). Antagonismo de *Trichoderma* spp. vs hongos asociados a la marchitez de chile. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 10(6), 1259-1272. Doi: 10.29312/remexca.v10i6.1326.

López, T., Dominguez, L., García, J. (2007). Arreglo estructural de un consorcio microbiano de interés alimentario en la producción del vinagre. Trabajo presentado en el octavo Congreso Nacional de Microscopía, Octubre, México. <https://es.scribd.com/document/77157016/CONSORCIO-MICROBIANO>

Lozano, A. N., Guzmán, P. R. A., Zavaleta, M. E., Aguilar, R. V. H., Ayala, E. V. (2015). Etiología y evaluación de alternativas de control de la marchitez del chile de árbol (*Capsicum annuum* L.) en La Vega de Metztitlán, Hidalgo, México. *Revista mexicana de fitopatología*, 33(1), 31-53.

http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0185-33092015000100031&script=sci_arttext&tlng=en.

Manure, C., Manure, C., Polyethylene, T. (1995). Control Integrado de la Marchitez del Chile (*Capsicum annuum* L.) ocasionada por el hongo *Phytophthora capsici* Leo., en la Región de Valsequillo, Puebla. Fitopatología, 30(1), 47-55. file:///C:/Users/espín/Downloads/12.1995Chvez-Alfaroetal.1995.pdf

Martínez, B., Infante, D., Reyes, Y. (2013). *Trichoderma* spp. y su función en el control de plagas en los cultivos. Revista de Protección Vegetal, 28(1), 1-11. http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1010-27522013000100001&script=sci_arttext&tlng=en.

Martínez, R. I., De La Cruz, R. Y., Alvarado, G. A., Vega, A. J., Fraire, M. A., Alvarado, R. M., Balderas, H. V., Fraire, V. S. (2017). Draft genome sequence of *Bacillus velezensis* 2A-2B strain: a rhizospheric inhabitant of *Sporobolus airoides* (Torr.) Torr., with antifungal activity against root rot causing phytopathogens. Standards in genomic sciences, 12(1), 73. Doi: 10.1186/s40793-017-0289-4.

Medina, M. D. D., Morales, G. G., Castillo, F. D. H., Fuente, Y. M. O., Olivas, A. F. (2013). Actinomicetos antagónicos contra hongos fitopatógenos de importancia agrícola. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas, 4(8), 1187-1196. Doi:10.29312/remexca.v4i8.1132.

Mojica, M. V., Luna, O. H. A., Sandoval, C. C. F., Pereyra, A. B., Morales, R. L. H., González, A. N. A., Hernández, L. C. E., Alvarado, G. O. G. (2009). Control biológico de la marchitez del chile (*Capsicum annuum* L.) por *Bacillus thuringiensis*. Phytón (Buenos Aires), 78(2), 105-110. <http://www.revistaphyton.fund-romuloraggio.org.ar/vol78/MOJICA-MARIN.pdf>.

Muaaz, M. A., Muhammad, A. S., Zeeshan, A., Shahida, H. (2007). Production of surfactin from *Bacillus subtilis* MZ-7 grown on pharmamedia commercial medium. Microbial Cell Factories. 6:17. DOI:10.1186/1475-2859-6-17.

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. DOI: 10.1007/s12088-012-0308-5.
- Ramírez, M. M., Arcos, C. G., Mata, V. H., Vázquez, G. E., Méndez, A. R. (2015). Variedades e híbridos de chile para el sur de Tamaulipas. Folleto técnico, primera edición. México. INIFAP. pp 31-33.
- Ramos, S. R. U., Gutiérrez, S. J. G., Rodríguez, G. R., Salcedo, M. S. M., Hernández, L. C. E., Luna, O. H. A., Jiménez, B. J. F., Velázquez, S. F., Almeyda, H. I. (2010). Antagonismo de dos ascomicetos contra *Phytophthora capsici* Leonian, causante de la marchitez del chile (*Capsicum annuum* L.). Revista mexicana de fitopatología, 28(2), 75-86. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0185-33092010000200001&script=sci_arttext&tlng=pt
- Rincón, V. H. A., Torres, T. C., López, P. L., Moreno, L. L., Meraz, M. R., Mendoza, H. V., Castillo, J. A. A. (2010). Los chiles de México y su distribución. SINAREFI. pp 108.
- Román, S., Ojeda, G. C., Panduro, A. (2013). Genética y evolución de la alimentación de la población en México. Revista de endocrinología y nutrición. 21(1), 42-51. <https://www.medigraphic.com/pdfs/endoc/er-2013/er131f.pdf>.
- Samaniego, G. B. Y., Reyes, R. A., Moreno, V. O. A., Tun, S. J. M. (2017). Resistencia sistémica inducida contra virus fitopatógenos mediada por la inoculación con la rizobacteria *Bacillus* spp. Revista de Protección Vegetal, 32(1), 10-22. http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1010-27522017000100002&script=sci_arttext&tlng=pt.
- Shafique, S., Shafique, S., Ahmad, A. (2018). Biochemical and molecular screening of varieties of chili plants that are resistant against *Fusarium* wilt infection. European Journal of Microbiology and Immunology, 8(1), 12-19. Doi.10.1556/1886.2017.00031.
- SIAP. (2018). Producción de chile verde en México. <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>. Consultado el 27 de diciembre del 2019.

- Silva, R. H. V., Fernández, P. S. P., Góngora, C. C., Macías, L. B. C., Ávila, Q. G. D. (2009). Distribución espacio temporal de la marchitez del chile (*Capsicum annuum* L.) en Chihuahua e identificación del agente causal *Phytophthora capsici* Leo. Revista mexicana de fitopatología, 27(2), 134-147. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0185-33092009000200006&script=sci_arttext&tlng=pt
- Srivastava, R., Khalid, A., Singh, U. S., Sharma, A. K. (2010). Evaluation of arbuscular mycorrhizal fungus, fluorescent *Pseudomonas* and *Trichoderma harzianum* formulation against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* for the management of tomato wilt. Biological control, 53(1), 24-31. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2009.11.012>.
- Velásquez, V. R., Amador, R. M. D. (2007). Análisis sobre la investigación fitopatológica de chile seco (*Capsicum annuum* L.), realizada por el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias en los estados de Aguascalientes y Zacatecas, México. Revista mexicana de fitopatología, 25(1), 80-84. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0185-33092007000100011&script=sci_arttext
- Velásquez, V. R., Reveles, T. L. R., Reveles, H. M. (2013). Manejo de las principales enfermedades del chile para secado en el norte centro de México. INIFAP Norte Centro, Campo Experimental Zacatecas. Folleto técnico Num. 50, p 1-57. http://biblioteca.inifap.gob.mx:8080/jspui/bitstream/handle/123456789/3983/CIRNOC_010208218500050819ok.pdf?sequence=1
- Vinale, F., Sivasithamparam, K., Ghisalberti, E. L., Marra, R., Barbetti, M. J., Li, H., Lorito, M. (2008). A novel role for *Trichoderma* secondary metabolites in the interactions with plants. Physiological and molecular plant pathology, 72(1-3), 80-86. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2008.05.005>.
- Wu, Q., Ni, M., Dou, K., Tang, J., Ren, J., Yu, C., Chen, J. (2018). Co-culture of *Bacillus amyloliquefaciens* ACCC11060 and *Trichoderma asperellum* GDFS1009

enhanced pathogen-inhibition and amino acid yield. *Microbial cell factories*, 17(1), 155. DOI:10.1186/s12934-018-1004-x.

Wu, Z., Huang, Y., Li, Y., Dong, J., Liu, X., Li, C. (2019). Bio-control of *Rhizoctonia solani* via induction of the defense mechanism and antimicrobial compounds produced by *Bacillus subtilis* SL-44 on pepper (*Capsicum annuum* L.). *Frontiers in Microbiology*, 10, 2676. Doi.10.3389/fmicb.2019.02676.

Zapata, V. A., Sánchez, S. M., del Río, R. A., Silos, E. H., Perales, S. C., Flores, B. S., González, C. M. M., Valera, M. L. L. (2012). *Phytophthora capsici* epidemic dispersion on commercial pepper fields in Aguascalientes, Mexico. *The Scientific World Journal*, 2012. doi: 10.1100/2012/341764.