

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMIA  
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGIA



Micro-encapsulación de *Trichoderma asperellum* y su efecto antagónico sobre *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia solani*, en plantas de chile (*Capsicum annuum*)

POR:

JOSÉ DANIEL DÍAZ GONZÁLEZ

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA, MÉXICO

ABRIL DE 2011

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMIA  
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA

Micro-encapsulación de *Trichoderma asperellum* y su efecto antagónico sobre *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia solani*, en plantas de chile (*Capsicum annum*)

Presentada por:

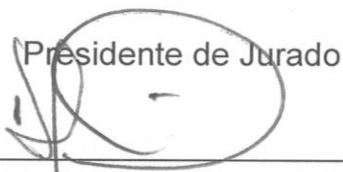
JOSÉ DANIEL DÍAZ GONZÁLEZ

TESIS

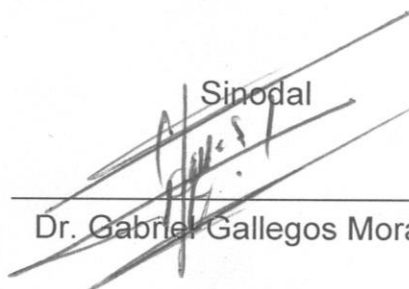
Que se somete a consideración del H. Jurado Examinador como requisito parcial  
para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

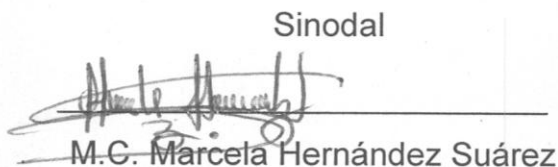
Aprobada:

Presidente de Jurado  


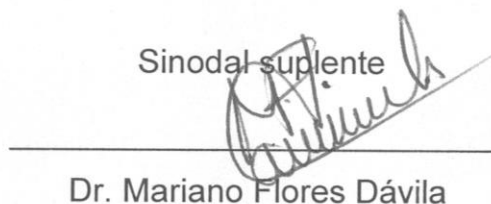
Dr. Francisco Daniel Hernández Castillo

Sinodal  


Dr. Gabriel Gallegos Morales

Sinodal  


M.C. Marcela Hernández Suárez

Sinodal suplente  


Dr. Mariano Flores Dávila

COORDINADOR DE LA DIVISION DE AGRONOMIA

  
Dr. Mario Ernesto Vázquez Badillo



Coordinación  
División de Agronomía

BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA, MEXICO

ABRIL DE 2011

## AGRADECIMIENTOS

**A Dios**, por darme la oportunidad de existir y concluir una meta más en la vida, pero sobre todo por tener una motivación, Amauri Jahaziel Díaz Martínez, de ser mejor cada día como persona y como profesionista.

**A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro**. Por brindarme todo lo necesario para concluir un sueño, que estaré agradecido toda la vida.

**Al Dr. Francisco Daniel Hernández Castillo**, por su valiosa participación en este proyecto, el interés, el tiempo y la aportación de sus conocimientos.

**Al Dr. Gabriel Gallegos Morales**, por el tiempo disponible para la revisión de este trabajo y sus comentarios que te ayudan a ser mejor profesionista.

**M.C. Marcela Hernández Suarez**, por facilitar la gestión de todos los materiales para la realización de este proyecto, pero sobre todo por el gran apoyo anímico durante el transcurso del trabajo y por el tiempo siempre disponible para nosotros.

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

**T.A. Silvia Ovalle Nava y T.A. Cristina Sánchez Flores** por apoyarnos en trabajos de laboratorio.

**A todos los profesores del Departamento de Parasitología**, por la enseñanza y porque siempre dieron lo mejor de sus conocimientos, experiencias, que te dá las herramientas para enfrentar la vida como profesionista.

**A la empresa Agrobiological Control S.A. de C.V. y al CONACYT**, por el financiamiento otorgado al proyecto: **138837-PROINNOVA-C0003-2010-02**, por la confianza depositada y abrirnos las puertas de sus instalaciones.

## DEDICATORIAS

A mis papas:

Mariano Díaz Vázquez

Y

Rosa Isabel González Vázquez

Porque desde el primer momento de salir de casa, creyeron en mi. Y gracias por el apoyo, la motivación, pero sobre todo sus oraciones a Dios para lograr algo tan valioso y terminar con bien.

Mis hermanos: Mario Alberto, Rosa María, Mariano, por el apoyo moral e incondicional que me brindaron durante este tiempo y les agradezco por comprenderme y apoyarme en mis decisiones.

Mis abuelos: Dolores Díaz-Maricruz Vázquez (†), Agustín González (†)-María Isabel Vázquez (†), porque siempre me demostraron ser alguien muy especial.

A mis primos que también confiaron en mi capacidad: Alejandro, Laura, Sergio, Karina.....

A mis amigos: Pifas, Abraham, Omega, Juanito que a lo largo de esta carrera nos planteamos nuevos retos que algunos de ellos ya concluyeron y otros están por terminar... gracias por todas las cosas y momentos compartidos, por la motivación en momentos difíciles que los tengo muy en mente.

A mis compañeros: Agustín, Alma, Andrés, Armando, Bernardo, Fernando, Ervin, Juan Carlos, José Miguel, Magda, Yanira, Leticia, Lourdes, Karen, Anayeli, Hortencia, Paloma, Marina, Flor Y en especial a Florencio, Rubén por el apoyo mutuo al participar en este proyecto y con mucho afecto a Yoseni Martínez por obsequiarme un regalo muy lindo.

A todos ellos por ser parte de una historia especial "Generación CX" les deseo muchísima suerte...

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

	Página
ÍNDICE DE CUADROS -----	vi
ÍNDICE DE CUADROS DEL APÉNDICE -----	vii
ÍNDICE DE FIGURAS -----	viii
INTRODUCCIÓN -----	1
REVISIÓN DE LITERATURA -----	3
El Cultivo del Chile -----	3
Importancia Económica -----	4
Agricultura Orgánica -----	5
Enfermedades del Suelo -----	6
<i>Fusarium oxysporum</i> -----	6
Morfología -----	6
Síntomas de la Enfermedad -----	7
<i>Rhizoctonia solani</i> -----	7
Morfología -----	7
Síntomas de la Enfermedad -----	7
Manejo de la Enfermedad -----	8
Variedades Resistentes -----	8
Control Químico -----	9
Control Biológico -----	9
Cualidades del Antagonista <i>Trichoderma</i> -----	10
Micoparasitismo -----	10
Competencia -----	11

Antibiosis -----	11
Inducción de Crecimiento y Resistencia -----	12
Estudios de Trichoderma -----	12
Los Microencapsulados -----	13
MATERIALES Y MÉTODOS -----	14
Ubicación del Experimento -----	14
Obtención de Fitopatógenos -----	14
<i>Rhizoctonia solani</i> -----	14
Incremento de <i>Rhizoctonia solani</i> en Granos de Trigo ---	14
<i>Fusarium oxysporum</i> -----	14
Proceso de Microencapsulación -----	15
Obtención de Suspensión Líquida de <i>Trichoderma</i> -----	16
Lavado de Semilla -----	16
Producción de Plántula -----	17
Trasplante de Plántula -----	17
Diseño experimental -----	17
Análisis Estadístico -----	20
RESULTADOS Y DISCUSIÓN -----	21
Experimento I -----	21
Altura de Planta -----	21
Longitud de Raíz -----	22
Peso Fresco -----	23
Peso Seco -----	24
Experimento II -----	24
Altura de Planta -----	24

Longitud de Raíz -----	26
Peso Fresco -----	27
Peso Seco -----	27
CONCLUSIONES-----	30
LITERATURA CITADA -----	31
APÉNDICE -----	37

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Altura expresada en cm, de plantas de chile evaluadas a los 45 días después del trasplante con diferentes tratamientos a base de <i>Trichoderma</i> -----	21
2. Longitud de raíz expresada en cm, de plantas de chile evaluadas a los 45 días después del trasplante con diferentes tratamientos a base de <i>Trichoderma</i> -----	22
3. Peso fresco expresado en g, de plantas de chile evaluadas a los 45 días después del trasplante con diferentes tratamientos a base de <i>Trichoderma</i> -----	23
4. Peso seco expresado en g, de plantas de chile evaluadas a los 45 días después del trasplante con diferentes tratamientos a base de <i>Trichoderma</i> -----	24
5. Altura expresada en cm, de plantas de chile evaluadas a los 45 días después del trasplante con diferentes tratamientos a base de <i>Trichoderma</i> -----	25
6. Longitud de raíz expresada en cm, de plantas de chile evaluadas a los 45 días después del trasplante con diferentes tratamientos a base de <i>Trichoderma</i> -----	26
7. Peso fresco expresado en g, de plantas de chile evaluadas a los 45 días después del trasplante con diferentes tratamientos a base de <i>Trichoderma</i> -----	27
8. Peso seco expresado en g, de plantas de chile evaluadas a los 45 días después del trasplante con diferentes tratamientos a base de <i>Trichoderma</i> -----	28



## ÍNDICE DE CUADROS DEL APÉNDICE

Cuadro		Página
1.	Datos del experimento I. Plantas de chile inoculadas con <i>Fusarium oxysporum</i> y tratadas con microcápsulas y solución de <i>Trichoderma asperellum</i> -----	38
2.	Análisis de varianza para altura de planta-----	39
3.	Análisis de varianza para longitud de raíz-----	39
4.	Análisis de varianza para peso fresco-----	39
5.	Análisis de varianza para peso seco-----	40
6.	Datos del experimento II. Plantas de chile inoculadas con <i>Rhizoctonia solani</i> y tratadas con microcápsulas y solución de <i>Trichoderma asperellum</i> -----	41
7.	Análisis de varianza para altura de planta -----	42
8.	Análisis de varianza para longitud de raíz -----	42
9.	Análisis de varianza para peso fresco -----	42
10.	Análisis de varianza para peso seco-----	42

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1.	Plantas de chile tratadas con microcápsulas y solución de <i>Trichoderma</i> e inoculadas con <i>Fusarium</i> ----- 22
2.	Plantas de chile evaluadas a los 45 días después del trasplante, tratadas con microcápsulas y solución de <i>Trichoderma</i> ----- 23
3.	Plantas de chile tratadas con microcápsulas y solución de <i>Trichoderma</i> e inoculadas con <i>Rhizoctonia solani</i> ----- 25
4.	Plantas de chile evaluadas a los 45 días después del trasplante, inoculadas con <i>Rhizoctonia solani</i> , tratadas con microcápsulas y solución de <i>Trichoderma</i> ----- 26

## INTRODUCCIÓN

La superficie sembrada de chile verde (*Capsicum annuum* L.) en México es de 144,109.63 ha, siendo Zacatecas el principal estado productor con 37,887 ha. La producción total es alrededor de 1.98 millones de ton, lo que representan un valor comercial de más de once mil millones de pesos. México ocupa el segundo lugar a nivel mundial como productor de esta hortaliza; la preferencia en los mercados internacionales ha derivado en el hecho de que en el 2004 el 25 % de la producción fue de exportación. En nuestro país la preferencia de esta hortaliza a nivel nacional se mantiene a un nivel medio al registrar un consumo per cápita de 14.5 kg (SIAP, 2011).

Uno de los problemas más grandes que enfrenta la agricultura en México está relacionado con el ataque de los cultivos por plagas y enfermedades, provocadas por diversos organismos. En nuestro país, como en otras regiones del mundo, las principales limitantes en la producción de chile son las pudriciones de raíz. Entre ellas se encuentra la enfermedad conocida como marchitez del chile, la cual es causada principalmente por el hongo *Phytophthora capsici*. Sin embargo, se ha reportado que otros hongos como *Fusarium* spp., y *Rhizoctonia solani*, comúnmente son identificados en plantas con síntomas de marchitez (Rico, 2004).

Una problemática de las enfermedades del suelo, es el alto uso de los productos químicos para su control, la ineficiencia de los pesticidas debido a la resistencia de los agentes fitopatógenos y sus costos elevados dado que cada vez se utilizan productos más específicos. La utilización de plaguicidas ha provocado serios problemas ecológicos; en efecto, es conocido que los plaguicidas saturan las tierras cultivables, se infiltran y contaminan los mantos acuíferos naturales modificando así los ecosistemas.

Actualmente, la agricultura orgánica, ha tenido auge por reducir el uso de los pesticidas que ocasionan un desbalance en la naturaleza y una contaminación grave al medio ambiente. La fabricación de productos orgánicos y biológicos lleva consigo un tiempo de estudio y pruebas para encontrar las soluciones en la naturaleza

misma. Actualmente existen en el mercado productos de esta naturaleza que incrementan las alternativas para combatir diversas plagas y enfermedades, por lo cual es necesario continuar el estudio de estos agentes de control para hacerlos más eficientes.

Este proyecto tiene la intención aportar nueva información que sea de utilidad en el estudio agronómico de la marchitez del chile, por lo cual se plantea los siguientes objetivos:

- Elaborar un producto biológico a base de *Trichoderma asperellum* en una presentación sólida (Micro-encapsulados), usando como medio solidificante al alginato.
- Estudiar la efectividad biológica de *Trichoderma asperellum* en su nueva presentación, mediante las pruebas de antagonismo contra los hongos del suelo, *Fusarium* sp., y *Rhizoctonia solani*, en plantas de chile (*Capsicum annuum*) en invernadero y/o cámara bioclimática.
- Estudiar el efecto promotor de crecimiento de *Trichoderma asperellum* en plantas de chile, en invernadero y/o cámara bioclimática.

Estos objetivos se plantean con las siguientes Hipótesis:

Ho: El producto en su nueva formulación (Microencapsulados) tiene una mejor eficiencia en control, sobre las enfermedades causadas por *Fusarium* sp., y *R. solani* y una mayor estimulación de crecimiento en las plantas.

Ha: Las diferentes presentaciones micro-encapsulados y líquido tienen la misma eficiencia en control y estimulación de crecimiento.

Palabras clave: Microencapsulados, *Trichoderma*, *Fusarium*, biocontrol, *Rhizoctonia solani*, antagonista.

## REVISIÓN DE LITERATURA

### El Cultivo del Chile

El chile (*Capsicum annuum* L.) es uno de los cultivos con mayor tradición en Mesoamérica, constituye un elemento básico dentro de la dieta de la población. Sin embargo, los rendimientos en México son bajos, debido en gran parte al ataque de agentes fitopatógenos, siendo *Phytophthora capsici* uno de los más importantes, junto con un complejo fúngico, en el que recurrentemente se aíslan *Rhizoctonia solani* y *Fusarium* spp., ocasionando pérdidas entre 60-100 % (Rico *et al.*, 2004). En plantas con esta enfermedad se ha reportado la presencia de hongos fitopatógenos como *Fusarium* spp. (67 %) y *Rhizoctonia solani* Kühn (42 %), mientras que el alga fitopatógena *Phytophthora capsici* Leonian a pesar de que tradicionalmente se le ha asociado como el principal causante de marchitez, se aísla en una proporción muy baja (2 %) (Rico, 2002). Sin embargo la incidencia de estos fitopatógenos puede variar de acuerdo al tiempo, a las zonas agrícolas, así como el desplazamiento por competencia entre ellos (Guillen, 2006).

Más allá de las buenas prácticas agronómicas y hortícolas, los productores suelen depender fuertemente de fertilizantes químicos y pesticidas. Dichos insumos para la agricultura han contribuido de manera significativa a las mejoras espectaculares en la productividad de los cultivos y la calidad en los últimos 100 años. Sin embargo, la contaminación ambiental causada por el uso excesivo y mal uso de agroquímicos, así como de alarmismo por parte de algunos opositores de los plaguicidas, ha provocado cambios considerables en las actitudes de la gente hacia el uso de pesticidas en la agricultura. Hoy en día, existen regulaciones estrictas sobre el uso de plaguicidas químicos, y no hay presión política para eliminar los productos químicos más peligrosos del mercado. En consecuencia, algunos investigadores han centrado sus esfuerzos en el desarrollo de insumos alternativos a los productos químicos sintéticos para controlar plagas y enfermedades. Entre otras alternativas se encuentra el control biológico (Krishna y McSpadden, 2006).

## Importancia Económica

En la actualidad el chile es la principal especia mundial y el consumo de chiles picosos es cada vez más generalizado en diferentes países. Para dar una idea de la magnitud que ha adquirido este cultivo, tan sólo de 1994 al 2008 se tuvo un incremento en su consumo de 41%. México es el país donde se tiene la mayor variabilidad de chiles, que aportan diferentes colores, aromas y sabores que satisfacen la demanda de productos para consumo fresco, deshidratados y proceso industrial (López, 2009).

México mantiene su liderazgo como exportador de chile, lo cual se sustenta en el hecho de que el año pasado, del total de la producción nacional, alrededor de 700 mil toneladas se destinaron al mercado exterior, con una generación de divisas por 720 millones de dólares. A este cultivo se dedican 12 mil productores, y en él se generan alrededor de 30 millones de jornales al año, pero todavía no es suficiente contar con ventajas comparativas, ya que actualmente se requiere desarrollar la competitividad necesaria para mantener y ganar espacios en los anaqueles y continuar en la preferencia de los consumidores, quienes son cada vez más exigentes (Ruiz, 2009).

Velázquez *et al.* (2007) en un estudio reportan, que el 88.4 % de los almácigos tradicionales de chile presentaron daños por secadera temprana (damping-off); el área dañada osciló de 1 a 15 %. Los hongos *Fusarium* spp., *Rhizoctonia* spp., y *Alternaria* spp., fueron identificados en la superficie de semilla de diversos tipos de chile, así como en plántulas enfermas del mismo cultivo. La semilla de chile es considerada como el principal vehículo de diseminación de hongos; el análisis de 45 muestras regionales de semilla criolla de diferentes tipos de chile llevado a cabo en el Campo Experimental Pabellón, reveló la presencia superficial de *Fusarium* spp., *Rhizoctonia* spp., y *Alternaria* spp.; además de que la presencia de nematodos fitoparásitos en los suelos de almácigos tradicionales de chile es un aspecto fitopatológico poco conocido en la región así como la evidencia documentada del daño que ocasionan estos organismos, a pesar de ello, Velásquez, *et al.* (2005) reportan los géneros *Aphelenchus* spp., *Aphelenchoides* spp., *Dorylaimus* spp. y

*Heterodera* spp., los cuales pueden incrementar la severidad de la pudrición de la raíz debido a sus hábitos alimenticios.

### **Agricultura Orgánica**

Durante las últimas décadas, el enfoque del control de enfermedades ha cambiado tomando importancia el concepto de manejo integrado. Este incluye medidas culturales tendientes a reducir el inóculo o evitar condiciones predisponentes para el desarrollo de la enfermedad, el uso de controladores biológicos y en último término el empleo de medidas de control físico y químico. Junto a lo anterior, durante los últimos años se ha incorporado a la producción agrícola el concepto de calidad e inocuidad alimentaria. Así entre otros, el término de Buenas Prácticas Agrícolas (BPA) como protocolo de producción, se ha difundido. Este consiste en un conjunto de principios, normas y recomendaciones técnicas que se aplican a lo largo de todo el proceso productivo y que no sólo se preocupan de la calidad de los productos, sino que también del cuidado del medio ambiente y del bienestar de los trabajadores agrícolas (Sandoval, 2004).

Una nueva forma de hacer agricultura, vinculada con la producción es mediante la agricultura orgánica ó ecológica. Esta agricultura ha adquirido gran importancia en las últimas décadas, ya que se basa en la producción de alimentos libres de residuos tóxicos que ponen en riesgo a la salud humana, así como a la mayor concientización que ahora se tiene de la necesidad de proteger al medio ambiente. Por ello, la producción orgánica se caracteriza no solo por la no utilización de productos de síntesis química en los sistemas agrícolas, sino por el empleo de insumos naturales y prácticas agroecológicas, (Vázquez, 2009).

En el mundo existen más de 80 productos de biocontrol de patógenos, los que han sido formulados a base de hongos tales como *Trichoderma* y *Gliocladium* o bacterias como *Pseudomonas* y *Bacillus* (Campbell y McDonald, 1989).

## Enfermedades del Suelo

Estudios del suelo demuestran que en la última década, los microorganismos patógenos del suelo que eran secundarios, hoy son considerados primarios porque afectan seriamente la producción y calidad del producto. Desde hace algunos años se ha dedicado esfuerzos para desarrollar componentes de Manejo Integrado con el fin de dar alternativas tecnológicas que permitan reducir el efecto de estos microorganismos (INIAP, 2011).

La producción de chile en México es seriamente afectada por diversos organismos causantes de enfermedades, que ocasionan cuantiosas pérdidas por que afectan los rendimientos y la calidad de la producción (Guigon y Gonzales, 2001). Como consecuencia, algunas regiones productoras importantes han disminuido la superficie de siembra o la producción se ha desplazado a nuevas áreas.

### **Fusarium oxysporum**

Es la especie del genero *Fusarium* más ampliamente distribuida y perjudicial a la agricultura. El jitomate, la papa, el chile, la cebolla, el tabaco, la col, el plátano, la sandía, el café, el clavel, el algodón son solo algunos de los numerosos cultivos susceptibles a este hongo (Romero, 1994).

### **Morfología**

Este hongo se caracteriza por producir tres tipos de esporas: las microconias, macroconidias y clamidiosporas, estas últimas tienen paredes muy gruesas la cual las hace muy resistentes a condiciones ambientales desfavorables y a la ausencia del hospedante. Distintas formas especiales de *Fusarium oxysporum* pueden sobrevivir en un estado de reposo en el suelo viables después de 40 años (Agrios, 2004).



## **Síntomas de la Enfermedad**

Las plantas enfermas muestran clorosis, achaparramiento, coloración café del xilema y lo más común marchitez, *F. oxysporum* es un excelente habitante del suelo, por lo que una vez establecido permanece ahí indefinidamente.

### **Rhizoctonia solani**

Como típico hongo del suelo sobrevive de distintas formas: como saprofito sobre restos orgánicos, como parásito en las raíces y otros órganos de plantas y en forma pasiva, como esclerocios. Es un habitante del suelo con capacidad patogénica tan extraordinaria que se encuentra en plantas de todo tipo: malezas, ornamentales, arboles forestales y casi cualquier cultivo hortícola.

## **Morfología**

Este hongo posee hifas septadas, multinucleadas, ramificadas aproximadamente en ángulo recto y una septa cerca de la unión, uniformemente distribuido sobre la superficie del sustrato y algunas veces agregado en cordones miceliales productores de esclerocios.

## **Síntomas de la Enfermedad**

Las plantas pueden ser muertas por *Rhizoctonia* antes de emerger del suelo (ahogamiento preemergente) debido a la destrucción del meristemo apical. Si las plántulas logran emerger, entonces el ataque es a la base del tallo, donde tiene lugar una pudrición húmeda que provoca que las plántulas caigan y mueran; la lesión siempre es hundida y muestra varios tonos de color, café o más comúnmente café rojizo (ahogamiento postemergente).

La canchrosis del tallo y pudrición de la raíz se presentan en plantas adultas, se forman lesiones hundidas, justamente debajo de la superficie del suelo, de color café rojizo, que si las condiciones del suelo y clima son favorables, llegan abarcar toda la base del tallo y las raíces. Como resultado, las plantas experimentan un debilitamiento general, amarillamiento del follaje y algunas veces hasta la muerte. Los cultivos que con mayor frecuencia sufren canchrosis del tallo y la muerte de la raíz son el frijol, la soya, el chícharo, el chile, la espinaca, el camote y el tomate (Romero, 1994).

### **Manejo de la Enfermedad**

Las enfermedades de las plantas deben ser controladas para mantener la calidad y abundancia de los alimentos, fibras y todos los derivados producida por los agricultores de todo el mundo (Krishna y McSpadden, 2006).

El control de la marchitez se ha intentado mediante diversas alternativas culturales, genéticas, químicas y más recientemente empleando agentes biológicos (Sid *et al.*, 2000). Se han intentado estrategias de prácticas culturales como inundación y solarización consiguiendo un buen éxito (Apodaca *et al.*, 2002).

### **Variedades Resistentes**

Los estudios han sido orientados hacia la obtención de genotipos de los chiles más comunes, con mayor potencial de rendimiento, pero solo de manera muy tangencial se ha tratado de obtener variedades resistentes a la enfermedad, tal y como se refleja en los resultados de una evaluación de líneas avanzadas de chile Ancho y Mirasol llevada a cabo en Aguascalientes, y donde el área bajo la curva de desarrollo de enfermedades como pudrición de raíz es similar entre los materiales mejorados y sus testigos (Velásquez *et al.*, 2003).

## **Control Químico**

El manejo de la enfermedad a través de medios químicos ha proporcionado resultados poco consistentes (Rincón y Velásquez, 1999). Actualmente, la tendencia entre los productores de Chile se orienta hacia la aplicación de fumigantes mediante el riego por goteo en condiciones de acolchado previo al trasplante, como una medida destinada a abatir la población de patógenos en el suelo, y de esta manera evitar o reducir el daño por esta enfermedad.

El principal control de estos fitopatógenos se realiza con la aplicación de agroquímicos entre ellos, etridiazol, fosetil de aluminio (Pérez *et al.*, 2004), tiabendazol y benomil entre otros. Estos productos solo abaten temporalmente la población, ya sea porque muchas esporas son capaces de evadir la acción fúngica, o porque los mismos fungicidas pueden actuar como agentes mutagénicos que dan como resultado varias esporas resistentes (Romero, 1994).

## **Control Biológico**

Se presenta como una alternativa eficaz, económica y libre de riesgos frente a los numerosos y crecientes problemas derivados del uso indiscriminado de agroquímicos. En el control biológico de enfermedades se utilizan microorganismos antagonistas en el sitio de infección (Agrios, 2004), antes o después de que se presenten los fitopatógenos. Se busca además del control, lograr la seguridad alimentaria al ingerir alimentos libres de tóxicos y llevar una vida sana. Para esto, es necesario conocer a los organismos benéficos, aprender de sus hábitos e identificar la función que tienen para regular las poblaciones dañinas y reducir así el uso de plaguicidas (Michel *et al.*, 2009).

El Biocontrol de hongos fitopatógenos y la biofertilización empleando *Trichoderma* es un método utilizado en diversos cultivos en diferentes partes del mundo, sin embargo, el uso de cepas comerciales presentan dificultades con su persistencia en el suelo, debido a factores como la genética de los aislamientos, las

condiciones del medio ambiente y otros propios de las especies fitopatógenas (González *et al.*, 1999).

### **Cualidades del Antagonista *Trichoderma***

Los factores clave que contribuyen al efecto antagónico de estos organismos son su rápido crecimiento, la producción de metabolitos antimicrobianos y sus características fisiológicas. Por otra parte, los modos de acción más reportados, comúnmente, para *Trichoderma* spp., son: Micoparasitismo, competencia por nutrientes y espacio, antibiosis por medio de enzimas o la producción de metabolitos secundarios, e inducción de los sistemas de defensa en la planta (Howell, 2003; Harman, 2006).

La aplicación de *Trichoderma*, en forma directa al suelo ofrece incluso una protección mayor a los cultivos. Cuando *Trichoderma* es utilizado para el control de hongos del suelo, puede mezclarse con materia orgánica (estiércol) u otras enmiendas utilizadas como biofertilizantes, tal como se hace con inoculantes bacterianos usados como fertilizantes ecológicos (Minchala, 2007), aumentando así la flora microbiana benéfica.

### **Micoparasitismo**

El Micoparasitismo es el fenómeno por el cual un hongo coloniza a otro, cubriendo una gran cantidad de eventos en este tipo de interacción (Minchala y Moreira, 2007). *Trichoderma* excreta muchos metabolitos dentro de ellos enzimas (celulasas, glucanasas, lipasas, proteasas y quitinasas) que participan en la lisis de la pared celular de las hifas del hospedante, facilitando la inserción de estructuras especializadas y de hifas del antagonista, que absorben nutrientes del interior del hongo fitopatógeno (Eveleigh *et al.*, 1986 citado por Infante *et al.*, 2009).

## **Competencia**

La competencia constituye un mecanismo de antagonismo muy importante. Se define como el comportamiento desigual de dos o más organismos ante un mismo requerimiento (sustrato, nutrientes), siempre y cuando la utilización de este por uno de los organismos reduzca la cantidad o espacio disponible para los demás (Ahmad y Baker 1987; Infante *et al.*, 2009).

Hjeljord y Tronsmo (1998) citado por Pérez (2004), comentan que *Trichoderma* está biológicamente adaptado para una colonización agresiva de los sustratos y en condiciones adversas para sobrevivir, fundamentalmente, en forma de clamidosporas. La alta velocidad de crecimiento, abundante esporulación y la amplia gama de sustratos sobre los que puede crecer, debido a la riqueza de enzimas que posee, hacen que sea muy eficiente como saprófito y aún más como agente de control biológico .

## **Antibiosis**

Muchas cepas de *Trichoderma* producen metabolitos secundarios volátiles y no volátiles, algunos de los cuales inhiben el desarrollo de otros microorganismos con los que no hacen contacto físico. Tales sustancias inhibidoras son consideradas "antibióticos" (Hjeljord y Tronsmo, 1998).

La antibiosis es la acción directa de antibióticos o metabolitos tóxicos producidos por un microorganismo sobre otro sensible a estos. Algunos autores opinan que la antibiosis no debe ser el principal mecanismo de acción de un antagonista, ya que existe el riesgo de aparición de cepas del patógeno resistentes al antibiótico (Vero y Mondino, 1999 citado por Infante *et al.*, 2009).

Los antibióticos volátiles tienen un efecto esencialmente fungistático, debilitando al patógeno y lo hacen más sensible a los antibióticos no volátiles, lo que se conoce como un "hiperparasitismo" de origen enzimático (Martínez *et al.*, 1994).

## **Inducción de Crecimiento y Resistencia**

Se ha comprobado que el género *Trichoderma* produce sustancias estimuladoras del crecimiento y desarrollo de las plantas. Estas sustancias actúan como catalizadores o aceleradores de los tejidos meristemáticos primarios ( los que tienen potencial de formar nuevas raíces) en las partes jóvenes de éstas, acelerando su reproducción celular, logrando que las plantas alcancen un desarrollo más rápido que aquellas plantas que no hayan sido tratadas con dicho microorganismos.

Además se conoce que *Trichoderma* presenta otros mecanismos, cuya acción biorreguladora es de forma indirecta. Entre estos se pueden mencionar los que elicitán o inducen mecanismos de defensa fisiológicos y bioquímicos como es la activación en la planta de compuestos relacionados con la resistencia (Inducción de Resistencia) (Harman, 2004), con la detoxificación de toxinas excretadas por patógenos y la desactivación de enzimas de estos durante el proceso de infección; la solubilización de elementos nutritivos, que en su forma original no son asimilables para las plantas, tienen la capacidad además, de crear un ambiente favorable al desarrollo radical lo que aumenta la tolerancia de la planta al estrés (Harman, 2003).

### **Estudios de *Trichoderma***

En trabajos realizados *in vitro* *Trichoderma* tiene una buena actividad inhibitoria tal como lo demuestra Hernández *et al.*, (2009) en un estudio con compuestos volátiles con cuatro cepas de *Trichoderma* que inhiben el crecimiento micelial de *Rhizoctonia solani* en un 50 % y concluye que el uso del antagonista es útil para el manejo de este patógeno resistente a fungicidas.

En un estudio hidropónico con plantas tratadas de tomate con un producto a base de *Trichoderma*, demuestra un sistema radicular y formación foliar mayores a las plantas no tratadas al momento del trasplante, logrando así un mayor número de frutos por planta, concluyendo que *Trichoderma* nos proporciona una herramienta

para mejorar la cosecha del cultivo tanto en calidad como en cantidad (Galeano *et al.*, 2008).

### **Los Microencapsulados**

Durante la década pasada se ha impulsado en la agricultura el uso de polímeros naturales como agentes inoculantes de bacterias promotoras de crecimiento. La micro-encapsulación con biopolímeros protege a los microorganismos de diferentes factores ambientales como el estrés y permite a la célula continuar con su desarrollo y metabolismo; estos microorganismos son liberados gradualmente cuando el biopolímero es degradado por la humedad y el pH del suelo (Yabur *et al.*, 2006, citado por Hernández, 2008). El alginato es el término genérico usado para nombrar las sales y derivados del ácido algínico. Este biopolímero se presenta como una mezcla de sales insolubles de calcio, sodio, potasio y magnesio que se encuentra en las algas caféas (Phaeophyceae) (Arvizu *et al.*, 2001). Por lo anteriormente señalado, la microencapsulación de microorganismos ha demostrado su efectividad en el control de fitopatógenos de algunos cultivos; representan una alternativa viable para ser evaluados como control biológico para reducir la utilización de productos químicos y disminuir la incidencia y severidad de las enfermedades (Hernández, 2008). Sin embargo es necesario continuar con el estudio de los agentes de bio-control de enfermedades en invernadero, para asegurar su éxito en campo, ya que son microorganismos cuya actividad y eficiencia de control de los patógenos están sujetas a las condiciones físicas, químicas y biológicas del suelo (Aquino, 2008).

Además, en el desarrollo de las técnicas de encapsulación, existe mucha demanda para el control y liberación de ingredientes en alimentos, fármacos y microorganismos; por ello deben desarrollarse nuevas aplicaciones permitiendo que los avances en el estudio de la encapsulación continúen (Yáñez *et al.*, 2002).

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Ubicación del Experimento**

El proceso de microencapsulación de *Trichoderma asperellum* se desarrolló en el Centro de Microbiología Aplicada (CEMAP) de la empresa Green Corp Biorganiks de México S.A. de C.V; el establecimiento del experimento se realizó en la cámara bioclimática del Departamento de Parasitología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, ubicada en Buenavista a 7 Km al sur de la Ciudad de Saltillo, Coahuila.

### **Obtención de los Fitopatógenos**

#### **Rhizoctonia solani**

El hongo fitopatógeno utilizado para este ensayo fue obtenido de la colección micológica del laboratorio de Fitopatología del Departamento de Parasitología e incrementado en cajas Petri de 8 cm de diámetro en medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA) e incubado a  $25 \pm 1$  °C durante 15 días.

#### **Incremento de *Rhizoctonia solani* en granos de trigo**

Este procedimiento se realizó con la finalidad de contar con material biológico para la inoculación de las plantas. Se hidrataron 200 g de granos de trigo por 24 h, en un matraz de 1 L de capacidad con agua destilada en un volumen que sobrepasa ligeramente el nivel de los granos de trigo, enseguida se realizó un triple lavado y se esterilizó a 125 °C por 1 h, se dejaron enfriar los granos de trigo, se le agregó 30 ml de caldo nutritivo estéril y se colocaron cinco discos de micelio con medio PDA de 0.5 mm de *R. solani* y se incubó por 72 h a  $25 \pm 1$  °C.

#### **Fusarium oxysporum**

Se colectaron plantas de chile con síntomas de marchitez dentro de un invernadero de la UAAAN, se cortaron secciones de tejido sano y enfermo del tallo y cuello de la raíz de aproximadamente 0.5 cm<sup>2</sup>, se desinfectaron por inmersión en una solución de hipoclorito de sodio al 1.5%, y se enjuagaron por dos ocasiones con



agua destilada estéril, posteriormente los cortes dejaron secar en papel secante en una cámara de aire de flujo laminar y se colocaron en cajas petri con medio PDA, incubándolas a  $25 \pm 1$  °C. A los cinco días se observó el crecimiento micelial del cual se realizó una nueva transferencia en PDA para la obtención de cultivos monospóricos, de estos se seleccionaron cinco cepas para su identificación morfológica caracterizándolos a nivel de género y especie mediante las claves de Nelson *et al.* (1983), como *Fusarium oxysporum*.

### **Procedimiento de Micro-encapsulación**

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

Las cepas de *Trichoderma asperellum* que se emplearon en el presente trabajo fueron proporcionadas, aisladas y caracterizadas a nivel de especie por el CEMAP; éstas han demostrado una eficiente actividad antagonista contra fitopatógenos como *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum*, *Phytophthora* spp., entre otros (Hernández *et al.*, 2008 a, b). Dichas cepas son conservadas en tubos de ensayo con PDA inclinado y mantenidos en refrigeración a 4°C para su uso continuo en laboratorio.

Para la formulación de microencapsulados, se utilizó una concentración de  $1 \times 10^8$  esporas/ml de *T. asperellum* y aproximadamente se tomaron 20 ml de la suspensión de esporas y se mezcló con 80 ml de alginato de sodio al 2% previamente esterilizado, dejando en agitación por 15 min, se vació al contenedor del microencapsulador y se inició la aspersión sobre una charola conteniendo  $\text{CaCl}_2$  al 2%. Al hacer contacto la mezcla, alginato y *Trichoderma*, con el  $\text{CaCl}_2$  instantáneamente se formaron las microcápsulas.

A continuación las Microcápsulas en la solución de  $\text{CaCl}_2$  se vaciaron en un matraz estéril manteniéndose en agitación por una hora; después se separaron los

microencapsulados de la solución utilizando papel filtro, se lavaron con solución salina al 0.85% para eliminar totalmente la solución de  $\text{CaCl}_2$ , y se retiró la solución salina. Después se colocaron los microencapsulados en cajas Petri con papel filtro estéril y se secaron a  $40^\circ\text{C}$  por 72 h. Los microencapsulados se colocaron en frascos hasta su uso.

### **Obtención de la Suspensión Líquida de *Trichoderma asperellum***

La suspensión líquida de *T. asperellum* se obtuvo por lavado de la esporulación obtenida en frascos rectangulares de 1 L de capacidad con medio PDA. La suspensión obtenida fue filtrada a través de gasa doble y ajustada la concentración a  $1 \times 10^8$  esporas/ml.

### **Lavado de Semilla**

Este procedimiento se llevó a cabo con la finalidad de eliminar el tratamiento químico que pudiese inhibir el desarrollo de *T. asperellum*, efectuándose de la siguiente manera:

- 1.- Las semillas se lavaron con 100 ml de agua corriente en un matraz erlenmeyer con un agitador magnético durante 10 min.
- 2.- Se decantó el agua y se adicionaron 5 ml de Tween 20 al 2% en 100 ml de agua, manteniéndolo en agitación constante durante 10 min.
- 3.- Se decantó el Tween 20 y se le adicionó una solución de Hipoclorito de Sodio ( $\text{NaClO}_3$ ) al 3% manteniéndolo en agitación por 5 min.
- 4.- Se adicionó una solución de 100 ml de Tiosulfato de Sodio Pentahidratado al 2% para neutralizar el efecto de cloro manteniéndolas en agitación constante durante 5 min.
- 5.- Se decantó el Tiosulfato de Sodio Pentahidratado al 2% y se lavaron las semillas durante cinco veces con agua destilada esteril.

## Producción de Plántula

Para la siembra se utilizaron semillas de Chile jalapeño Var. Magnum 45, en charolas de poliestireno de 200 cavidades con sustrato Peat moss, colocando dos semillas por cavidad. Las charolas se colocaron en una cámara bioclimática a  $26\pm 2$  °C y fueron regadas cada tercer día.

## Trasplante de Plántula

El trasplante se realizó con plántulas de 30 días después de la siembra, estas se colocaron en bolsas de polietileno de 0.5 Kg utilizando como sustrato Peat moss. Al momento del trasplante se realizaron todas las inoculaciones de los diferentes tratamientos en donde se cortó el cepellón de la plántula con tijera para generar heridas y facilitar los síntomas de las enfermedades.

## Diseño Experimental

Los experimentos se evaluaron bajo un diseño en bloques al azar con seis tratamientos y seis repeticiones para un total de 36 unidades experimentales. A continuación se describen los experimentos y tratamientos.

Experimento I: Microencapsulado de *Trichoderma asperellum* y su efecto como antagonista sobre *Fusarium oxysporum* y el desarrollo en plantas de Chile.

T1.- Micro-encapsulados de *T. asperellum*.

T2.- Micro-encapsulados de *T. asperellum* + *F. oxysporum*.

T3.- Suspensión Líquida de *T. asperellum* + *F. oxysporum*.

T4.- Suspensión Líquida de *T. asperellum*.

T5. - *F. oxysporum*.

T6. - Testigo.

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

**T1.-** Se colocaron 8 Micro-capsulas de *T. asperellum* en el fondo de la cavidad para posteriormente colocar los cepellones de las plántulas.

**T2.-** Se pusieron 8 micro-capsulas de *T. asperellum* en el fondo de la cavidad y enseguida los cepellones con plantas previamente inoculados por inmersión en una suspensión de esporas de *F. oxysporum* con una concentración de  $1.3 \times 10^8$  esporas/ml, durante 3 min.

**T3.-** Se uso la dosis de 1ml de la suspensión líquida de *T. asperellum*, en 1 L de agua, donde sumergimos los cepellones durante 3 min.

**T4.-** Se uso la dosis de 1ml de la suspensión líquida de *T. asperellum*, en 1 L de agua, y con la ayuda de un atomizador se asperjó (15 ml) en el fondo de la cavidad y enseguida se trasplantaron los cepellones previamente inoculados por inmersión en una suspensión de esporas de *F. oxysporum* a una concentración de  $1.3 \times 10^8$  esporas/ml, durante 3 min.

**T5.-** Se sumergieron durante 3 min los cepellones con plantas dentro de la suspensión de esporas de *F. oxysporum* a una concentración de  $1.3 \times 10^8$  esporas/ml, para enseguida trasplantarlas en las bolsas.

**T6.-** Las plantas solo se trasplantaron a las bolsas de plástico con Peat moss.

Con la ayuda de una pipeta se realizó una segunda inoculación de *F. oxysporum* a los 25 DDT (días después del transplante) a una concentración de  $1.2 \times 10^6$  esporas/ml, a una dosis de 1ml por planta, colocando la suspensión de esporas al cuello de las plantas.

Experimento II: Microencapsulado de *Trichoderma asperellum* y su efecto como antagonista sobre *Rhizoctonia solani* y del desarrollo en plantas de Chile.

T1.-Microencapsulados de *T. asperellum*

T2.-Microencapsulados de *T. asperellum* + *R. solani*.

T3.-Suspensión Líquida de *T. asperellum* + *R. solani*.

T4.-Suspensión Líquida de *T. asperellum*

T5.-*R. solani*

T6.-Testigo

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

**T1.-** Se colocaron 8 Micro-capsulas de *T. asperellum* en el fondo de la cavidad para posteriormente colocar los cepellones de las plántulas.

**T2.-** Se pusieron 8 Microcapsulas de *T. asperellum* y 9 granos de trigo inoculados con *R. solani* en el fondo de la cavidad.

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

**T4.-** Se uso la dosis de 1ml de la suspensión de esporas de *T. asperellum*, en 1 L de agua, y se sumergieron los cepellones durante 3 min, posteriormente, en el fondo de las cavidades de las bolsas se colocaron 9 granos de trigo inoculadas previamente con *R. solani*.

**T5.-** Se colocaron 9 granos de trigo previamente inoculadas con *R. solani* en el fondo de la cavidad antes del trasplante.

**T6.-** Las plantas solo se trasplantaron a las bolsas de plástico con Peat moss.

### **Análisis Estadístico**

A los 45 DDT se midieron las variables de altura, longitud de raíz, peso fresco y peso seco de las plantas. Los datos obtenidos se sometieron a un análisis de varianza con un diseño completamente al azar, utilizando el programa estadístico SAS versión 8.0, la comparación de medias con la prueba de Tukey al 0.05 % de significancia.

# RESULTADOS Y DISCUSIÓN

## Experimento I

Microencapsulado de *Trichoderma asperellum* y su efecto como antagonista sobre *Fusarium oxysporum* y el desarrollo en plantas de Chile.

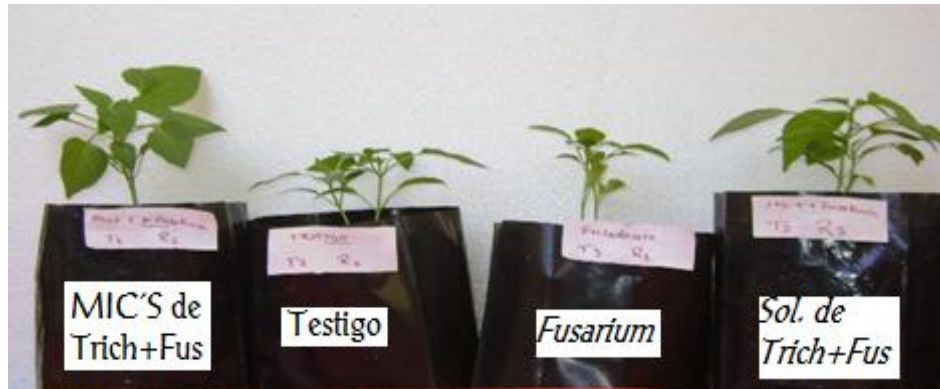
### Altura de Planta

La altura de planta varió de 7.85 cm, en plantas inoculadas con *Fusarium*, a 10.9 cm en plantas tratadas con MIC's de *Trichoderma*. El análisis de varianza detectó diferencias significativas entre los tratamientos. La prueba de Tukey indica que los MIC's de *Trichoderma*, MIC's de *Trichoderma*+ *Fusarium* y la solución de *Trichoderma* son los mejores tratamientos ya que son, estadísticamente, superiores al tratamiento inoculado con *Fusarium* (Cuadro 1). También se observa un incremento en altura de planta con los MIC's en comparación con la solución de esporas, el empleo de MIC's inoculado con *Fusarium* tiene una altura de 27.6 % superior a la obtenida con el tratamiento de *Fusarium* (Figura 1).

**Cuadro 1.** Altura expresada en cm de plantas de Chile evaluadas a los 45 días después del trasplante con diferentes tratamientos a base de *Trichoderma*.

Tratamientos	Media en cm <sup>1</sup>	
MIC's- <i>Trichoderma</i>	10.90	A
MIC's- <i>Trichoderma</i> + <i>Fusarium</i>	10.02	AB
SOL- <i>Trichoderma</i>	9.67	AB
SOL- <i>Trichoderma</i> + <i>Fusarium</i>	9.13	BC
Testigo	8.53	BC
<i>Fusarium</i>	7.85	C

1. Medias con diferente letra son estadísticamente diferentes entre sí (Tukey  $p=0.05$ ).



**Figura 1.** Plantas de chile tratadas con microcápsulas y solución de *Trichoderma* e inoculadas con *Fusarium*.

### Longitud de Raíz

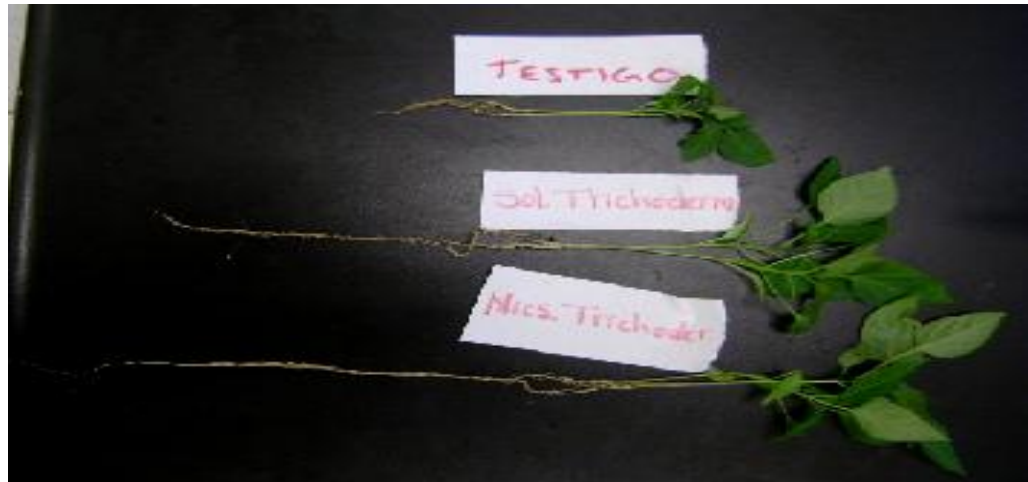
La longitud de raíz oscila desde 5.10 cm en el tratamiento con *Fusarium*, a 19.32 cm con el tratamiento microcápsulas de *Trichoderma*. El análisis de varianza detectó diferencias significativas entre los tratamientos. La prueba de Tukey indica que los MIC's y la solución de *Trichoderma* presentan una longitud de raíz que estadísticamente son similares entre si y diferentes al testigo inoculado y sin inocular con *Fusarium* (Cuadro 2). Es importante señalar que el tratamiento con los MIC's tienen 25.2 % de incremento en la longitud de raíz que la solución de *Trichoderma* (Figura 2). Numéricamente podemos indicar que los MIC's inducen un mejor desarrollo radicular de las plantas hasta en un 174 y 278.8 % con respecto al testigo sin y con inóculo respectivamente.

**Cuadro 2.** Longitud de raíz expresada en cm, de plantas de chile evaluadas a los 45 días después del trasplante con diferentes tratamientos a base de *Trichoderma*.

<b>Tratamiento</b>	<b>Media en cm <sup>1</sup></b>	
MIC's- <i>Trichoderma</i>	19.32	A
SOL- <i>Trichoderma</i>	15.42	AB
MIC'S- <i>Trichoderma</i> + <i>Fusarium</i>	12.75	BC
SOL- <i>Trichoderma</i> + <i>Fusarium</i>	11.08	BC
Testigo	7.05	DC
<i>Fusarium</i>	5.10	D

1. Medias con diferente letra son estadísticamente diferentes entre sí (Tukey  $p=0.05$ ).





**Figura 2.** Plantas de chile evaluadas a los 45 días después del trasplante, tratadas con microcápsulas y solución de *Trichoderma*

### Peso Fresco

Los resultados obtenidos indican que el peso fresco de las plantas variaron de 0.74 g en el testigo absoluto, a 2.23 g utilizando los microencapsulados. El análisis de varianza detecto diferencias significativas entre tratamientos. La prueba de Tukey indica que en primera y segunda instancia se encuentran los MIC's, MIC's de *Trichoderma* +*Fusarium* y a la solución de esporas de *Trichoderma* (Cuadro 3), ya que son estadísticamente superiores al testigo. Numéricamente podemos observar un incremento de 162.3 y 201.3 % en desarrollo foliar con los MIC's en comparación al testigo con y sin inóculo de *Fusarium* respectivamente.

**Cuadro 3.** Peso fresco expresado en g, de plantas de chile evaluadas a los 45 días después del trasplante con diferentes tratamientos a base de *Trichoderma*.

Tratamiento	Media en g	<sup>1</sup>
MIC's- <i>Trichoderma</i>	2.23	A
MIC's- <i>Trichoderma</i> + <i>Fusarium</i>	2.12	AB
SOL- <i>Trichoderma</i>	2.08	AB
SOL- <i>Trichoderma</i> + <i>Fusarium</i>	1.62	B
<i>Fusarium</i>	0.85	C
Testigo	0.74	C

1. Medias con diferente letra son estadísticamente diferentes entre sí (Tukey  $p=0.05$ ).

### **Peso Seco**

El peso seco varió de 0.07 g con el testigo absoluto, a 0.18 g con las Microcapsulas, siendo este el mejor tratamiento junto con los MIC's *Trichoderma*+*Fusarium*, los que son estadísticamente similares entre sí (Tukey 0.05), y superiores al testigo con y sin inóculo de *Fusarium* (Cuadro 4). Lo anterior demuestra la estimulación de crecimiento, que da como resultado una mayor cantidad de biomasa. Numéricamente los MIC's con y sin inóculo de *Fusarium* son superiores en un 142.8 y 157.1 % en comparación con el testigo absoluto, respectivamente.

**Cuadro 4.** Peso seco expresada en g, de plantas de Chile evaluadas a los 45 días después del trasplante con diferentes tratamientos a base de *Trichoderma*.

<b>Tratamiento</b>	<b>Media en g<sup>1</sup></b>	
MIC's- <i>Trichoderma</i>	0.18	A
MIC's- <i>Trichoderma</i> + <i>Fusarium</i>	0.17	A
SOL- <i>Trichoderma</i>	0.16	AB
SOL- <i>Trichoderma</i> + <i>Fusarium</i>	0.12	BC
<i>Fusarium</i>	0.08	CD
Testigo	0.07	D

1. Medias con diferente letra son estadísticamente diferentes entre sí (Tukey  $p=0.05$ ).

### **Experimento II**

Microencapsulado de *Trichoderma asperellum* y su efecto como antagonista sobre *Rhizoctonia solani* y del desarrollo en plantas de Chile.

### **Altura de Planta**

La altura de planta varió de 8.5 cm, con el testigo absoluto, hasta 10.87 cm con los MIC's de *Trichoderma*. El análisis de varianza detectó diferencias significativas entre los tratamientos. La prueba de Tukey indica que los MIC's de *Trichoderma*, MIC's de *Trichoderma*+*Rhizoctonia* y la solución de *Trichoderma* son

los mejores tratamientos ya que son estadísticamente, superiores al testigo inoculado y sin inocular (Cuadro 5). También se observa un incremento del 11.1 % en los MIC's en comparación con la solución de esporas, y de un 27.8 % en comparación con el testigo (Figura 3).

**Cuadro 5.** Altura expresada en cm, de plantas de chile evaluadas a los 45 días después del trasplante con diferentes tratamientos a base de *Trichoderma*.

Tratamiento	Media en cm <sup>1</sup>	
MIC- <i>Trichoderma</i>	10.87	A
MIC- <i>Trichoderma</i> + <i>Rhizoctonia</i>	9.78	AB
SOL- <i>Trichoderma</i>	9.65	AB
SOL- <i>Trichoderma</i> + <i>Rhizoctonia</i>	9.50	AB
<i>Rhizoctonia solani</i>	8.58	B
Testigo	8.50	B

1. Medias con diferente letra son estadísticamente diferentes entre sí (Tukey  $p=0.05$ ).



**Figura 3.** Plantas de chile tratadas con microcápsulas y solución de *Trichoderma* e inoculadas con *Rhizoctonia solani*.

### Longitud de Raíz

En lo que corresponde a esta variable, los datos oscilan desde 4.9 cm en el tratamiento inoculado con *Rhizoctonia*, a 19.32 cm con el tratamiento de microcápsulas de *Trichoderma*. El análisis de varianza detectó diferencias significativas entre los tratamientos. La prueba de Tukey indica que los MIC's de *Trichoderma*, solución de *Trichoderma* y los MIC's de *Trichoderma*+ *Rhizoctonia* inducen una longitud de raíz estadísticamente superior al testigo inoculado y sin inocular (Cuadro 6). De esta forma los MIC's ejercen un mayor desarrollo radicular; numéricamente promueven un incremento del 27 % comparando los MIC's de *Trichoderma*+*R. solani* con el testigo inoculado (Figura 4).

**Cuadro 6.** Longitud de raíz expresada en cm, de plantas de chile evaluadas a los 45 días después del trasplante con diferentes tratamientos a base de *Trichoderma*.

Tratamiento	Media en cm <sup>1</sup>	
MIC- <i>Trichoderma</i>	19.32	A
SOL- <i>Trichoderma</i>	15.42	AB
MIC- <i>Trichoderma</i> + <i>Rhizoctonia</i>	14.75	AB
SOL- <i>Trichoderma</i> + <i>Rhizoctonia</i>	10.58	BC
Testigo	7.05	CD
<i>Rhizoctonia solani</i>	4.90	D

1. Medias con diferente letra son estadísticamente diferentes entre sí (Tukey  $p=0.05$ ).



**Figura 4.** Plantas de chile evaluadas a los 45 días después del trasplante, inoculadas con *Rhizoctonia solani*, tratadas con microcápsulas y solución de *Trichoderma*.

### **Peso Fresco**

El peso fresco de las plantas vario de 0.25 g con el tratamiento inoculado con *Rhizoctonia*, a 2.23 g utilizando los microencapsulados. El análisis de varianza detecto diferencias significativas entre tratamientos. La prueba de Tukey indica que el resultado obtenido con los MIC's, la solución de esporas de *Trichoderma* y los MIC's de *Trichoderma+Rhizoctonia* (Cuadro 7), son estadísticamente superiores al testigo. Numéricamente podemos indicar un mejor desarrollo foliar con los MIC's que va de 652 hasta un 792 % en comparación con el testigo inoculado con *Rhizoctonia*.

**Cuadro 7.** Peso fresco expresado en g, de plantas de chile evaluadas a los 45 días después del trasplante con diferentes tratamientos a base de *Trichoderma*.

<b>Tratamiento</b>	<b>Media en gr <sup>1</sup></b>	
MIC- <i>Trichoderma</i>	2.23	A
SOL- <i>Trichoderma</i>	2.08	A
MIC- <i>Trichoderma+Rhizoctonia</i>	1.88	AB
SOL- <i>Trichoderma+Rhizoctonia</i>	1.52	B
Testigo	0.74	C
<i>Rhizoctonia solani</i> .	0.25	C

1. Medias con diferente letra son estadísticamente diferentes entre sí (Tukey  $p=0.05$ ).

### **Peso Seco**

De la misma forma que las variables anteriores el peso seco varió de 0.025 g con el testigo absoluto, a 0.18 g con los microencapsulados, siendo este el mejor tratamiento junto con la solución *Trichoderma*, ubicados en un mismo grupo en la prueba de Tukey (Cuadro 8). Los resultados obtenidos demuestran la estimulación de crecimiento provocada por los MIC's de *Trichoderma*, lo que dá como resultado una mayor cantidad de biomasa. Numéricamente los MIC's son superiores en el peso seco de las plantas en un 157.7 y hasta un 628 % en comparación con el testigo absoluto y el inoculado con *Rhizoctonia*, respectivamente.

**Cuadro 8.** Peso seco expresada en g, de plantas de chile evaluadas a los 45 días después del trasplante con diferentes tratamientos a base de *Trichoderma*.

Tratamiento	Media en gr <sup>1</sup>	
MIC- <i>Trichoderma</i>	0.182	A
SOL- <i>Trichoderma</i>	0.163	A
MIC- <i>Trichoderma</i> + <i>Rhizoctonia</i>	0.152	AB
SOL- <i>Trichoderma</i> + <i>Rhizoctonia</i>	0.126	B
Testigo	0.072	C
<i>Rhizoctonia solani</i>	0.025	D

1. Medias con diferente letra son estadísticamente diferentes entre sí (Tukey  $p=0.05$ ).

Los resultados obtenidos con las plantas de chile evaluadas a los 45 días después del trasplante e inoculadas con microcápsulas de *Trichoderma* mostraron un incremento superior al testigo absoluto, resultados similares encontró Fernández *et al.* (2007) utilizando un producto comercial a base de *Trichoderma* en plantas de tomate, donde las plantas inoculadas resultaron con mayor incremento que las no tratadas. En otro estudio con plantas de maíz infectadas con *Rhizoctonia solani* e inoculadas con *Trichoderma harzianum*, se reporta que algunos de los tratamientos donde se aplicó *Trichoderma* propician un mayor crecimiento de la planta y mayor desarrollo radical (Pineda *et al.*, 2008). El efecto positivo de la aplicación de microcápsulas se verá reflejado en la cosecha, plantas sanas y con mayor desarrollo vegetativo se esperará una buena producción. Galeano *et al.* (2008), reportan, en plantas de tomate tratadas con un producto comercial a base de *Trichoderma* un mejor desarrollo radicular y foliar de las plantas, y al final estas plantas siempre proporcionaron un mayor número de frutos y una mayor producción.

En un trabajo de microencapsulados de *Bacillus* y *Trichoderma* con semillas de cebolla realizado por Fernández (2008), el comprueba la viabilidad de los microorganismos y de la semilla en el proceso de microencapsulación y concluye que

existe un efecto de promoción de crecimiento en el cultivo por parte de los microorganismos. La aplicación de microcápsulas tiene como resultado una liberación controlada, a través de la degradación del polímero por los microorganismos, humedad y pH del suelo (Yabur *et al.*, 2006, citado por Hernández, 2008), pero también proporciona una mayor vida de anaquel en comparación con las presentaciones líquidas, tal como lo reporta Gómez *et al.* (2008), comparando presentaciones sólidas, como polvo mojable y gránulos dispersables, en donde almacenando estos productos a 18 °C, duraron viables 18 y cinco meses respectivamente, mientras que los conidios sin formular mantuvieron su germinación aceptable hasta los tres meses, en las mismas condiciones. Los resultados de los diferentes experimentos con *Trichoderma*, proporciona una herramienta para mejorar la cosecha del cultivo tanto en calidad como en cantidad (Galeano *et al.*, 2008).

Las plantas de Chile evaluadas no presentaron marchitez con la presencia de los fitopatógenos por lo que se asume que no causaron infección o daño en la planta, de aquí que se optó por medir el efecto promotor de los materiales más que la presencia de la enfermedad.

## CONCLUSIONES

Bajo las condiciones experimentales en que se desarrollo la presente investigación podemos concluir lo siguiente.

1. El desarrollo de la planta no fue afectado por los hongos *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia solani*, ya que la evaluación se llevo a cabo a los 45 días, es probable que la falta de tiempo no dejó manifestarse los síntomas de la enfermedad.
2. Los microencapsulados y soluciones de *T. asperellum* tienden a estimular el desarrollo de las plantas, observándose incrementos en altura, longitud de raíz, peso fresco y peso seco.
3. La formulación de *Trichoderma* microencapsulado es más eficiente, obteniendo mayor desarrollo de las plantas que en la presentación líquida.
4. Existe un mejor manejo en las aplicaciones con el producto de *Trichoderma* microencapsulado, que en las presentaciones líquidas.



## LITERATURA CITADA

Agrios, N.G. 2004. Fitopatología .Editorial Limusa. 2da Edición. Editores EUA. 922 p.

Ahmad J.S., Baker R. 1987. Rhizosphere Competence of *Trichoderma harzianum*. Phytopathol.77: 182-189.

Alabouvet, C., and Steinberg, C. 2006. The soil as a reservoir for antagonists to plant diseases. Pp. 123-144. In: Eilenberg, J. and Hokkanen, H.M.T., (eds). An Ecological and Societal Approach to Biological Control, Springer, Netherlands.

Apodaca, S. M. A., Zavaleta, M. E., García, E. R., Osada, K. S. y Valenzuela, U. J. G. 2002. Frecuencia de campos infestados con *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* en Sinaloa, México y su control. Revista Mexicana de Fitopatología 20:1-7.

Aquino, M. J. G; Vázquez, G. L. M., Reyes, R. B. G. 2008. Biocontrol *in vitro* e *in vivo* de *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* Snyder y Hans., con hongos antagonistas nativos de la zona florícola de Villa Guerrero, Estado de México. Revista Mexicana de Fitopatología, 26:127-137.

Avelar M.J. y Marban, M. 1989. Intentos de control de la marchitez del chile ocasionada por el hongo *Phytophthora capsici* en la región de Valsequillo, Puebla. Memorias XVI Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología. Montecillo, Edo. De Mexico. Resumen 11 p.

Eveleigh D.E., Demain A.L., Solomon, N. 1986. *Trichoderma*. Biology of industrial microorganisms. Biotech Ser. (Ed). Cap.16: 489-500.

Fernández, A. O. 2008. Microencapsulación de *Bacillus* y *Trichoderma* en semilla de Cebolla y Su Efecto en el Desarrollo y Producción del cultivo. Departamento de Parasitología. División de Agronomía. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Coahuila, México. Tesis de Licenciatura 48 p.

Fernández, H. E., Acosta, R. M., Ponce, G. F. y Manuel, P. V. 2007. Manejo biológico de *Phytophthora capsici* Leo., *Fusarium oxysporum* Schlechtend y *Rhizoctonia solani* Kühn en Jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Revista Mexicana de Fitopatología 25:35-42.

Galeano, M., Fernández, P., Lorente, M. J., Téllez, M. M., y Belda, J. E. 2008. Efectos de la aplicación de la T-22 de *Trichoderma harzianum* (TRIANUM) en cultivos hortícolas en España. Memoria del X Congreso Mundial de *Trichoderma* y *Gliocladium*. Universidad Nacional de Costa Rica. Resumen p. 33.

Gomez, M.I., Villamizar, L. F., Díaz, A., Garzon, C., Moreno, C. A., y Cotes, A. M. 2008. Centro de Biotecnología y Bioindustria, Cundinamarca. Colombia. Memorias del X congreso Mundial de *Trichoderma* y *Gliocladium*. Resumen p. 16.

González, S.C.H., Rodríguez, L.L., Arjona, C., Puertas, A., y Fonseca, M. 1999. Efecto de la aplicación de *Trichoderma harzianum* R. sobre la composición cuantitativa de bacterias, hongos y actinomicetos de la rizosfera de Solanáceas y su influencia en el crecimiento vegetativo. Investigación Agraria Producción y Protección Vegetales 14:297-306.

Guigón, L.C. y González, G. P. 2001. Estudio regional de las enfermedades del chile (*Capsicum annum* L.) y su comportamiento temporal en el sur de Chihuahua, México. Revista Mexicana de Fitopatología 19:49-56.

Harman, G. E. 2006. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. Phytopathology 96:190-194.

Harman G. E. 2004. Mythos and dogmas of biocontrol. Changes in perceptions derive from research on *Trichoderma harzianum* T22. Plant Dis. 84:377-393.

Harman G. 2003. *Trichoderma harzianum*, *T. viridis*, *T. koningii*, *T. hamatum* (Deuteromycetes: Moniliales). (Consultado: 2 feb 2011). Disponible en:

<http://www.ibun.unal.edu.co/r2r7e.html>.

Hernández, F. D., Osorio, E., Lara, F., Morales, G., Rodríguez, R. 2008a. Estudios *in vitro* de *Trichoderma* como agente de control biológico de la costra negra de la papa (*Rhizoctonia solani*). Memoria del X Congreso Mundial de *Trichoderma* y *Gliocladium*, Universidad Nacional de Costa Rica. Resumen p 24.

Hernández, F. D., García, J.C., Osorio, E., Lara, F., Gallegos, G. 2008b. Actividad antagónica *in vitro* de 31 cepas de *Trichoderma* sobre *Phytophthora capsici* agente causal de la marchitez del chile. Memoria del X Congreso Mundial de *Trichoderma* y *Gliocladium*, Universidad Nacional de Costa Rica. Resumen p 24.

Hjeljord L., Tronsmo A. 1998. *Trichoderma* and *Gliocladium* in biological control: an overview. In: *Trichoderma & Gliocladium: Enzymes, biological control and commercial applications*. Harman G.E., Kubice CP. (Eds). 2:131-151.

Howell, C. R. 2003. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: The history and evolution of current concepts. *Plant Disease* 87: 4-10.

Infante, D., Martínez B., González N., y Reyes, Y. 2009. Mecanismo de acción de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos. Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria. La Habana, Cuba. *Revista de Protección Vegetal*. 24:14-21

INIAP, 2011. Alternativas para el manejo de las enfermedades del suelo en el cultivo de la papa. Boletín de prensa No. 002. Quito. Ecuador. Consultado el 2 marzo 2011. Disponible en:

[http://www.elciudadano.gov.ec/index.php?option=com\\_content&view=article&id=20125:magap-presenta-alternativas-para-el-manejo-de-las-enfermedades-del-suelo-en-el-cultivo-de-la-papa&catid=1:actualidad&Itemid=42](http://www.elciudadano.gov.ec/index.php?option=com_content&view=article&id=20125:magap-presenta-alternativas-para-el-manejo-de-las-enfermedades-del-suelo-en-el-cultivo-de-la-papa&catid=1:actualidad&Itemid=42)

Krishna-Pal, K., y McSpadden, B. 2006. Biological control the plant diseases. Department of Plant Pathology, Ohio State University. Consultado el 18 de Febrero del 2011. Disponible en:

<http://www.apsnet.org/education/AdvancedPlantPath/Topics/biolcontrol/default.htm>

López, R. S. 2009. Presidente del Comité Organizador de la Séptima Convención Mundial del Chile. Consejo Nacional de Productores de Chile, S.C., en Aguascalientes, Ags. Del 13 al 15 de junio. Consultado el 01 de Febrero de 2011. Disponible en:

<http://www.horticultivos.com/component/content/article/49-front-page/323-septima-convencion-mundial-del-chile>

Martínez, B., Fernández, L., Solano, T. 1994. Antagonismo de cepas de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos de la caña de azúcar, tomate y tabaco. *Cultivos Tropicales*. 15(3):54.

Michel, A. C., Otero, S. M. A., Solano, P. L.Y., Ariza, F. R., Barrios, A. A. y Rebolledo, M. A. 2009. Biocontrol *in vitro* con *Trichoderma* spp. de *Fusarium subglutinans* (Wollenweb. y Reinking) Nelson, Toussoun y Marasas y *F. oxysporum* Schlecht., agentes causales de la “escoba de bruja” del mango (*Mangifera indica* L.). *Revista Mexicana de Fitopatología* 27:18-26.

Minchala, V. T. P., Moreira, B. V. A. 2007. Proyecto de Inversión para la Elaboración de Productos con Microorganismos para el Control de las Enfermedades de las Plantas. Facultad de Ciencias Humanísticas y Económicas. Escuela Superior Politécnica del Litoral. Guayaquil-Ecuador. Tesis de Grado, 150 p.

Pérez N. 2004. Manejo Ecológico de plagas. CEDAR: La Habana. Cuba. 296 p.

Pérez, M. L., Duran, O. L. J., Ramírez, M. R., Sánchez, P. J. R. y Olalde, P. V. 2004. Sensibilidad *in vitro* de aislados del hongo *Phytophthora capsici* a fungicidas. Memorias Primera Convención Mundial del Chile. León, Gto. México. Resumen pp. 144-150.

Pineda, J. B., López, Y., Hernández, A., y Ulacio, D. 2008. Efecto diferencial de seis aislamientos de *Trichoderma* en el desarrollo radical y crecimiento de plantas de maíz infectadas con *Rhizoctonia solani*. Memoria del X Congreso Mundial de *Trichoderma* y *Gliocladium*, Universidad Nacional de Costa Rica. Resumen p 18.

Sánchez, V., Rebolledo, O., Picaso, R.M., Cárdenas, E., Córdova, J., González, O. and Samuels, G. J. 2007. *In vitro* antagonism of *Thielaviopsis paradoxa* by *Trichoderma longibrachiatum*. *Mycopathologia* 163: 49-58.

Sid, A.A., Pérez, C.S., Egea, C., y Candela, M.E. 2000. Evaluation of induction of systemic resistance in pepper plants (*Capsicum annuum* L.) to *Phytophthora capsici* using *Trichoderma harzianum* and its relation with capsidiol accumulation. *European Journal of Plant Pathology* 106:817-824.

Rico, G. L. 2002. Búsqueda de Resistencia Natural en plantas de Chile (*Capsicum* spp.) Contra Aislado del Complejo Fúngico que causa Pudrición de Raíz. Tesis de Maestría en Ciencias. Instituto Tecnológico de Celaya, Celaya, Gto, México. 91 p.

Rico, G. L., Medina, R. S., Muñoz, S. C., Guevara, O. L., Guevara, G. R., Guerrero, A. B., Torres, P. I., Rodríguez, H. R., González, C. M. 2004. Detección de *Phytophthora capsici* Leonian en plantas de Chile (*Capsicum annuum* L.). *Revista Mexicana de Fitopatología* 22:1-6.

Rincón, V.F.J. y Velásquez, V.R. 1999. Combate químico de pudriciones radicales de Chile (*Capsicum annuum* L.) en Zacatecas. Programa y Notas Científicas. VIII Congreso de Horticultura. Manzanillo, Colima, México. 137 p.

Ruiz, F. M. 2009. Subsecretario de Agricultura de la Secretaría de Agricultura (SAGARPA). Séptima convención mundial de Chile. Realizada en Aguascalientes, Ags., del 13 al 15 de junio. Informó el periódico El Universal, 14 de Junio de 2010. Consultado el 01 de febrero de 2011, disponible en:

<http://www.eluniversal.com.mx/notas/687699.html>.

Sandoval, B. C., 2004. Manejo Integrado de Enfermedades en Cultivos Hidropónicos. Manual Técnico. Universidad de Talca, Chile. 53 p.

SIAP, 2011. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, SAGARPA. Consultado el 26 de Febrero. Disponible en:

[http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com\\_wrapper&view=wrapper&Itemid=351](http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com_wrapper&view=wrapper&Itemid=351)

Vázquez, V. J. J. 2009, Determinación in vitro de las Propiedades Fungicidas de los Ácidos Fúlvicos en *Fusarium moniliforme* (Sheldon) y *Trichoderma harzianum* (Rifai). Tesis de Licenciatura, Departamento de Agrobiología, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. 88 p.

Velásquez, V. R., Amador, R. M.D., Medina, A. M. M. y Lara, V. F. 2007. Presencia de patógenos en almácigos y semilla de chile (*Capsicum annuum* L.) en Aguascalientes y Zacatecas, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 25:75-79.

Velásquez, V. R., Medina, A. M. M., y Lara, F. 2005. Exploración nematológica de chile (*Capsicum annuum* L.) en Aguascalientes y Zacatecas. pp. 34-38. *Memorias Segunda Convención Mundial del Chile*. Zacatecas, México. 386 p.

Velásquez, V. R., Medina, A. M. M. y Macías, V. L. M. 2003. Reacción de líneas avanzadas de chile (*Capsicum annuum* L.) provenientes de Zacatecas a enfermedades comunes en Aguascalientes, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 21:71-74.

Verma, M., Brar, S. K., Tyag, R.D., Surampalli, R.Y., Valero, J.R. 2007. Review: Antagonistic fungi, *Trichoderma* spp.: Panoply of biological control. *Biochemical Engineering Journal* 37: 1-20.

Vero, S. M., Mondino, P. 1999. Control biológico de postcosecha en Uruguay. *Horticultura Internacional* 7:1-10.

Yáñez, F. J., Salazar, M. J. A., Chaires, M. L., Jiménez, H. J., Márquez, R. M., y Ramos, R. E. G. 2002. Aplicaciones biotecnológicas de la microencapsulación. Departamento de Biotecnología del Cinvestav. 313-319 pp.

## **APÉNDICE**

**Tabla 1. Datos del Experimento 1.** Plantas inoculadas con *Fusarium oxysporum* y tratadas con microcápsulas y solución de *Trichoderma asperellum*.

Tratamientos	Repeticiones	Altura de planta	Peso fresco	peso seco	longitud raíz
T1	r1	10.75	2.50	0.20	21.30
T1	r2	11.30	2.30	0.20	19.30
T1	r3	11.50	2.00	0.16	18.30
T1	r4	10.85	2.70	0.20	15.20
T1	r5	10.15	1.90	0.15	28.20
T1	r6	10.65	2.00	0.15	13.60
T2	r1	10.60	2.10	0.23	19.20
T2	r2	10.50	2.10	0.16	16.20
T2	r3	10.05	2.10	0.16	10.10
T2	r4	10.00	2.40	0.18	16.40
T2	r5	9.90	2.60	0.17	7.60
T2	r6	9.00	1.40	0.11	7.00
T3	r1	10.10	2.20	0.16	15.30
T3	r2	9.05	1.40	0.10	10.30
T3	r3	8.85	1.40	0.10	13.60
T3	r4	9.10	1.70	0.14	8.50
T3	r5	8.20	0.90	0.06	8.60
T3	r6	9.40	2.10	0.15	10.20
T4	r1	10.25	2.30	0.17	14.80
T4	r2	9.70	2.10	0.16	14.30
T4	r3	10.40	2.60	0.19	13.40
T4	r4	9.10	1.90	0.15	14.30
T4	r5	9.65	1.90	0.14	21.20
T4	r6	8.80	1.70	0.13	14.50
T5	r1	7.95	1.40	0.11	5.30
T5	r2	6.80	0.40	0.04	5.40
T5	r3	7.70	0.90	0.09	5.10
T5	r4	8.45	1.10	0.09	4.50
T5	r5	7.00	0.70	0.06	4.40
T5	r6	9.05	0.60	0.07	5.90
T6	r1	9.25	0.85	0.07	11.00
T6	r2	11.05	1.10	0.09	7.00
T6	r3	8.15	0.60	0.05	6.20
T6	r4	6.35	0.60	0.06	4.90
T6	r5	9.00	0.70	0.06	6.70
T6	r6	7.20	0.60	0.08	6.50



**Tabla 2. Análisis de varianza para altura de planta.**

<b>F.V.</b>	<b>G.L.</b>	<b>S.C.</b>	<b>C. M.</b>	<b>F Value</b>	<b>Pr &gt; F</b>
Repeticiones	5	4.61	0.92	1.17	0.3513
Tratamiento	5	35.47	7.09	9	<.0001
Error	25	19.71	0.79		
Total	35	59.79			

C.V.=9.4

**Tabla 3. Análisis de varianza para longitud de raíz.**

<b>F.V.</b>	<b>G.L.</b>	<b>S.C.</b>	<b>C. M.</b>	<b>F Value</b>	<b>Pr &gt; F</b>
Repeticiones	5	89.05	17.81	1.59	0.2001
Tratamiento	5	830.69	166.14	14.81	<.0001
Error	25	280.47	11.22		
Total	35	1200.20			

C.V.= 28.4

**Tabla 4. Análisis de varianza para peso fresco.**

<b>F.V.</b>	<b>G.L.</b>	<b>S.C.</b>	<b>C. M.</b>	<b>F Value</b>	<b>Pr &gt; F</b>
Repeticiones	5	0.99701389	0.19940278	1.71	0.1695
Tratamiento	5	13.2053472	2.64106944	22.62	<.0001
Error	25	2.91840278	0.11673611		
Total	35	17.1207639			

C.V.= 21.2

**Tabla 5. Análisis de varianza para peso seco.**

<b>F.V.</b>	<b>G.L.</b>	<b>S.C.</b>	<b>C. M.</b>	<b>F Value</b>	<b>Pr &gt; F</b>
Repeticiones	5	0.00796067	0.00159213	2.49	0.0585
Tratamiento	5	0.06801133	0.01360227	21.24	<.0001
Error	25	0.016013	0.00064052		
Total	35	0.091985			

C.V.= 19.1

**Tabla 6. Datos del experimento II.** Plantas inoculadas con *Rhizoctonia solani* y tratadas con microcápsulas y solución de *Trichoderma asperellum*.

Tratamientos	Repeticiones	Altura de planta	peso fresco	peso seco	longitud de raíz
T1	r1	10.75	2.50	0.20	21.30
T1	r2	11.30	2.30	0.20	19.30
T1	r3	11.50	2.00	0.16	18.30
T1	r4	10.85	2.70	0.20	15.20
T1	r5	10.15	1.90	0.15	28.20
T1	r6	10.65	2.00	0.15	13.60
T2	r1	9.80	2.10	0.17	19.20
T2	r2	10.05	2.10	0.15	16.50
T2	r3	10.40	1.60	0.13	12.50
T2	r4	9.10	1.50	0.12	14.30
T2	r5	10.00	2.00	0.16	9.80
T2	r6	9.30	2.00	0.15	16.20
T3	r1	9.70	1.40	0.11	13.50
T3	r2	8.90	1.50	0.12	7.30
T3	r3	9.10	1.30	0.10	8.70
T3	r4	9.35	1.10	0.10	15.20
T3	r5	9.85	1.80	0.14	10.50
T3	r6	10.10	2.00	0.16	8.30
T4	r1	10.25	2.30	0.17	14.80
T4	r2	9.70	2.10	0.16	14.30
T4	r3	10.40	2.60	0.19	13.40
T4	r4	9.10	1.90	0.15	14.30
T4	r5	9.65	1.90	0.14	21.20
T4	r6	8.80	1.70	0.13	14.50
T5	r1	8.45	0.90	0.09	5.00
T5	r2	8.45	0.60	0.07	8.20
T5	r3	9.50	0.90	0.09	10.20
T5	r4	8.15	1.10	0.09	5.20
T5	r5	8.20	1.30	0.13	11.50
T5	r6	8.75	0.80	0.07	8.60
T6	r1	9.25	0.85	0.07	11.00
T6	r2	11.05	1.10	0.09	7.00
T6	r3	8.15	0.60	0.05	6.20
T6	r4	6.35	0.60	0.06	4.90
T6	r5	9.00	0.70	0.06	6.70
T6	r6	7.20	0.60	0.08	6.50

**Tabla 7. Análisis de varianza para altura de planta.**

<b>F.V.</b>	<b>G.L.</b>	<b>S.C.</b>	<b>C. M.</b>	<b>F Value</b>	<b>Pr &gt; F</b>
Repeticiones	5	5.53729167	1.10745833	1.87	0.1362
Tratamiento	5	22.8214583	4.56429167	7.7	0.0002
Error	25	14.828125	0.593125		
Total	35	43.186875			

C.V.= 8.1

**Tabla 8. Análisis de varianza para longitud de raíz.**

<b>F.V.</b>	<b>G.L.</b>	<b>S.C.</b>	<b>C. M.</b>	<b>F Value</b>	<b>Pr &gt; F</b>
Repeticiones	5	60.8613889	12.1722778	1.26	0.3106
Tratamiento	5	898.134722	179.626944	18.64	<.0001
Error	25	240.893611	9.635744		
Total	35	1199.88972			

C.V.= 25.8

**Tabla 9. Análisis de varianza para peso fresco.**

<b>F.V.</b>	<b>G.L.</b>	<b>S.C.</b>	<b>C. M.</b>	<b>F Value</b>	<b>Pr &gt; F</b>
Repeticiones	5	0.25166014	0.05033203	0.66	0.6546
Tratamiento	5	18.8368235	3.76736469	49.65	<.0001
Error	25	1.89701736	0.07588069		
Total	35	20.985501			

C.V.= 18.9

**Tabla 10. Análisis de varianza para peso seco.**

<b>F.V.</b>	<b>G.L.</b>	<b>S.C.</b>	<b>C. M.</b>	<b>F Value</b>	<b>Pr &gt; F</b>
Repeticiones	5	0.00117071	0.00023414	0.61	0.6958
Tratamiento	5	0.10806385	0.02161277	55.95	<.0001
Error	25	0.00965673	0.00038627		
Total	35	0.11889129			

C.V.= 16.3