

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO

**DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA**



Microencapsulación de *Bacillus subtilis* y *Trichoderma asperellum* y su efecto antagónico sobre *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia solani* y en el desarrollo de plantas de Chile (*Capsicum annum*)

Por:

JUAN RUBÉN JAIMES CEDILLO

T E S I S

Presentada Como Requisito Parcial Para Obtener el Título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Saltillo, Coahuila, México

Abril de 2011

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO

División de Agronomía
Departamento de Parasitología

Microencapsulación de *Bacillus subtilis* y *Trichoderma asperellum* y su efecto antagónico sobre *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia solani* y en el desarrollo de plantas de Chile (*Capsicum annuum*)

Presentada Por:

JUAN RUBÉN JAIMES CEDILLO

Tesis

Que somete a consideración del H. Jurado Examinador como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Aprobada

Presidente del Jurado



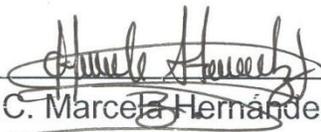
Dr. Francisco Daniel Hernández Castillo

Sinodal



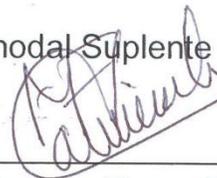
Dr. Gabriel Gallegos Morales

Sinodal



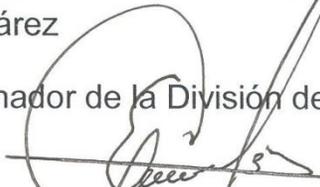
M.C. Marcela Hernández Suárez

Sinodal Suplente



Dr. Mariano Flores Dávila

Coordinador de la División de Agronomía



Dr. Mario Ernesto Vázquez Badillo

Saltillo, Coahuila, México

Coordinación

Abril de 2011 División de Agronomía



ÍNDICE DE CONTENIDO

| | Página |
|--|--------|
| ÍNDICE DE CUADROS ----- | v |
| ÍNDICE DE FIGURAS ----- | vi |
| ÍNDICE DE CUADROS DE APÉNDICE ----- | vii |
| AGRADECIMIENTOS ----- | ix |
| DEDICATORIAS ----- | x |
| INTRODUCCIÓN ----- | 1 |
| | |
| REVISIÓN DE LITERATURA ----- | 4 |
| El Cultivo del Chile y su Importancia ----- | 4 |
| Clasificación Taxonómica del Chile ----- | 4 |
| Descripción Botánica ----- | 5 |
| Condiciones que Favorecen al Cultivo ----- | 6 |
| Climáticas ----- | 6 |
| Hídricas y Edáficas ----- | 6 |
| Plagas del Cultivo ----- | 7 |
| Daños Causados por Enfermedades ----- | 7 |
| <i>Rhizoctonia solani</i> ----- | 8 |
| Condiciones Favorables a <i>Rhizoctonia solani</i> ----- | 8 |
| Síntomas ----- | 8 |
| Ciclo de la Enfermedad ----- | 9 |
| Métodos de Control ----- | 9 |
| Control Cultural ----- | 9 |
| Control Químico ----- | 10 |
| Control Biológico ----- | 10 |
| <i>Fusarium oxysporum</i> ----- | 11 |
| Síntomas ----- | 11 |
| Ciclo de la enfermedad ----- | 11 |
| Métodos de Control ----- | 11 |

| | |
|---|--------|
| Control Cultural ----- | 11 |
| Control Químico ----- | 12 |
| Variedades Resistentes ----- | 12 |
| Control Biorracional ----- | 12 |
| Control Biológico ----- | 13 |
| El Control Biológico Como Alternativa en el Manejo Integrado de Enfermedades ----- | 13 |
| Promotores de Crecimiento ----- | 14 |
| Generalidades de <i>Bacillus</i> ----- | 15 |
| Modo de Acción de <i>Bacillus subtilis</i> ----- | 15 |
| Antibiosis ----- | 15 |
| Competencia ----- | 16 |
| Inducción del Crecimiento ----- | 16 |
| Inducción de Resistencia ----- | 16 |
| Control Biológico con <i>Bacillus subtilis</i> ----- | 16 |
| <i>Bacillus subtilis</i> Como Promotor del Desarrollo de Plantas ---- | 17 |
| Generalidades de <i>Trichoderma</i> ----- | 18 |
| Modo de Acción de <i>Trichoderma</i> ----- | 18 |
| Micoparasitismo ----- | 19 |
| Competencia ----- | 19 |
| Antibiosis ----- | 19 |
| Compuestos Volátiles ----- | 20 |
| Control Biológico con <i>Trichoderma</i> ----- | 20 |
| <i>Trichoderma</i> Como Inductor del Desarrollo de Plantas ----- | 21 |
| La Microencapsulación ----- | 21 |
| MATERIALES Y MÉTODOS ----- | 23 |
| Ubicación del Experimento ----- | 23 |
| Confrontación <i>In vitro</i> de <i>Bacillus subtilis</i> y <i>Trichoderma asperellum</i> - | 23 |
| Obtención de los Fitopatógenos ----- | 23 |
| <i>Rhizoctonia solani</i> ----- | 23 |

| | |
|---|----|
| <i>Fusarium oxysporum</i> ----- | 24 |
| Obtención de las Esporas de <i>Bacillus subtilis</i> ----- | 24 |
| Obtención de las Esporas de <i>Trichoderma asperellum</i> ----- | 25 |
| Proceso de Microencapsulación ----- | 25 |
| Lavado de Semilla de Chile ----- | 26 |
| Producción de Plántula de Chile ----- | 26 |
| Medición de la Clorofila de Plantas de Chile ----- | 27 |
| Trasplante ----- | 27 |
| Diseño Experimental ----- | 27 |
| Experimento I ----- | 27 |
| Experimento II ----- | 28 |
| Experimento III ----- | 29 |
| Análisis Estadístico ----- | 30 |
| RESULTADOS Y DISCUSIÓN ----- | 32 |
| Confrontación <i>in vitro</i> de <i>Bacillus subtilis</i> y <i>Trichoderma asperellum</i> - | 32 |
| Experimento I. Medición de la clorofila en plantas de chile, tratadas | |
| con microcápsulas (MIC's) y el tratamiento testigo ----- | 32 |
| Experimento II. Efecto en el Desarrollo de Plantas de Chile, | |
| Inoculadas con <i>Rhizoctonia solani</i> y Tratadas con Microcápsulas y | |
| Suspensión de Esporas de <i>Bacillus subtilis</i> y <i>Trichoderma</i> | |
| <i>asperellum</i> ----- | 33 |
| Altura de Planta ----- | 33 |
| Longitud de Raíz ----- | 34 |
| Peso Fresco ----- | 35 |
| Peso Seco ----- | 36 |
| Experimento III. Efecto en el Desarrollo de Plantas de Chile, | |
| Inoculadas con <i>Fusarium oxysporum</i> y Tratadas con Microcápsulas | |
| (MIC's) y Suspensión de <i>Bacillus subtilis</i> y <i>Trichoderma asperellum</i> - | |
| Altura de Planta ----- | 37 |
| Longitud de Raíz ----- | 38 |

| | |
|-------------------------|----|
| Peso Fresco ----- | 40 |
| Peso Seco ----- | 40 |
| CONCLUSIONES ----- | 43 |
| LITERATURA CITADA ----- | 44 |
| APÉNDICE ----- | 53 |

ÍNDICE DE CUADROS

| Cuadro | | Página |
|--------|---|--------|
| 1 | Medición de clorofila en plantas de chile expresado en unidades SPAD, tratadas con microcápsulas (MIC's) y el tratamiento testigo- | 33 |
| 2 | Altura de plantas de chile expresada en cm, inoculadas con <i>R. solani</i> , tratadas con microcápsulas (MIC's) y suspensión de <i>B. subtilis</i> y <i>T. asperellum</i> ----- | 33 |
| 3 | Longitud de raíz de planta de chile expresada en cm, inoculadas con <i>R. solani</i> , tratadas con microcápsulas (MIC's) y suspensión de <i>B. subtilis</i> y <i>T. asperellum</i> ----- | 34 |
| 4 | Peso fresco de las plantas de chile expresada en g, inoculadas con <i>R. solani</i> , tratadas con microcápsulas (MIC's) y suspensión de <i>B. subtilis</i> y <i>T. asperellum</i> ----- | 36 |
| 5 | Peso seco de plantas de chile expresado en g, inoculadas con <i>R. solani</i> , tratadas con microcápsulas (MIC's) y suspensión de <i>B. subtilis</i> y <i>T. asperellum</i> ----- | 37 |
| 6 | Altura de plantas de chile expresado en cm, inoculadas con <i>F. oxysporum</i> , tratadas con microcápsulas (MIC's) y suspensión de <i>B. subtilis</i> y <i>T. asperellum</i> ----- | 38 |
| 7 | Longitud de raíz de plantas de chile expresado en cm, inoculadas con <i>F. oxysporum</i> , tratadas con microcápsulas (MIC's) y suspensión de <i>B. subtilis</i> y <i>T. asperellum</i> ----- | 39 |
| 8 | Peso fresco de plantas de chile expresado en g, inoculadas con <i>F. oxysporum</i> , tratadas con microcápsulas (MIC's) y suspensión de <i>B. subtilis</i> y <i>T. asperellum</i> ----- | 40 |
| 9 | Peso seco de plantas de chile expresado en g, inoculadas con <i>F. oxysporum</i> , tratadas con microcápsulas (MIC's) y suspensión de <i>B. subtilis</i> y <i>T. asperellum</i> ----- | 41 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| Figura | | Página |
|--------|---|--------|
| 1 | Confrontación <i>in vitro</i> de <i>B. subtilis</i> (derecha) y <i>T. asperellum</i> (izquierda) ----- | 32 |
| 2 | Altura de plantas de chile, de izquierda a derecha: MIC's, Testigo y Suspensión de <i>B. subtilis</i> y <i>T. asperellum</i> ----- | 34 |
| 3 | Longitud de raíz de plantas de chile de izquierda a derecha: Testigo, MIC's, Suspensión de <i>B. subtilis</i> y <i>T. asperellum</i> , Suspensión de <i>B. subtilis</i> y <i>T. asperellum</i> + <i>R. solani</i> , MIC's + <i>R. solani</i> y <i>R. solani</i> ----- | 35 |
| 4 | Altura de plantas de chile, de izquierda a derecha: MIC's, Suspensión de <i>B. subtilis</i> y <i>T. asperellum</i> , MIC's + <i>F. oxysporum</i> , Suspensión de <i>B. subtilis</i> y <i>T. asperellum</i> , Testigo y <i>F. oxysporum</i> - | 38 |
| 5 | Longitud de raíz de plantas de chile, de izquierda a derecha: Testigo, MIC's, Suspensión de <i>B. subtilis</i> y <i>T. asperellum</i> , Suspensión de <i>B. subtilis</i> y <i>T. asperellum</i> + <i>F. oxysporum</i> , MIC's + <i>F. oxysporum</i> y <i>F. oxysporum</i> ----- | 39 |

ÍNDICE DE CUADROS DEL APÉNDICE

| Cuadro | | Página |
|--------|---|--------|
| 1 | Clorofila de plantas de chile expresado en unidades SPAD inoculadas con microcápsulas de <i>B. subtilis</i> y <i>T. asperellum</i> (MIC's) y el testigo----- | 54 |
| 2 | Análisis de varianza de la medición de clorofila de plantas de chile expresado en unidades SPAD, inoculadas con microcápsulas (MIC's) de <i>B. subtilis</i> y <i>T. asperellum</i> y el testigo----- | 54 |
| 3 | Altura de plantas de chile expresado en cm, inoculadas con <i>R. solani</i> , tratadas con microcápsulas (MIC's) y suspensión de <i>B. subtilis</i> y <i>T. asperellum</i> ----- | 55 |
| 4 | Análisis de varianza de la altura de plantas de chile expresado en cm, inoculadas con <i>R. solani</i> , tratadas con microcápsulas (MIC's) y suspensión de <i>B. subtilis</i> y <i>T. asperellum</i> ----- | 55 |
| 5 | Longitud de raíz de plantas de chile expresado en cm, inoculadas con <i>R. solani</i> , tratadas con microcápsulas (MIC's) y suspensión de <i>B. subtilis</i> y <i>T. asperellum</i> ----- | 55 |
| 6 | Análisis de varianza de la longitud de raíz de plantas de chile expresado en cm, inoculadas con <i>R. solani</i> , tratadas con microcápsulas (MIC's) y suspensión de <i>B. subtilis</i> y <i>T. asperellum</i> ----- | 56 |
| 7 | Peso fresco de plantas de chile expresado en g, inoculadas con <i>R. solani</i> , tratadas con microcápsulas (MIC's) y suspensión de <i>B. subtilis</i> y <i>T. asperellum</i> ----- | 56 |
| 8 | Análisis de varianza del peso fresco de plantas de chile expresado en g, inoculadas con <i>R. solani</i> , tratadas con microcápsulas (MIC's) y suspensión de <i>B. subtilis</i> y <i>T. asperellum</i> ----- | 56 |
| 9 | Peso seco de plantas de chile expresado en g, inoculadas con <i>R. solani</i> , tratadas con microcápsulas (MIC's) y suspensión de <i>B. subtilis</i> y <i>T. asperellum</i> ----- | 57 |
| 10 | Análisis de varianza del peso seco de plantas de chile expresado | |

| | | |
|----|--|----|
| | en g, inoculadas con <i>R. solani</i> , tratadas con microcápsulas (MIC's) y suspensión de <i>B. subtilis</i> y <i>T. asperellum</i> ----- | 57 |
| 11 | Altura de plantas de chile expresado en cm, inoculadas con <i>F. oxysporum</i> , tratadas con microcápsulas (MIC's) y suspensión de <i>B. subtilis</i> y <i>T. asperellum</i> ----- | 57 |
| 12 | Análisis de varianza de la altura de plantas de chile expresado en cm, inoculadas con <i>F. oxysporum</i> , tratadas con microcápsulas (MIC's) y suspensión de <i>B. subtilis</i> y <i>T. asperellum</i> ----- | 58 |
| 13 | Longitud de raíz de plantas de chile expresado en cm, inoculadas con <i>F. oxysporum</i> , tratadas con microcápsulas (MIC's) y suspensión de <i>B. subtilis</i> y <i>T. asperellum</i> ----- | 58 |
| 14 | Análisis de varianza de la longitud de raíz de plantas de chile expresado en cm, inoculadas con <i>F. oxysporum</i> , tratadas con microcápsulas (MIC's) y suspensión de <i>B. subtilis</i> y <i>T. asperellum</i> ----- | 58 |
| 15 | Peso fresco de plantas de chile expresado en g, inoculadas con <i>F. oxysporum</i> , tratadas con microcápsulas (MIC's) y suspensión de <i>B. subtilis</i> y <i>T. asperellum</i> ----- | 59 |
| 16 | Análisis de varianza del peso fresco de plantas de chile expresado en g, inoculadas con <i>F. oxysporum</i> , tratadas con microcápsulas (MIC's) y suspensión de <i>B. subtilis</i> y <i>T. asperellum</i> ----- | 59 |
| 17 | Peso seco de plantas de chile expresado en g, inoculadas con <i>F. oxysporum</i> , tratadas con microcápsulas (MIC's) y suspensión de <i>B. subtilis</i> y <i>T. asperellum</i> ----- | 59 |
| 18 | Análisis de varianza del peso seco de plantas de chile expresado en g, inoculadas con <i>F. oxysporum</i> , tratadas con microcápsulas (MIC's) y suspensión de <i>B. subtilis</i> y <i>T. asperellum</i> ----- | 60 |

AGRADECIMIENTOS

A Dios y a la Virgen de Guadalupe, por darme la oportunidad de vivir, por guiarme por un buen camino, por la fortaleza que hasta hoy me ha dado y por permitirme cumplir uno de mis más apreciados sueños.

A mi Alma Terra Mater, La Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, porque me abrió las puertas y me formo como profesional, porque no me equivoque en haberla escogido para realizar mi carrera y simplemente porque siempre estaré orgulloso de ella.

Al **Dr. Francisco Daniel Hernández Castillo**, por brindarme su valioso tiempo en la revisión de tesis, por las asesorías, consejos, comentarios y correcciones acertadas de este trabajo.

A la **M.C. Marcela Hernández Suárez**, quien siempre estuvo atenta en ver que no me faltara nada para la culminación de este trabajo, por haberme brindado su amistad, por sus consejos, comentarios y por haber aceptado su colaboración en esta investigación.

Al **Dr. Gabriel Gallegos Morales**, por la ayuda en la realización de este trabajo y por las atinadas correcciones realizadas en esta tesis.

Al **M.C. Francisco Castillo Reyes**, por el apoyo en el análisis e interpretación de datos.

A la **T.A. Silvia Ovalle Nava**, por el apoyo brindado en el trabajo de laboratorio.

A mis Profesores del Departamento de Parasitología, a todos ustedes que me formaron académicamente, dando lo mejor de sus conocimientos.

A la Empresa Agrobiological Control S.A. de C.V. y al CONACYT por el financiamiento otorgado al **Proyecto: 138837-PROINNOVA-C0003-2010-02**.

DEDICATORIAS

A mis Padres:

Floriberto Jaimes Castro

Y

Teresa Cedillo Miranda

Quienes siempre me han brindado todo su cariño, cuidado, apoyo y amor, por sus consejos, por hacerme un hombre de bien y por haberme dado una carrera.

A mis Hermanos:

Hendrihs

Beto

Huri

Que siempre me han acompañado durante el transcurso de mi vida, con quienes he compartido muchos momentos de felicidad y que han sido la fuerza que me impulso a terminar mi carrera, que dios nos mantenga siempre juntos.

A mis Abuelos:

Rubén Jaimes y Ma. De Jesús

Juan Cedillo (+) y Josefina Miranda

Por sus consejos, por su cariño y por todas las bendiciones que ustedes me han dado.

A mis Tíos:

Jaimes Castro: Cary, Juan, Vicky, Gris, Rubén, Aldegundo, Javier, Irving, Arge y Gabriel.

Cedillo y Miranda: Nacho, Juan, Tuty, Julio y Nancy.

A todo ustedes que siempre me han apoyado.

A mis Primos:

Porque siempre hemos compartido momentos de felicidad. Especialmente a Juan Ignacio Domínguez Jaimes (+) quien desde pequeño nos enseñó el valor de la vida. Nachito siempre estarás aquí conmigo y algún día estaremos juntos nuevamente.

A mis Compadres:

Andrés y Guadalupe. Por el apoyo que me han brindado y por la confianza que he recibido de su parte.

Al Lic. Francisco Ortiz Serafín.

Quien desde que entre a la Universidad siempre me ha apoyado incondicionalmente.

A mis Compañeros de la Ex – Sociedad de Alumnos 2009- 2010.

Que en las buenas y las malas siempre estuvimos juntos y porque siempre me hacían ver mis errores y mis aciertos, especialmente a Adriana.

A mis Compañeros y Amigos de la Generación CX de la carrera de Parasitología.

Al Ing. Andrés Briones, Ing. Juan Carlos Sánchez, Ing. Fernando Barreto, Ing. José Miguel Moo, Ing. Benjamín Moreno, Ing. Memo Dávila, Ing. Oscar Gonzales, Ing. Omegar Hernández, Ing. Pifas Castro, Ing. Abraham Cruz, Ing. Tomas Maldonado, Ing. Yuliana Anzures, Ing. Paloma Santana, Ing. Alma Anrubio, Ing. Hortensia Pérez, Ing. Yoseni, Ing. Yanira, Ing. Lourdes, Ing. Magda, Ing. Nayeli y especialmente al Ing. Florencio Espínola y al Ing. José Daniel Díaz que aparte de ser unos excelentes amigos me apoyaron en la realización de esta investigación.

A mis amigos de San José Poliutla, Gro.

Al chacaloso Pancho Castro, José Carlos López y Benjamín Osorio, a ustedes por brindarme su amistad incondicional.

A mis amigos

Dr. Luis Patricio Guevara, Quintín, Dorian, la Araña, el Pollo, Leonel y a el Lic. Pedro Alonso.

A Lupita quien ha estado conmigo en las buenas y las malas, brindándome su amor y su cariño.

Hoy he Terminado un capitulo mas en mi vida, pero tengo la firme convicción que aun me faltan muchos más por escribir...

INTRODUCCIÓN

La producción de chile a escala mundial se localiza principalmente en China, México, Turquía, España, Estados Unidos, Nigeria e Indonesia.

México es la región del mundo en donde se produce no sólo el mayor volumen de chile en fresco, sino además el mayor número de variedades. La superficie sembrada oscila en alrededor de 144,109.63 ha, obteniéndose un volumen de producción de un millón de toneladas de frutos frescos y 100 mil ton en seco. El chile serrano tiene su mayor producción en los estados de Veracruz, Tamaulipas, San Luis Potosí, Nayarit, Jalisco y Guanajuato (Calixto, 2009; SIAP 2009).

Uno de los principales problemas de la agricultura sustentable es el control de enfermedades, plagas y malezas. Entre las enfermedades fungosas más importantes por el daño causado a esta hortaliza destacan las ocasionadas por *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia solani*, ya que pueden disminuir más del 50% de rendimiento en el campo; debido a la pudrición radical y lesiones necróticas extensivas en el tallo, lo que finalmente ocasiona la muerte de la planta. (Hernández, *et al.*, 2005).

El uso inadecuado e indiscriminado de químicos como los fungicidas y fertilizantes, ha generado serios problemas de contaminación ambiental, toxicidad y resistencia de enfermedades en el caso de fungicidas. Ello ha motivado a la búsqueda de otros métodos efectivos y no perjudiciales para combatir patógenos e inductores de desarrollo de plantas. Una respuesta positiva y concreta a la campaña mundial de limpieza del planeta es la utilización de microorganismos antagónicos competitivos para la protección de los cultivos de los patógenos fúngicos del suelo. En particular, el uso de especies del género *Trichoderma* y *Bacillus* que han merecido la atención y su uso ha sido ampliamente documentado como agentes de biocontrol, promotores de crecimiento y resistencia de cultivos (García *et al.*, 2006) esto ha motivado que en la actualidad se le otorgue mayor importancia al control biológico ya que permite el uso de menores cantidades de plaguicidas y en algunos casos de fertilizantes (Harman, 2000; Fernández, 2001).

La agricultura orgánica ó ecológica ha adquirido gran importancia en las últimas décadas, ya la producción actual de alimentos se busca que estos se encuentren libres de residuos tóxicos que ponen en riesgo la salud humana, además de la mayor concientización de la necesidad de proteger al medio ambiente; aunado a ello el costo de producción agrícola se incrementan por la aplicación de fertilizantes cada vez más caros. La producción orgánica se caracteriza por la no utilización de productos de síntesis química en los sistemas de producción agrícola, sino sólo insumos naturales y prácticas agroecológicas (Harman, 2000; Vázquez, 2009).

Durante la década pasada se ha impulsado en la agricultura el uso de polímeros naturales como protectantes de bacterias promotoras de crecimiento. La microencapsulación con biopolímeros protege a los microorganismos de diferentes factores ambientales como el estrés y permite a la célula continuar con su desarrollo y metabolismo; estos microorganismos son liberados gradualmente cuando el biopolímero es degradado por la humedad y el pH del suelo (Yabur *et al.*, 2006). El alginato es un biopolímero que se presenta como una mezcla de sales insolubles de calcio, sodio, potasio y magnesio que se encuentra en las algas cafés (Phaeophyceae) que es usado para encapsular (Arvizu *et al.*, 2002).

La microencapsulación de microorganismos antagonistas ha demostrado su efectividad en el control de fitopatógenos de algunos cultivos; representan una alternativa viable para ser evaluados como formulaciones de agentes de control biológico para disminuir la incidencia y severidad de las enfermedades (Hernández, 2008). Por lo anteriormente señalado se plantean los siguientes objetivos.

1. Elaborar un producto biológico a base de *Bacillus subtilis* y *Trichoderma asperellum* en una presentación solida (microcápsulas) usando como medio solidificante el biopolímero alginato.
2. Comparar la efectividad de las microcápsulas (MIC's) de *Bacillus subtilis* y *Trichoderma asperellum* con una suspensión de *Bacillus subtilis* y *Trichoderma asperellum* en el control de *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia solani*.

3. Comparar la efectividad de las microcápsulas (MIC's) de *Bacillus subtilis* y *Trichoderma asperellum* con una suspensión de *Bacillus subtilis* y *Trichoderma asperellum* en la promoción y desarrollo de plantas de Chile.

Palabras Clave: Control Biológico, Microencapsulación, Desarrollo, Antagonismo.

REVISIÓN DE LITERATURA

El Cultivo del Chile y su Importancia

En México el chile es uno de los cultivos hortícolas más importantes y el de mayor consumo popular, especialmente en estado fresco, aunque también se consume procesado en forma de salsas, polvos y encurtidos. En nuestro país existe una gran diversidad de chiles de diferentes tipos en cuanto a forma, sabor, color y tamaño (Monreal, 2008). En México hay especies no presentes en otros lugares del mundo, por lo que es considerado centro de origen del género *Capsicum* especie *annuum* (Baltazar, 1995).

El volumen de producción mundial de chiles y pimientos superó 30 millones de ton en 2009, con los rendimientos más significativos en China y México como segundo lugar, seguido por Turquía, Indonesia, España y EUA (Productores de Hortalizas, 2010). Nuestro país logró exportar en el año 2008 más de 225 mil ton (INEGI, 2008).

El chile es uno de los vegetales más importantes en México, en área sembrada y valor económico para exportación. La gran variación en climas y condiciones para su desarrollo que va del nivel del mar a los 2000 msnm permite tener producción tanto para consumo local, como para exportación durante todo el año (Baltazar, 1995). Casi todos los tipos de chile son muy rendidores y por tanto económicamente importantes; esto nos lleva a considerar y poner en práctica todas aquellas medidas de protección que favorezcan el rendimiento máximo del cultivo (Laborde y Pozo 1982).

Clasificación Taxonómica del Chile

El chile pertenece a la familia *Solanaceae* y al género *Capsicum*. A la misma familia botánica pertenecen también otras plantas importantes en la alimentación, como el jitomate, la papa, el tomate y la berenjena, así mismo comparten

enfermedades y plagas que atacan a los cultivos anteriormente mencionados (Pozo, 1981).

Descripción taxonómica (Mendoza, 2006).

División: Angiospermae

Clase: Dicotyledoneae

Subclase: Metachlamydeae

Orden: Tubiflorae

Familia: Solanaceae

Género: *Capsicum*

Especie: *Annuum*

Descripción Botánica

La descripción botánica del género *Capsicum* comprende hierbas anuales o perennes y frutescentes; muchas veces las ramas son divaricadas, provistas de hojas solitarias, con limbo entero senuado, plano o redondo, pedunculadas; las flores pueden ser solitarias o compuestas y axilares o formando cimas; el cáliz es ciatiforme o campanulado, persistentes con cinco sépalos, total o parcialmente unidos, la corola es rotada, de color blanco o violáceo, con tubo muy corto provisto de cinco a seis lóculos imbricados; los estambres en número de cinco a seis; están insertados en tubo de la corola. Los filamentos son muy cortos, las anteras tienen lóculos paralelos y dehiscencia longitudinal. El ovario tiene dos o tres lóbulos apenas marcados; el fruto es una baya poco jugosa, inflada, oblonga, coloidal o subglobosa, con dos o tres lóculos incompletos y placentas poliespermicas; puede ser erecta o pendulosa y cuando madura adquiere sucesivamente diferentes coloraciones: amarilla, anaranjada, roja y café-rojizo; las semillas son subreniformes, muy

comprimidas, con testa reticulada rugosa, embrión redondeado hemicíclico; la periferia del albumen es carnosa (Pinto, 1966).

Condiciones que Favorecen al Cultivo

Climáticas

El cultivo se adapta muy bien a altitudes de 0 hasta 2,300 msnm, se desarrolla bien a temperaturas de 15° a 30 °C, a temperaturas mayores la formación de frutos es mínima. La temperatura óptima del suelo para germinación es de 18–30 °C, la humedad relativa óptima es de 70 a 90%. El cultivo requiere precipitaciones pluviales de 600 a 1200 mm. Las lluvias intensas durante la floración ocasiona la caída de flor por golpe de agua y mal desarrollo de frutos y durante la fructificación ocasiona pudriciones por algunos hongos, una sobredosis de agua induce al desarrollo de enfermedades fungosas en la planta (Orellana *et al.*, 2007).

Este cultivo es de días cortos, ya que su floración es mejor y más abundante, se exige un fotoperiodo de 12 a 15 h por día, en plántula es un cultivo tolerante a la sombra, en semillero la utilización de hasta un 55% de sombra aumenta el tamaño de las plantas lo que favorece la producción en el campo de mayor número de frutos de tamaño grande (Orellana *et al.*, 2007).

Hídricas y Edáficas

El suelo debe satisfacer una lámina de agua total entre 900 y 1,200 mm por ciclo de cultivo desde el trasplante hasta el último corte comercial. Se puede sembrar en suelos de textura ligera a intermedia: franco arenosos, profundos y fértiles, con buena retención de agua y buen drenaje, Con un pH de 5.5 a 7.0, (Orellana *et al.*, 2007).

Plagas del Cultivo

Controlar las plagas es factor importante para una buena producción, entre las principales se encuentran; el pulgón (*Rhopalosiphum maidis* y *Myzus persicae*), barrenillo del chile (*Anthonomus eugenii*), minador de la hoja (*Liriomyza* spp.), mosquita blanca (*Bemisia tabaci* y *Trialeurodes vaporariorum*), chinche verde (*Nezara viridula*), trips de las flores (*Frankliniella occidentalis*), gusano del fruto (*Heliothis zea*), gusano soldado (*Spodoptera exigua*), gusano medidor (*Chrysodeixis chalcites*), gusano trozador (*Agrotis* spp.), gusano falso medidor (*Trichoplusia ni*), pulga saltona (*Epitrix cucumeris*), diabrótica (*Diabrotica* spp.) y ácaros como araña roja (*Tetranychus urticae*) (Soria, 1993; Agrícola Nayarit, 2005; INIFAP, 2010).

Daños Causados por Enfermedades

En México, la producción del cultivo es afectada por diversos organismos patógenos causantes de siniestros parciales o totales, dentro de estos se encuentran hongos, bacterias, virus y nematodos cuyos daños pueden variar de acuerdo en la región donde se ubiquen (Avelar, 1989; Guigon *et al.*, 2001; Ruiz *et al.*, 2001). Como consecuencia algunas regiones productoras importantes han disminuido la superficie de siembra o la producción se ha desplazado a nuevas áreas (Avelar, 1989).

Es reconocida la susceptibilidad de los diferentes tipos de chile a numerosas enfermedades que afectan la calidad y los rendimientos, llegando a causar cuantiosas pérdidas (Guigon *et al.*, 2001).

Frecuentemente en México se aíslan hongos fitopatógenos como *Fusarium* spp. (67%) y *Rhizoctonia solani* (42%), mientras que *Phytophthora capsici* se aísla en una proporción muy baja, otros autores mencionan enfermedades como *Stemphylium solani*, *Sclerotium rolfsii*, *Pythium* spp., *Xanthomonas vesicatoria*, *Cercospora capsici*. Nematodos como *Nacobbus aberrans* y *Meloidogyne* spp. virus como el rizado amarillo también conocido como geminivirus y enchinamiento, virus jaspeado de tabaco, virus mosaico del tabaco, virus mosaico del pepino los cuales son transmitidos por mosquita blanca y pulgón verde; y el virus permanente el cual

es transmitido por el pulgón saltador o Paratrioza. (Rico *et al.*, 2001; Rico, 2002; Álvarez y Delgadillo, 2004; Gonzales *et al.*, 2004; Agrícola Nayarit, 2005; Guillen *et al.*, 2006; INIFAP, 2010).

Rhizoctonia solani

Es un hongo que daña un amplio rango de hospederos que incluye a frutales, hortaliza, ornamentales, forestales, cultivos básicos y otros, ocasionando cuantiosas pérdidas (Valdez, 1993, citado por Plasencia, 2008).

Condiciones Favorables a *Rhizoctonia solani*

El hongo *R. solani* es un habitante natural del suelo. Como resultado de su colonización saprofítica o parasítica, sus propágulos (micelio y esclerocios) sobreviven en el suelo independientemente y en asociación con materia orgánica o en tejidos del hospedante. Los propágulos pueden sobrevivir por varios años sirviendo de inóculo primario para sub-siguientes cultivos (García *et al.*, 2002).

La luz, la temperatura y la humedad del suelo tienen un efecto considerable sobre la actividad parasítica de *R. solani* (Brenchley y Wilcox, 1979).

Síntomas

En condiciones favorables ataca plántulas antes o poco después de la emergencia, las lesiones son hundidas de tamaño variable, con coloraciones de café canela a café rojizo. Las áreas oscuras y necróticas son más evidentes cuando el tejido es atacado, puede llegar a cubrir toda la base del tallo y destruir raíces debilitando la planta o causándole un acentuado amarillamiento. En plantas de más de 15 cm de altura ocasiona marchitez. Los síntomas en la parte aérea son más

notorios después de la floración como marchitamiento y muerte de la planta (Álvarez y Delgadillo, 2004).

Ciclo de la Enfermedad

Este hongo ocasionalmente produce estructuras de resistencia llamados microesclerocios como piedrecillas negras las cuales quedan adheridas a la raíz dando el aspecto de que estuviera impregnado de lodo, generalmente los esclerocios se producen al inicio de las lluvias. *R. solani* sobrevive en residuos de cosecha y se disemina por movimiento de suelo. Los esclerocios germinan entre 8 y 30 °C con óptimo de 21 a 25 °C. Las condiciones que favorecen la incidencia de la enfermedad son exceso de humedad en el suelo y temperatura alrededor de 18 °C o mayor (Álvarez y Delgadillo, 2004).

Métodos de Control

Control Cultural.- Paredes (1989) recomienda que para evitar la presencia del hongo en un terreno es conveniente realizar rotación de cultivos durante dos o cuatro años consecutivos, usar semilla sana y no utilizar como abono estiércol proveniente de ganado no certificado.

Martinson y Rehiyani (1991) determinaron que el uso de estiércol animal (pollo y cerdo) agregado a suelo infestado con *R. solani* puede reducir el potencial de la enfermedad, ambos autores determinaron que el potencial de la enfermedad es mucho menor en suelos abonados con estiércol que en suelos no abonados, por lo que ellos consideran el estiércol como un recurso para una estrategia del control de este patógeno.

Por su parte Schulte *et al.* (2008) mencionan que la aplicación de composta en suelos infestados con *R. solani* aumenta la población microbiana benéfica reduciendo la incidencia de este patógeno.

Ruiz *et al.* (2001) menciona que el encalado de suelo disminuye la incidencia de esta patógeno por el aumento que genera la cal en el pH del suelo, así mismo reportan que la solarización de suelo húmedo aumenta la actividad biológica de antagonistas y disminuye la acción de los fitopatógenos.

Álvarez y Delgadillo (2004) recomiendan evitar exceso de humedad, desinfectar el sustrato y las charolas germinadoras.

Control Químico.- El principal control de estos fitopatógenos se realiza con la aplicación de agroquímicos entre ellos etridiazol, fosetil de aluminio, metalaxil, azoxystrobin, y tiabendazol y (Pérez *et al.*, 2004).

López *et al.* (2009) señala que *R. solani* ha adquirido resistencia a fungicidas orgánicos como el PCNB, Captan, Diclone, Maneb, Thiram así como a fungicidas sistémicos como Carboxil y Benomil. Aunado a esto Álvarez y Delgadillo (2004) mencionan que es recomendable tratar la semilla con Captan o PCNB.

Control Biológico.- Demirci *et al.* (2009) mencionan que *Verticillium biguttatum* crece alrededor de las hifas de *R. solani* estrangulando y penetrando las paredes de la célula del huésped y creciendo dentro de ellas.

Hernández *et al.* (2008 a) menciona que los extractos de *Larrea tridentata* (2000 y 4000 ppm) han reportado actividad fungicida contra *R. solani in vitro*. Los extractos de *L. tridentata* han reportado actividad fungicida *in vitro* en al menos 17 hongos fitopatógenos de gran importancia económica entre ellos *R. solani*.

Mojica *et al.* (2009) estudiaron 64 cepas de *Bacillus turingensis* de las cuales 16 de ellas tuvieron efectos antagonistas en el crecimiento micelial de *R. solani*. Las cepas GM-64 (66,66%) y HD-203 (65,99%) produjeron la mayor inhibición de crecimiento micelial.

Fusarium oxysporum

Es un hongo colonizador agresivo y competitivo que parasita alrededor de 100 especies de plantas incluyendo gimnospermas y angiospermas (De las Heras, 2004).

Síntomas

Causados por *Fusarium oxysporum* se caracterizan por el achaparramiento, marchitez progresiva del follaje, aclaración de nervaduras y follaje inferior, formación de raíces adventicias, necrosis marginal de las hojas bajas, los síntomas aparecen generalmente en un lado de la hoja o del follaje, los frutos también pueden llegar a infectarse y pudrirse (Yáñez, 2006).

Ciclo de la enfermedad

El patógeno habita en el suelo, en restos vegetales infectados, pero con mayor frecuencia como clamidosporas, sobre todo cuando hay temperaturas frías, se propaga a corta distancia por el agua de riego y maquinaria agrícola contaminada (Yáñez, 2006). Una vez que el hongo se ha introducido en el suelo puede vivir indefinidamente. El patógeno penetra a través de las raíces, o a través de las heridas generadas por el trasplante, labores de cultivos o daños causados por nematodos (Mendoza y Pinto, 1985). La diseminación interna es por microconidias, el hongo puede llegar hasta los frutos y contaminar las semillas, lo cual sucede cuando la humedad del suelo es alta y la temperatura es baja (Yáñez, 2006).

Métodos de Control

Control Cultural.- En suelos arenosos evitar encharcamientos para impedir el traslado de nematodos ya que las heridas que generan en las raíces facilitan el ingreso de la enfermedad. También las plantas enfermas deben eliminarse lo más pronto posible a efectos de reducir el inoculo (Gonzales, 2006).

Teniendo en cuenta que este patógeno es más severo en condiciones de suelos ácidos, se recomienda la aplicación de cal agrícola o cal hidratada para aumentar el pH. Los sustratos de crecimiento que poseen un pH alto tienden a

mantener niveles más altos de nutrientes, mayores poblaciones de microorganismos (hongos, bacterias y actinomicetos) y menor severidad de marchitamiento por *Fusarium oxysporum*. La severidad de la enfermedad se ha reducido cuando se han aplicado fertilizantes nitrogenados con base en nitratos, y ha aumentado con fertilizantes nitrogenados con base en amonio. El riego con aguas salinas y la fertilización con sulfato de amonio predisponen la planta al ataque por el hongo. Es de vital importancia para el control de la enfermedad seleccionar muy bien el semillero y sembrar plántulas sanas en campo (FAO, 2004).

Control Químico.- La aplicación de los fungicidas Propineb (Antracol) y Dicarboximida (Captan) al 1% a la semilla de chile, reduce la incidencia de *F. oxysporum* en los primeros días del cultivo (Pineda y Ávila, 1988).

Variedades Resistentes.- Gonzales (2006) afirma que la utilización de variedades resistentes es la medida más adecuada para el manejo de *F. oxysporum*. En el mercado existen variedades con resistencia a las razas 1 y 2 y en menor proporción a la raza 3. Báez *et al.* (2010) menciona que patrones o portainjertos pueden ser usados como una alternativa viable de control de patógenos radiculares y en este caso especial sobre la marchitez causada por *F. oxysporum*.

Control Biorracional.- Marcos (1996) menciona que el uso de extractos vegetales acuosos de *Chenopodium ambrosioides* y de *Nicotiana Glauca* son muy efectivos para el control de *F. oxysporum* inclusive sobre el tratamiento químico Metálaxil.

Garduño (2009) obtuvo como resultado que 12 especies vegetales mostraron actividad antifúngica ante *F. oxysporum*. El extracto hexánico con *Chenopodium ambrosioides* (por su actividad fungicida), los extractos metanólicos con *Sarracenia purpurea* y *Psidium guajava*, así como los extractos acuosos con *L. esculenta* y *Guazuma ulmifolia* inhibieron el crecimiento micelial con un porcentaje superior al 50%. También, los polvos de *Byrsonima crassifolia* disminuyeron el porcentaje de germinación y esporulación. Todas las especies presentaron actividad antifúngica en forma de extracto metanólico.

Rodríguez y Montilla (2002) demuestran que realizando una inmersión de raíces de plantas en solución del extracto *Citrus paradisi* mas la aplicación semanal al suelo logra reducir la marchitez en un 85%, seguido por la aplicación combinada al suelo y al follaje con un 64% de reducción. La aplicación del extracto de *C. paradisi* al follaje o al suelo ocasionan una reducción del 42% comparado con el testigo. Los resultados indican la posibilidad de controlar patógenos del suelo con el uso del extracto de semilla de *C. paradisi*.

Control Biológico.- La siembra de semillas pregerminadas en suspensiones del hongo *Trichoderma koningii* y de la bacteria *Pseudomonas fluorescens* al suelo de los semilleros, posibilitan un adecuado control de *F. oxysporum* (FAO, 2004).

La preinoculación de plantas de tomate siete días antes del trasplante con *Penicillium oxalicum* reduce la severidad de la enfermedad. La aplicación de las bacterias *Serratia plymuthica* y *Pseudomonas* sp. a las semillas, también ha permitido una disminución de la incidencia y severidad de la marchitez por *F. oxysporum* (FAO, 2004).

Mojica *et al.* (2009) encontraron que de 64 cepas de *B. thuringiensis* probadas, solo ocho cepas mostraron un efecto inhibitorio contra *F. oxysporum* de estas solo cinco inhibieron más del 30% del crecimiento, alcanzándose la máxima inhibición con las cepas GM-23 (43.02%) y HD-121 (42.04%), y una reducción en la tasa de crecimiento de 0.52 a 0.10 cm/ día.

El Control Biológico Como Alternativa en el Manejo Integrado de Enfermedades

Por mucho tiempo han existido ejemplos del uso de enemigos naturales para el control de plagas y quizá el caso más antiguo hace al menos 800 años. Sin embargo, el control biológico nace como un método científico hacia finales del siglo XIX (Rodríguez y Arredondo, 2007). Inicialmente se utilizó en el control de insectos,

pero existen también otros tipos de control biológico como es el caso de enfermedades de plantas causadas por bacterias u hongos (Guerrero *et al.*, 2009).

El control biológico posee muchas ventajas como alternativa en el manejo integrado de enfermedades, el poco o ningún efecto nocivo colateral, casos raros de resistencia, control de largo plazo, elimina por completo o sustancialmente el uso de plaguicidas relación beneficio/costo muy favorable, evita enfermedades secundarias y no provoca intoxicaciones (Rodríguez y Arredondo, 2007).

Promotores de Crecimiento

El uso indiscriminado de productos agroquímicos y otras sustancias en la actividad agrícola, con la supuesta finalidad de mejorar la productividad y la calidad de la producción, puede generar serios desequilibrios en los ecosistemas por la contaminación de suelo, agua, aire y alimentos, lo cual pone en peligro la salud humana. Lo anterior promueve la necesidad de buscar y evaluar fuentes alternativas de fertilización que satisfagan las necesidades nutrimentales de los cultivos. Una variante para beneficiar los cultivos, sin causar daño ecológico, es el empleo de microorganismos que se asocian a las plantas o a su entorno, muchos de los cuales se encuentran naturalmente formando parte del sistema radical o del suelo (Pulido, 2002).

Estudios recientes han demostrado que cepas de *Trichoderma* spp. incrementan el crecimiento de las plantas y la capacidad de absorción de nitrógeno y fósforo y ciertos microelementos en las plantas inoculadas, y cepas de *Bacillus subtilis* incrementan significativamente la biomasa de las plantas lo cual se ve reflejado en un rendimiento mayor (Estévez *et al.*, 2001).

Generalidades de *Bacillus*

Se ha demostrado que las bacterias del género *Bacillus* presentan un gran potencial como antagonistas, principalmente por la gran cantidad de enzimas líticas, antibióticos y otras sustancias con actividad biocida capaces de producir efectos de control sobre varias especies de agentes fitopatógenos pertenecientes a los géneros *Rhizoctonia*, *Sclerotium* y *Pythium*, causantes de severas enfermedades en semilleros y almácigos (Sosa y Gonzales, 2008).

Modo de Acción de *Bacillus subtilis*

Antibiosis

Produce enzimas hidrofílicas extracelulares que descomponen polisacáridos, ácidos nucleicos permitiendo que el organismo emplee estos productos como fuente de carbono y electrones. Producen antibióticos como la bacitricina, polimixina, gramicidina y circulina, reduciendo la incidencia de enfermedades (Cuervo, 2010).

Cuervo (2010) menciona que *B. subtilis* segrega una proteína llamada subtilina que actúa sobre la pared celular de los hongos, minimizando su daño, también demostró que induce resistencia sistemática natural de la planta contra el patógeno fungoso propiedad llamada Resistencia Sistemática Adquirida (SAR).

Estudios demuestran que *B. subtilis* colabora activamente en la degradación de diversos sustratos celulósicos, gracias a la enzimas que este aporta (Adelantado *et al.*, 2000).

Competencia

B. subtilis inhibe los agentes patógenos ocupando su nicho, metabolizando los exudados de la raíz que pueden ser utilizados por el patógeno (Gustafson, 1993, citado por Hernández, 2008).

Inducción del Crecimiento

La bacteria al establecerse en el sistema radical la protege y estimula la absorción de nutrientes (Obregón, 2004).

Inducción de Resistencia

Al instalarse en las raíces y hojas induce a la planta a producir fitoalexinas que le dan resistencia a las plantas al ataque de hongos, bacterias y nematodos patógenos (Obregón, 2004).

Control Biológico con *Bacillus subtilis*

Hernández *et al.* (2008 a) mencionan que en campo, la incidencia de *R. solani* en tallos de papa claramente disminuyó por efecto de las cepas de *B. subtilis*.

B. subtilis previene las enfermedades del suelo causadas por *R. solani*, *Sclerotium rolfii*, *Fusarium* spp., *Verticillium* spp., *Sclerotinia sclerotiorum*, *Phytophthora capsici*, *Pythium* spp., y el nematodo nodulador de raíces (*Meloidogyne* spp.) (Calderón *et al.*, 2002, citado por Cuervo, 2010; Hernández *et al.*, 2008 b, c).

Rodríguez *et al.* (2010) encontraron que la supresión de *Colletotrichum gloesporioides* es similar al hacer aplicaciones dirigidas de *B. subtilis* (Serenade® ASO) y el testigo regional oxiclورو de cobre (Oximet Flo®) pero superior al testigo absoluto.

Bacillus subtilis Como Promotor del Desarrollo de Plantas

Hernández *et al.* (2008 a) demuestran que el rendimiento de los tubérculos de papa se incrementó notablemente en los tratamientos donde se aplicaron cepas de *Bacillus* spp. donde el mayor volumen de tubérculo se alcanzó con la mezcla de las tres cepas de *Bacillus* alcanzando 22,8 ton/ha, al mismo tiempo, sólo se alcanzaron 10,5 ton/ha en el tratamiento testigo.

Guillen *et al.* (2009) mencionan que en plantas de Chile inoculadas con cepas de *Bacillus*, presentaron una mayor altura que el testigo y un incremento de 33 y un 24% respecto al tratamiento tradicional donde se aplicó folpat, Mancozeb y Captan.

Cuervo (2010) afirma que *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhizobium*, *Burkholderia*, *Achromobacter*, *Agrobacterium*, *Micrococcus*, *Aerobacter*, *Flavobacterium*, *Azotobacter* y *Erwinia* son géneros bacterianos que solubilizan fosfatos y los cuales son aprovechados por las plantas.

Cuervo (2010) menciona que dentro de las bacterias que fijan nitrógeno a las plantas encontramos bacterias como *Azospirillum*, *Clostridium*, *Enterobacter*, *Alcaligenes*, *Pseudomonas*, *Klebsiella* y *Bacillus*.

Valdez y Velázquez (2010) afirman que *B. subtilis* ayudan en la germinación de semillas de algodón en suelos infestados con *R. solani* permitiendo una protección que beneficia en el desarrollo normal de plantas.

Investigaciones muestran que *B. subtilis*, no solamente inhibe patógenos, sino que además, promueve el crecimiento de la raíz y la planta, e incrementan el contenido de lípidos, triglicéridos y esteroles en las hojas del tomate (Cuervo, 2010).

Generalidades de *Trichoderma*

El uso de *Trichoderma* como agente de control biológico fue sugerido por Weindling en 1932, quien fue el primero en demostrar la actividad parasitaria de los miembros de este género. Sin embargo, con el interés creciente en el control biológico debido a los daños ambientales y las preocupaciones económicas, y con el rápido desarrollo de la biotecnología, Dennis y Webster en el año 1971, describieron las propiedades antagonistas de *Trichoderma* en términos de producción de antibióticos y de las interacciones de hifas en el control de *Sclerotium rolfsii* (Abed, 2005).

El género *Trichoderma* posee buenas cualidades para el control de enfermedades en plantas causadas por patógenos fúngicos del suelo, principalmente de los géneros *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, *Sclerotium*, *Pythium*, *Fusarium* entre otros. Las especies de *Trichoderma* actúan como hiperparásitos competitivos que producen metabolitos antifúngicos y enzimas hidrolíticas a los que se les atribuyen los cambios estructurales a nivel celular, tales como vacuolización, granulación, desintegración del citoplasma y lisis celular, encontrados en los organismos con los que interactúa (Abed, 2005). Además coloniza raíces aumentando su masa y vigor, proporcionando con ellos aumento en la producción (Harman, 2000).

Otros de los beneficios de este género es que son fáciles de aislar del suelo, y crece en un gran número de sustratos y no atacan a plantas superiores (Papavizas *et al.*, 1982; Howell, 2003). Y es antagonista más común de aparecer después de la fumigación del suelo con bromuro de metilo (Abed, 2005).

Modo de Acción de *Trichoderma*

Existen varios mecanismos de acción sugeridos para *Trichoderma* spp. micoparasitismo, antibiosis, la competencia por nutrientes o el espacio, la tolerancia al estrés a través de la raíz y una mayor desarrollo de la planta, resistencia inducida, solubilización y el secuestro de nutrientes inorgánicos, y inactivación de las enzimas

de los patógenos (Samuels, 1996). Aunque se sugieren otros mecanismos pero aún no se ha confirmado (Harman, 2000).

Micoparasitismo

El Micoparasitismo se considera un mecanismo importante de la diversidad del control biológico, *Trichoderma* crece hacia el hospedante siguiendo un estímulo químico detectándolo a distancia haciendo crecer sus hifas en dirección del patógeno, se adhiere a las hifas del mismo degradando la pared celular mediante enzimas líticas como, β -1,3- glucanasa, quitinasa, pectinasas, xilasas, glucosidasas, proteasa y celulasa (Harán *et al.*, 1996), se enrollan en ellas frecuentemente y en ocasiones la penetran que conlleva al debilitamiento total del patógeno. (Infante *et al.*, 2009).

Competencia

La presencia de forma natural de *Trichoderma* en diferentes suelos (agrícolas, forestales, y barbechos), se considera una evidencia de la plasticidad ecológica de este hongo y de su habilidad como excelente competidor por espacio y recursos nutricionales. La alta velocidad de crecimiento, abundante esporulación y la amplia gama de sustratos sobre los que puede crecer y debido a la riqueza de enzimas que posee, hacen que sea muy eficiente como saprófito y aún más como agente de control biológico. La competencia por nutrientes puede ser por nitrógeno, microelementos, carbohidratos no estructurales y polisacáridos como: almidón, celulosa, quitina, laminarina, y pectinas, entre otros (Infante *et al.*, 2009).

Antibiosis

Es la acción directa de antibióticos o metabolitos tóxicos producidos por un microorganismo sobre otro sensible a estos. Muchas cepas de *Trichoderma* producen metabolitos secundarios volátiles y no volátiles, algunos de los cuales inhiben el desarrollo de otros microorganismos con los que no hacen contacto físico. Tales sustancias inhibitoras son consideradas "antibióticos" como gliotoxina, viridina,

trichodermina, suzukacilina, alameticina, dermadina, trichotecenos y trichorzianina (Infante *et al.*, 2009).

Compuestos Volátiles

La producción de antibióticos volátiles tiene un efecto esencialmente fungistático debilitando al agente patógeno. El 6-pentil-a-pirona (6PAP) es un gas producido por *Trichoderma viridae* que mostro ser primisorio *in vitro* y también *in vivo* en el control de hongos como *Armillaria*, *Botrytis* y *Phytophthora* (Cutler y Hill, 1994). Otro compuesto volátil es el alquil pirona producido por *Trichoderma harzianum* capaz de inhibir *in vitro* a *R. solani* y *F. oxysporum* (Ramos, 2008 citado por Vargas, 2009).

Control Biológico con *Trichoderma*

Fernández *et al.* (2006) mencionan que el uso de productos a base de *Trichoderma* spp. protegió en un 100% a plantas de jitomate inoculadas con granos de trigo infectados con *R. solani*.

Hernández *et al.* (2008 b y 2009) confrontaron 31 cepas de *Trichoderma* spp. contra *Phytophthora cinnamomy* y *Phytophthora capsici*, para estudiar el antagonismo de éste sobre los fitopatógenos y el efecto de compuestos volátiles producidos *in vitro*, determinando que 17 cepas de *Trichoderma* sobrecen el micelio de *Phytophthora capsici* y cubren la caja petri, estos autores también estudiaron el efecto en la inhibición de crecimiento de *R. solani* con filtrados de 36 diferentes cepas de *Trichoderma*, encontrando que hubo diferencia estadística entre tratamientos con una variación de 0.0% a 52.05%, siendo el mejor tratamiento el T2 aislado de suelos procedentes de Colima.

Berlanga *et al.* (2010) mencionan que *Trichoderma* spp. muestra importantes niveles de inhibición de 45 a 63.8% y de 50.9 a 81.2% para *Sclerotinia sclerotiorum* y *Sclerotium cepivorum* respectivamente.

Trichoderma Como Inductor del Desarrollo de Plantas

Bellone *et al.* (1999) mencionan que en plántulas cultivadas en vermiculita a partir de semillas tratadas con *Trichoderma* spp. Se observó un incremento en el porcentaje de germinación, el peso seco y la longitud de las plántulas respecto al de las no tratadas, lo que indica mayor absorción de nutrientes

Fernández *et al.* (2006) reportan que la utilización de productos a base de *Trichoderma* spp. incrementan la altura y la biomasa seca de plántulas de jitomate de hasta un 320.7%.

Cuervo (2010) ha documentado la actividad fosfato solubilizadora por diferentes hongos saprofitos del suelo los cuales proveen a las plantas mayor desarrollo entre ellos se encuentran *Aspergillus niger*, *Penicillium bilaii*, *Penicillium simplicissimum*, *Trichoderma* spp. *Cladosporium herbarum* y hongos micorrizos.

La Microencapsulación

La microencapsulación ha sido considerada como un proceso mediante el cual ciertas sustancias bioactivas son introducidas en una matriz o sistema pared con el objetivo de impedir su pérdida para protegerlos de la reacción con otros compuestos presentes en el medio o para impedir que sufran reacciones de deshidratación y oxidación debido a la luz o al oxígeno (Yáñez *et al.*, 2002). Algunas ventajas adicionales es que los microorganismos encapsulados, se liberan gradualmente, pueden almacenarse a temperatura ambiente por periodos prolongados, pueden ser manipulados fácilmente y ofrecen una calidad constante. (Weinbreacky, 2004, citado por Hernández, 2008).

En sus orígenes las técnicas de microencapsulación involucraban el uso de solventes orgánicos. En la década de los años 80, sustancias naturales comienzan a ser utilizadas, tales como proteínas (colágeno, gelatina) y polisacáridos (agar, alginato cálcico, carragenano) los cuales tienen buena biocompatibilidad y han

demostrado una rápida incorporación en los sistemas donde se encuentran (Rodríguez *et al.*, 2003).

El alginato es uno de los polímeros más utilizados en la microencapsulación. Es extraído primariamente de tres especies de algas marrones, estas incluyen *Laminaria hyperborea*, *Ascophyllum nodosum* y *Macrocystis pyrifera*. Otras incluyen *Laminaria japónica*, *Eclonia maxima* y *Lesonia negrescens* (Rodríguez *et al.*, 2003).

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del Experimento

El proceso de microencapsulación de *Bacillus subtilis* y *Trichoderma asperellum* se desarrolló en el Centro de Microbiología Aplicada (CEMAP) de la empresa GreenCorp Biorganiks de México S.A. de C.V., el establecimiento del experimento se realizó en la cámara bioclimática del Departamento de Parasitología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Ubicada en Buenavista a 7 km al sur de la ciudad de Saltillo, Coahuila, México.

Las cepas de *B. subtilis* y de *T. asperellum* aisladas y caracterizadas a nivel de especie que se emplearon en el presente trabajo fueron proporcionadas por el CEMAP; éstas han demostrado su actividad antagónica contra fitopatógenos como *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum*, *Phytophthora capsici*, *Phytophthora cinnamomi*, y *Alternaria dauci*, entre otros (Hernández *et al.*, 2008 a y b).

Confrontación *In vitro* de *Bacillus subtilis* y *Trichoderma asperellum*

Para verificar si existía o no antagonismo entre *B. subtilis* y *T. asperellum* se realizaron pruebas de confrontación *in vitro* entre ambos microorganismos colocando de manera paralela en el centro de la caja petri conteniendo Papa Dextrosa Agar (PDA) en un extremo *B. subtilis* y del otro *T. asperellum* y se incubaron a 25 ± 1 °C.

Obtención de los Fitopatógenos

Rhizoctonia solani

El hongo fitopatógeno utilizado para este ensayo fue obtenido de la colección Micológica del laboratorio de Fitopatología del Departamento de Parasitología e incrementado en cajas petri de 8 cm en un medio de cultivo PDA e incubado a 25 ± 1 °C durante 15 días.

Posteriormente se realizó el incremento de *R. solani* para contar con material biológico para la inoculación de las plantas, hidratando 200 g de granos de trigo por 24 h, en un matraz de 1 L de capacidad con agua destilada, en un volumen que sobrepaso ligeramente el nivel de los granos de trigo, enseguida se realizó un triple lavado y se esterilizo a 125°C por 1 h, los granos de trigo se dejaron enfriar y se les agrego 30 mL de caldo nutritivo estéril, posteriormente se colocaron cinco discos de micelio con medio PDA de 0.5 mm de *R. solani* y se incubó por 72 h a 25 °C.

Fusarium oxysporum

Se colectaron plantas de Chile con síntomas de marchitez en un invernadero de la UAAAN y se trasladaron al laboratorio de Fitopatología en donde bajo condiciones de asepsia se cortaron secciones de tejido sano y enfermo del tallo y cuello de la raíz de aproximadamente 0.5 cm², se desinfectaron por inmersión en una solución de hipoclorito de sodio al 1.5%, y se enjuagaron por dos ocasiones con agua destilada estéril, posteriormente los cortes se dejaron secar en papel secante en una cámara de aire de flujo laminar y se colocaron en cajas petri con medio PDA, a 25°C ±1, a los cinco días se observó el crecimiento micelial del cual se realizó una nueva transferencia en PDA para la obtención de cultivos monosporicos, de estos, se seleccionaron cinco cepas para su identificación morfológica caracterizándolos a nivel de género y especie mediante las claves de Nelson *et al.* (1983) como *Fusarium oxysporum*.

Obtención de las Esporas de *Bacillus subtilis*

Las bacterias conservadas en agar nutritivo, se sembraron en caldo nutritivo y se incubaron a 37°C con agitación a 200 rpm por cinco días, hasta su esporulación. Se realizó el conteo para obtener una suspensión a una concentración de 1x10⁸ esporas/ml. El producto obtenido se conservó en refrigeración hasta su uso.

Obtención de las Esporas de *Trichoderma asperellum*

Porciones de micelio de *T. asperellum* de 0.5 cm con medio PDA se transfirieron en cajas petri y se incubaron a 25°C por cinco días hasta obtener abundante esporulación. Para obtener las esporas a cada caja petri se le agregó 20 mL de solución salina al 0.85% estéril, se realizó un raspado al crecimiento micelial con ayuda de una espátula y la suspensión obtenida se filtró con gasa estéril para obtener solo esporas, enseguida se realizó el conteo de esporas con una cámara de Neubauer para obtener una suspensión a una concentración de 1×10^8 esporas/mL.

Proceso de Microencapsulación

La obtención de las microcápsulas se realizó empleando el método originalmente diseñado por Carrillo y Bashan (1997), modificado por Hernández (2008).

Para la formulación de las microcápsulas (MIC's), se utilizó una concentración de 1×10^8 esporas/mL de *Trichoderma asperellum* y 1×10^8 esporas/mL de *Bacillus subtilis*. Se tomaron 20 mL de la suspensión de esporas (10 mL de concentración de esporas de *T. asperellum* y 10 mL de *B. subtilis*), se mezcló con 80 mL de alginato de sodio al 2% previamente esterilizado, dejando en agitación por 15 min para obtener una mezcla homogénea, se vació al contenedor del microencapsulador y se inició la aspersión sobre una charola conteniendo Cloruro de Calcio (CaCl_2) al 2%. Al hacer contacto la mezcla con el CaCl_2 , instantáneamente se formaron las microcápsulas.

A continuación, las MIC's se colocaron en cajas petri conteniendo en el fondo papel filtro estéril, se secaron a 40°C por 72 h, posteriormente se colocaron en frascos almacenados a temperatura ambiente hasta su uso en cada uno de los tratamientos.

Lavado de Semilla de Chile

Este procedimiento se llevó a cabo con la finalidad de eliminar el tratamiento químico de las semillas que pudiese inhibir el desarrollo de *Trichoderma asperellum* y *Bacillus subtilis*, efectuándose de la siguiente manera.

- 1.- Las semillas se lavaron con 100 mL de agua corriente en un matraz erlenmeyer con un agitador magnético durante 10 min.
- 2.- Se decantó el agua y se adicionaron 5 mL de Tween 20 al 2% en 100 mL de agua, manteniéndolo en agitación constante durante 10 min.
- 3.- Se decantó el Tween 20 y se le adiciono una solución de Hipoclorito de Sodio (NaClO_3) al 3% manteniéndolo en agitación por 5 min.
- 4.- Se adicionó una solución de 100 mL de Tiosulfato de Sodio Pentahidratado al 2% para neutralizar el efecto de cloro manteniéndolas en agitación constante durante 5 min.
- 5.- Se decantó el Tiosulfato de Sodio Pentahidratado al 2% y se lavaron las semillas 5 veces con agua destilada estéril.
- 6.- Finalmente se colocaron sobre papel absorbente hasta que secaron.

Producción de Plántula de Chile

Para la siembra se utilizaron semillas de chile serrano Var. Magnum 45 en charolas de poliestireno de 200 cavidades con sustrato Peat moss y Perlita con una relación 1:1, colocando dos semillas por cavidad y 10 mg de MIC's para los

tratamientos donde se utilizó las MIC's, enseguida las charolas se colocaron en una cámara bioclimática a 26 ± 2 °C y fueron regadas cada tercer día.

Medición de la Clorofila de Plantas de Chile

La determinación de esta variable se realizó 30 días después de la siembra con el medidor portátil marca Minolta SPAD-502 (Soil Plant Analysis Development). La efectividad del uso de este medidor ha sido probada para determinar la concentración de clorofila en cultivos como tomate (Rodríguez *et al.*, 1998) maíz (Novoa y Villagran, 2002) y palma de aceite (Aucique, 2008). Se midió el contenido de clorofila a la primera y segunda hoja verdadera de las plantas de Chile obteniendo un promedio por repetición y los resultados se expresaron en unidades SPAD, que es proporcional a la cantidad relativa de clorofila presente en las hojas de Chile y en consecuencia de Nitrógeno.

Trasplante

El trasplante se realizó a los 30 días después de la siembra, estas se colocaron en bolsas de polietileno de 0.5 kg utilizando como sustrato Peat moss. Al momento del trasplante se realizaron todas las inoculaciones de los diferentes tratamientos.

Diseño Experimental

Experimento I

Medición de clorofila en plantas de Chile, tratadas con microcápsulas (MIC's) y el tratamiento testigo.

El experimento se evaluó bajo un diseño de bloques al azar con dos tratamientos y 20 repeticiones para un total de 40 unidades experimentales. Los tratamientos empleados fueron.

T1.- Plantas de chile Inoculadas con microcápsulas conteniendo la mezcla de *T. asperellum* y *B. subtilis* al momento de la siembra.

T2.- Plantas de chile sin inocular.

Experimento II

Efecto en el desarrollo de plantas de chile inoculadas con *Rhizoctonia solani* y tratadas con microcápsulas (MIC's) y suspensión de esporas de *Bacillus subtilis* y *Trichoderma asperellum*.

El experimento se evaluó bajo un diseño de bloques al azar con seis tratamientos y seis repeticiones para un total 36 unidades experimentales. Los tratamientos empleados fueron:

T1.- MIC's

T2.- MIC's + *R. solani*.

T3.- Suspensión líquida de *T. asperellum* y *B. subtilis* + *R. solani*.

T4.- Suspensión líquida de *T. asperellum* y *B. subtilis*

T5.- *R. solani*

T6.- Testigo

La aplicación de los tratamientos anteriormente señalados se realizó de la siguiente manera:

T1.-Se colocaron 10 mg de MIC's (1×10^8 esporas/mL) en el fondo de la cavidad de la maceta para posteriormente colocar los cepellones de las plántulas.

T2.-Se pusieron 10 mg de MIC's y nueve granos de trigo inoculados con *R. solani* en el fondo de la cavidad, posteriormente se colocaron los cepellones.

T3.-Se uso la dosis de 1 mL de la suspensión de esporas de la mezcla de *T. asperellum* y *B. subtilis* en 1 L de agua, y se sumergieron los cepellones durante 3 min.

T4.- Se uso la dosis de 1 mL de la suspensión líquida de la mezcla de *T. asperellum* y *B. subtilis* en 1 L de agua, y se sumergieron los cepellones durante 3 min, se adicionaron nueve granos de trigo inoculados con *R. solani* al fondo de las cavidades posteriormente se trasplanto la plántula.

T5.- Se colocaron nueve granos de trigo previamente inoculados con *R. solani* en el fondo de la cavidad y posteriormente se procedió al trasplante.

T6.- Se trasplanto únicamente las plantas.

Experimento III

Efecto en el desarrollo de plantas de Chile inoculadas con *Fusarium oxysporum* y tratadas con microcápsulas (MIC's) y suspensión de *Bacillus subtilis* y *Trichoderma asperellum*.

El experimento se evaluó bajo un diseño de bloques al azar con seis tratamientos y seis repeticiones para un total 36 unidades experimentales. Los tratamientos empleados fueron:

T1.- MIC's

T2.- MIC's+ *F. oxysporum*

T3.- Suspensión líquida de *T. asperellum* y *B. subtilis* + *F. oxysporum*

T4.- Suspensión líquida de *T. asperellum* y *B. subtilis*

T5.- *F. oxysporum*

T6.- Testigo

La aplicación de los tratamientos anteriormente señalados se realizaron de la siguiente manera:

T1.- Se colocaron 10 mg de MIC's (1×10^8 esporas/mL) en el fondo de la cavidad para posteriormente colocar los cepellones de las plántulas.

T2.- Se pusieron 10 mg de MIC's en el fondo de la cavidad y enseguida los cepellones con plantas previamente inoculados por inmersión en una suspensión de esporas de *F. oxysporum* con una concentración de 1.3×10^8 esporas/mL.

T3.- Se uso la dosis de 1 mL de la suspensión líquida de la mezcla de *B. subtilis* y *T. asperellum* en 1 L de agua, donde sumergimos los cepellones durante 3 min para posteriormente trasplantar.

T4.- Se uso la dosis de 1 mL de la suspensión líquida de la mezcla de *B. subtilis* y *T. asperellum* en 1 L de agua, y con ayuda de un atomizador se asperjo (15 mL) en el fondo de la cavidad y enseguida se trasplantaron los cepellones previamente inoculados por inmersión en una suspensión de esporas de *F. oxysporum* con una concentración de 1.3×10^8 esporas/mL durante 3 min para posteriormente colocarlas en las cavidades.

T5.- Se sumergieron durante 3 min los cepellones dentro de la suspensión de esporas de *Fusarium oxysporum* para enseguida trasplantarlas en las bolsas.

T6.- Se trasplantó únicamente las plántulas.

Se realizó una segunda inoculación de *F. oxysporum* a los 25 días después del trasplante únicamente para el experimento III, a una concentración de 1.2×10^6 esporas/mL, a una dosis de 1 mL por planta, colocando la suspensión de esporas al cuello de las plantas.

Análisis Estadístico

30 días después de la siembra se evaluó la concentración de clorofila y 45 días después del trasplante se evaluaron variables como longitud del tallo, longitud de raíz, peso fresco y peso seco de plantas de chile. Se utilizó la prueba de medias

Tukey al 0.05% de significancia los resultados se analizaron con el programa estadístico SAS versión 8.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Confrontación *in vitro* de *Bacillus subtilis* y *Trichoderma asperellum*

Como se muestra en la figura 1, no se observó ningún tipo de antagonismo entre las cepas de *B. subtilis* y *T. asperellum*. En esta figura se puede apreciar que los microorganismos no manifiestan competencia o algún efecto de metabolitos que inhiba el desarrollo entre ellos.



Figura 1. Confrontación *in vitro* de *B. subtilis* (derecha) y *T. asperellum* (izquierda).

Experimento I. Medición de la clorofila en plantas de chile, tratadas con microcápsulas (MIC's) y el tratamiento testigo.

Los valores obtenidos fueron de 31.73 unidades SPAD en el tratamiento Testigo y de 42.23 unidades SPAD en el tratamiento inoculado con las MIC's de *B. subtilis* y *T. asperellum*. El análisis de varianza detecto diferencias significativas entre tratamientos. La prueba de Tukey indica que el mejor tratamiento corresponde a las MIC's (cuadro 1). Los resultados obtenidos indican que el tratamiento con los MIC's incrementan el contenido de clorofila en un 33.09% en relación al testigo.

Cuadro 1. Medición de clorofila en plantas de chile expresado en unidades SPAD, tratadas con microcápsulas (MIC's) y el tratamiento testigo.

| Tratamiento | Clorofila en Unidades SPAD ¹ |
|-------------|---|
| MIC's | 42.23 A |
| Testigo | 31.73 B |

1. Tratamientos con la misma letra son estadísticamente iguales

Experimento II. Efecto en el Desarrollo de Plantas de Chile, Inoculadas con *Rhizoctonia solani* y Tratadas con Microcápsulas y Suspensión de Esporas de *Bacillus subtilis* y *Trichoderma asperellum*.

Altura de Planta

La altura de la planta vario de 8.50 cm en el testigo a 13.30 cm en el tratamiento de MIC's. El análisis de varianza detecto diferencias significativas entre tratamientos. La prueba de Tukey indica que con el tratamiento de los MIC's se obtiene una altura de planta estadísticamente superior a la obtenida por el resto de los tratamientos (cuadro 2). Este tratamiento tiende a incrementar hasta en un 56.47% la altura de las plantas de chile (figura 1). No se observó diferencia significativa entre las MIC's + *R. solani* y el resto de los tratamientos.

Cuadro 2. Altura de plantas de chile expresada en cm, inoculadas con *R. solani*, tratadas con microcápsulas (MIC's) y suspensión de *B. subtilis* y *T. asperellum*.

| Tratamiento | Altura de Planta ¹ |
|---|-------------------------------|
| MIC's | 13.30 A |
| Susp. de <i>B. subtilis</i> y <i>T. asperellum</i> | 10.60 B |
| MIC's + <i>R. solani</i> | 9.93 BC |
| Susp. de <i>B. subtilis</i> y <i>T. asperellum</i> + <i>R. solani</i> | 9.86 BC |
| <i>R. solani</i> | 8.58 C |
| Testigo | 8.50 C |

1. Tratamientos con la misma letra son estadísticamente iguales



Figura 2. Altura de plantas de chile, de izquierda a derecha: MIC's, Testigo y Suspensión de *B. subtilis* y *T. asperellum*.

Longitud de Raíz

La longitud de raíz varío de 5.18 cm en el tratamiento inoculado con *R. solani* a 19.53 cm en el tratamiento con las MIC's El análisis de varianza detecto diferencias significativas entre tratamientos. La prueba de Tukey registra que las MIC's inoculado con *R. solani* y sin inocular y la suspensión de esporas de *B. subtilis* y *T. asperellum* inoculado con *R. solani* y sin inocular, son estadísticamente iguales pero superiores al tratamiento inoculado con *R. solani* (cuadro 3). El incremento obtenido en el desarrollo de raíz es de 277.02% con las MIC's de *B. subtilis* y *T. asperellum* comparado con el tratamiento donde se inoculo *R. solani* (figura 2).

Cuadro 3. Longitud de raíz de planta de chile expresada en cm, inoculadas con *R. solani*, tratadas con microcápsulas (MIC's) y suspensión de *B. subtilis* y *T. asperellum*

| Tratamiento | Longitud de Raíz ¹ |
|---|-------------------------------|
| MIC's | 19.53 A |
| Susp. de <i>B. subtilis</i> y <i>T. asperellum</i> + <i>R. solani</i> | 16.65 A |
| Susp. de <i>B. subtilis</i> y <i>T. asperellum</i> | 14.25 AB |
| MIC's + <i>R. solani</i> | 13.95 ABC |
| Testigo | 7.05 BC |
| <i>R. solani</i> | 5.18 C |

1. Tratamientos con la misma letra son estadísticamente iguales



Figura 3. Longitud de raíz de plantas de chile de izquierda a derecha: Testigo, MIC's, Suspensión de *B. subtilis* y *T. asperellum*, Suspensión de *B. subtilis* y *T. asperellum* + *R. solani*, MIC's + *R. solani* y *R. solani*.

Peso Fresco

Respecto a la variable de peso fresco, se obtuvieron valores que oscilaron de 0.37 g para el tratamiento inoculado con *R. solani* a 5.72 g para el tratamiento de MIC's. El análisis de varianza detectó diferencias significativas entre tratamientos. La prueba de Tukey indica que el mejor tratamiento corresponde a las MIC's, seguido por la suspensión de *B. subtilis* y *T. asperellum*, las MIC's inoculado con *R. solani* y por la suspensión de *B. subtilis* y *T. asperellum* + *R. solani*, las cuales se muestran estadísticamente similares entre sí y con un peso fresco significativamente superior al obtenido en el tratamiento inoculado con *R. solani* (cuadro 4). El incremento de peso fresco que se registró en el tratamiento de MIC's es de 1445.95% comparado con el tratamiento inoculado con *R. solani*. Este resultado es importante ya que las plantas de chile presentan mayor desarrollo de biomasa en el tratamiento con las MIC's *B. subtilis* y *T. asperellum* en el cuadro 4 también se observa que el tratamiento de las MIC's + *R. solani* presentan un peso estadísticamente superior al obtenido por las plantas inoculadas con *R. solani*.

Cuadro 4. Peso fresco de las plantas de chile expresada en g, inoculadas con *R. solani*, tratadas con microcápsulas (MIC's) y suspensión de *B. subtilis* y *T. asperellum*.

| Tratamiento | Peso Fresco ¹ |
|---|--------------------------|
| MIC's | 5.72 A |
| Susp. de <i>B. subtilis</i> y <i>T. asperellum</i> | 2.48 B |
| MIC's + <i>R. solani</i> | 2.20 BC |
| Susp. de <i>B. subtilis</i> y <i>T. asperellum</i> + <i>R. solani</i> | 1.80 BCD |
| Testigo | 0.73 CD |
| <i>R. solani</i> | 0.37 D |

1. Tratamientos con la misma letra son estadísticamente iguales

Peso Seco

El peso seco de las plantas vario de 0.04 g en el tratamiento inoculado con *R. solani* a 0.49 g en el Tratamiento con MIC's. El análisis de varianza detecto diferencias significativas entre tratamientos. La prueba de Tukey muestra que las MIC's produjeron un peso seco estadísticamente superior al resto de los tratamientos (cuadro 5). Los resultados obtenidos también indican que los tratamientos con MIC's + *R. solani* y la suspensión de *B. subtilis* y *T. asperellum* inoculada con *R. solani* y sin inocular, presentan un peso seco superior al obtenido en el testigo y en las plantas inoculadas con *R. solani*. El incremento en el peso seco observado es de 1125%, correspondiente al tratamiento de MIC's, seguido por los tratamientos MIC's inoculado con *R. solani*, la Suspensión de esporas de *B. subtilis* y *T. asperellum* y por la Suspensión de esporas inoculado con *R. solani*, con un 325, 300 y 275% respectivamente comparado con el tratamiento inoculado de *R. solani*.

Cuadro 5. Peso seco de plantas de chile expresado en g, inoculadas con *R. solani*, tratadas con microcápsulas (MIC's) y suspensión de *B. subtilis* y *T. asperellum*.

| Tratamiento | Peso seco ¹ |
|---|------------------------|
| MIC's | 0.49 A |
| MIC's + <i>R. solani</i> | 0.17 B |
| Susp. De <i>B. subtilis</i> y <i>T. asperellum</i> | 0.16 B |
| Susp. De <i>B. subtilis</i> y <i>T. asperellum</i> + <i>R. solani</i> | 0.15 B |
| Testigo | 0.07 C |
| <i>R. solani</i> | 0.04 C |

1. Tratamientos con la misma letra son estadísticamente iguales

Experimento III. Efecto en el Desarrollo de Plantas de Chile, Inoculadas con *Fusarium oxysporum* y Tratadas con Microcápsulas (MIC's) y Suspensión de *Bacillus subtilis* y *Trichoderma asperellum*.

Altura de Planta

La altura de planta vario de 7.83 cm en el tratamiento inoculado con *Fusarium oxysporum* a 13.3 cm en el tratamiento de MIC's. El análisis de varianza detecto diferencias significativas entre tratamientos. La prueba de Tukey indica que los tratamientos con las MIC's y con las MIC's + *F. oxysporum* son los que presentan una altura de planta estadísticamente superior al resto de los tratamientos (cuadro 6). El incremento en la altura de la planta con las MIC's es de 69.86%, seguido por el tratamiento de MIC's + *F. oxysporum* con un 53.25% comparado con el tratamiento inoculado con *F. oxysporum* (figura 2).

Cuadro 6. Altura de plantas de chile expresado en cm, inoculadas con *F. oxysporum*, tratadas con microcápsulas (MIC's) y suspensión de *B. subtilis* y *T. asperellum*.

| Tratamiento | Altura ¹ |
|--|---------------------|
| MIC's | 13.30 A |
| MIC's + <i>F. oxysporum</i> | 12.00 AB |
| Susp. De <i>B. subtilis</i> y <i>T. asperellum</i> | 10.60 BC |
| Susp. De <i>B. subtilis</i> y <i>T. asperellum</i> + <i>F. oxysporum</i> | 9.08 CD |
| Testigo | 8.50 D |
| <i>F. oxysporum</i> | 7.83 D |

1. Tratamientos con la misma letra son estadísticamente iguales



Figura 4. Altura de plantas de chile, de izquierda a derecha: MIC's, Suspensión de *B. subtilis* y *T. asperellum*, MIC's + *F. oxysporum*, Suspensión de *B. subtilis* y *T. asperellum*, Testigo y *F. oxysporum*.

Longitud de Raíz

La longitud de raíz oscilo de 5.10 cm en el tratamiento inoculado con *F. oxysporum* a 19.53 cm en el tratamiento de MIC's. El análisis de varianza detecto diferencias significativas entre tratamientos. La prueba de Tukey indica que las MIC's presentan una longitud de raíz superior a el tratamiento con *F. oxysporum* (cuadro 7). En dicho cuadro también se aprecia que todos los tratamientos que llevan *B. subtilis* y *T. asperellum* + *F. oxysporum* presentan una longitud de raíz estadísticamente superior a la obtenida en las plantas inoculadas con *F. oxysporum*. El incremento

observado en la longitud de raíz en relación con el tratamiento de *F. oxysporum* es de 282.94% con las MIC's, 252.35% con las MIC's inoculados con *F. oxysporum*, 184.90% con la suspensión de esporas de *B. subtilis* y *T. asperellum* inoculados con *F. oxysporum* y de 179.41% para la suspensión de *B. subtilis* y *T. asperellum* (figura 3). Lo anterior demuestra el efecto de las MIC's de *B. subtilis* y *T. asperellum* en proteger y mejorar el desarrollo de las raíces de plantas aun con presencia de este patógeno.

Cuadro 7. Longitud de raíz de plantas de chile expresado en cm, inoculadas con *F. oxysporum*, tratadas con microcápsulas (MIC's) y suspensión de *B. subtilis* y *T. asperellum*.

| Tratamiento | Longitud de Raíz ¹ |
|--|-------------------------------|
| MIC's | 19.53 A |
| MIC's + <i>F. oxysporum</i> | 17.97 A |
| Susp. De <i>B. subtilis</i> y <i>T. asperellum</i> + <i>F. oxysporum</i> | 14.53 AB |
| Susp. De <i>B. subtilis</i> y <i>T. asperellum</i> | 14.25 AB |
| Testigo | 7.05 BC |
| <i>F. oxysporum</i> | 5.10 C |

1. Tratamientos con la misma letra son estadísticamente iguales



Figura 5. Longitud de raíz de plantas de chile, de izquierda a derecha: Testigo, MIC's, Suspensión de *B. subtilis* y *T. asperellum*, Suspensión de *B. subtilis* y *T. asperellum* + *F. oxysporum*, MIC's + *F. oxysporum* y *F. oxysporum*.

Peso Fresco

El peso fresco vario de 0.73 g en el testigo a 5.72 g con el tratamiento de las MIC's. El análisis de varianza detecto diferencias significativas entre tratamientos. La prueba de Tukey demuestra que el peso fresco de las plantas de chile con las MIC's es estadísticamente superior al obtenido por el resto de los tratamientos (cuadro 8). también podemos observar que los MIC's + *F. oxysporum* y el tratamiento de la suspensión de esporas de *B. subtilis* y *T. asperellum* se mostraron superiores a el testigo y al tratamiento inoculado con *F. oxysporum*. El incremento de peso fresco de las plantas de chile es de 683.56% en el tratamiento de MIC's, de 410.95% con las MIC's inoculadas con *F. oxysporum*, 239.72% y 153.42% con los tratamientos de la suspensión de esporas de *B. subtilis* y *T. asperellum* inoculado y sin inocular respectivamente comparado con el testigo.

Cuadro 8. Peso fresco de plantas de chile expresado en g, inoculadas con *F. oxysporum*, tratadas con microcápsulas (MIC's) y suspensión de *B. subtilis* y *T. asperellum*.

| Tratamiento | Peso Fresco ¹ |
|--|--------------------------|
| MIC's | 5.72 A |
| MIC's + <i>F. oxysporum</i> | 3.73 B |
| Susp. De <i>B. subtilis</i> y <i>T. asperellum</i> | 2.48 BC |
| Susp. De <i>B. subtilis</i> y <i>T. asperellum</i> + <i>F. oxysporum</i> | 1.85 CD |
| <i>F. oxysporum</i> | 0.85 D |
| Testigo | 0.73 D |

1. Tratamientos con la misma letra son estadísticamente iguales.

Peso Seco

El peso seco de las plantas se expreso en valores que oscilaron de 0.07 g en el testigo a 0.48 g en el tratamiento de MIC's. El análisis de varianza detecto diferencias significativas entre tratamientos. La prueba de Tukey indica que el peso seco de las plantas obtenido con las MIC's es estadísticamente superior al resto de los tratamientos (cuadro 9). Los resultados indican que las MIC's y las MIC's + *F. oxysporum* y el tratamiento de la suspensión de *B. subtilis* y *T. asperellum* son

superiores al testigo y al tratamiento con *F. oxysporum*. El incremento más alto de peso seco de las plantas de chile se registro con el tratamiento de MIC's con un 585.71%, seguido por los tratamientos MIC's + *F. oxysporum* y el tratamiento de la suspensión de *B. subtilis* y *T. asperellum* con un 314.28 y 171.42% respectivamente comparado con el testigo.

Cuadro 9. Peso seco de plantas de chile expresado en g, inoculadas con *F. oxysporum*, tratadas con microcápsulas (MIC's) y suspensión de *B. subtilis* y *T. asperellum*.

| Tratamiento | Peso Seco ¹ |
|--|------------------------|
| MIC's | 0.48 A |
| MIC's + <i>F. oxysporum</i> | 0.29 B |
| Susp. de <i>B. subtilis</i> y <i>T. asperellum</i> | 0.19 C |
| Susp. de <i>B. subtilis</i> y <i>T. asperellum</i> + <i>F. oxysporum</i> | 0.14 CD |
| <i>F. oxysporum</i> | 0.08 D |
| Testigo | 0.07 D |

1. Tratamientos con la misma letra son estadísticamente iguales

Los resultados obtenidos en este trabajo evidenciaron el incremento de clorofila en plantas de chile causado por el tratamiento con las MIC's de *B. subtilis* y *T. asperellum* comparado con el testigo absoluto. Resultados similares a los nuestros pero con otros microorganismos benéficos han sido reportados por diversos autores. Melgares *et al.* (2004) reportan que al aplicar el hongo endomicorrísico *Glomus intraradices* en el cultivo de lechuga obtuvo un incremento de clorofila en plantas tratadas. Moreno *et al.* (2003) mencionan un incremento en la clorofila de 11% en plantas de chile inoculadas con la rizobacteria *Azotobacter chroococcum* comparado con el testigo absoluto. Un mayor valor en la lectura de clorofila ha sido relacionado con un mayor contenido de nitrógeno en plantas de maíz (Anderson y Johnson, 1995) mostrándose un verde intenso en el color de hojas (Rodríguez *et al.*, 1998). Lo anterior puede sugerir que las plantas inoculadas con las MIC's presentan un mejor estado nutricional que las plantas no tratadas, reflejando este resultado en un incremento de la clorofila.

Las microcápsulas de *Bacillus subtilis* y *Trichoderma asperellum* además de funcionar como agentes de control biológico de *F. oxysporum* y *R. solani* (Jaimes *et al.*, 2010 a, b) también promueven el crecimiento y desarrollo de las plantas así como la disponibilidad de fósforo y nitrógeno y la síntesis de reguladores de crecimiento como ácido indolacético, giberilinas y citocininas (García *et al.*, 2001) nuestros resultados indican un mejor desarrollo de las plantas de Chile confirmando el efecto positivo de las MIC's con *B. subtilis* y *T. asperellum* al incrementar de manera sustancial la altura, longitud de raíz, peso fresco y peso seco de las plantas de Chile, estos resultados también han sido señalados por Ortiz (2009) en plantas de Chile inoculadas con *B. subtilis* y *Trichoderma* sp. al comparar con plantas no tratadas. En contraste Plasencia (2008) reporta que en el cultivo de papa obtuvo mal formación de plantas en el tratamiento donde inoculó con la mezcla de *B. subtilis* y *Trichoderma* sp.

Fernández (2008) confirma que el uso de microencapsulados de *B. subtilis* y *Trichoderma* promueven el crecimiento del cultivo de cebolla durante los primeros 60 días después del trasplante. Nuestros resultados señalan que las MIC's promueven de manera considerable el desarrollo de las plantas de Chile con respecto a la suspensión líquida, posiblemente porque al usar MIC's nos aseguramos de tener una degradación lenta (Yabur *et al.*, 2006) permitiendo la liberación controlada y continua de los microorganismos benéficos que no ocurre con la suspensión líquida de *B. subtilis* y *T. asperellum* (Jaimes *et al.*, 2010 b).

No fue posible determinar adecuadamente el efecto de *B. subtilis* y *T. asperellum* en la incidencia y severidad de *R. solani* y *F. oxysporum* dado que se observó una baja incidencia de las enfermedades en las plantas de Chile, quizá porque la evaluación se realizó 45 días después del trasplante faltando más tiempo para que se expresaran con mayor claridad los signos y síntomas de los patógenos. Es necesario mencionar que en el cultivo de Chile, la expresión de la marchitez del Chile ocurre precisamente a partir del llenado de fruto hasta la cosecha.

CONCLUSIONES

Bajo las condiciones experimentales en que se desarrollo esta investigación podemos concluir lo siguiente:

La confrontación *in vitro* entre *B. subtilis* y *T. asperellum* muestra que no existe antagonismos entre ellos.

Fue posible encapsular la mezcla de *B. subtilis* y *T. asperellum*.

Las Microcápsulas (MIC's) de *B. subtilis* y *T. asperellum* incrementan considerablemente la concentración de clorofila en plantas de chile en comparación con el testigo.

Las Microcápsulas (MIC's) de *B. subtilis* y *T. asperellum* muestran un mejor efecto de en el desarrollo de plantas de chile a pesar de haber sido inoculadas con *R. solani* y *F. oxysporum*.

Las Microcápsulas (MIC's) de *B. subtilis* y *T. asperellum* muestran mejor efecto de en la promoción del crecimiento de plantas de chile que la suspensión liquida de esporas de *B. subtilis* y *T. asperellum*.

LITERATURA CITADA

- Abed, A. F. A. A. M. 2005. Biological control of *Rhizoctonia Solani* and *Sclerotium Rolfsii* by using local isolates of *Trichoderma* Spp. Tesis de Grado, An- Najah National University, Nablus, Palestine. 109 p.
- Adelantado, C., Acero, X., Tusell, P., Corcuera, P. y Calvo, Ma. 2000 Evaluación de la capacidad de cepas de *Bacillus subtilis* de degradar sustratos celulósicos. Microbiología, departament de sanitat i Anatomia Animals universitat autònoma de Barcelona. 9 p.
- Agrícola Nayarit. 2005. Chile Serrano Guía para la asistencia técnica agrícola de Nayarit. Gobierno del Estado de Nayarit. 22 p.
- Álvarez, Z. R. y Delgadillo, S. F. 2004. Enfermedades el Tomate y chile Bell. Memorias del IV Simposio Nacional de Horticultura. Invernaderos: Diseño, Manejo y Producción. Torreón, Coahuila. 99 p.
- Anderson, D. B. D. and Johnson, C. G. T. 1995. Evaluation of the Minolta SPAD-520 chlorophyll meter for on-farm management of Corn in Illinois. Illinois Fertilizer Proceedings 36 p.
- Arvizu, H. D. L., Hernández, C. G. y Rodríguez, M. Y. E. 2002. Parámetros que afectan la conversión del ácido alginico en alginato de sodio. Revista Ciencias Marinas. 28: 27-36.
- Aucique, P. C. E., Colmenares S. L., Bayona C. y Romero H. M. 2008. Determinación rápida del contenido de clorofila en palma de aceite utilizando el clorofilometro Spad. CENIPALMA, Universidad Nacional de Colombia. Consultado el 5 de marzo de 2011. Disponible en: http://www.fedepalma.org/congreso/2009/eventos_gremiales/4_clorofila.pdf
- Avelar, M. J. J. 1989. Intentos de control de la marchitez del chile ocasionada por el hongo *Phytophthora capsici* en la región de Valsequillo, Puebla. Tesis de Maestria en Ciencias del Colegio de Posgraduados. Montecillos, Edo. Méx. 66 p.
- Báez, V. E. P., Carrillo, F. J. A., Báez, S. M., García, E. R., Valdez, T. J. B. y Contreras, M. R. 2010. Resistant rootstocks utilization for *Fusarium* control (*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* Snyder & Hansen race 3) in tomato *Lycopersicon esculentum* Mill) under shade conditions. Revista Mexicana de Fitopatología. 28:111-123.

- Baltazar, M. B. 1995. Diversidad genética del cultivo del chile (*Capsicum annum*) determinada por isoenzimas y rflp's. Tipos: serrano, jalapeño, manzano y silvestres en su área de distribución. Instituto de Recursos Genéticos y Productividad Del Colegio De Postgraduados. 26 p.
- Bellone, C. H., Carrizo, de B. S. and Guerrero, O. 1999. Inoculaciones con *Azospirillum brasiliense* incrementan el peso seco y la micorrización en frutilla. Actas II Reunión Científico Técnica Biología del Suelo Fijación de Nitrógeno, pp. 225-257
- Berlanga, P. A. M., Hernández, C, F. D., Gallego, M. G., Cepeda, S. M., Rodriguez, H. R., Aguilar, G. C. N. y Ovalle, N. S. 2010. Antagonismo in vitro de *Trichoderma* spp. sobre *Sclerotinia sclerotiorum* y *Sclerotium cepivorum*. Congreso Nacional de Control Biológico. 10-12 Noviembre. Uruapan, Michoacan, México. 577 p.
- Brenchley, H. G. and Wilcox, H. J. 1979. Potato diseases. Ministry of agriculture, fisheries and food. London: Her Majesty's Stationery Office. London, England. 26 p.
- Calixto, R. A. A. 2009. El Cultivo del chile serrano, en Gonzales, Tamaulipas. Monografía de Licenciatura. Departamento de Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo. 34 p.
- Cuervo, L. J. P. 2010. Aislamiento y caracterización de *Bacillus* spp. como fijadores biológicos de nitrógeno y solubilizadores de fosfatos en dos muestras de biofertilizantes comerciales. Tesis de Licenciatura. Pontificia Universidad Javeriana Facultad De Ciencias Básicas Carrera De Microbiología Agrícola Y Veterinaria, Bogota D.C. 28 p.
- Cutler, H. G. and Hill, R. A. 1994. Natural fungicides and other delivery systems as alternative to synthetics. Biological Control of postharvest diseases. 170 p.
- De las Heras, G. A. 2004. Caracterización de genes de poligalacturonasas de "*Fusarium oxysporum*" f.sp. "*Radicis lycopersici*" y su análisis en sistemas heterólogos. Tesis Doctoral, Universidad Complutense De Madrid, Facultad De Ciencias Biológicas Departamento De Genética. Madrid, España. 75 p.
- Demirci, E., Eken, C. y Dane, E. 2009. Biological control of *Rhizoctonia solani* on potato by *Verticillium biguttatu*, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Atatürk University TR-25240, Erzurum, Turkey. pp. African Journal of Biotechnology: 8 (11) 2503-2507.
- Estevez, De J. C., Perich, J. A. and Graham, P. H. 2001. Integrated management strategies of bean root rot with *Bacillus subtilis* and *Rhizobium* in Minesota. Field crops research.74:107-115.

- FAO, 2004. Manual técnico de manejo integrado de enfermedades en cultivos hidropónicos. 53 p.
- Fernández, L. O. 2001. Microorganismos antagonistas para el control fitosanitario. Avances en el fomento de productos fitosanitarios no sintéticos. Manejo integrado de plagas (Costa Rica). 62: 96-100.
- Fernández, H. E., Acosta, R. M., Ponce, G, F. y Manuel, P. V. 2006. Manejo biológico de *Phytophthora capsici* Leo., *Fusarium oxysporum* Schlechtend.:Fr. Y *Rhizoctonia solani* Kuhn en Jitomate (*Lycopersicon esculentum* mil). Revista Mexicana de Fitopatología. 25: 35-42.
- Fernández, A. O. 2008. Microencapsulación de *Bacillus subtilis* y *Trichoderma* en semilla de cebolla y su efecto en el desarrollo y producción del cultivo. Tesis de licenciatura. Departamento de Parasitología, Universidad Autónoma Agraria Antonio narro. 48 p.
- García, de S. I. E., Ines, R.K. and Nelson, L. M. 2001. Cytokinin production by plant growth promoting rhizobacteria and selected mutants. Can J. Microbiol. 47:404-411.
- García, R., García, A. y Garnica, C. 2002. Distribución, incidencia y alternativas de control de *Rhizoctonia solani* en el cultivo papa en el estado Mérida, Venezuela., Revista Latinoamericana de la Papa. Vol. 13:24-40.
- García, R., García, R., Zambrano, C. y Gutiérrez, L. 2006. Desarrollo de un fungicida biológico a base de una cepa del hongo *Trichoderma harzianum*, proveniente de la región Andina Venezolana. Revista FitoSanidad. 10:115-121.
- Garduño, P. C. 2009. Evaluación de polvos y extractos vegetales sobre el desarrollo de *Fusarium oxysporum* e identificación de compuestos volátiles. Tesis de maestría. Instituto Politécnico Nacional. Yautepec, Morelos. 56 p
- Gonzales, P. E., Yáñez, M. M., Santiago, S. V. y Montero, A. 2004. Biodiversidad fungosa en la marchitez del chile y algunos factores involucrados, en Tlacotepec de José Manzano, el Verde, Puebla. Revista Agrociencia.vol. 38: 653-661.
- Gonzales, P. 2006. Enfermedades del Tomate. Facultad de Agronomía. Montevideo URUGUAY. Consultado 5 marzo de 2011. Disponible en: http://www.pv.fagro.edu.uy/fitopato/enfermedades/Fusarium_tom.html.
- Guerrero, P. V. M. 2009. Algunas Notas sobre el control biológico de enfermedades con Microorganismos. Centro de Investigación en Alimentos y Desarrollo, A.C. Unidad Cuauhtémoc, Chihuahua. 3 p.

- Guigon, L. C. y González, G. P. 2001. Estudio regional de las enfermedades del Chile (*Capsicum annuum* L.) y su comportamiento temporal en el sur de Chihuahua, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 19:49-56.
- Guillen, C. R., Hernández, C. F. D., Gallegos, M. G., Rodríguez, H. R., Aguilar, G. C. N., Padrón, C. E. y Reyes, V. M. A. 2006. *Bacillus* spp. como biocontrol en un suelo infestado con *Fusarium* spp., *Rhizoctonia solani* Kuhn, *Phytophthora capsici* Leonian, y su efecto en el desarrollo y rendimiento del cultivo de chile. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 24:105-114.
- Haran, S., Schickler, H., Oppenheim, A. and Chet, I. 1996. Molecular mechanisms of lytic enzymes involved in the biocontrol activity of *Trichoderma harzianum*. *Microbiology* 142: 2321-2331.
- Harman, G. E. 2000. Myths and dogmas of biocontrol changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. *Plant disease*. 84: 377-393.
- Hernández, C. F. D., De la Garza, R. R., Gallegos, M. G., Padrón, C. E., Sánchez, A.A. y Lira, S. R. H. 2005. Efectividad biológica de bacterias rizosféricas esporuladas sobre el complejo de Hongos de la marchitez del Chile. *International Journal Experimental Botany*. 74: 171-180 p.
- Hernández, C. F. D., Lira, S. R. H., Cruz, C. L., Gallegos, M. G., Galindo, C. M. E., Padrón, C. E. y Hernández, S. M. 2008 a. Antifungal potential of *Bacillus* spp. strains and *Larrea tridentata* extract against *Rhizoctonia solani* on potato (*Solanum tuberosum* L.) crop. *International Journal of experimental botany Phytan* 77:241-252.
- Hernández, C. F. D., García, J. C., Osorio E., Lara F. y Gallegos, M. G. 2008 b. Antagonismo In vitro de 31 cepas de *Trichoderma* sobre *P. capsici*: Agente causal de la Marchitez del Chile. *Memorias del X congreso Mundial de Trichoderma y Gliocadium*. Del 21 al 23 de Mayo. San José de Costa Rica. Resumen 24 p.
- Hernández, C. F. D., Osorio, E., Lara, F., Morales, G. y Rodríguez, R. 2008 c. Estudios in vitro de *Trichoderma* como agente de control biológico de la costra negra de la papa (*R. solani*). *Memorias del X congreso Mundial de Trichoderma y Gliocadium*. Del 21 al 23 de Mayo. San José de Costa Rica. Resumen 24 p.
- Hernández, S. M. 2008. Biocontrol de *Rhizoctonia solani* y *Fusarium oxysporum* con microencapsulados de *Bacillus subtilis* y su efecto en el crecimiento y rendimiento de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill). Tesis de Maestría, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Depto. De Parasitología. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. 64 p

- Hernández, C. F. D., Berlanga, P. A. M., Gallegos, M. G., Cepeda, S. M. y Ovalle, N. S. Uso de Filtrados Tóxicos de *Trichoderma* spp. Sobre *Rhizoctonia solani*. 2009. Memorias del XXXII Congreso Nacional de Control Biológico. 4-6 de Noviembre de 2009. Villahermosa, Tabasco, México. 431 p.
- Howell, C. R. 2003. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. Plant disease. 87:4-10.
- INEGI, 2008. Anuario Estadístico del comercio exterior de los Estados Unidos Mexicanos. Consultado el 23 de Febrero de 2011. Disponible en: http://www.inegi.org.mx/prod_serv/contenidos/espanol/biblioteca/Default.asp?accion=1&upc=702825001799
- Infante, D., Martínez, B., Gonzales, N. y Reyes, Y. 2009. *Trichoderma* mechanisms of action against phytopathogen fungi, Revista de Protección Vegetal.24:14-21.
- INIFAP, 2010. Tecnología de producción para el cultivo de chile serrano en la zona media de San Luis Potosí .Tecnología No. 20. Campo San Luis. Consultado el 12 de Marzo de 2011. Disponible en <http://www.campopotosino.gob.mx/modulos/tecnologiasdesc.php?id=5>.
- Jaimes, C. H. J., Jaimes, C. J. R, Hernández, C. F. D., Hernández, S. M., Díaz, G. D., y Espínola, A. F. 2010 a. Inhibición de crecimiento *in vitro* de *Fusarium oxysporum* mart con microencapsulación y solución de *Trichoderma asperellum* y *Bacillus subtilis*. Resumen XXXIII Congreso Nacional de Control Biológico, Uruapan, Michoacán, México. 577 p.
- Jaimes, C. J. R., Hernández, C. F. D., Hernández, S. M., Díaz, G. D., Espínola, A. F. Jaimes, C. H. J. y Guevara, A. L. P. 2010 b. Inhibición de crecimiento *in vitro* de *Rhizoctonia solani* con microencapsulación y solución de *Trichoderma asperellum* y *Bacillus subtilis*. Resumen XXXIII Congreso Nacional de Control Biológico, Uruapan, Michoacán, México. 577 p.
- Laborde, C, J. A. y Pozo, C. O. 1982. Presente y pasado del chile en México. SARH, INIA. México, D.F. 80 p.
- López, L. J. D. 2005. Influencia de *Trichoderma* spp. en la absorción de N y P en los cultivos de maíz (*Zea mays* L.) y Ajo (*Allium sativum* L.). Tesis de Licenciatura, Departamento de Botánica, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Buenavista, Saltillo, Coahuila. Pág. 124.
- López, Y., Pineda, J., Hernández, A. y Dilcia, U. 2009. Efecto diferencial de seis aislamientos de *Trichoderma* sobre la severidad de *Rhizoctonia solani*,

- desarrollo radical y crecimiento de plantas de maíz. Universidad Centro Occidental de Venezuela. Bioagro. 22: 37-42.
- Louise M. Nelson. 2004. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): prospects for new inoculants Journal Crop Management doi: 10.1094/CM-2004-0301-05-RV
- Marcos, C. F. 1996. Evaluación de Extractos vegetales para el control de la Pudrición de la Corona y Raíz del Tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) causada por *Fusarium oxysporum* sp. *Radiciis lycopersici*. Tesis de Licenciatura. Departamento de Parasitología, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. 86 p
- Martínez, B. F. L. y Solano, T. 1994. Antagonismo de cepas de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos de la caña de azúcar, tomate y tabaco. Cultivos Tropicales. 15:48-54.
- Martinson, A. C. and Rehiyani, S.M. 1991. Suppression of *Rhizoctonia solani* in soil with animal manures. Phytopathology 81(10):1241.
- Mendoza, Z. C. y Pinto C. B. 1985. Principio de fitopatología y enfermedades causadas por hongos. Universidad Autónoma Chapingo. Departamento de Parasitología, Agrícola. 310 p.
- Mendoza, R. 2006. Sistemática e historia del ají *Capsicum* Tourn. Revista Científica Universalia. 11: 81-87
- Melgares, de A. J. A., Gonzales, M. D., Gutiérrez, A., Honrubia, M. y Morte, A. 2004. Efectos del hongo endomicorrícico *Glomus intraradices* en el cultivo ecológico de lechuga tipo Iceberg. VI Congreso de la Sociedad Española de Agricultura Ecológica Almería, España. 115 p.
- 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. and Alvarado, G. O. G. 2009. Biological control of chili pepper root rot (*Capsicum annuum* L.) by *Bacillus thuringiensis*. International journal of Botany Experimental φYTON. 78: 105-110.
- Monreal, V. C. T. 2008. Diagnostico de enfermedades virales, bacterianas y fúngicas en jitomate y chile mediante técnicas moleculares. Revista Claridades Agropecuarias N° 73. 60 p.
- Moreno, E. V., Arellano, G. M. y Gutiérrez, C. M. A. 2003. Efecto de diferentes dosis de un biopreparado a base de la bacteria *Azotobacter chroococcum* en parametros fisiológicos de planta joven en chile (*capsicum annum*) y lechuga (*lactuca sativa*) bajo condiciones de invernadero. Boletín Técnico, Instituto Tecnológico de Sonora. 16 p.

- Nelson, P. E., Toussoun, T. A. y Marasas, W. F. O. 1983. *Fusarium* especies. An illustrated manual for identification. The Pennsylvania State University Press. University Park of London. USA 203 p.
- Novoa, S. R. y Villagran, N. 2002. Evaluación de un instrumento medidor de clorofila en la determinación de niveles de nitrógeno foliar en maíz. Revista Agricultura técnica. 62 :166-171.
- Obregón, G. M. Á. 2004. *Bacillus subtilis* Bacteria antagonista y promotora de crecimiento *Bacillus subtilis* cepa *mog04* Control biológico de enfermedades en los cultivos. Consultado el 7 de Marzo de 2011. Disponible en <http://doctorobregon.com/Bacillussubtilis.aspx>
- Orellana, B. E. F., Escobar, B. J. C., Morales, de B. A. J. y Méndez, de S. I. S. 2007. Guía técnica cultivo de chile dulce, Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal, La Libertad el Salvador. 51 p.
- Ortiz, M. R. 2009. Evaluación de agentes microbianos como promotores del crecimiento y antagonistas de la marchitez del chile (*Capsicum annum* L). Tesis de licenciatura. Departamento de Parasitología, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.
- Papavizas, G. C., Lewis, J. A. and Abd-Elmoity, T. H. 1982. Evaluation of new biotypes of *Trichoderma harzianum* for tolerance to Benomyl and enhanced biocontrol capabilities. Phytopathology 72: 126-132.
- Paredes, T. A. 1989. Producción de papa en el cofre de perote. Síntesis hortícola. 3(7): 26-33.
- Pérez, M., Duran, O. L. J., Ramírez, M. R., Sánchez, P. J. R. y Olalde, P. V. 2004. Sensibilidad *in vitro* de Aislados del Hongo *Phytophthora capsici* a fungicidas. Memorias Convención mundial del chile. León, Guanajuato. Resumen. pp 144-150.
- Pineda, P. J. B. y Ávila, M. J. M. 1988. Alternativas para el control de *Macrophomina phaseolina* Y *Fusarium oxysporum* patógenos del ajonjolí (*Sesamum indicum* L.) Revista Agronomía Tropical. 38(4-6): 79-84.
- Pinto, C. M. 1966. Taxonomía y distribución geográfica de los chiles cultivados en México. Folleto Miscelaneo # 15 INIA-SARH. p 60.
- Plascencia, R. A. 2008. Biocontrol de *Rhizoctonia solani* en papa con *Trichoderma harzianum* y *Bacillus subtilis*. Tesis de Licenciatura. Departamento de Parasitología, Universidad Autónoma Agraria Antonio narro, Buenavista saltillo Coahuila, México. 33 p.

- Pozo, O. 1981. Descripción de tipos y cultivos de chile *Capsicum* spp. en México. Folleto Tec. # 77 INIA-SARH. 55p.
- Productores de Hortalizas. 2010. Plagas y Enfermedades de Chiles y pimientos. Suplemento Especial del mes de marzo 2010, de la Revista Comercial Productores de Hortalizas. 24p.
- Pulido, D. L. E. 2002. Hongos micorrízicos arbusculares y rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal: alternativas para la producción de posturas de tomate (*lycopersicon esculentum* mill.) y cebolla (*Allium cepa* L.) Tesis de Grado en ciencias. Instituto Nacional De Ciencias Agrícolas Departamento de Biofertilizantes y Nutrición de las Plantas Facultad de Agronomía, La Habana, Cuba. 98 p.
- Rico, G. L., Guerrero, A. B., López, V, A., Muñoz, S.C.I., Guevara, O. L., Guevara, G. R.G., Torres, P. I. y Gonzales, C. M. 2001. Búsqueda de resistencia natural en plantas de Chile (*Capsicum* spp.) contra aislados del complejo fúngico que causa pudrición de raíz. Memoria XXVIII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología, Querétaro, Querétaro, México. Resumen 134 P.
- Rico, G. L. 2002. Búsqueda de resistencia natural en plantas de chile (*Capsicum* spp.) contra aislados del complejo fúngico que causa pudrición de raíz, Tesis de Maestría en ciencias. Instituto Tecnológico de Celaya. Celaya, Gto. México. P 91.
- Rodríguez, M. M., Alcantar, G. G., Aguilar, S. A., Etcheverrs, B. J. D. y Santizo, R. J.A.1998. Estimación del contenido de nitrógeno y clorofila mediante un medidor portátil de Clorofila. Terra Latinoamericana. 16:135-141.
- Rodríguez, D. A. y Montilla, J. O. 2002. Disminución de la marchitez causada por *Fusarium* en tomate con extracto de *Citrus paradisi*. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) No. 63: 46 - 50.
- Rodríguez, L. A., Chiappetta, D. S. M. y Fernández, A. B. C. 2003. Alginate microparticles containing paracetamol. *Ars Pharmaceutica*, 44: 333-342.
- Rodríguez, del B. L. A. y Arredondo, B. H. C. 2007. Teoría y aplicación del control biológico. Sociedad Mexicana de Control Biológico. 303 p.
- Ruiz, C. M., Calleros, G. V., Estrella, H. A., y Portugal, O. V. 2001, Introducción de agentes de control biológico de *Rhizoctonia solani* en suelos solarizados o encalados en condiciones de invernadero. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica). 59: 10 - 14.
- Samuels, G. J. 1996. *Trichoderma*: a review of biology and systematic of the genus. *Mycology Research*. 100: 923-935.

- Schulte, G. E., Schüler, C., Hensel, O., Jürgen, H., Finckh, M. R. and Christian, B. C. 2008. Control of *Rhizoctonia solani* in potatoes with a new application technique of suppressive composts in organic potato production, Compost and digestate: sustainability, benefits, impacts for the environment and for plant production International. congress, CH-Solothurn 27th – 29th February. Pp 116-122.
- SIAP, 2009. Producción agrícola del chile verde. Ciclo: OI +PV Año Agrícola 2009 Modalidad: Riego de Temporal. Gobierno Mexicano. Consultado el 9 de Marzo de 2011. Disponible en: http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com_wrapper&view=wrapper&Itemid=351
- Soria, F.M. 1993. Producción de hortalizas en la Península de Yucatán. SEP, DGTA. 50 p.
- Sosa, A. B. Y. y Gonzales, M. 2008. Aislamiento, identificación y caracterización de cepas de *Bacillus* spp. Con potencialidades para el control biológico de los géneros *Rhizoctonia*, *Sclerotium* y *Pythium*. Taller Latinoamericano de Biocontrol de Fitopatógenos, Ciudad de La Habana, Cuba, 22-29 Sep 2008. 14(1) p. 63.
- Valdez, L. P. y Velázquez, R. R. 2010. Evaluación de la efectividad biológica de *Trichoderma viridae* y *Bacillus subtilis* en el control de *R. solani* durante la germinación de semillas de algodón. XXXIII Congreso Nacional de Control Biológico. 10-12 Noviembre. Uruapan, Michoacán, México. 577 p.
- Vargas, G. O. 2009. Mecanismos de la actividad antagonica de *Trichoderma* spp. Contra *Alternaria Alternata* (Fr.) Keissler bajo condiciones *in vitro*. Tesis de Licenciatura. Departamento de parasitología, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. 30 p.
- Vázquez, V. J. J. 2009. Determinación *in vitro* de las propiedades fungicidas de los ácidos fúlvicos en *Fusarium moniliforme* (Sheldon) y *Trichoderma harzianum* (Rifai). Tesis de Licenciatura, Departamento de Botánica, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. 37 p.
- Yabur, R., Bashan, and Hernandez, C. G. 2006. Alginate from the macroalgae *Sargassum sinicola* as a novel source for microbial immobilization material in wastewater treatment and plant growth promotion. JApplPhycol.19: 43-53.
- Yáñez, F. J., Salazar, M. J. A., Chaires, M. L., Jiménez, H. J., Márquez, R. M. y Ramos, R. E. G. 2002. Aplicaciones biotecnológicas de la microencapsulación. Resumen XXX Aniversario de Biotecnología y Bioingeniería. Avance y Perspectiva.21:313-318.

Yáñez, M. M. de J. 2006. Enfermedades producidas por hongos. 70 p.

APÉNDICE

Cuadro 1. Clorofila de plantas de chile expresado en unidades SPAD inoculadas con microcápsulas de *B. subtilis* y *T. asperellum* (MIC's) y el testigo.

| | T1 | T2 |
|------------|-----------|-----------|
| R1 | 27.70 | 44.10 |
| R2 | 31.10 | 41.70 |
| R3 | 32.10 | 44.60 |
| R4 | 42.70 | 44.80 |
| R5 | 33.60 | 44.00 |
| R6 | 34.20 | 40.30 |
| R7 | 32.70 | 43.60 |
| R8 | 31.90 | 41.70 |
| R9 | 41.50 | 40.00 |
| R10 | 33.80 | 40.70 |
| R11 | 25.70 | 40.70 |
| R12 | 35.60 | 42.00 |
| R13 | 28.70 | 41.60 |
| R14 | 21.10 | 44.50 |
| R15 | 25.40 | 41.10 |
| R16 | 29.10 | 42.00 |
| R17 | 32.70 | 40.90 |
| R18 | 27.10 | 42.40 |
| R19 | 37.70 | 40.90 |
| R20 | 30.10 | 42.90 |

Cuadro 2. Análisis de varianza de la medición de clorofila de plantas de chile expresado en unidades SPAD, inoculadas con microcápsulas (MIC's) de *B. subtilis* y *T. asperellum* y el testigo.

| FV | GL | SC | CM | F Valu | Pr > F |
|---------------------|-----------|------------|------------|---------------|------------------|
| Repeticiones | 19 | 265.035167 | 13.949219 | 0.86 | 0.6262 |
| Tratamientos | 2 | 1464.42133 | 732.210667 | 45.26 | <.0001 |
| Error | 38 | 614.705333 | 16.176456 | | |
| Total | 59 | 2344.16183 | | | |

Cuadro 3. Altura de plantas de chile expresado en cm, inoculadas con *R. solani*, tratadas con microcápsulas (MIC's) y suspensión de *B. subtilis* y *T. asperellum*.

| | R1 | R2 | R3 | R4 | R5 | R6 |
|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| T1 | 12.85 | 13.45 | 14.65 | 13.05 | 12.9 | 12.90 |
| T2 | 10.65 | 9.90 | 10.15 | 9.90 | 8.95 | 10.00 |
| T3 | 9.70 | 9.00 | 9.30 | 10.05 | 10.00 | 11.10 |
| T4 | 10.25 | 10.15 | 11.15 | 11.05 | 9.30 | 11.70 |
| T5 | 8.45 | 8.45 | 9.50 | 8.15 | 8.20 | 8.75 |
| T6 | 9.25 | 11.05 | 8.15 | 6.35 | 9.00 | 7.20 |

Cuadro 4. Análisis de varianza de la altura de plantas de chile expresado en cm, inoculadas con *R. solani*, tratadas con microcápsulas (MIC's) y suspensión de *B. subtilis* y *T. asperellum*.

| F.V. | G.L. | S.C. | C. M. | F Value | Pr > F |
|---------------------|-------------|-------------|--------------|----------------|------------------|
| Repeticiones | 5 | 2.96 | 0.59 | 0.66 | 0.6565 |
| Tratamiento | 5 | 92.61 | 18.52 | 20.68 | <.0001 |
| Error | 25 | 22.40 | 0.90 | | |
| Total | 35 | 117.96 | | | |

Cuadro 5. Longitud de raíz de plantas de chile expresado en cm, inoculadas con *R. solani*, tratadas con microcápsulas (MIC's) y suspensión de *B. subtilis* y *T. asperellum*.

| | R1 | R2 | R3 | R4 | R5 | R6 |
|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| T1 | 21.20 | 22.40 | 26.20 | 12.20 | 21.30 | 13.90 |
| T2 | 13.60 | 15.10 | 16.90 | 15.80 | 5.40 | 16.90 |
| T3 | 13.60 | 6.70 | 16.30 | 30.10 | 22.30 | 10.90 |
| T4 | 14.90 | 7.60 | 20.10 | 18.50 | 15.10 | 9.30 |
| T5 | 5.00 | 8.20 | 10.20 | 5.20 | 11.50 | 8.60 |
| T6 | 11.00 | 7.00 | 6.20 | 4.90 | 6.70 | 6.50 |

Cuadro 6. Análisis de varianza de la longitud de raíz de plantas de chile expresado en cm, inoculadas con *R. solani*, tratadas con microcápsulas (MIC's) y suspensión de *B. subtilis* y *T. asperellum*.

| F.V. | G.L. | S.C. | C. M. | F Value | Pr > F |
|---------------------|-------------|-------------|--------------|----------------|------------------|
| Repeticiones | 5 | 117.478056 | 23.4956111 | 0.95 | 0.469 |
| Tratamiento | 5 | 927.934722 | 185.586944 | 7.47 | 0.0002 |
| Error | 25 | 621.003611 | 24.840144 | | |
| Total | 35 | 1666.41639 | | | |

Cuadro 7. Peso fresco de plantas de chile expresado en g, inoculadas con *R. solani*, tratadas con microcápsulas (MIC's) y suspensión de *B. subtilis* y *T. asperellum*.

| | R1 | R2 | R3 | R4 | R5 | R6 |
|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| T1 | 3.30 | 5.50 | 9.00 | 5.30 | 6.10 | 5.10 |
| T2 | 3.00 | 2.30 | 2.00 | 1.50 | 1.70 | 2.70 |
| T3 | 1.40 | 1.70 | 1.50 | 2.20 | 1.70 | 2.30 |
| T4 | 2.70 | 2.40 | 2.90 | 2.50 | 2.00 | 2.40 |
| T5 | 0.90 | 0.60 | 0.90 | 1.10 | 1.30 | 0.80 |
| T6 | 0.80 | 1.10 | 0.60 | 0.60 | 0.70 | 0.60 |

Cuadro 8. Análisis de varianza del peso fresco de plantas de chile expresado en g, inoculadas con *R. solani*, tratadas con microcápsulas (MIC's) y suspensión de *B. subtilis* y *T. asperellum*.

| F.V. | G.L. | S.C. | C. M. | F Value | Pr > F |
|---------------------|-------------|-------------|--------------|----------------|------------------|
| Repeticiones | 5 | 2.1934048 | 0.438681 | 0.6 | 0.699 |
| Tratamiento | 5 | 108.525700 | 21.70514 | 29.78 | <.0001 |
| Error | 25 | 18.223824 | 0.728953 | | |
| Total | 35 | 128.942929 | | | |

Cuadro 9. Peso seco de plantas de chile expresado en g, inoculadas con *R. solani*, tratadas con microcápsulas (MIC's) y suspensión de *B. subtilis* y *T. asperellum*.

| | R1 | R2 | R3 | R4 | R5 | R6 |
|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| T1 | 0.44 | 0.49 | 0.62 | 0.42 | 0.45 | 0.46 |
| T2 | 0.21 | 0.17 | 0.16 | 0.13 | 0.14 | 0.21 |
| T3 | 0.12 | 0.13 | 0.13 | 0.19 | 0.15 | 0.17 |
| T4 | 0.21 | 0.18 | 0.23 | 0.18 | 0.16 | 0.18 |
| T5 | 0.09 | 0.07 | 0.09 | 0.09 | 0.13 | 0.07 |
| T6 | 0.07 | 0.09 | 0.05 | 0.06 | 0.06 | 0.08 |

Cuadro 10. Análisis de varianza del peso seco de plantas de chile expresado en g, inoculadas con *R. solani*, tratadas con microcápsulas (MIC's) y suspensión de *B. subtilis* y *T. asperellum*.

| F.V. | G.L. | S.C. | C. M. | F Value | Pr > F |
|---------------------|-------------|-------------|--------------|----------------|------------------|
| Repeticiones | 5 | 0.00497851 | 0.0009957 | 0.74 | 0.6007 |
| Tratamiento | 5 | 0.757317 | 0.1514634 | 112.57 | <.0001 |
| Error | 25 | 0.03363694 | 0.00134548 | | |
| Total | 35 | 0.79593246 | | | |

Cuadro 11. Altura de plantas de chile expresado en cm, inoculadas con *F. oxysporum*, tratadas con microcápsulas (MIC's) y suspensión de *B. subtilis* y *T. asperellum*.

| | R1 | R2 | R3 | R4 | R5 | R6 |
|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| T1 | 12.85 | 13.45 | 14.65 | 13.05 | 12.90 | 12.90 |
| T2 | 10.15 | 12.30 | 11.8 | 12.05 | 12.15 | 13.55 |
| T3 | 9.45 | 9.65 | 8.10 | 7.20 | 9.90 | 10.15 |
| T4 | 10.25 | 10.15 | 11.15 | 11.05 | 9.30 | 11.70 |
| T5 | 7.95 | 6.98 | 7.70 | 8.45 | 7.00 | 9.05 |
| T6 | 9.25 | 11.05 | 8.15 | 6.35 | 9.00 | 7.20 |

Cuadro 12. Análisis de varianza de la altura de plantas de chile expresado en cm, inoculadas con *F. oxysporum*, tratadas con microcápsulas (MIC's) y suspensión de *B. subtilis* y *T. asperellum*.

| F.V. | G.L. | S.C. | C. M. | F Value | Pr > F |
|---------------------|-------------|-------------|--------------|----------------|------------------|
| Repeticiones | 5 | 4.67 | 0.934 | 0.74 | 0.6022 |
| Tratamiento | 5 | 136.8275 | 27.3655 | 21.62 | <.0001 |
| Error | 25 | 31.6475 | 1.2659 | | |
| Total | 35 | 173.145 | | | |

Cuadro 13. Longitud de raíz de plantas de chile expresado en cm, inoculadas con *F. oxysporum*, tratadas con microcápsulas (MIC's) y suspensión de *B. subtilis* y *T. asperellum*.

| | R1 | R2 | R3 | R4 | R5 | R6 |
|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| T1 | 21.20 | 22.40 | 26.20 | 12.20 | 21.30 | 13.90 |
| T2 | 11.20 | 16.50 | 19.10 | 17.50 | 16.10 | 27.40 |
| T3 | 24.30 | 14.40 | 10.50 | 12.30 | 13.60 | 12.10 |
| T4 | 14.90 | 7.60 | 20.10 | 18.50 | 15.10 | 9.30 |
| T5 | 5.30 | 5.40 | 5.10 | 4.50 | 4.40 | 5.90 |
| T6 | 11.00 | 7.00 | 6.20 | 4.90 | 6.70 | 6.50 |

Cuadro 14. Análisis de varianza de la longitud de raíz de plantas de chile expresado en cm, inoculadas con *F. oxysporum*, tratadas con microcápsulas (MIC's) y suspensión de *B. subtilis* y *T. asperellum*.

| F.V. | G.L. | S.C. | C. M. | F Value | Pr > F |
|---------------------|-------------|-------------|--------------|----------------|------------------|
| Repeticiones | 5 | 46.378889 | 9.275778 | 0.46 | 0.8047 |
| Tratamiento | 5 | 1014.28222 | 202.856444 | 9.98 | <.0001 |
| Error | 25 | 508.211111 | 20.328444 | | |
| Total | 35 | 1568.87222 | | | |

Cuadro 15. Peso fresco de plantas de chile expresado en g, inoculadas con *F. oxysporum*, tratadas con microcápsulas (MIC's) y suspensión de *B. subtilis* y *T. asperellum*.

| | R1 | R2 | R3 | R4 | R5 | R6 |
|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| T1 | 3.30 | 5.50 | 9.00 | 5.30 | 6.10 | 5.10 |
| T2 | 2.20 | 4.10 | 4.20 | 3.20 | 3.50 | 5.20 |
| T3 | 1.50 | 1.60 | 1.60 | 1.40 | 2.60 | 2.40 |
| T4 | 2.70 | 2.40 | 2.90 | 2.50 | 2.00 | 2.40 |
| T5 | 1.40 | 0.40 | 0.90 | 1.10 | 0.70 | 0.60 |
| T6 | 0.80 | 1.10 | 0.60 | 0.60 | 0.70 | 0.60 |

Cuadro 16. Análisis de varianza del peso fresco de plantas de chile expresado en g, inoculadas con *F. oxysporum*, tratadas con microcápsulas (MIC's) y suspensión de *B. subtilis* y *T. asperellum*.

| F.V. | G.L. | S.C. | C. M. | F Value | Pr > F |
|---------------------|-------------|-------------|--------------|----------------|------------------|
| Repeticiones | 5 | 4.8855556 | 0.9771111 | 1.2 | 0.3365 |
| Tratamiento | 5 | 108.672222 | 21.7344444 | 26.76 | <.0001 |
| Error | 25 | 20.3077778 | 0.8123111 | | |
| Total | 35 | 133.865556 | | | |

Cuadro 17. Peso seco de plantas de chile expresado en g, inoculadas con *F. oxysporum*, tratadas con microcápsulas (MIC's) y suspensión de *B. subtilis* y *T. asperellum*.

| | R1 | R2 | R3 | R4 | R5 | R6 |
|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| T1 | 0.44 | 0.49 | 0.62 | 0.42 | 0.45 | 0.46 |
| T2 | 0.16 | 0.32 | 0.30 | 0.27 | 0.33 | 0.38 |
| T3 | 0.13 | 0.12 | 0.12 | 0.1 | 0.19 | 0.18 |
| T4 | 0.21 | 0.18 | 0.23 | 0.18 | 0.16 | 0.18 |
| T5 | 0.11 | 0.04 | 0.09 | 0.09 | 0.06 | 0.07 |
| T6 | 0.07 | 0.09 | 0.05 | 0.06 | 0.06 | 0.08 |

Cuadro 18. Análisis de varianza del peso seco de plantas de chile expresado en g, inoculadas con *F. oxysporum*, tratadas con microcápsulas (MIC's) y suspensión de *B. subtilis* y *T. asperellum*.

| F.V | G.L | S.C | C.M | F Value | Pr > F |
|---------------------|------------|------------|------------|----------------|------------------|
| Repeticiones | 5 | 0.01158056 | 0.00231611 | 1.02 | 0.4251 |
| Tratamientos | 5 | 0.73781389 | 0.14756278 | 65.21 | <.0001 |
| Error | 25 | 0.05656944 | 0.00226278 | | |
| Total | 35 | 0.80596389 | | | |