

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA



Evaluación De Quitosano Como Agente De Control *In Vitro* De *Pythium aphanidermatum* Y *Sclerotium rolfsii*

Por:

**OSCAR PEÑALOZA PEÑAFORT**

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

**INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO**

Saltillo, Coahuila de Zaragoza, México.

Septiembre, 2022.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA

Evaluación De Quitosano Como Agente De Control *In Vitro* De *Pythium aphanidermatum* Y *Sclerotium rolfsii*

Por:

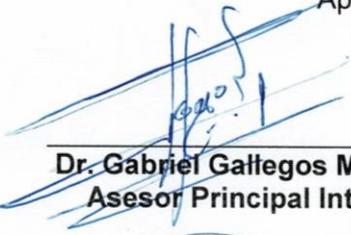
**OSCAR PEÑALOZA PEÑAFORT**

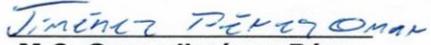
TESIS

Presentado como requisito parcial para obtener el título de:

**INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO**

Aprobada por el Comité de Asesoría:

  
Dr. Gabriel Galtegos Morales  
Asesor Principal Interno

  
M.C. Omar Jiménez Pérez  
Asesor Principal Externo

  
M.C. Fidel Maximiano Peña Ramos  
Coasesor

  
Dr. Sergio Sánchez Peña  
Coasesor

  
Dr. Jerónimo Landeros Flores  
Coordinador Interino de la División de Asesoría



Saltillo, Coahuila de Zaragoza, México.  
Septiembre, 2022.

### **Derechos de Autor y Declaración de no plagio**

Todo material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor de los Estados Unidos Mexicanos, y pertenece al autor principal quien es el responsable directo y jura bajo protesta de decir verdad que no se incurrió en plagio o conducta académica incorrecta en los siguientes aspectos:

Reproducción de fragmentos o textos sin citar la fuente o autor original (corta y pega); reproducir un texto propio publicado anteriormente sin hacer referencia al documento original (auto plagio); comprar, robar o pedir prestados los datos o la tesis para presentarla como propia; omitir referencias bibliográficas o citar textualmente sin usar comillas; utilizar ideas o razonamientos de un autor sin citarlo; utilizar material digital como imágenes, videos, ilustraciones, gráficas, mapas o datos sin citar al autor original y/o fuente. Así mismo tengo conocimiento de que cualquier uso distinto de estos materiales como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Por lo anterior nos responsabilizamos de las consecuencias de cualquier tipo de plagio en caso de existir y declaramos que este trabajo no ha sido previamente presentado en ninguna otra institución educativa, organización, medio público o privado.

Autor principal

  
Oscar Peñalosa Peñafort

Firma y Nombre

## AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, mi Alma Mater, y a los profesores por las enseñanzas durante mi estancia.

Al Dr. Gabriel Gallegos Morales, por darme la oportunidad de trabajar en este proyecto de investigación.

Al M.C. Omar Jiménez Pérez, por todo el apoyo que me brindó durante la realización de este proyecto de investigación.

A mi madre y a mis hermanos, por el apoyo y las palabras de aliento.

A los amigos, que, aunque fue poco el tiempo de convivencia, fueron muy buenos momentos.

*“De todas las ocupaciones de las que se deriva beneficio alguno, no hay ninguna tan amable, tan saludable y tan merecedora de la dignidad del hombre libre como la Agricultura”.*

Cicerón

## ÍNDICE GENERAL

### Contenido

|   |      |
|---|------|
| <b>AGRADECIMIENTOS</b> .....                                  | iii  |
| <b>ÍNDICE DE CUADROS</b> .....                                | vii  |
| <b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....                                | viii |
| <b>1. RESUMEN</b> .....                                       | ix   |
| <b>2. INTRODUCCIÓN</b> .....                                  | 1    |
| <b>2.1 Justificación</b> .....                                | 3    |
| <b>2.2 Objetivo</b> .....                                     | 3    |
| <b>2.3 Hipótesis</b> .....                                    | 3    |
| <b>3. REVISIÓN DE LITERATURA</b> .....                        | 4    |
| <b>3.1 El Cultivo de Chile <i>Capsicum annum</i> L.</b> ..... | 4    |
| 3.1.1 Importancia del Chile en México.....                    | 4    |
| 3.1.2 Enfermedades del cultivo del chile.....                 | 5    |
| 3.1.3 “Damping off”.....                                      | 5    |
| <b>3.2 Descripción de <i>Pythium aphanidermatum</i></b> ..... | 6    |
| 3.2.1 Clasificación taxonómica.....                           | 7    |
| 3.2.2 Características morfológicas.....                       | 7    |
| 3.2.3 Ciclo de reproducción.....                              | 8    |
| 3.2.4 Condiciones favorables para su desarrollo.....          | 8    |
| 3.2.5 Síntomas y signos.....                                  | 10   |
| 3.2.6 Marchitez del chile.....                                | 10   |
| <b>3.3 Descripción de <i>Sclerotium rolfsii</i></b> .....     | 10   |
| 3.3.1 Clasificación Taxonómica.....                           | 11   |
| 3.3.2 Características morfológicas.....                       | 11   |
| 3.3.4 Distribución.....                                       | 12   |
| 3.3.5 Síntomas y signos.....                                  | 12   |
| <b>3.4 Métodos de control</b> .....                           | 13   |
| 3.4.1 Control Químico.....                                    | 13   |
| 3.4.2 Control Cultural.....                                   | 13   |
| 3.4.3 Control Biológico.....                                  | 14   |
| <b>3.5 Uso de Quitosano en la Agricultura</b> .....           | 14   |
| <b>4. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....                          | 17   |
| <b>4.1 Ubicación del experimento</b> .....                    | 17   |

|  |           |
|--|-----------|
| <b>4.2 Material biológico .....</b>  | <b>17</b> |
| <b>4.3 Obtención de quitosano en laboratorio .....</b>   | <b>17</b> |
| <b>4.4 Tratamiento experimental de quitosano. ....</b>   | <b>19</b> |
| 4.4.1 Prueba de inhibición <i>in vitro</i> de quitosano contra <i>P. phanidermatum</i> y<br><i>S. rolfsii</i> .....  | 19        |
| <b>4.5 Análisis estadístico .....</b>  | <b>20</b> |
| <b>5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>   | <b>21</b> |
| <b>5.1 Solubilidad de la quitina y del quitosano .....</b>   | <b>21</b> |
| <b>5.2 Características morfológicas de <i>Pythium aphanidermatum</i> y<br/>        <i>Sclerotium rolfsii</i>.....</b>  | <b>21</b> |
| <b>5.3 Prueba de inhibición <i>in vitro</i> del crecimiento micelial de <i>Pythium<br/>        aphanidermatum</i> y <i>Sclerotium rolfsii</i> en medio de cultivo suplementado<br/>        con quitosano .....</b> | <b>23</b> |
| <b>6. CONCLUSIONES .....</b>   | <b>29</b> |
| <b>7. LITERATURA CITADA.....</b>   | <b>30</b> |
| <b>8. ANEXOS .....</b>   | <b>41</b> |

## ÍNDICE DE CUADROS

|                   |   |    |
|-------------------|---|----|
| <b>Cuadro 1.</b>  | Tratamientos y dosis de quitosano (Q-Bs y Q-Com). .....                             | 19 |
| <b>Cuadro 2.</b>  | Inhibición de quitosano (Q-Bs y Q-Com) contra <i>P. aphanidermatum</i> . .....      | 24 |
| <b>Cuadro 3.</b>  | Inhibición de quitosano (Q-Bs y Q-Comercial) contra <i>Sclerotium rolfsii</i> ..... | 27 |
| <b>Cuadro 4.</b>  | Datos de <i>Pythium aphanidermatum</i> .....  | 41 |
| <b>Cuadro 5.</b>  | Código de SAS para <i>P. aphanidermatum</i> . .....                                 | 42 |
| <b>Cuadro 6.</b>  | Componentes del diseño. ....  | 43 |
| <b>Cuadro 7.</b>  | Análisis de varianza para <i>P. aphanidermatum</i> .....                            | 43 |
| <b>Cuadro 8.</b>  | Prueba de Tukey para <i>P. aphanidermatum</i> . ....                                | 44 |
| <b>Cuadro 9.</b>  | Medidas resumen de <i>P. aphanidermatum</i> .....                                   | 45 |
| <b>Cuadro 10.</b> | Datos de <i>Sclerotium rolfsii</i> . ....   | 46 |
| <b>Cuadro 11.</b> | Código de SAS para <i>S. rolfsii</i> . ....   | 47 |
| <b>Cuadro 12.</b> | Componentes del diseño. ....  | 48 |
| <b>Cuadro 13.</b> | Análisis de varianza para <i>S. rolfsii</i> . ....                                  | 48 |
| <b>Cuadro 14.</b> | Prueba de Tukey para <i>S. rolfsii</i> .....  | 49 |
| <b>Cuadro 15.</b> | Medidas resumen de <i>S. rolfsii</i> . ....   | 50 |

## ÍNDICE DE FIGURAS

|   |    |
|---|----|
| <b>Figura 1.</b> Diferencia estructural de la Quitina y del Quitosano .....                       | 16 |
| <b>Figura 2.</b> Diagrama de flujo del proceso para la obtención del quitosano.....               | 18 |
| <b>Figura 3.</b> Comparación de la quitina (A), quitosano Q-Bs (B) y quitosano comercial (C)..... | 21 |
| <b>Figura 4.</b> Características morfológicas de <i>Pythium aphanidermatum</i> .....              | 22 |
| <b>Figura 5.</b> Características morfológicas de <i>Sclerotium rolfsii</i> .....                  | 23 |
| <b>Figura 6.</b> Crecimiento micelial de <i>Pythium aphanidermatum</i> .....                      | 25 |
| <b>Figura 7.</b> Crecimiento micelial de <i>Sclerotium rolfsii</i> .....                          | 27 |
| <b>Figura 8.</b> Comparación de medias para <i>P. aphanidermatum</i> .....                        | 44 |
| <b>Figura 9.</b> Comparación de medias para <i>S. rolfsii</i> .....                               | 49 |

## 1. RESUMEN

*Pythium aphanidermatum* y *Sclerotium rolfsii* son dos fitopatógenos que afectan comúnmente al cultivo del chile, provocando la enfermedad conocida como damping off y la marchitez del chile. Dichas enfermedades son provocadas por un complejo de hongos y oomycetos donde también se encuentran a; *Fusarium* sp, *Rhizoctonia solani* y *Phytophthora capsici*.

El principal control que se ha desarrollado en los últimos años es el uso de microorganismos antagónicos como bacterias (*Bacillus*, *Pseudomonas*) y el hongo *Trichoderma*. Otra alternativa es el uso del quitosano producto de la hidrólisis o degradación de la quitina. El objetivo de este trabajo fue evaluar la dosis en la que el quitosano obtenido experimentalmente provoca la inhibición del crecimiento micelial de *Pythium aphanidermatum* y de *Sclerotium rolfsii*. Para ello, se evaluaron dos tipos de quitosano, uno elaborado en laboratorio mediante la degradación bacteriana de cáscara de camarón (Q-Bs) y otro comercial (Q-Com) en mezcla individual en placas Petri con medio de cultivo PDA estéril. El experimento *in vitro* permitió observar que la dosis 0.02 % del quitosano Q-Bs experimental inhibió a ambos fitopatógenos, en *P. aphanidermatum* (63.82 % de inhibición) y en *S. rolfsii* (91.67 % de inhibición), mientras que en el mismo porcentaje el quitosano comercial carece de actividad inhibitoria para ambos fitopatógenos dado que crecieron de forma similar estadísticamente ( $p \leq 0,05$ ) al testigo absoluto. El quitosano experimental Q-Bs obtenido de quitina proveniente de degradación bacteriana de cáscara de camarón inhibe el crecimiento de fitopatógenos que provocan el damping off y marchitez en plantas de chile.

**Palabras clave:** chile, damping off, marchitez, inhibición *in vitro*, quitosano.

## 2. INTRODUCCIÓN

En México el cultivo del chile es de gran importancia, nutricional, genética y económica ya que el país ocupa el segundo lugar a nivel mundial en la producción de chiles, con una producción de 3,238,244.81 ton al año, con un valor de más de 32,761 millones de pesos (SIAP, 2019).

Según datos del SIAP (2020) en nuestro país tanto el cultivo del chile como del tomate son las hortalizas que más importancia económica tienen, el cultivo de chile aporta el 20.2 % en la producción de hortalizas a nivel nacional. En los últimos 15 años la superficie destinada al cultivo de chile ha oscilado en un rango de 40 mil hectáreas, manteniéndose en un promedio de 147 mil hectáreas anuales sembradas del cultivo en nuestro país, sin embargo, la producción solo ha aumentado poco más de un millón de toneladas para este mismo lapso. La principal razón por la que vemos este incremento se debe al aumento promedio del rendimiento por hectárea que en el año 2005 produjo 13.86 t/ha y en el año 2019 aumentó a 21.65 t/ha.

Entre los principales problemas que afectan a las hortalizas se encuentran los hongos fitopatógenos como lo son: *Fusarium* sp., *Alternaria* sp., *Penicillium* sp., cenicillas, royas y oomicetos como *Phytophthora* sp. y *Pythium* sp., entre muchos otros (Velásquez *et al.*, 2017).

El cultivo del chile se ve afectado a lo largo de su ciclo por diversos fitopatógenos, en la producción de plántula una de las principales limitantes es la ocasionada por el complejo de fitopatógenos causantes del “damping off” en los que se encuentran: *Rhizoctonia* sp., *Sclerotium* sp., *Verticillium* sp., *Phytophthora* sp., *Pythium* sp., y *Fusarium* sp. Se considera que esta enfermedad ocasiona daños en etapa de preemergencia y postemergencia desde un 10 % hasta el 100 %, en ocasiones esta puede ocasionar pérdidas después del trasplante (Pérez *et al.*, 2017). Mientras que una vez establecida en campo el cultivo puede ser afectado

por la enfermedad conocida como la marchitez del chile, la cual es ocasionada principalmente por *Rhizoctonia* sp., *Sclerotium* sp., *Phytophthora capsici* y *Fusarium* sp, los cuales llegan a causar daños hasta del 100 % (Gómez-Hernández *et al.*, 2018).

El principal método de control empleado para el manejo de estos fitopatógenos se basa en la aplicación de fungicidas químicos. El uso inadecuado de estos compuestos químicos ha ocasionado graves consecuencias como daños a la salud de las personas, contaminación del medio ambiente (Hernández *et al.*, 2018; Sánchez *et al.*, 2019), aumento de costos de producción, desequilibrio en biodiversidad del suelo al dañar a los microorganismos benéficos (Sánchez *et al.*, 2019).

Diversos autores señalan que una de las mejores alternativas de control para el manejo de fitopatógenos, es mediante la implementación del control biorracional utilizando microorganismos antagonistas (Hernández *et al.*, 2018), extractos botánicos y otros compuestos con propiedades antifúngicas como lo es el quitosano (Cortés *et al.*, 2021).

El quitosano es un derivado de la desacetilación de la quitina, la cual se encuentra ampliamente distribuida en la naturaleza, especialmente en caparazones de crustáceos y de insectos (Vieira *et al.*, 2020; Reyes *et al.*, 2021). Existen diversos reportes que comprueban el efecto antagonístico del quitosano en contra de diversos fitopatógenos, lo cual depende de su bajo peso molecular y un alto grado de desacetilación (Palma *et al.*, 2010).

## 2.1 Justificación

Hacer uso de productos de origen biológico para el control de enfermedades vegetales es una de las mejores alternativas ecológicas que ayudan a conservar el medio ambiente, no tiene efectos en la salud humana ni en las plantas, sino por el contrario, puede generar la inducción de resistencia en las plantas ante la infección de fitopatógenos. El uso del quitosano como producto orgánico y fungicida para el manejo de fitopatógenos causantes de enfermedades como lo son el “damping off” y la marchitez del chile pudiera ser un ingrediente activo, eficaz y ambientalmente seguro para el control de estas enfermedades, sin el riesgo del daño ambiental y de la salud de las personas.

## 2.2 Objetivo

1.- Evaluar el antagonismo *in vitro* de dos tipos de quitosano (Q-Bs y comercial) en contra *P. aphanidermatum* y *S. rolfsii* agentes fitopatógenos de cultivos extensivos causantes de la enfermedad conocida como “damping off” y marchitez del chile.

## 2.3 Hipótesis

Se espera que el quitosano elaborado de la degradación bacteriana de cáscara de camarón, así como el quitosano comercial evaluados *in vitro*, inhiban el crecimiento micelial de *Pythium aphanidermatum* y de *Sclerotium rolfsii* en diferentes proporciones y tiempos, dependiendo de la concentración de ingrediente activo utilizado.

### 3. REVISIÓN DE LITERATURA

#### 3.1 El Cultivo de Chile *Capsicum annum* L.

##### 3.1.1 Importancia del Chile en México

Se sabe que en México el cultivo del chile es de suma importancia nutricional, genética y económicamente. Según datos obtenidos por el SIAP (2019) México es el segundo país a nivel mundial con mayor producción de chiles solo superado por China. Para el año 2019 en nuestro país se cultivaron aproximadamente 152,772.55 ha de esta hortaliza, con una producción de 3,238,244.81 ton al año, generando un valor de más de 32,761 millones de pesos (SIAP, 2019). Los estados reportados con una mayor producción de este cultivo son Zacatecas, San Luis Potosí, Chihuahua, Sinaloa y Jalisco (SIAP, 2022). Las principales variedades de chiles cultivadas en México se encuentran; el jalapeño, serrano, pimiento, poblano, y chilaca, perteneciente a la especie *C. annum* (Bobadilla *et al.*, 2017) y el habanero perteneciente a la especie *C. chinense* (Ruiz *et al.*, 2016), este último muy producido en los estados del sur (Yucatán, Quintana Roo y Campeche).

Vázquez *et al.* (2010) mencionan que el chile serrano es uno de los más comerciales en nuestro país, donde la preferencia de las personas para su consumo es en fresco, por lo que, tanto la calidad del fruto y la vida de anaquel que tenga son factores importantes para su valor comercial. En realidad, existe abundante información sobre como los factores afectan la calidad y la vida de anaquel de los distintos tipos de chile que hay en el mercado, especialmente del tipo pimiento morrón; sin embargo, en la literatura científica sobre esta temática es escasa para el chile serrano.

El cultivo del chile serrano comercialmente se produce en regiones del país que tienen un amplio rango en cuanto a las condiciones del ambiente que van desde el trópico húmedo, el trópico seco, regiones templadas y semiáridas, lo que

ayuda a que durante todo el año los centros de consumo tengan abasto del producto en fresco (Delgado *et al.*, 2014).

La especie *Capsicum annuum* var. *annuum*, es la especie más conocida ya que es de distribución mundial, además, de ser la de mayor importancia económica debido a que es la más cultivada y la de mayor variabilidad genética (Pérez *et al.*, 2015).

### **3.1.2 Enfermedades del cultivo del chile**

El cultivo del chile en sus distintas etapas de desarrollo se ve afectado por distintas plagas y enfermedades donde sobresalen los hongos y oomycetos fitopatógenos, los cuales pueden causar problemas desde la producción de plántula (Larios *et al.*, 2019) y en etapa adulta causando la marchitez del chile (González *et al.*, 2004; Pérez *et al.*, 2017).

### **3.1.3 “Damping off”**

El “damping off” o ahogamiento es la enfermedad más importante en la etapa de plántula, llegando a ocasionar pérdidas que van del 10 al 100 %, por lo que se le considera como la principal enfermedad en esta etapa fenológica. Esta enfermedad es ocasionada por un complejo de fitopatógenos como son: *Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Sclerotium rolfsii* y los oomycetos *Phytophthora capsici* y *Pythium* sp., (Fry *et al.*, 2010; Larios *et al.*, 2019 y Jiménez-Pérez *et al.*, 2021). *Pythium* sp., es considerado como el principal causante del “damping off”, causa daños en etapa de preemergencia (antes de que las plántulas emerjan) causa la pudrición de la semilla o del hipocótilo y en postemergencia (posterior a la emergencia de las plántulas) causando pudrición de raíces y tallo o el típico estrangulamiento de la base este ocasionado que la plántula se doble y muera (Berrones *et al.*, 2013; Velásquez *et al.*, 2014; Peralta *et al.*, 2017; Jiménez-Pérez *et al.*, 2021). En ocasiones, llega a ocasionar problemas después del trasplante,

aunque los daños se limitan a pequeñas lesiones de coloración oscura en las raíces o en el tallo y rara vez causa la muerte de la planta por atrofia (Grijalba *et al.*, 2015).

### **3.2 Descripción de *Pythium aphanidermatum***

Este oomiceto pertenece al Reino Chromista, ya que, su pared celular está compuesta por celulosa y por  $\beta$ -glucanos, además de que produce zoosporas con 2 flagelos. Estas características son las que los diferencian de los hongos verdaderos. Es un fitopatógeno cosmopolita el cual se ve favorecido para su desarrollo por una alta humedad y temperaturas que variadas (15- 30° C o más) las cuales dependerán de la especie (Heffer *et al.*, 2012; Jiménez-Pérez *et al.*, 2021). Existen diversas especies de *Pythium* las cuales varían en diferentes características como lo son, sus condiciones para su desarrollo y patogenicidad, siendo un ejemplo de estas la especie *P. aphanidermatum* y *P. ultimum* que crecen en diferentes rangos de temperaturas, la primera se desarrolla a temperaturas superiores a los 30 °C y la segunda a temperaturas más inferiores.

Este género cuenta de 120 a 160 especies descritas, las especies más importantes son: *P. aphanidermatum*, *P. ultimum*, *P. myriotylum*, *P. debaryanum*, *P. irregulare* y *P. coloratum*, entre otros más. Este fitopatógeno tiene la capacidad de sobrevivir en restos en descomposición (saprófito) o como parásito de una gran variedad de plantas como solanáceas, cucurbitáceas, fabáceas, entre muchas otras. Provoca daños en semillas, en raíces, en los tallos y en ocasiones puede afectar a los frutos que entren en contacto con el suelo húmedo (Agrios, 2005; Khalaf *et al.*, 2011; Figueroa *et al.*, 2017; Grijalba *et al.*, 2017; Jiménez- Pérez *et al.*, 2021).

### 3.2.1 Clasificación taxonómica

Según Heffer *et al.*, (2012) la clasificación para *Pythium* es el siguiente:

Reino: Chromista

Phylum: Stramenopila

Orden: Oomycota

Familia: Pythiaceae

Género: *Pythium* spp.

### 3.2.2 Características morfológicas

El oomyceto del género *Pythium* cuenta con características morfológicas las cuales varían en forma y tamaño dependiendo de la especie, estas características morfológicas son; micelio hialino cenocítico compuesto de una pared celular de  $\beta$ -1,3 y  $\beta$ -1,6 glucanos y de rápido crecimiento (Fry *et al.*, 2010., Palmucci *et al.*, 2011), posee anteridios (diclinos si se origina de una hifa diferente de donde se origina el oogonio) o monoclinos (si se originaron de la misma hifa de donde se originó el oogonio), oogonios esféricos con una oospora plerótica o aplerótica, esporangios terminales de formas variadas los cuales pueden o no formar vesícula donde se producen las zoosporas, las cuales poseen dos flagelos uno tipo látigo y el otro tipo cepillo, todas estas características y su variación de formas y tamaños o que simplemente carezcan de estas estructuras entre las distintas especies de *Pythium*, hacen que la identificación morfológica resulte difícil, así que, para hacer lo más exacto esto se recurre a las pruebas moleculares (Díaz *et al.*, 2011; Fry *et al.*, 2010; Jiménez-Pérez *et al.*, 2021).

### **3.2.3 Ciclo de reproducción**

*Pythium* cuenta con dos formas de reproducción, asexual y sexual. En la primera los esporangios son los encargados de llevar a cabo este tipo de reproducción, pueden germinar directamente y producir un tubo germinativo, o pueden producir una vesícula en el cual se formarán un promedio de 100 zoosporas, las cuales son liberadas cuando las condiciones de humedad son buenas, estas nadan con ayuda de sus flagelos para encontrar un nuevo hospedante, cuando entran en contacto se enquistan, penetran y producen un tubo germinativo y, a veces, estas zoosporas pueden formar una vesícula en las cuales se producirán zoosporas secundarias las cuales pueden continuar con la infección (Van der Plaats, 1981; Van West *et al.*, 2003; Fry *et al.*, 2010). En la reproducción sexual se da por medio de la unión de los gametangios femenino (oogonio) y masculino (anteridio). La unión y fecundación origina una oospora de pared celular gruesa y resistente a las condiciones extremas del ambiente. Se originará un nuevo tubo germinativo si la oospora germina y, posteriormente, originará una vesícula con zoosporas idénticas a las del esporangio. Temperaturas mayores a 18° C favorecen la germinación de tubos germinales y menores a 18° C provocan la aparición de la vesícula (Agrios, 2005; Fry *et al.*, 2010; Velásquez *et al.*, 2014).

### **3.2.4 Condiciones favorables para su desarrollo**

Suelos con alta humedad, drenaje deficiente y poca aireación son condiciones óptimas para que *Pythium* se desarrolle. Para la dispersión de las zoosporas requiere de agua. En cuanto a la temperatura para que pueda desarrollarse variará según la especie como ya se mencionó anteriormente (Velásquez *et al.*, 2014; Grijalba *et al.*, 2017). Este género tiene la capacidad de sobrevivir, ya sea, como saprofito en materia en descomposición y como parásito de otras plantas en estado de plántula en invernadero, almácigos, parcelas agrícolas y bosques. Las afectaciones son principalmente en las raíces, base de los tallos y en las semillas. Puede sobrevivir por varios años en fase de oospora y cuando se den

las condiciones germinará y se desarrollará (Agrios, 2005; Fry *et al.*, 2010; Díaz *et al.*, 2011; Velásquez *et al.*, 2014; Jiménez- Pérez *et al.*, 2021).

Para que se dé la infección *Pythium* necesita que los factores sean favorables y que esos factores sean desfavorables para la planta (humedad, temperatura, luminosidad, pH, la nutrición y que haya presencia de otros microorganismos). Con un fragmento de micelio, una zoospora germinada, una oospora o un esporangio germinado y que entre en contacto con la semilla o cualquier parte del cultivo se puede iniciar la infección, acompañado de humedad. Los exudados de la raíz de la planta son un atrayente natural de las zoosporas y del micelio de *Pythium*, germinan cuando entran en contacto con la planta y con los apresorios se adhieren y penetran en la epidermis (Van der Plaats, 1981; Agrios, 2005).

Para causar infección en la semilla, el oomiceto necesita que la semilla esté húmeda e hinchada, puede penetrar a través de heridas, mediante presión mecánica y degradación enzimática al embrión o la plántula cuando están emergiendo. La infección de las raíces y tallos sucede a unos pocos centímetros debajo del suelo. Al igual que la semilla, penetra en las partes más húmedas e hinchadas. El micelio penetra en la epidermis y se nutre cuando se desintegran los tejidos. Las puntas de las raicillas son por donde *Pythium* penetra puesto que aquí se encuentran las células más jóvenes y ocasiona muerte rápida. Para el caso de las raíces y los tallos en plantas adultas, la infección está presente sobre la corteza de estos tejidos, lo que ocasiona lesiones pequeñas. Aunque este patógeno también es capaz de atacar los frutos tanto en campo como en postcosecha, penetra mediante enzimas que produce, las cuales degradan las paredes celulares (Agrios, 2005).

### 3.2.5 Síntomas y signos

En la semilla forma una masa putrefacta constituida del patógeno y sustancias que no pudo degradar (Agrios, 2005; Fry *et al.*, 2010). Para el caso del de las plántulas, se produce una necrosis lo que provoca la característica más sobresaliente de esta enfermedad, se dobla, cae y muere. Produce necrosis y muerte de las raíces, en caso de que la infección no sea muy grave en la planta, surge amarillamiento y, posteriormente, el desarrollo no se lleva a cabo correctamente (Gómez y Melero 2011; Peralta *et al.*, 2017; Hernández *et al.*, 2018; Jiménez- Pérez *et al.*, 2021). En ocasiones los frutos se ven afectados, ocasiona la pudrición de estos, después de un tiempo se observa micelio que sale del fruto hasta cubrirlo casi en su totalidad (Agrios, 2005; Gómez y Melero 2011; Grijalba *et al.*, 2015).

### 3.2.6 Marchitez del chile

Entre los fitopatógenos causantes de la marchitez del chile se encuentra el hongo *Sclerotium rolfsii*, el cual en conjunto con *Phytophthora capsici*, *Fusarium* spp., y *Rhizoctonia* llegan a ocasionar pérdidas en producción que van de un 26 % hasta el 100 % (González *et al.*, 2004; Pérez *et al.*, 2017; Gómez-Hernández *et al.*, 2018). Estos patógenos pueden causar: pudrición de raíces y tallos, marchitez, defoliación, amarillamiento de hojas, aborto de flores, madures prematura de frutos, y finalmente la muerte de la planta (Pérez *et al.*, 2017; Andrade *et al.*, 2019; Espinoza-Ahumada *et al.*, 2019). Para su control es de suma importancia la identificación adecuada del fitopatógeno causal de la enfermedad, debido a que la sintomatología es muy similar.

### 3.3 Descripción de *Sclerotium rolfsii*

El género *Sclerotium* está conformado por más de 40 especies siendo *S. rolfsii* la más conocida (Xu *et al.*, 2010). Esta fue descubierta por el micólogo Pier

Andrea Saccardo en 1911 de muestras de tomate provenientes de Florida, cuya presencia se tenía desde el año 1892, causando pérdidas hasta del 70 %. Posteriormente, se detectó en los estados de Carolina de Norte, Connecticut, Luisiana, y en los países de Japón, India y Ceilán (Sri Lanka). En el siglo XX se le encontró causando daños en cacahuete y en 1966 se tenían alrededor de 2,000 reportes de *Sclerotium* en varias partes del mundo, sobresaliendo en los climas tropicales y subtropicales (Kator *et al.*, 2015). Mario Curzi descubrió su fase teleomorfa (sexual) a la cual llamo *Coticiúm* en el año de 1932 y en 1978 se reclasificó con el nombre de *Athelia* (Kator *et al.*, 2015).

### 3.3.1 Clasificación Taxonómica

Según Binder *et al.*, (2010) el teleomorfo de *Sclerotium rolfsii* se encuentra clasificado de la siguiente forma:

**Reino:** Fungi

**División:** Basidiomycota

**Subdivisión:** Agaricomycotina

**Clase:** Agaricomycetes

**Subclase:** Agaricomycetidae

**Orden:** Amylocorticiales

**Familia:** Atheliaceae

**Género:** *Athelia*

**Especie:** *rolfsii*

### 3.3.2 Características morfológicas

En su fase asexual (*Sclerotium rolfsii*) forma micelio blanquecino con anillos concéntricos (Hernández *et al.*, 2004) con conexión en forma de pinza, sin

formación de esporas, sin embargo, forma esclerocios redondos de coloración café (Hernández *et al.*, 2004; Xu *et al.*, 2010; Hernández y Herrera 2014). Mientras que en su fase sexual (*Athelia rolfsii*) forma basidiocarpos y filamentos de las hifas que nacen de los esclerocios germinados (Xu *et al.*, 2010)

### **3.3.4 Distribución**

*Sclerotium rolfsii* es considerado como un fitopatógeno polífago, con un gran número de plantas hospederas, de las cuales 18 son consideradas de importancia económica debido a que son cultivos de México siendo el cultivo del chile una de ellas (Rodríguez *et al.*, 2021). En el resto del mundo se tiene reportada su presencia en más de 500 especies (legumbres, gramíneas, crucíferas, cucurbitáceas, solanáceas, etc.) (Kator *et al.*, 2015). Este hongo cuenta con una amplia distribución, prácticamente en todo el mundo, sobresaliendo en zonas tropicales y subtropicales (Punja y Zum, 2001 y Martínez *et al.*, 2021).

### **3.3.5 Síntomas y signos**

Alonso *et al.*, (2002), mencionan los distintos tipos de síntomas que este patógeno es capaz de provocar en los tejidos de la planta como amarillamiento en las hojas inferiores, puede ocasionar lesiones en la base del hipocótilo los cuales se caracterizan ser hundimientos, se ablandan y se decoloran en la corteza, justo por debajo de la línea del suelo. Conforme a que esta enfermedad sigue avanzando, las hojas de las ramas más jóvenes pueden marchitarse hasta que finalmente toda la planta cae quebrándose por la base del tallo. En cuanto a los signos los esclerocios del hongo suelen presentarse en grandes cantidades, estos se adhieren en la base de los tallos de todas las plantas que se encuentren afectadas, también se presentan masas de micelios de color blanco, característica de esta especie de hongo.

### **3.4 Métodos de control**

#### **3.4.1 Control Químico**

La desinfección del suelo es uno de los tratamientos más comunes utilizados y se utilizan productos químicos altamente tóxicos como el Bromuro de Metilo y Metam Sodio. Para el tratamiento de la semilla se utilizan otros productos químicos de acción fúngica como el Captan, Thiram, el Mancozeb, Carbendazim, el Metalaxyl, el Procloraz, el Azoxystrobin, así como mezclas entre estos compuestos. Estos compuestos químicos no siempre son eficaces a la hora de controlar la enfermedad, aunado a esto, el manejo incorrecto de estas sustancias ha generado consecuencias en muchos aspectos, los patógenos han empezado a resistir al ingrediente activo, se ha contaminado el suelo y el agua por el uso excesivo, daños a la salud de las personas y afectaciones en otros organismos (Velásquez *et al.*, 2014; <sup>a</sup>Castillo *et al.*, 2015; Figueroa, 2017; Hernández *et al.*, 2018; Larios *et al.*, 2019).

#### **3.4.2 Control Cultural**

Para este tipo de control, los agricultores basan principalmente sus estrategias en el control del riego. Otros métodos del control cultural son la de esterilizar el suelo o la biofumigación antes de que se haga la siembra. Es importante no solo hacer tratamiento al suelo, sino que también a las herramientas y los equipos de trabajo. El uso de semilla certificada es muy importante para evitar el riesgo de que las semillas ya estén contaminadas con la enfermedad. Es importante mantener una temperatura óptima, así como buena humedad y nutrición, evitar los riegos pesados y tener un buen drenaje para evitar encharcamientos. Plantas que tengan síntomas de la enfermedad deberán ser eliminados inmediatamente así estén en almácigo, en charolas o en el campo, con esto evitaremos que haya más dispersión de los patógenos a otras plantas sanas (Agrios, 2005).

### 3.4.3 Control Biológico

En los últimos años, los agricultores han optado por nuevas formas de manejar estas enfermedades dejando de lado los agroquímicos convencionales y el uso de microorganismos antagonistas de fitopatógenos es una muy buena opción (Hernández *et al.*, 2018; Larios *et al.*, 2019) como ejemplo de estos microorganismos antagonistas se encuentran las bacterias del género *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Micromonospora*, algunos estreptomicetos y algunos géneros de hongos como *Trichoderma* spp., *Gliocladium* spp., entre otros (Asaka *et al.*, 1996; Gravel *et al.*, 2005; Figueroa, 2017).

### 3.5 Uso de Quitosano en la Agricultura

Es muy importante emplear otros métodos de control, además, que no sean nocivos para los ecosistemas, que no afecte la vida microbiana del suelo, ni contamine el agua y que no genere resistencia en los fitopatógenos, un ejemplo de esto son los compuestos naturales con propiedades antifúngicas como el quitosano que se obtiene al hacer una desacetilación de la quitina (Jiménez, *et al.*, 2018; Keller *et al.*, 2020; Cortés *et al.*, 2021).

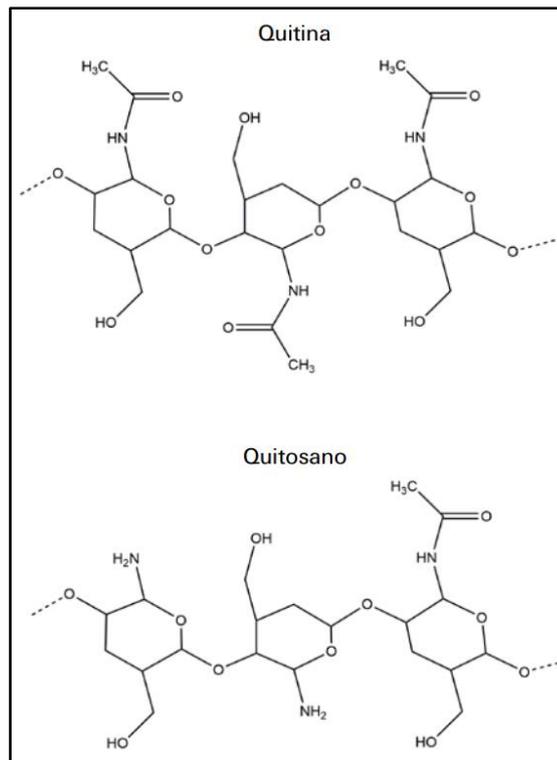
La quitina se encuentra ampliamente distribuida en la naturaleza, aunque podemos encontrarlo principalmente en caparazones de los crustáceos e insectos (Monter *et al.*, 2016; Tayo *et al.*, 2017; Sáenz *et al.*, 2019; Holguín *et al.*, 2020; Vieira *et al.*, 2020; Reyes *et al.*, 2021), también en los nematodos, en picos de cefalópodos (De Tender *et al.*, 2019) y, en las paredes celulares de algunos hongos se encuentra este compuesto (Sáenz *et al.*, 2019; Reyes *et al.*, 2021).

Cabanillas *et al.*, (2020), según datos obtenidos de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), menciona que la producción en el año 2017 de camarón en México fue de 227,000 toneladas y se estima que los desechos ascendieron aproximadamente a 100,000 toneladas.

Estos desechos, si no se manejan adecuadamente, pueden generar problemas de contaminación ambiental, así como malos olores durante su descomposición. Según Hamed *et al.*, (2016), la composición de la cáscara del camarón es la siguiente: proteínas (35 – 50 %), quitina (15 – 20 %), minerales (10 – 15 %), lípidos (2 – 7 %) y pigmentos (1 – 5 %).

Con los datos anteriores podemos observar que la cáscara de camarón es una fuente de quitina para la obtención de quitosano muy importante, es por ello por lo que se debe de aprovechar lo mejor posible esta fuente, aparte de que la contaminación disminuiría considerablemente en los lugares donde se produce este alimento como los puertos marítimos o tiendas que vendan productos del mar.

Como se mencionó anteriormente para la obtención del quitosano se realiza la desacetilación de la quitina la cual se puede extraer mediante diferentes procesos químicos y biológicos (Gamal *et al.*, 2016), sin embargo, el método químico es el más utilizado. Este consiste en la utilización de sustancias alcalinas (NaOH) y ácidos fuertes, aunque este proceso de obtención posee algunas desventajas como lo es la contaminación del medio ambiente y la obtención final del polímero con propiedades inconsistentes. Mediante la obtención por procesos biológicos como la fermentación bacteriana (Gamal *et al.*, 2016) y la fermentación ácido láctica (Pasotti *et al.*, 2020) se separa la quitina de otros compuestos, mediante desmineralización y desproteínización. Al final de estos procesos se obtiene la quitina la cual debe de ser desacetilada con una solución de NaOH al 50 % al igual que en el método químico para la obtención del quitosano. Las ventajas de estos métodos es que se disminuye el riesgo de contaminación ambiental, además, de que al final del proceso se obtiene un quitosano con mejores propiedades que en el método químico, aunque, el inconveniente de estos procesos es el tiempo de obtención que va de los 7 a 15 días (Gamal *et al.*, 2016; Pasotti *et al.*, 2020).



**Figura 1.** Diferencia estructural de la Quitina y del Quitosano (Hamed et al., 2016)

En la agricultura el quitosano tiene diversos beneficios como, mejorar la germinación, mejora la adsorción de microelementos, aumento en la producción de la cosecha, estimula la formación de barreras físicas (López et al., 2019), tiene efecto antagonista contra de diversos fitopatógenos como; *Fusarium* spp., *Rhizoctonia solani* (Keller et al., 2020), *Alternaría* spp., (Xoca et al., 2018., Rodríguez et al., 2019), *Colletotrichum* sp., (Xoca et al., 2018), algunos oomycetos (Pérez et al., 2019), bacterias y nematodos (Radwan et al., 2012), además, estimula los mecanismos de defensa de las plantas (Radwan et al., 2012 y Rodríguez et al., 2019).

## 4. MATERIALES Y MÉTODOS

### 4.1 Ubicación del experimento

La presente investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Microbiología del Departamento de Parasitología Agrícola, ubicada en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Saltillo, Coahuila, el cual se ubica en las siguientes coordenadas geográficas de 25° 21' 13" latitud N y 101° 1' 56" longitud oeste, con una altura de 1,742 msnm.

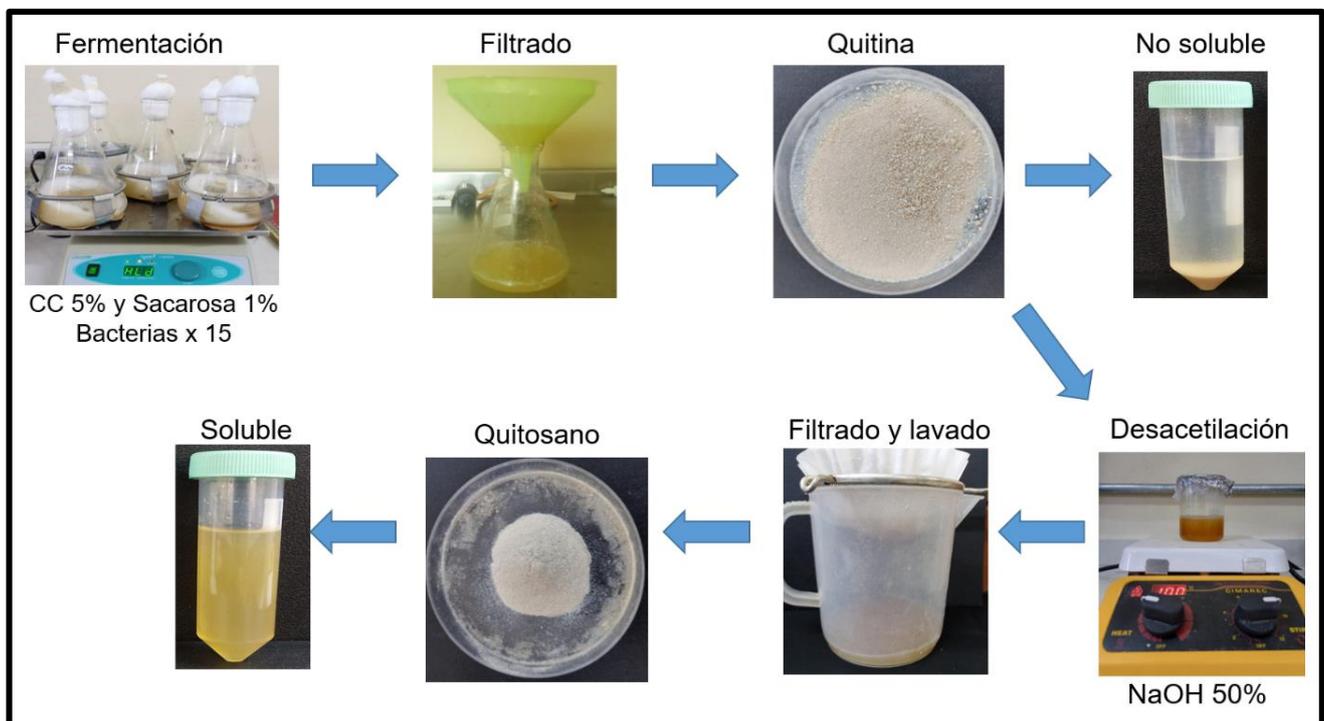
### 4.2 Material biológico

El quitosano y los fitopatógenos (*Pythium aphanidermatum* y *Sclerotium rolfsii*) fueron proporcionados por el Laboratorio de Microbiología del Departamento de Parasitología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Tanto la cepa de *P. aphanidermatum* como de *S. rolfsii* fueron identificadas morfológica y molecularmente en estudios previos realizados por Jiménez-Pérez *et al.*, (2021). *P. aphanidermatum* fue aislada de plántulas de chile serrano producidas en charolas en invernadero las cuales presentaban síntomas de "damping off", mientras *Sclerotium rolfsii.*, fue caracterizado morfológicamente y aislado de plantas de chile serrano del municipio de Escuinapa, Sinaloa. Las cepas de estos fitopatógenos fueron reactivadas en medio de cultivo Agar- V8 (A- V8) para *P. aphanidermatum* y PDA para *Sclerotium rolfsii*.

### 4.3 Obtención de quitosano en laboratorio

Para la obtención del quitosano se utilizó el método realizado por Gamal *et al.*, (2016) con modificaciones, se colectaron inicialmente cáscaras de camarón fresco (no de la cabeza) y se dejó secar por aproximadamente 3 días al sol y se molió hasta obtener polvo fino. El molido obtenido se tamizó en un tamiz de 100 mallas/cm. La cáscara en polvo fino fue sometida a degradación en cultivo mediante la fermentación aeróbica con *Bacillus subtilis* para la obtención de la

quitina., para ello se cultivó esta bacteria en un caldo de cultivo con 0.5 g de sulfato de magnesio, 1 g de sulfato de potasio, con 5 gramos del polvo de camarón por cada litro de agua destilada. El medio de cultivo se colocó en matraces bafleados con 1/5 de caldo de cultivo y se esterilizó en autoclave durante 18 minutos a 15 psi. Se dejó enfriar y se inocula con la bacteria (*B. subtilis*) y se incubó durante 15 días en agitación constante a 150 rpm a 28 °C. Una vez pasado este lapso se filtró el caldo de cultivo en el papel filtro No 40 y se recupera un polvo con alto contenido de quitina (el cual no es soluble en agua), que posteriormente se desacetiló mediante la metodología empleada por Sedaghat *et al.*, (2015) con modificaciones, para lo cual se utilizó hidróxido de sodio al 50 % en relación 1 - 10 durante 10 h a 100 °C en agitación constante en una placa de agitación con calentamiento, se filtra y se lava con agua estéril nuevamente hasta obtener un pH cercano a neutro y una vez seco, el polvo obtenido es a lo que se le conoce como quitosano (Figura 2). Este producto final es el que ya es soluble en agua y el cual se puede usar en nuestras pruebas de antagonismo.



**Figura 2.** Diagrama de flujo del proceso para la obtención del quitosano.

#### 4.4 Tratamiento experimental de quitosano.

Se emplearon placas con medio de cultivo agar caldo de papa mezclado con quitosano para evaluar su actividad fungicida. Para ello se utilizaron 4 concentraciones de cada uno de los quitosanos (Tabla 1) las que se mezclaron con medio de cultivo agar caldo de papa a un pH de 6.5 y se esterilizaron en autoclave por 15 min a 15 psi, una vez enfriado los medios de cultivo fueron vaciados en cajas Petri de 90 mm, dejados en reposo para su solidificación y después de 48 horas para realizar las pruebas de inhibición en contra de *P. aphanidermatum* y *S. rolfsii*. El quitosano fue previamente disuelto en agua destilada estéril acidificado a un pH de 6 con ácido acético, donde se observó una buena solubilidad del quitosano en comparación con la quitina (Figura 2).

**Cuadro 1.** Tratamientos y dosis de quitosano (Q-Bs y Q-Com).

| Tratamientos | Dosis de quitosano (%) |
|--------------|------------------------|
| Q-Bs         | 0.005                  |
| Q-Bs         | 0.01                   |
| Q-Bs         | 0.015                  |
| Q-Bs         | 0.02                   |
| Q-Com        | 0.005                  |
| Q-Com        | 0.01                   |
| Q-Com        | 0.015                  |
| Q-Com        | 0.02                   |
| Testigo      | 0                      |

##### 4.4.1 Prueba de inhibición *in vitro* de quitosano contra *P. phanidermatum* y *S. rolfsii*

Placas de cultivo de cada fitopatógeno de 72 horas de cultivo fueron usadas para obtener el inóculo de cada fitopatógeno para los ensayos de inhibición *in vitro*. Con ayuda de un sacabocado se obtuvieron explantes de cajas Petri con crecimiento micelial de los fitopatógenos, previamente purificados. Posteriormente se colocó en el centro de todas las cajas Petri con medio de cultivo suplementado con quitosano un explante con crecimiento micelial de cada fitopatógeno de manera individual, procurando que el micelio estuviera en

contacto con el medio de cultivo. Para el caso del testigo, se sembró en medio de cultivo sin quitosano. Todos los tratamientos en cajas fueron incubados a 28 °C hasta el final del ensayo.

Una vez hecha la siembra de los fitopatógenos en las cajas Petri, se midió el crecimiento micelial de los tratamientos y el testigo cada 24 horas posteriores a la siembra y fue dado como finalizado al momento de que el testigo llenó la caja Petri. Las mediciones se realizaron en mm con ayuda un Vernier digital marca Truper. Posteriormente, la evaluación de la medición del crecimiento fue necesario expresarlo en porcentaje de inhibición con la fórmula siguiente: % inhibición =  $(\text{crecimiento del testigo} - \text{crecimiento del tratamiento} / \text{crecimiento del testigo}) * 100$  (Castillo, 2015).

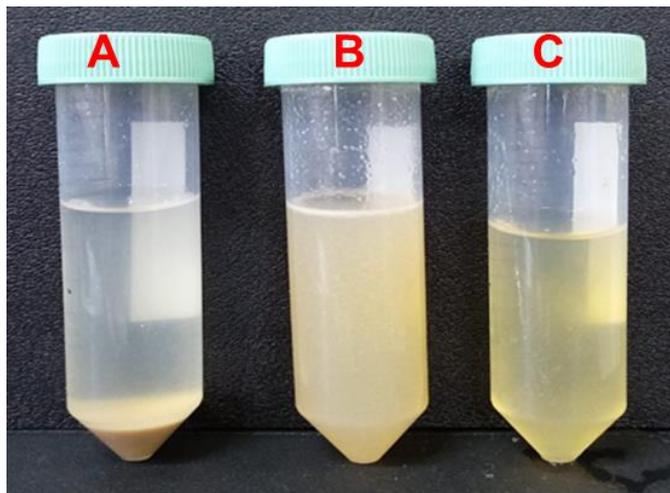
#### **4.5 Análisis estadístico**

Los datos obtenidos se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) y una prueba de comparación de medias de Tukey ( $P \leq 0.05$ ) en un diseño experimental completamente al azar, con el programa estadístico SAS Versión: 3.8 (Edición Enterprise) Google Chrome 27+ Versión SAS: 9.04.01M6P11072018.

## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.1 Solubilidad de la quitina y del quitosano

Tal y como se reporta en la literatura la solubilidad de quitina en agua es nula (Fig. 3- A), mientras que el quitosano dependiendo de su grado de desacetilación con NaOH es su capacidad para solubilizarse en agua acidificada con ácido acético, tal y como se muestra en la Figura 3, donde se aprecia que el quitosano comercial (Fig. 3 C) es más soluble que el quitosano experimental obtenido en este trabajo (Fig. 3 B), por lo que en principio pudiera deberse a un mayor grado de desasetilación obtenido bajo el procedimiento empleado (Cisneros *et al.*, 2019; Palma *et al.*, 2010).

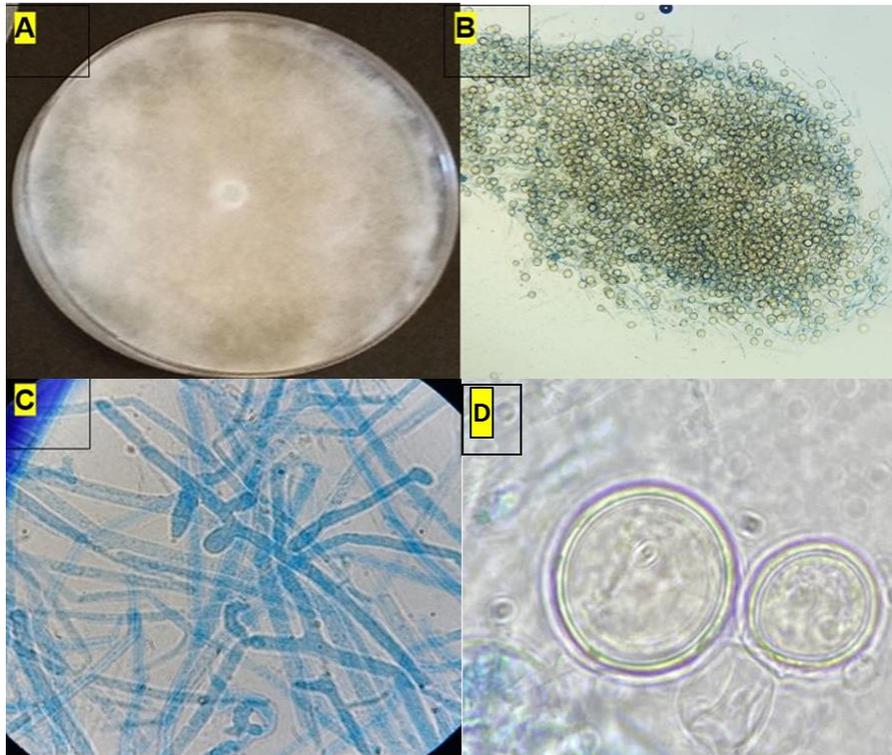


**Figura 3.** Comparación de la quitina (A), quitosano Q-Bs (B) y quitosano comercial (C).

### 5.2 Características morfológicas de *Pythium aphanidermatum* y *Sclerotium rolfsii*.

***Pythium aphanidermatum*:** presentó rápido crecimiento micelial, en medio de cultivo A-V8 (Fig. 4- A), formación de estructuras de reproducción sexual como lo son oogonios esféricos (Fig. 4- B) en los que dentro de estos se encuentra una oóspora applerótica y un anteridio por oogonio (Fig. 4- D), además de estructuras

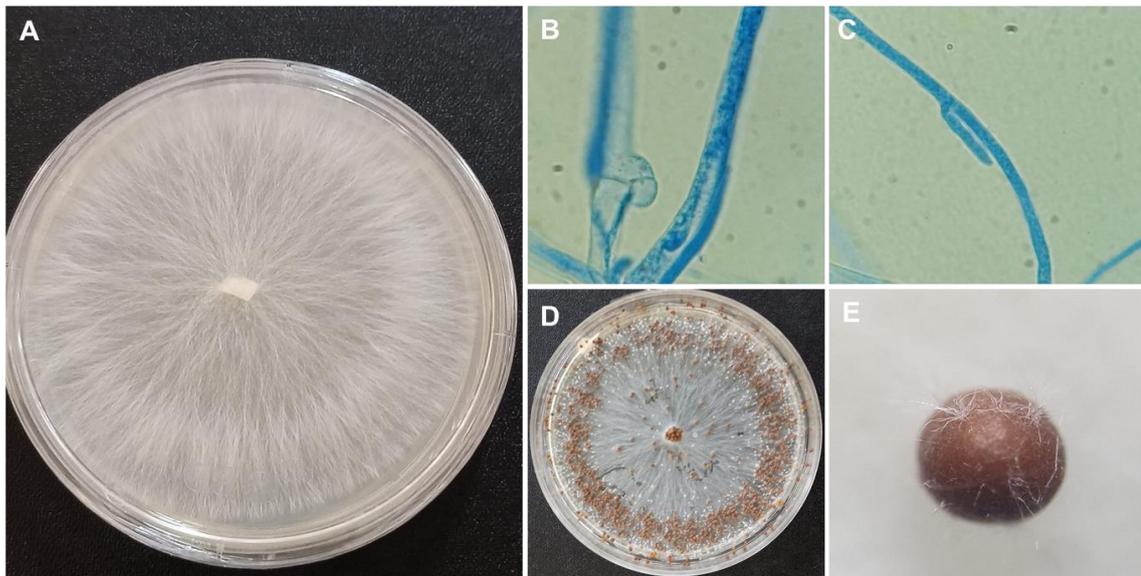
de reproducción asexual como lo son sus esporangios (Fig. 4- C) de forma irregular en los que contiene zoosporas, cuya identificación y características ya han sido reportadas por Jiménez-Pérez *et al.*, (2021).



**Figura 4.** Características morfológicas de *Pythium aphanidermatum*.

Crecimiento micelial de *P. aphanidermatum* en medio de cultivo A- V8. B) Proliferación de oogonios. C) Observación de la formación de esporangios. D) Oogonios con oospora aplerótica y anteridio.

***Sclerotium rolfsii*:** presentó micelio septado blanquecino con halo concéntrico (Fig. 5- A), hifas con presencia de fíbulas (conexión en forma de herradura) (Fig. 5- B), hifas ramificadas (Fig. 5- C), sin producción de esporas, pero con la formación abundante de esclerocios de forma redonda y coloración café (Fig. 5- D y E), dichas características concuerdan por las descritas por Barnett y Hunter (1999) y Hernández *et al.*, (2004).



**Figura 5.** Características morfológicas de *Sclerotium rolfsii*.

Micelio blanquecino. B) Fíbula. C) Ramificación de la hifa. D) Producción de esclerocios. E) Esclerocio redondo de color café.

### 5.3 Prueba de inhibición *in vitro* del crecimiento micelial de *Pythium aphanidermatum* y *Sclerotium rolfsii* en medio de cultivo suplementado con quitosano

En la prueba *in vitro* contra *P. aphanidermatum* todas las concentraciones del quitosano denominado Q- Bs mostraron la capacidad de inhibir en diferentes porcentajes el crecimiento micelial de *Pythium* (Figura 6 - A, B, C y D), mientras que el quitosano Q- Com a las dosis evaluados carece de un efecto inhibitorio en todas las concentraciones empleadas (Figura 6 – E, F, G y H) y se comporta estadísticamente similar al testigo absoluto.

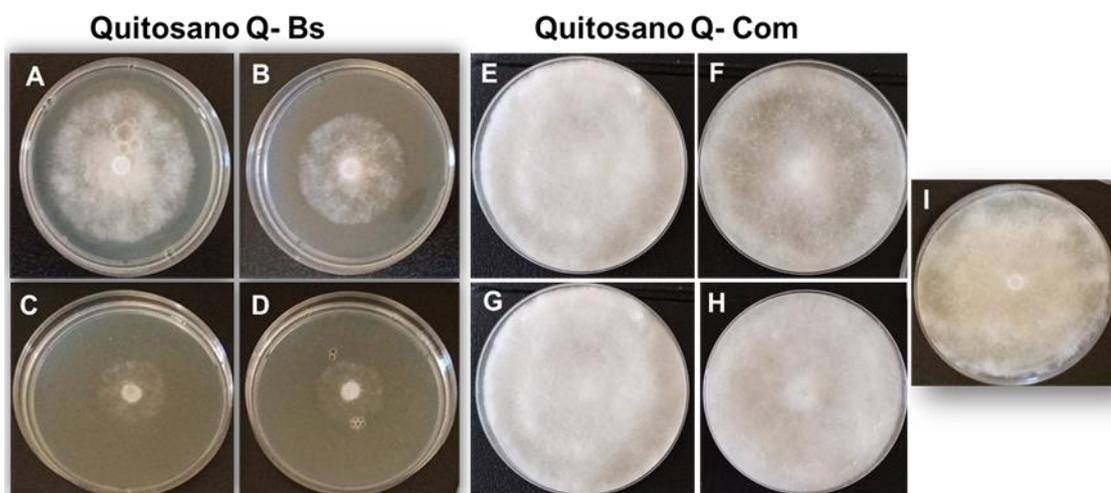
Como se observa en la Tabla 2 donde se muestra que los tratamientos Q- Bs en concentraciones de (0.005 %, 0.01 %, 0.015 % y 0.02 %) presentaron inhibición en contra del fitopatógeno siendo las concentraciones de 0.015 % y 0.02 % las que obtuvieron el mayor porcentaje de inhibición con 63.38 % y 63.82 % respectivamente, lo que hace que sean estadísticamente significativos a los demás tratamientos.

En cuanto a los tratamientos del quitosano Q- Com, las cuatro concentraciones (0.005 %, 0.01 %, 0.015 % y 0.02 %) resultaron sin actividad en contra del oomiceto, al final del experimento fueron estadísticamente similar al testigo tal y como se observa en la Figura 6, donde se aprecia los diversos grados de crecimiento micelial de *P. aphanidermatum* cuando se hizo crecer en medio con quitosano Q- Bs, mientras que el micelio se desarrolló de forma abundante en las placas con el quitosano comercial.

**Cuadro 2.** Inhibición de quitosano (Q-Bs y Q-Com) contra *P. aphanidermatum*.

| <b>Tratamiento</b>   | <b>% de inhibición (mm ± DS)</b> |
|----------------------|----------------------------------|
| <b>Q-Bs (0.02)</b>   | 63.82 ± 1.01 A                   |
| <b>Q-Bs (0.015)</b>  | 63.38 ± 1.86 A                   |
| <b>Q-Bs (0.01)</b>   | 46.78 ± 3.11 B                   |
| <b>Q-Bs (0.005)</b>  | 20.50 ± 2.56 C                   |
| <b>Q-Com (0.02)</b>  | 0 D                              |
| <b>Q-Com (0.015)</b> | 0 D                              |
| <b>Q-Com (0.01)</b>  | 0 D                              |
| <b>Q-Com (0.005)</b> | 0 D                              |
| <b>Testigo</b>       | 0 D                              |

\*Medias estadísticas con letras distintas son significativamente diferentes (Tukey;  $p \leq 0,05$ ). Promedios de cuatro repeticiones.



**Figura 6.** Crecimiento micelial de *Pythium aphanidermatum*.

Cultivo suplementado con quitosano a distintas concentraciones. A) Q- Bs al 0.005 %. B) Q- Bs al 0.01 %. C) Q- Bs al 0.015 %. D) Q- Bs 0.02 %. E) Q- Com al 0.005 %. F) Q- Com al 0.01 %. G) Q- Com al 0.015 %. H) Q- Com al 0.02 %. I) Testigo.

Los reportes que demuestran el efecto antagónico del quitosano en contra de *Pythium aphanidermatum* son escasos, aunque, existen algunos que demuestran su efecto antagónico en contra de otras especies de *Pythium*, por ejemplo, Palma *et al.*, (2008) reportan la disminución del crecimiento micelial de *Pythium ultimum* utilizando tres concentraciones de quitosano (0.5, 1 y 2 mg/mL) siendo la concentración más alta en la cual el oomyceto logró el menor crecimiento (23.7 %) mientras que a la concentración más baja logro un crecimiento del 99.5 %. De igual manera Martín *et al.*, (2020) inhibieron el crecimiento de *P. ultimum* utilizando quitosano a dosis de 2.5 g/L, logrando una inhibición de hasta el 80 %. Aunque son limitados los reportes de quitosano para inhibir a *Pythium* existen algunos otros que demuestran el efecto fungicida de este biopolímero en contra de otros oomycetos como lo es el género *Phytophthora*, por ejemplo, González *et al.*, (2016) lograron inhibir *in vitro* el crecimiento de *Phytophthora palmivora* utilizando quitosano a cinco concentraciones (0.5, 1, 1.5, 2 y 2.5 g/L), observándose que conforme aumenta la concentración del quitosano aumenta la inhibición del fitopatógeno, además, la disminución de la formación y germinación de esporangios. De manera similar, Ramírez *et al.*, (2019) reportan al quitosano con propiedades de inhibir a

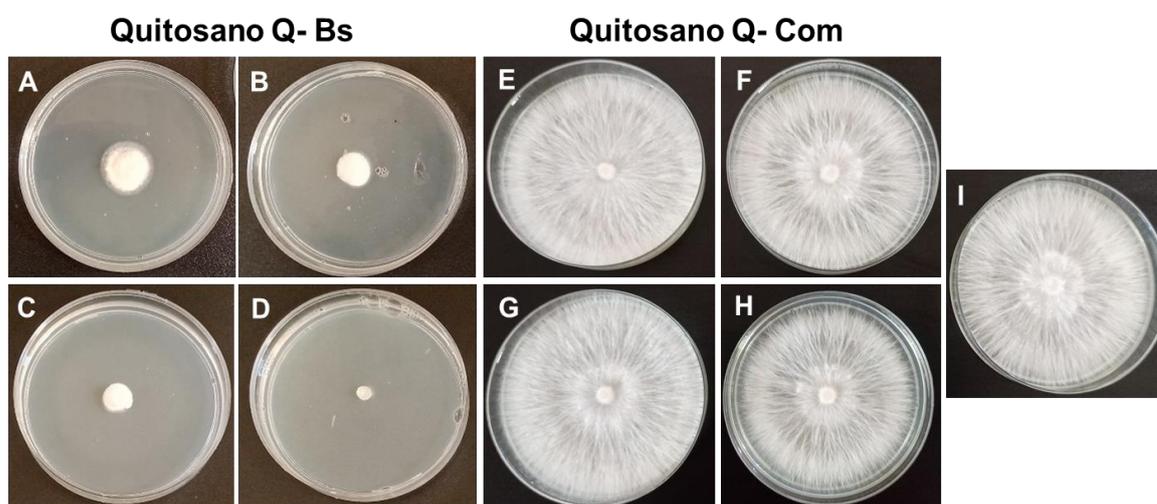
*Phytophthora capsici* utilizando distintas dosis de quitosano (0.4 mg/L, 0.8 mg/L, 1.6 mg/L, 2.4 mg/L, 3.2 mg/L y 4 mg/L). Con las dosis más bajas obtuvieron resultados de porcentaje menores de inhibición y a partir de la dosis de 1.6 mg/L el crecimiento del fitopatógeno se detuvo en un 100 %. Estos resultados coinciden de cierta forma con los obtenidos en el presente estudio, ya que, entre más altas fueron las dosis hubo un mayor efecto inhibitorio en contra de *P. aphanidermatum*. Se tienen reportes que la capacidad de inhibición del quitosano está relacionada con un bajo peso molecular y un alto grado de desacetilación (Palma *et al.*, 2010) por lo cual podemos suponer que el quitosano Q- Bs obtenido de quitina de cascara de camarón por fermentación bacteriana presenta un menor peso molecular y un mayor grado de desacetilación, lo cual, falta por confirmar.

En la prueba de inhibición *in vitro* contra *Sclerotium rolfsii.*, de manera similar que en la prueba en contra de *Pythium* todas las concentraciones del quitosano denominado Q- Bs mostraron la capacidad de inhibir en diferentes porcentajes a este hongo (Fig. 7 - A, B, C y D), mientras que el quitosano comercial (Q- Com) nuevamente careció de efecto inhibitorio en todas las concentraciones (Figura 7– E, F, G y H). En la Tabla 3 se puede observar lo mencionado anteriormente donde los tratamientos Q- Bs a concentraciones de (0.005 %, 0.01 %, 0.015 % y 0.02 %) presentaron inhibición en contra del fitopatógeno siendo la concentración de 0.02 % la que obtuvo el mayor porcentaje de inhibición (91.67 %) siendo estadísticamente significativa diferente a los demás tratamientos. Mientras que en el caso de los tratamientos con quitosano Q- Com se puede observar que ninguna concentración (0.005 %, 0.01 %, 0.015 % y 0.02 %) logró inhibir el crecimiento de *Sclerotium rolfsii.*, siendo estos tratamientos estadísticamente similares al testigo tal y como se ilustra en la Figura 6, donde es de muy fácil apreciación como el quitosano Q-Bs inhibe a *S. rolfsii.*, mientras que en el quitosano comercial carece de actividad.

**Cuadro 3.** Inhibición de quitosano (Q-Bs y Q-Comercial) contra *Sclerotium rolfsii*.

| Tratamiento   | % de inhibición (mm $\pm$ DS) |
|---------------|-------------------------------|
| Q-Bs (0.02)   | 91.67 $\pm$ 0.75 A            |
| Q-Bs (0.015)  | 87.41 $\pm$ 1.43 B            |
| Q-Bs (0.01)   | 85.26 $\pm$ 1.17 B            |
| Q-Bs (0.005)  | 79.20 $\pm$ 1.90 C            |
| Q-Com (0.02)  | 0 $\pm$ 0.46 D                |
| Q-Com (0.015) | 0 $\pm$ 0.46 D                |
| Q-Com (0.01)  | 0 $\pm$ 0.46 D                |
| Q-Com (0.005) | 0 $\pm$ 0.46 D                |
| Testigo       | 0 $\pm$ 0.46 D                |

\*Medias estadísticas con letras distintas son significativamente diferentes (Tukey;  $p \leq 0,05$ ). Promedios de cuatro repeticiones.



**Figura 7.** Crecimiento micelial de *Sclerotium rolfsii*.

Medio de cultivo suplementado con quitosano a distintas concentraciones. A) Q-Bs al 0.005 %. B) Q- Bs al 0.01 %. C) Q- Bs al 0.015 %. D) Q- Bs 0.02 %. E) Q-Com al 0.005 %. F) Q- Com al 0.01 %. G) Q- Com al 0.015 %. H) Q- Com al 0.02 %. I) Testigo.

Existen diversos reportes que demuestran la capacidad inhibitoria del quitosano hacia este hongo fitopatógeno, por ejemplo, Hernández *et al.*, (2016) lograron

disminuir el daño causado por *S. rolfsii* en plantas de frijol mediante la aplicación de un producto comercial Chitoplant® (Quitosano 99,9 %) a dosis de 0.1% en semilla, siendo este tratamiento similar estadísticamente a los tratamientos con *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Trichoderma* y el tratamiento químico (Tetrametil Tiuram Disulfuro al 80 % PH) con menos del 0.02 % de plantas enfermas. Por su parte Ahmed *et al.*, (2019) reportan la inhibición *in vitro* de *S. rolfsii* utilizando 3 concentraciones de quitosano (200, 400 y 600 ppm) logrando inhibir al hongo hasta en un 72.97 % con la concentración más alta. También El-Mohamedy *et al.*, (2013) reportan la inhibición del crecimiento de este hongo utilizando dos tipos de quitosano (bajo peso molecular y alto peso molecular), de igual manera que en el estudio descrito anteriormente con forme aumentaron la concentración del biopolímero aumentó el porcentaje de inhibición, logrando la mayor inhibición a las dosis de 5 g/L de quitosano de bajo peso molecular y quitosano de alto peso molecular con porcentajes de inhibición del 88.8 % y 100 % respectivamente. Estos resultados concuerdan de cierta manera con los resultados obtenidos en este trabajo ya que estos autores obtuvieron una mayor inhibición del hongo conforme aumentaron la concentración del quitosano. Sin embargo, en nuestro estudio se obtuvo un porcentaje alto de inhibición, siendo este del 91.67 % utilizando una menor concentración de quitosano (0.02 %), quizás esté relacionado con el método de obtención de este polímero, ya que, en esta investigación, la quitina fue obtenida por degradación bacteriana de la cáscara de camarón, por lo cual, se puede pensar que al utilizarla para la obtención del quitosano se obtuvo un biopolímero de mejores cualidades (peso molecular y desacetilación), debido a su mayor actividad fungicida observada.

## 6. CONCLUSIONES

Se comprobó que el quitosano tiene un efecto antagonista *in vitro* en contra de los fitopatógenos *Pythium aphanidermatum* y *Sclerotium rolfsii* agentes causantes del damping off y marchitez de plantas de Chile, donde se observó la inhibición del crecimiento micelial de ambos fitopatógenos. El quitosano experimental Q- Bs derivado de quitina extraída por degradación bacteriana de cáscara de camarón presentó efecto inhibitorio en cuatro concentraciones (0.005 %, 0.01 %, 0.15 % y 0.02 %), siendo la concentración más alta (0.02 %) la que presentó los mayores porcentajes de inhibición hacia *P. aphanidermatum* (63.82 %) y *Sclerotium rolfsii* (91.67 %), en comparación con el quitosano comercial el cual careció de efecto inhibitorio a las dosis experimentales utilizadas.

## 7. LITERATURA CITADA

- Agrios, G., N. (2005). Plant Pathology. 5a Ed., Academic Press. 922 pp.
- Ahmed, M., U.; Bhuiyan, M., K., A.; Hossain, M., M.; Rubayet, M., T. and Khaliq, Q., A. (2019). Efficacy of chitosan and bio-agent in controlling southern blight disease of carrot caused by *Sclerotium rolfsii* and improvement the crop production. Research in Agriculture and Veterinary Science, 3(3), 113-125. <http://jomardpublishing.com/UploadFiles/Files/journals/RV/V3N3/Ahmed.pdf>
- Alonso, R., R.; Barranco, M., B.; Gracia, R., G. y Jiménez, M., G. (2002). Actividad *in vivo* de *Trichoderma harzianum* sobre *Sclerotium rolfsii* en plántulas de tomate. Universidad Pedagógica José Martí. Manejo Integrado de Plagas y Agroecología (Costa Rica), 66: 45 - 48. <https://repositorio.catie.ac.cr/handle/11554/5739>
- Andrade, H., P.; Luna, C., A.; Osorio, H., E.; Molina, G., E.; Landero, V., N. y Barrales, C., H., J. (2019). Antagonismo de *Trichoderma* spp. vs hongos asociados a la marchitez de chile. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas, 10(6), 1259-1272. <https://doi.org/10.29312/remexca.v10i6.1326>
- Asaka, O. and Shoda, M. (1996). Biocontrol of *Rhizoctonia solani* damping-off of tomato with *Bacillus subtilis* RB14. Appl. Environ Microbiol.62(11): 4081-4085. <https://journals.asm.org/doi/pdf/10.1128/aem.62.11.4081-4085.1996>
- Barnett, H., L. and Hunter, B., B. (1999). Illustrated Genera of Imperfect Fungi. APS PRESS. The American Phytopathological Society, 216 p.
- Berrones, M., M.; Garza, U., E.; Vázquez, G., E. y Méndez, A., R. (2013). Producción de pimiento morrón en casa-malla para el sur de Tamaulipas. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Centro de Investigación Regional del Noreste, Campo Experimental Las Huastecas Villa Cuauhtémoc, Tamaulipas. Folleto Técnico No. MX-0-310301-11-03-14-09-30. <http://www.inifapcirne.gob.mx/Biblioteca/Publicaciones/942.pdf>
- Binder, M.; Larsson, K., H.; Matheny, P., B. and Hibbett, D. (2010). Amylocorticiales ord. nov. and Jaapiales ord. nov.: Early diverging clades of Agaricomycetidae dominated by corticioid forms. Mycologia, 102: 865-880. <https://doi.org/10.3852/09-288>

- Bobadilla, L., V.; Esparza, I., E.; Delgadillo, R., L.; Gallegos, F., P. y Ayala, L., J., L. (2017). Variedades de chile (*Capsicum annuum* L.) identificadas mediante marcadores RAPD. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 20(3): 465-473. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=93953814014>
- Cabanillas, B., L., A.; Gutiérrez, G., É., P. y Basilio H., J. (2020). Desechos de camarón: un coctel de oportunidades para la industria. *Revista Ciencia*. [https://www.amc.edu.mx/revistaciencia/online/X1\\_71\\_4\\_1274\\_DesechosCamaron.pdf](https://www.amc.edu.mx/revistaciencia/online/X1_71_4_1274_DesechosCamaron.pdf)
- <sup>a</sup>Castillo, A., C.; Coh, M., D.; Carrillo, Á., E. y Monsalvo, E., A. (2015). Producción de planta de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.). *Agroproductividad*. 8(4):73-78. <https://biblat.unam.mx/hevila/Agroproductividad/2015/vol8/no4/12.pdf>
- <sup>b</sup>Castillo, R., F.; Hernández, C., F., D.; Gallegos, M., G.; Flores, O., A.; Rodríguez, H., R. y Aguilar, C., N. (2015). Efectividad *in vitro* de *Bacillus* y polifenoles de plantas nativas de México sobre *Rhizoctonia solani*. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 6(3): 549-562. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S2007-09342015000300009&script=sci\\_abstract](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S2007-09342015000300009&script=sci_abstract)
- Cisneros, P. I., Curbelo, C., Vinicio, C. M., y Molina D. I. (2019). Método alternativo para la desacetilación de la quitina. *Universidad Ciencia y Tecnología*, 2: 162-169. <https://www.uctunexpo.autanabooks.com/index.php/uct/article/view/80>
- Cortés, R., H., J.; González, E., R., R.; Huerta, O., J., Á.; Blancas, B., F., J. y Gutiérrez, M., P. (2021). Evaluación de quitosano comercial y extractos acuosos de mesocarpio de coco (*Cocos nucifera* L.) para el control de *Rhizopus stolonifer* aislado de guanábana (*Annona muricata* L.): pruebas *in vitro*. *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 24: 1 - 11. <http://tip.zaragoza.unam.mx/index.php/tip/article/view/293>
- De Tender, C.; Mesuere, B.; Van der Jeugt, F.; Haegeman, A.; Ruttink, T.; Vandecasteele, B.; Dawyndt, P.; Debode, J. and Kuramae, E., E. (2019). Peat substrate amended with chitin modulates the N-cycle, siderophore and chitinase responses in the lettuce rhizobiome. *Scientific Reports*, 9(1): 1-11. <https://www.nature.com/articles/s41598-019-46106-x>

- Delgado, R., G.; Inzunza, I., M., A.; Villa, C., M., M.; Catalán, V., E., A. y Román, L., A. (2014). Evaluación de tecnología para maximizar la producción de chile serrano en la Región Lagunera. Gómez Palacio, Durango, México. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas vol.5 no.8. [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&%20pid=S2007-09342014000800018](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&%20pid=S2007-09342014000800018)
- Díaz, C., M.; Rodríguez, A., G.; Silva, R., H., V.; Pedraza, S., M., E.; Salgado, G., R. y Fernández, P., S., P. (2011). Identificación de especies de *Pythium* aisladas de plantas ornamentales. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas. 2(3): 431-443. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2007-09342011000900003](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342011000900003)
- El-Mohamedy, R., S., R.; Abdel-Kader, M., M.; Abd-El-Kareem, F. and El-Mougy, N., S. (2013). Inhibitory effect of antagonistic bio-agents and chitosan on the growth of tomato root rot pathogens *in vitro*. Journal of Agricultural Technology 9(6):1521-1533. <https://www.thaiscience.info/Journals/Article/IJAT/10895654.pdf>
- Espinoza- Ahumada, C., A.; Gallegos- Morales, G.; Ochoa, F., Y., M.; Hernández-Castillo, F., D.; Méndez, A., R. y Rodríguez, G., R. (2019). Antagonistas microbianos para biocontrol de la marchitez y su efecto promotor en el rendimiento de chile serrano. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas, 10(23), 187-197. <https://doi.org/10.29312/remexca.v0i23.2020>
- Figueroa, C., H., R. y Pavia, S., F. (2017). Técnica de evaluación para damping-off en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) infectado por *Pythium aphanidermatum*. Tecnociencia Chihuahua. 11(2): 41-47. <https://vocero.uach.mx/index.php/tecnociencia/article/view/156>
- Fry, W., E. and Niklaus, J., G. (2010). Introducción a los Oomicetes. Trans. Alberto J. Valencia-Botín. 2012. The Plant Health Instructor. <https://www.apsnet.org/edcenter/disandpath/oomycete/introduction/Pages/IntroOomycetesEspanol.aspx>
- Gamal, RF., El-Tayeb, TS., Raffat, El., Ibrahim, HMM., Bashandy, AS. (2016). Optimization of low molecular weight chitosan production by a local isolated

- Bacillus subtilis strain. International Journal of Biological Macromolecules, 91: 598-608. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.06.008>
- Gómez, V., J., M. y Melero, V., J., M. (2011). Patogenia de *Pythium aphanidermatum* y *Pythium* spp. sobre plántulas de pepino: la Influencia del cultivar y del sustrato en la gravedad de la enfermedad. Bol. San. Veg. Plagas, 37: 207-223. [https://digital.csic.es/bitstream/10261/84091/4/patogenia\\_pythium\\_I\\_Gomez.pdf](https://digital.csic.es/bitstream/10261/84091/4/patogenia_pythium_I_Gomez.pdf)
- Gómez- Hernández, D.; Carrillo, R., J., C.; Chávez, S., J., L. and Perales, S., C. (2018). Pathogenicity of *Phytophthora capsici* Leon and *Rhizoctonia solani* Khün, on seedlings of 'costeño' pepper (*Capsicum annuum* L.). Revista Bio Ciencias, 5(1), e356. <http://dx.doi.org/10.15741/revbio.05.01.14>
- González, E.; Yáñez, M., J.; Santiago, V. y Montero, Á. (2004). Biodiversidad fungosa en la marchitez del chile y algunos factores involucrados, en Tlacotepec de José Manzo, el Verde, Puebla. Agrociencia, 38 (6),653-661. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=30238609>
- González, P., F., D.; Gómez, I., G.; Fernández, M., A.; Vaillant, F., D. y Falcón, R., A., B. (2016). Actividad inhibitoria de un polímero de quitosano en el crecimiento vegetativo y la reproducción asexual de un aislado de *Phytophthora palmivora* Butler. Revista de Protección Vegetal, 31(2), 99-106. <https://bit.ly/Actividadinhibitoria>
- Gravel, V.; Martinez, C.; Antoun, H. and Tweddell, R., J. (2005). Antagonist microorganisms with the ability to control *Pythium* damping-off of tomato seeds in rockwool. BioControl. 50(5): 771-786. <https://link.springer.com/article/10.1007/s10526-005-1312-z>
- Grijalba, P., E. y Ridao, A., D., C. (2017). Control químico de *Pythium* spp. en plántulas de soja. RIA. Revista de Investigaciones Agropecuarias. 43(1): 67-71. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=86451165010>
- Grijalba, P., E.; Zapata, R., L.; Palmucci, H., E. y Barón, C. (2015). Podredumbre basal de plantas adultas de tomate causada por *Pythium aphanidermatum* (Oomycota). Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica. 50(1): 11-15. <https://revistas.unc.edu.ar/index.php/BSAB/article/view/10843>

- Hamed, I.; Özogul, F. and Regenstern, J., M. (2016), "Industrial applications of crustacean by-products (chitin, chitosan, and chitooligosaccharides): A review", Trends in Food Science & Technology. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0924224415002721>
- Heffer, L., V.; Polwelson, L., M. and Johnson, B., K. (2012). Oomycetes. The Plant Health Instructor. <https://www.apsnet.org/edcenter/disandpath/oomycete/labexercises/Pages/Oomycetes.aspx>
- Hernández, H., E., J.; Hernández, R., I.; Almaraz, S., J., J.; López, L., A.; Torres, A., M. y Morales, F., F., J. (2018). Caracterización in vitro de rizobacterias y su antagonismo con hongos causantes del damping off en Chile. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas. 9 (3): 525- 537. <https://cienciasagricolas.inifap.gob.mx/index.php/agricolas/article/view/335>
- Hernández, J., J.; Montes, B., R.; Flores, M., H., E.; Nava, J., R., A. y Chanona, P., J. (2004). Caracterización de aislamientos de *Sclerotium rolfsii* Sacc. en diferentes medios de cultivo. Revista Mexicana de Fitopatología, 22(3), 345-350. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61222305>
- Hernández, M., C., A. y Herrera, I., L. (2014). Variabilidad cultural, morfológica y patogénica entre aislados de *Sclerotium rolfsii* Sacc. en diferentes caracteres. Centro Agrícola, 41(1), 39-45. <https://www.researchgate.net/publication/317044982>
- Hernández, P., D.; Díaz, C., M.; Quiñones, R., R.; Santos, B., R.; Portal, G., N. y Herrera, I.; L. (2016). Efecto de medios biológicos y productos naturales sobre *Sclerotium rolfsii* Sacc. en frijol común. Centro Agrícola, 43(4): 79-87. <http://ref.scielo.org/fysrv9>
- Holguín, P., R., J.; Vargas, L., J., M.; López, A., G., A.; Rodríguez, F., F.; Borbón, M., C., G. y Rueda, P., E., O. (2020). Efecto de quitosano y consorcio simbiótico benéfico en el rendimiento de sorgo en la zona indígena "Mayos" en Sonora. Terra Latinoamericana, 38(3), 705-714. <https://www.terralatinoamericana.org.mx/index.php/terra/article/view/669/1214>

- Jiménez, M., R.; Arceo, M., M., T. y Loeza, L., P., D. (2018). Quitosano: actividad antimicrobiana y mecanismos de acción. *e-CUCBA*, 9: 17-23. <http://e-cucba.cucba.udg.mx/index.php/e-Cucba/article/view/98/96>
- Jiménez- Pérez, O.; Gallegos- Morales, G.; Hernández- Castillo, F., D.; Cepeda- Siller, M. and Espinoza- Ahumada, C., A. (2021). Characterization and pathogenicity of a *Pythium aphanidermatum* isolate causing 'damping off' in pepper seedlings. *Mexican Journal of Phytopathology* 40(1). <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2109-3>
- Kator, L.; Oseas, Z., Y. y Oche, O., D. (2015). *Sclerotium rolfsii*: Causative organism of southern blight, stem rot, White mold and sclerotia rot disease. *Annals of Biological Research*, 6 (11), 78-89. <http://scholarsresearchlibrary.com/archive.html>
- Keller, S., A.; Levandoski, J., O., D., R.; Pereira, B., G., A.; Klack, J., C., S., B. and Gomes, D., S., V. (2020). Effect of chitosan on the mycelial growth of *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani* and *Trichoderma* spp. *Atas de Saúde Ambient. Brasil*. 8: 34- 44. <https://revistaseletronicas.fmu.br/index.php/ASA/article/view/2107/1547>
- Khalaf, A.; Emad, I., H.; Khalid, M., A., B.; Mahmoud, A., K.; Wesam, A., K.; Jacob, H., J.; Mohamad, A., S.; Asharaf, K. and Mohamed, I., H. (2011). Identification and controlling *Pythium* sp. infecting tomato seedlings cultivated in Jordan Valley using garlic extract. *Asian Journal of Plant Pathology*. 5(2): 84-92. <https://scialert.net/fulltext/?doi=ajppaj.2011.84.92>
- Larios, E., J., L.; Nava, J., D., J., W., V.; Cupul, W., C.; López, F., A., G.; Sánchez, G., M. y Nava, M., T., B. (2019). Biocontrol de Damping off y promoción del crecimiento vegetativo en plantas de *Capsicum chinense* (Jacq) con *Trichoderma* spp. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*.10(3): 471-483. <http://dx.doi.org/10.29312/remexca.v10i3.332>
- López, C., B., E.; Mondaca, F., I.; Gortáres, M., P.; Meza, M., M., M.; Balderas, C., J., J.; Ruiz, A., C. y Rueda, P., E., O. (2019). Enraizamiento de esquejes de *Salicornia bigelovii* (Torr.) por quitosano como un bioproducto de origen

<https://www.terralatinoamericana.org.mx/index.php/terra/article/view/517>

- Martín-López, H., Pech-Cohuo, S. C., Herrera-Pool, E., Medina-Torres, N., Cuevas-Bernardino, J. C., Ayora-Talavera, T.; Espinosa-Andrews, H.; Ramos-Díaz, A.; Trombotto, S.; & Pacheco, N. (2020). Structural and Physicochemical Characterization of Chitosan Obtained by UAE and its Effect on the Growth Inhibition of *Pythium ultimum*. *Agriculture*, 10(10), 464. <https://doi.org/10.3390/agricultura10100464>
- Martínez, Á., J., C.; Camacho, A., F.; Bojórquez, A., Y., J.; Sánchez, S., B.; Cordero, R., J., D.; Romero, U., C., Á.; Felix, G., R.; y Mora, R., G., A. (2021). Efecto inhibitorio de bacterias antagonistas contra *Sclerotium rolfsii*, agente causal del tizón sureño del frijol. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 39(1), 207-218. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.2006-5>
- Monter, M., J., G.; Tirado, G., J., M.; Zamudio, F., P., B.; Ríos, V., C.; Ornelas, P., J., J.; Salgado, D., R.; Espinosa, S., V. y Hernández, C., F. (2016). Extracción y caracterización de propiedades fisicoquímicas, morfológicas y estructurales de quitina y quitosano de *Brachystola magna* (Girard). *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 15(3): 749-761. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=62048168007>
- Palma, G., J.; Jansson, H., B.; Salinas, J. y López, L., L., V. (2008). Effect of chitosan on hyphal growth and spore germination of plant pathogenic and biocontrol fungi. *Journal of Applied Microbiology*, 104(2), 541-553. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2007.03567.x>
- Palma, G., J.; Larriba, E; Güerri, A., B.; Jansson, H., B.; Salinas, J. y López, L., L., V. (2010). Chitosan increases conidiation in fungal pathogens of invertebrates. *Applied microbiology and biotechnology*, 87(6): 2237-2245. <https://doi.org/10.1007/s00253-010-2693-1>
- Palmucci, H., E.; Wolcan, S., M. and Grijalba, P., E. (2011). Status of the Pythiaceae (Straminipila) in Argentina. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 46 (3-4): 197-211. <https://digital.cic.gba.gob.ar/handle/11746/3993>

- Pasotti, V. S., Avila, S. A. J., y Martinelli, M. (2020). Obtención de quitina y quitosán por método sustentable a partir de cáscaras de langostino. *Naturalia Patagónica*, 16. 111-131. [https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/147029/CONICET\\_Digital\\_Nro.67e6f828-ba4b-4224-803c-a695499e386b\\_A.pdf?sequence=2&isAlloved=y](https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/147029/CONICET_Digital_Nro.67e6f828-ba4b-4224-803c-a695499e386b_A.pdf?sequence=2&isAlloved=y)
- Peralta, D.; Mena, J., P. y Grefa, V. (2017). Caracterización del cultivo de tomate (*Solanum lycopersicum*) y pimiento (*Capsicum annuum*) bajo condiciones controladas. [https://www.researchgate.net/publication/319162681\\_Caracterizacion\\_del\\_cultivo\\_de\\_tomate\\_solanum\\_lycopersicum\\_y\\_pimiento\\_capsicum\\_annuum\\_bajo\\_condiciones\\_controladas\\_REVIEW](https://www.researchgate.net/publication/319162681_Caracterizacion_del_cultivo_de_tomate_solanum_lycopersicum_y_pimiento_capsicum_annuum_bajo_condiciones_controladas_REVIEW)
- Pérez, C., L., M.; Castañón, N., G.; Ramírez, M., M. y Mayek, P., N. (2015). Avances y perspectivas sobre el estudio del origen y la diversidad genética de *Capsicum* spp. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*. 2(4): 117-128. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2007-90282015000100009](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-90282015000100009)
- Pérez. M., Y.; Rosales, J., P., R.; Costales, M., D. y Falcón, R., A. (2019). Aplicación combinada de quitosano y HMA en el rendimiento de maíz. *Cultivos Tropicales*. 40(4): e06. <http://ref.scielo.org/2zp8qh>
- Pérez, A., C., E.; Carrillo, R., J., C.; Chávez, S., J., L.; Perales, S., C.; Enríquez, V., R. y Villegas, A., Y. (2017). Diagnóstico de síntomas y patógenos asociados con marchitez del chile en Valles Centrales de Oaxaca. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 8(2), 281-293. <https://doi.org/10.29312/remexca.v8i2.50>
- Punja, Z. and Sun, L. (2001). Genetic diversity among mycelial compatibility groups of *Sclerotium rolfsii* (teleomorph *Athelia rolfsii*) and *S. delphinii*. *Mycological Research*, 105(5), 537-546. <https://doi.org/10.1017/S0953756201004002>
- Radwan, M., A.; Farrag, S., A., A.; Abu, E., M., M. and Ahmed, S., N. (2012). Extraction, characterization, and nematocidal activity of chitin and chitosan derived from shrimp shell wastes. *Biology and Fertility of Soils*, 48: 463– 468. <https://link.springer.com/article/10.1007/s00374-011-0632-7>

- Ramírez, B., J., E.; Arjona, S., R.; Caamal, V., J., H.; Rodríguez, Á., N., L.; Solís, P., S., E. y Lizama, U., G. (2019). Inhibición del crecimiento y modificación genética de *Phytophthora capsici* usando quitosano de bajo grado de polimerización. Revista Argentina de Microbiología, Volumen 51. Argentina .<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0325754118300336>
- Reyes, P., J., J.; Llerena, R., L., T.; Ramos, R., R., A.; Ramírez, A., M., Á.; Falcón, R., A., B.; Pincay, G., R., A. y Rivas, G., T. (2021). Efecto del quitosano en la propagación vegetativa de cacao (*Theobroma cacao* L.) por esquejes. Terra Latinoamericana, 39: 1-9. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0187-57792021000100152](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-57792021000100152)
- Rodríguez, R., V, M.; Villanueva, A., R. y Trejo, R., A., B. (2019). Quitosano y extractos de *Pseudomonas fluorescens* para el control de *Alternaria alternata* en jitomate (*Solanum lycopersicum*). Revista Mexicana de Fitopatología, 37(2): 202-219. <https://www.smf.org.mx/rmf/ojs/index.php/RMF/article/view/142>
- Rodríguez, G., R.; Almeyda, L., I., H.; Peña, C., K., I.; López, A., J., I.; Narvaéz, R., Á., I. y Armijo, M., L., F. (2021). Coinoculación y cultivos esterilizados por calor de actinobacterias inhiben la germinación y formación de colonias de esclerocios de *Sclerotium rolfsii*. Biotecnología y Sustentabilidad, 6(2), 1-15. <https://doi.org/10.57737/biotecnologiaysust.v6i2.1231>
- Ruiz, B., R.; Nava, T., M., E.; Landeros, S., C. y Díaz, P., G. (2016). Potencial productivo y limitantes para el cultivo de chile habanero (*Capsicum chinese* Jacq.) en el estado de Veracruz, México. RINDERESU, 1(1), 01-11. <http://rinderesu.com/index.php/rinderesu/article/view/01/pdf>
- Sáenz, M., A., I.; Zamudio, F., P., B.; Palomino, A., G., A.; Tirado, G., J., M.; García, C., V., G.; Ornelas, P., J., J.; Ríos, V., C.; Acosta, M., C., H.; Vargas, T., A.; Salgado, D., R. y Aparicio, S., A. (2019). Caracterización fisicoquímica, morfológica y estructural de la quitina y quitosano de los insectos *tenebrio molitor* y *galleria mellonella*. Revista Mexicana de Ingeniería Química, 18(1): 39- 56. [https://www.researchgate.net/publication/334207332\\_Physicochemical\\_morphological\\_and\\_structural\\_ch](https://www.researchgate.net/publication/334207332_Physicochemical_morphological_and_structural_ch)

[aracterization of the chitin and chitosan of Tenebrio molitor and Galleria mellonella insects](#)

- Sánchez, G., B., M.; Ramírez, P., J., G.; Guevara, A., L., P.; Raya, P., J., C.; Covarrubias, P., J. y Mora, A., M., A. (2019). Actinobacterias con potencial antagónico *in vitro* a hongos fitopatógenos y promoción del crecimiento en plantas de Chile. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 10(23): 339-344. <http://cienciasagricolas.inifap.gob.mx/index.php/agricolas/article/view/2033>
- Sedaghat, F.; Yousefzadi, M.; Toiserkani, H. y Najafipour, S. (2016). Chitin from *Penaeus merguensis* via microbial fermentation processing and antioxidant activity. *International Journal of Biological Macromolecules*, 82, 279–283. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.10.070>
- SIAP. (2019). Producción de Chile verde en México. <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>
- SIAP. (2020). Producción anual agrícola. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. [https://nube.siap.gob.mx/gobmx\\_publicaciones\\_siap/pag/2020/Atlas-Agroalimentario-2020](https://nube.siap.gob.mx/gobmx_publicaciones_siap/pag/2020/Atlas-Agroalimentario-2020)
- SIAP. (2022). Anuario Estadístico de la Producción Agrícola 2021. <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>
- Tayo, P., M., T.; Ewane, C., A.; Effa, P., O. and Boudjeko, T. (2017). Effects of chitosan and snail shell powder on cocoa (*Theobroma cacao* L.) growth and resistance against black pod disease caused by *Phytophthora megakarya*. *African Journal of Plant Science*, 11(8): 331- 340. <https://academicjournals.org/journal/AJPS/article-abstract/03673C665313>
- Van der Plaats and Niterink, A., J. 1981. Monograph of the Genus *Pythium*. Baarn: Centraalbureau voor Schimmelcultures. 21. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19821379677>
- Van West, P.; Appiah, A., A. y Gow, N., A., R. (2003). Avances en la investigación sobre patógenos de raíz de oomiceto. *Fisiopatología fisiológica y molecular de las plantas*. 62(2): 99-113. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0885576503000444>

- Vázquez, G., E.; Ramírez M., M.; Mata, V., H.; Ariza, F., R. y Alia, T., I. (2010). Atributos de calidad y vida de anaquel de frutos de cultivares de chile serrano en México. Chapingo, Texcoco, Estado de México. Revista Fitotecnia Mexicana. vol. 33 spe 4. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0187-738020100005\\_00016](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-738020100005_00016)
- Velásquez, V., R.; Reveles, H., M. y Reveles, T., L., R. (2014). Manejo de enfermedades de los almácigos tradicionales de chile, para secado en Zacatecas. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Campo Experimental Zacatecas. Folleto Técnico. Núm 54. CIRNOC –INIFAP, 28 pp. <http://zacatecas.inifap.gob.mx/publicaciones/manejoEAlmacigosChile.pdf>
- Velásquez, V., R.; Reveles, H., M. y Reveles, T., L., R. (2017). Identificación de enfermedades causadas por hongos en cultivos de Aguascalientes, Durango y Zacatecas. Folleto Técnico Número 90. Campo Experimental Zacatecas. CIRNOC – INIFAP, 86 páginas. <http://zacatecas.inifap.gob.mx/publicaciones/Folleto%20Tecnico%2090.pdf>
- Vieira, E., R.; Antunes, A., A.; Alviano, C., S.; Alviano, D., S.; Bergter, E., B.; Luna M., C.; da Silva, A., R., F. y de Campos, T., G., M. (2020). *Rhizopus arrhizus* ucp1295 como fonte econômica para produção de biopolímeros funcionais quitina e quitosana utilizando substratos renováveis. Brazilian Journal of Development, 6(10): 76444-76456. <https://www.brazilianjournals.com/index.php/BRJD/article/view/17954/14537>
- Xoca, O., L., A.; Aguilera, A., S.; López, G., U., M.; Gutiérrez, M., P. y Chacón, L., A. (2018). Effect of chitosan on the *in vitro* control of *Colletotrichum* sp., and its influence on post-harvest quality in Hass avocado fruits. Revista Bio Ciencias 5, e355. <http://revistabiociencias.uan.mx/index.php/BIOCIENCIAS/article/view/355/638>
- Xu, Z.; Harrington, T., C.; Gleason, M., L. and Batzer, J., C. (2010). Phylogenetic placement of plant pathogenic *Sclerotium* species among teleomorph genera. Mycologia, 102(2), 337-346. <https://doi.org/10.3852/08-189>

## 8. ANEXOS

**Cuadro 4.** Datos de *Pythium aphanidermatum*.

| Observación | Tratamiento | Repetición | % inhibición |
|-------------|-------------|------------|--------------|
| 1           | TESTIGO     | 1          | 0            |
| 2           | TESTIGO     | 2          | 0            |
| 3           | TESTIGO     | 3          | 0            |
| 4           | TESTIGO     | 4          | 0            |
| 5           | Bs-0.005    | 1          | 17.72        |
| 6           | Bs-0.005    | 2          | 20.41        |
| 7           | Bs-0.005    | 3          | 19.96        |
| 8           | Bs-0.005    | 4          | 23.92        |
| 9           | Bs-0.01     | 1          | 50           |
| 10          | Bs-0.01     | 2          | 46.83        |
| 11          | Bs-0.01     | 3          | 47.71        |
| 12          | Bs-0.01     | 4          | 42.57        |
| 13          | Bs-0.015    | 1          | 61.35        |
| 14          | Bs-0.015    | 2          | 63.36        |
| 15          | Bs-0.015    | 3          | 62.98        |
| 16          | Bs-0.015    | 4          | 65.84        |
| 17          | Bs-0.02     | 1          | 63.36        |
| 18          | Bs-0.02     | 2          | 63.36        |
| 19          | Bs-0.02     | 3          | 63.24        |
| 20          | Bs-0.02     | 4          | 65.33        |
| 21          | Com-0.005   | 1          | 0            |
| 22          | Com-0.005   | 2          | 0            |

|    |           |   |   |
|----|-----------|---|---|
| 23 | Com-0.005 | 3 | 0 |
| 24 | Com-0.005 | 4 | 0 |
| 25 | Com-0.01  | 1 | 0 |
| 26 | Com-0.01  | 2 | 0 |
| 27 | Com-0.01  | 3 | 0 |
| 28 | Com-0.01  | 4 | 0 |
| 29 | Com-0.015 | 1 | 0 |
| 30 | Com-0.015 | 2 | 0 |
| 31 | Com-0.015 | 3 | 0 |
| 32 | Com-0.015 | 4 | 0 |
| 33 | Com-0.02  | 1 | 0 |
| 34 | Com-0.02  | 2 | 0 |
| 35 | Com-0.02  | 3 | 0 |
| 36 | Com-0.02  | 4 | 0 |

**Cuadro 5.** Código de SAS para *P. aphanidermatum*.

|   |
|---|
| <b>Title</b> "Pythium";   |
| <b>proc print data</b> =pythium.pythium;                                      |
| <b>proc glm data</b> =pythium.pythium;  |
| <b>class</b> Tratamiento;   |
| <b>model</b> crecimiento=Tratamiento;   |
| <b>means</b> Tratamiento/lsd Tukey duncan scheffe;                            |
| <b>proc means data</b> =pythium.pythium <b>n mean stddev stderr max min</b> ; |
| <b>class</b> tratamiento;   |
| <b>var</b> crecimiento;   |
| <b>run</b> ;  |

**Cuadro 6.** Componentes del diseño.

| Información general            |         |   |    |
|--------------------------------|---------|---|----|
| F. V                           | Niveles | Valores   |    |
| Tratamientos                   | 9       | Bs-0.005 Bs-0.01 Bs-0.015 Bs-0.02 Com-0.005 Com-0.01 Com-0.015 Com-0.02 TESTIGO |    |
| N.º observaciones leídas       |         |   | 36 |
| Número de observaciones usadas |         |   | 36 |

**Cuadro 7.** Análisis de varianza para *P. aphanidermatum*.

**Variable dependiente: Crecimiento**

| Origen          | G. L. | Suma de cuadrados | Cuadrado medio | Valor Cal | Pr > F |
|-----------------|-------|-------------------|----------------|-----------|--------|
| Tratamientos    | 8     | 25985.70809       | 3248.21351     | 1413.25   | <.0001 |
| Error           | 27    | 62.05690          | 2.29840        |           |        |
| Total corregido | 35    | 26047.76499       |                |           |        |

**Hipótesis para tratamiento**

**Ho:** todos los tratamientos son iguales.

**Ha:** al menos un tratamiento es diferente.

**Regla de decisión bajo SAS**

Se rechaza Ho si  $[Pr > F] < \alpha$

Confiabilidad 95% Alfa = 0.05

$[Pr > F] = 0.0001$

$0.0001 < 0.05$

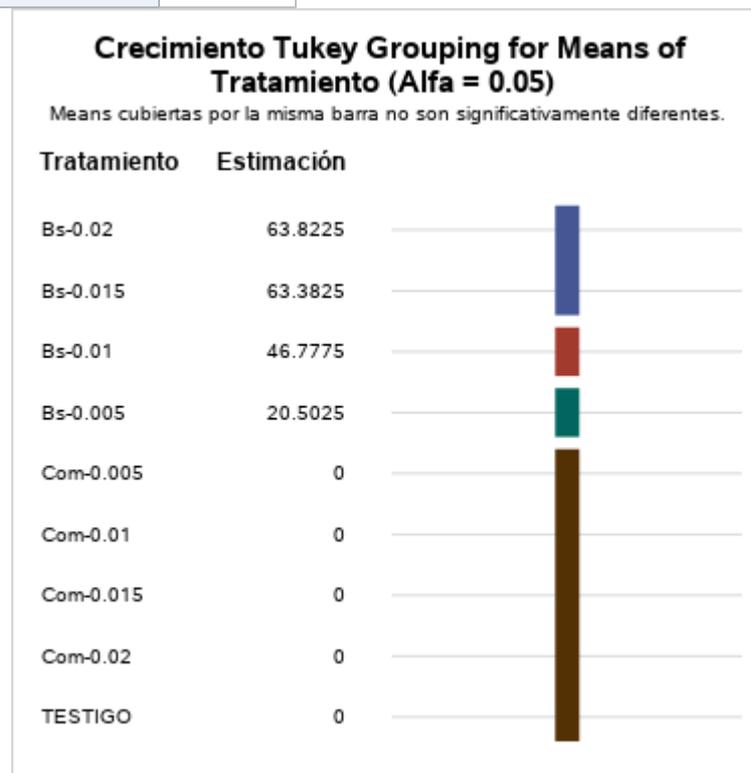
Por lo tanto, se rechaza Ho.

**Conclusión**

Se acepta Ha, por lo tanto, al menos un tratamiento es diferente.

**Cuadro 8.** Prueba de Tukey para *P. aphanidermatum*.

|                          |          |
|--------------------------|----------|
| Alfa                     | 0.05     |
| G. L. error              | 27       |
| CME                      | 2.298404 |
| Valor de tablas de Tukey | 4.75840  |
| Tukey calculado          | 3.607    |



**Figura 8.** Comparación de medias para *P. aphanidermatum*.

**Cuadro 9.** Medidas resumen de *P. aphanidermatun*.

| Crecimiento |       |   |            |                  |           |            |            |
|-------------|-------|---|------------|------------------|-----------|------------|------------|
| Tratamiento | N Obs | N | Media      | Desv. est.       | Error Std | Máximo     | Mínimo     |
| Bs-0.005    | 4     | 4 | 20.5025000 | <b>2.5641422</b> | 1.2820711 | 23.9200000 | 17.7200000 |
| Bs-0.01     | 4     | 4 | 46.7775000 | <b>3.1069747</b> | 1.5534873 | 50.0000000 | 42.5700000 |
| Bs-0.015    | 4     | 4 | 63.3825000 | <b>1.8558803</b> | 0.9279401 | 65.8400000 | 61.3500000 |
| Bs-0.02     | 4     | 4 | 63.8225000 | <b>1.0065908</b> | 0.5032954 | 65.3300000 | 63.2400000 |
| Com-0.005   | 4     | 4 | 0          | 0                | 0         | 0          | 0          |
| Com-0.01    | 4     | 4 | 0          | 0                | 0         | 0          | 0          |
| Com-0.015   | 4     | 4 | 0          | 0                | 0         | 0          | 0          |
| Com-0.02    | 4     | 4 | 0          | 0                | 0         | 0          | 0          |
| TESTIGO     | 4     | 4 | 0          | 0                | 0         | 0          | 0          |

**Cuadro 10.** Datos de *Sclerotium rolfsii*.

| Observación | Tratamiento | Repetición | % inhibición |
|-------------|-------------|------------|--------------|
| 1           | TESTIGO     | 1          | 0            |
| 2           | TESTIGO     | 2          | 0            |
| 3           | TESTIGO     | 3          | 0            |
| 4           | TESTIGO     | 4          | 0            |
| 5           | B-0.005     | 1          | 81.24        |
| 6           | B-0.005     | 2          | 80.27        |
| 7           | B-0.005     | 3          | 78.23        |
| 8           | B-0.005     | 4          | 77.07        |
| 9           | B-0.01      | 1          | 85.02        |
| 10          | B-0.01      | 2          | 85.17        |
| 11          | B-0.01      | 3          | 84           |
| 12          | B-0.01      | 4          | 86.83        |
| 13          | B-0.015     | 1          | 85.82        |
| 14          | B-0.015     | 2          | 87.17        |
| 15          | B-0.015     | 3          | 87.35        |
| 16          | B-0.015     | 4          | 89.29        |
| 17          | B-0.02      | 1          | 90.78        |
| 18          | B-0.02      | 2          | 91.55        |
| 19          | B-0.02      | 3          | 92.61        |
| 20          | B-0.02      | 4          | 91.73        |
| 21          | Com-0.005   | 1          | 0            |
| 22          | Com-0.005   | 2          | 0            |
| 23          | Com-0.005   | 3          | 0            |

| Observación | Tratamiento | Repetición | % inhibición |
|-------------|-------------|------------|--------------|
| 24          | Com-0.005   | 4          | 0            |
| 25          | Com-0.01    | 1          | 0            |
| 26          | Com-0.01    | 2          | 0            |
| 27          | Com-0.01    | 3          | 0            |
| 28          | Com-0.01    | 4          | 0            |
| 29          | Com-0.015   | 1          | 0            |
| 30          | Com-0.015   | 2          | 0            |
| 31          | Com-0.015   | 3          | 0            |
| 32          | Com-0.015   | 4          | 0            |
| 33          | Com-0.02    | 1          | 0            |
| 34          | Com-0.02    | 2          | 0            |
| 35          | Com-0.02    | 3          | 0            |
| 36          | Com-0.02    | 4          | 0            |

**Cuadro 11.** Código de SAS para *S. rolfsii*.

|   |
|---|
| <b>Title</b> "Sclerotium";  |
| <b>proc print data</b> =Scleroti.sclerotium;                                      |
| <b>proc glm data</b> =Scleroti.sclerotium;  |
| <b>class</b> Tratamiento;   |
| <b>model</b> crecimiento=Tratamiento;   |
| <b>means</b> Tratamiento/lsd Tukey duncan scheffe;                                |
| <b>proc means data</b> =scleroti.sclerotium <b>n mean stddev stderr max min</b> ; |
| <b>class</b> tratamiento;   |
| <b>var</b> crecimiento;   |
| <b>run</b> ;  |

**Cuadro 12.** Componentes del diseño.

| Información Gen                |         |   |    |
|--------------------------------|---------|---|----|
| F. V.                          | Niveles | Valores   |    |
| Tratamiento                    | 9       | B-0.005 B-0.01 B-0.015 B-0.02 Com-0.005 Com-0.01 Com-0.015 Com-0.02 TESTIGO |    |
| N.º observaciones leídas       |         |   | 36 |
| Número de observaciones usadas |         |   | 36 |

**Cuadro 13.** Análisis de varianza para *S. rolfsi*.

**Variable dependiente: Crecimiento**

| F. V.           | G. L. | Suma de cuadrados | Cuadrado medio | F cal   | Pr > F |
|-----------------|-------|-------------------|----------------|---------|--------|
| Tratamiento     | 8     | 65886.88677       | 8235.86085     | 9787.45 | <.0001 |
| Error           | 27    | 22.71972          | 0.84147        |         |        |
| Total corregido | 35    | 65909.60650       |                |         |        |

**Hipótesis para tratamiento**

**Ho:** todos los tratamientos son iguales.

**Ha:** al menos un tratamiento es diferente.

**Regla de decisión bajo SAS**

Se rechaza Ho si  $[Pr > F] < \alpha$  (alfa)

Confiabilidad 95% Alfa = 0.05

$[Pr > F] = 0.0001$

$0.0001 < 0.05$

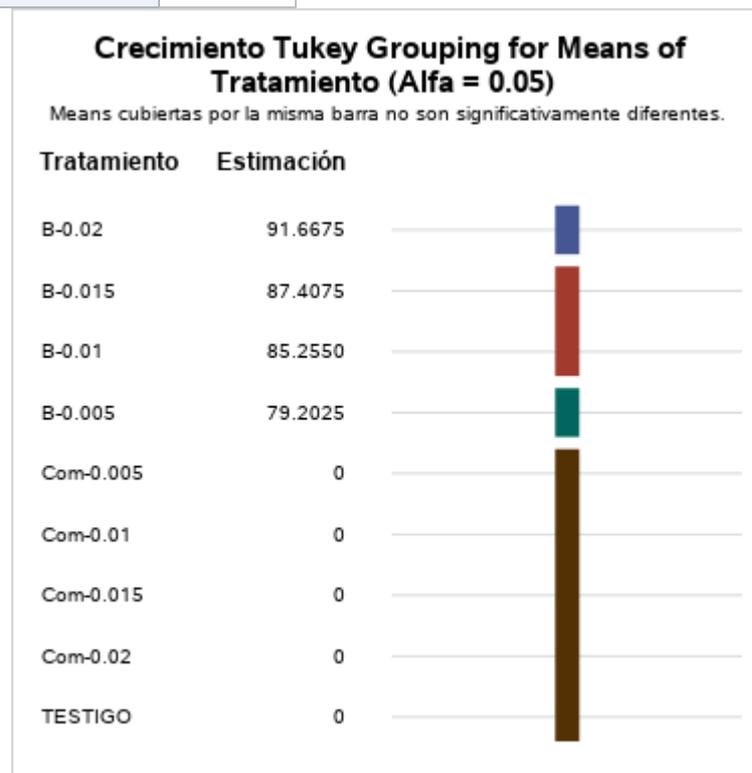
Por lo tanto, se rechaza Ho.

**Conclusión**

Se acepta Ha, por lo tanto, al menos un tratamiento es diferente.

**Cuadro 14.** Prueba de Tukey para *S. rolfsii*.

|                          |          |
|--------------------------|----------|
| Alfa                     | 0.05     |
| G. L. Error              | 27       |
| CME                      | 0.841471 |
| Valor de tablas de Tukey | 4.75840  |
| Tukey calculado          | 2.1825   |



**Figura 9.** Comparación de medias para *S. rolfsii*.

**Cuadro 15.** Medidas resumen de *S. rolfsii*.

| Crecimiento |       |   |            |                  |           |            |            |
|-------------|-------|---|------------|------------------|-----------|------------|------------|
| Tratamiento | N Obs | N | Media      | Desv. est.       | Error Std | Máximo     | Mínimo     |
| B-0.005     | 4     | 4 | 79.2025000 | <b>1.8959848</b> | 0.9479924 | 81.2400000 | 77.0700000 |
| B-0.01      | 4     | 4 | 85.2550000 | <b>1.1716228</b> | 0.5858114 | 86.8300000 | 84.0000000 |
| B-0.015     | 4     | 4 | 87.4075000 | <b>1.4287145</b> | 0.7143572 | 89.2900000 | 85.8200000 |
| B-0.02      | 4     | 4 | 91.6675000 | <b>0.7513710</b> | 0.3756855 | 92.6100000 | 90.7800000 |
| Com-0.005   | 4     | 4 | 0          | 0                | 0         | 0          | 0          |
| Com-0.01    | 4     | 4 | 0          | 0                | 0         | 0          | 0          |
| Com-0.015   | 4     | 4 | 0          | 0                | 0         | 0          | 0          |
| Com-0.02    | 4     | 4 | 0          | 0                | 0         | 0          | 0          |
| TESTIGO     | 4     | 4 | 0          | 0                | 0         | 0          | 0          |