



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO
FACULTAD DE QUÍMICA**

“Efecto del antagonismo de *Trichoderma* sp
sobre las poblaciones bacterianas del suelo en
sistemas de cultivo de chile jalapeño (*Capsicum
annuum* L. cv. ‘Jalapeño’)”

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de
MAESTRO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA AMBIENTAL

Presenta

L.C.A. MÓNICA ROCÍO SÁNCHEZ TOVAR

Dirigida por

DR. ANDRÉS CRUZ HERNÁNDEZ

Santiago de Querétaro, Querétaro, 2018



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO
FACULTAD DE QUÍMICA**

"Efecto del antagonismo de *Trichoderma* sp. sobre las poblaciones bacterianas del suelo en sistemas de cultivo de chile jalapeño (*Capsicum annuum* L. cv.'Jalapeño')"

**TESIS
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MAESTRO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA AMBIENTAL**

**PRESENTA
LIC. MÓNICA ROCÍO SÁNCHEZ TOVAR**

**DIRIGIDA POR
DR. ANDRÉS CRUZ HERNÁNDEZ**

DR. ANDRÉS CRUZ HERNÁNDEZ
DIRECTOR

DR. MIGUEL ÁNGEL RICO RODRÍGUEZ
SINODAL

DR. SERGIO CASAS FLORES
SINODAL

RODRÍGUEZ

DR. JUAN CAMPOS GUILLEN
SINODAL

DR. JOSÉ ALBERTO RODRÍGUEZ
SINODAL

Dra. Silvia Amaya Llano
Directora de la Facultad de Química

Dra. Ma. Gpe. Flavia Loarca Piña
Directora de Investigación y Posgrado

RESUMEN

El control biológico de enfermedades de plantas, se fundamenta en el uso de organismos antagonistas del patógeno, tales como bacterias y hongos, mediante mecanismos de acción que incluyen la producción de sustancias antimicrobianas, parasitismo, competencia por espacio y nutrientes, inducción de resistencia al estrés entre otros. *Trichoderma* spp. se ha caracterizado por ser un eficaz agente de control biológico (ABC) debido a las interacciones frente al patógeno y la planta, sin embargo se desconoce si el tratamiento con *Trichoderma*, puede implicar cambios en las poblaciones microbianas de la rizósfera. El objetivo de este trabajo es estimar las poblaciones bacterianas de la rizósfera, mediante el establecimiento del tratamiento con los agentes de control biológico *Trichoderma atroviride* y *Trichoderma virens*, dirigido al patógeno *Fusarium stilboides*. En un sistema de cultivo de chile jalapeño (*Capsicum annuum* L. var *annuum*) mediante el establecimiento de dos ensayos (cámara e invernadero), para evaluación de los parámetros fisiológicos de la planta y el uso de técnicas microbiológicas para la identificación taxonómica de microorganismos presentes en la rizósfera. En el ensayo en cámara los parámetros fisiológicos de altura (16.6 ± 1.7 cm), longitud aérea (24.0 ± 1.0 cm) y de la raíz (24.0 ± 1.0 cm) fueron mayores en aquellos tratamientos inoculados solo con el agente de control, a su vez aquellos en presencia del patógeno inhibieron la incidencia de la enfermedad ocasionada por *Fusarium stilboides*; mientras que en el ensayo en invernadero los parámetros fisiológicos fueron homogéneos. Se identificaron los géneros bacterianos *Pseudomonas* spp, *Klebsiella* spp y *Enterobacter* spp, por métodos microbiológicos, los cuales son promotores de nutrientes y crecimiento vegetal, a su vez identificamos un mayor número de poblaciones bacterianas en los dos ensayos cámara e invernadero (4.1×10^6 Ufc/g y 7.1×10^6 Ufc/g) en los tratamientos en presencia de *Trichoderma atroviride* y *Trichoderma virens* inoculados con el patógeno.

Palabras clave: actividad residual, agentes fúngicos de control biológico, diversidad microbiana, fisiología vegetal, rizosfera.

ABSTRACT

Biological control of plant disease, is supported in the pathogen antagonist organism like bacteria and fungus. It uses action mechanisms that includes antimicrobial substances production, space and nutrients competition, stress resistance induction and others. *Trichoderma* spp. Has been characterized as an efficient biological control agent (BCA) due to the interactions between pathogen and plant, however it's unknown the effect of *Trichoderma* over the microbial population in the rhizosphere. The aim of this investigation is to estimate the microbial population at the rhizosphere, in the biological control treatment with *Trichoderma atroviride* and *Trichoderma virens*, against *Fusarium stilboides*, in a cultivation system of jalapeño pepper (*Capsicum annuum* L. var. *annuum*). Two test (greenhouse and camera) were performed to evaluate physiological parameters of the plant and to identify bacteria in the rhizosphere by microbiological methods. Physiological parameters in the camera essay of height (16.6 ± 1.7 cm), aerial length (24.0 ± 1.0 cm) and root length (17.3 ± 1.5 cm), were higher in those treatments that were inoculated with biological control agent, than those treatments that were inoculated with biological control agent and pathogen. These treatments inhibit the incidence of the pathogen *Fusarium stilboides* over the plant. Greenhouse test throw homogeneous physiological parameters. The genus *Pseudomonas* spp, *Klebsiella* spp and *Enterobacter* spp. were identified, these are vegetative growth and nutrient promoters. More number of CFU's (4.1×10^6 CFU/g in camera essay and 7.1×10^6 CFU/g in greenhouse essay) were counted in those treatments with *Trichoderma virens* and *Trichoderma atroviride* and *Fusarium stilboides*.

Keywords: biological control fungal agents, microbial diversity, residual activity, rhizosphere, vegetative physiology.

A mi madre y hermanas, a ustedes debo todo lo que soy, gracias.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por el otorgamiento de la beca nacional de posgrado la cual permitió el desarrollo y culminación de éste proyecto de investigación.

Al Dr. Andrés Cruz y comité de sinodales, por sus aportes, paciencia y brindarme las herramientas para mi crecimiento personal y profesional, permitiendome culminar con éxito mis estudios de Máestría.

A mi madre y hermanas, por su amor incondicional por ser mi roca y fortaleza durante este proceso, por tener fé en mi, recordarme todos los días de mis capacidades y nunca dejarme caer...las amo mucho porque a pesar de la distancia nunca estuve sola, más que mio este triunfo es de ustedes...mi mayor bendicion.

A mi Hugo y Majo...por sus amistad y cariño incondicional, por no dejarme desfallecer e insistir para llegar a este día, por todos los detalles que han tenido conmigo (lo cual valoro con el alma), por abirme las puertas de su hogar y hacerme una de su familia, por recordarme cuan valiosa es la amistad desinteresada y verdadera.

A mis Brayans de Mutagenesis, por su amistad, cariño, las aventuras vividas fuera y dentro del laboratorio, sin lugar a dudas son indispensables en mi vida.

A México por abrirle las puertas a este Colombiana, que hoy en día se siente una de ustedes...GRACIAS!

ÍNDICE

Índice general	3
Índice de cuadros	6
Índice de figuras	7
Resumen	9
Abstract	10
I. INTRODUCCIÓN	11
II. MOTIVACIÓN DE LA PROPUESTA	14
III. ANTECEDENTES	16
3.1 Suelo agrícola.....	16
3.1.1 Diversidad microbiana del suelo.....	16
3.1.2 Filogenia de las bacterias del suelo.....	17
3.1.3 Perturbaciones agrícolas en la microbiota del suelo.....	18
3.2 Control biológico.....	18
3.3 <i>Trichoderma spp</i>	19
3.3.1 Descripción general.....	19
3.3.2 Biología de <i>Trichoderma spp</i>.....	20
3.3.3 Mecanismos de biocontrol de <i>Trichoderma spp</i>.....	22
3.3.3.1 Micoparasitismo.....	22

3.3.3.2 Cambios morfológicos.....	23
3.3.3.3 Enzimas degradantes de la pared celular.....	24
3.3.3.4 Policétidos.....	24
3.3.3.5 Sinergismo entre enzimas y antibióticos.....	24
3.3.3.6 Competencia por nutrientes.....	25
3.3.4 Interacción entre <i>Trichoderma</i> spp y la planta	25
3.3.4.1 Promoción del crecimiento en las plantas.....	25
3.3.4.2 Colonización de las raíces en plantas.....	26
3.3.4.3 Inducción de resistencia sistémica en plantas.....	27
3.3.5 Interacción de <i>Trichoderma</i> spp con la rizosfera de la planta	29
3.4 Sistema agrícola de estudio: Chile Jalapeño (<i>Capsicum annuum</i> L. var. <i>annuum</i> L. cv. 'Jalapeño').....	30
• Botánica y taxonomía.....	32
IV. HIPÓTESIS.....	37
V. OBJETIVOS.....	38
5.1 Objetivo general	38
5.2 Objetivos específicos	38
VI. METODOLOGÍA.....	39
6.1 Sitio de estudio.....	39
6.2 Caracterización del suelo.....	39
6.3 Obtención de plantas de chile jalapeño.....	41

6.4	Diseño experimental y tratamientos.....	44
6.5	Parámetros fisiológicos del chile jalapeño planta y fruto.....	45
6.5.1	Parámetros fisiológicos.....	45
6.5.2	Determinación del contenido de capsaicina.....	46
6.6	Patogenicidad de <i>Fusarium stilboides</i> en las plantas de chile jalapeño.....	47
6.6.1	Incidencia de la enfermedad.....	47
6.6.2	Concentración de clorofila a y b.....	47
6.6.3	Algoritmo de aérea necrótica.....	48
6.7	Determinación de las poblaciones bacterianas del suelo.....	48
6.7.1	Diluciones en series.....	48
6.7.2	Pruebas bioquímicas.....	49
6.8	Pruebas estadísticas.....	49
VII.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	50
7.1	Establecimiento del tratamiento del sistema de cultivo de chile jalapeño (<i>Capsicum annuum</i> L. cv. Annuum).....	50
7.1.1	Caracterización del suelo.....	50
7.2	Confirmación de la capacidad antagonista de <i>T. atroviride</i> y <i>T. virens</i> , determinado por los parámetros fisiológicos del cultivo.....	52
7.2.1	Parámetros fisiológicos planta.....	52
	• Altura de la planta: ensayo en cámara.....	52
	• Altura de la planta: ensayo en invernadero.....	56
	• Longitud aérea ensayo en cámara.....	60

• Longitud aérea ensayo en invernadero.....	62
• Peso fresco y seco (planta), ensayo en cámara.....	65
• Peso fresco y seco (planta), ensayo en invernadero.....	66
• Longitud raíz y fruto ensayo en cámara.....	67
• Longitud raíz y fruto ensayo en invernadero.....	68
7.3 Parámetros fisiológicos fruto.....	70
• Peso fresco y seco fruto, ensayo en cámara e invernadero.....	70
• Contenido de capsaicina, ensayo en cámara e invernadero.....	74
7.4 Patogenicidad de <i>Fusarium stilboides</i> , ensayo en cámara e invernadero.....	77
7.4.1 Determinación de clorofila a y b, ensayo en cámara e invernadero.....	80
7.4.2 Necrosis.....	84
7.5 Determinación de las poblaciones bacterianas, del suelo	89
7.5.1 Conteo bacteriano.....	89
7.5.2 Pruebas bioquímicas, ensayo en cámara e invernadero.....	92
VIII. CONCLUSIONES.....	95
IX PERSPECTIVAS.....	96
X. REFERENCIAS.....	97
XI. APENDICE.....	116

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1. Mecanismo promotor de defensa de las plantas e interacciones.....	32
2. Regiones potenciales y estratégicas de producción de chile jalapeño.....	35
3. Regiones potenciales y estratégicas de producción de chile jalapeño.....	36
4. Fisiología planta y frutos	38
5. Etapas de desarrollo.....	39
6. Mapa cartográfico	44
7. Mapa cartográfico.....	45
8. Germinación y trasplante de plántulas.....	47
9. Cepas almacenadas en agar papa dextrosa.....	48
10. Plantas de chile jalapeño, inoculadas con los agentes de control biológico.....	48
11. Ensayo en cámara, altura de la planta (cm).....	59
12. Ensayo en cámara. plantas de chile jalapeño.....	59
13. Ensayo en invernadero, altura de la planta (cm).....	62
14. Ensayo en invernadero.....	63
15. Ensayo en cámara, longitud aérea (cm).....	65
16. Ensayo en invernadero, longitud aérea (cm).....	67
17. Ensayo en cámara, peso seco y fresco (g).....	68
18. Ensayo en invernadero, peso seco y fresco (g).....	68
19. Ensayo en cámara, longitud raíz y del fruto (cm).	71
20. Ensayo en invernadero, longitud de la raíz (cm).....	73
21. Ensayo en invernadero, longitud raíz (cm).	74
22. Ensayo en cámara peso fresco y seco fruto (g).....	75
23. Ensayo en invernadero peso fresco y seco fruto (g).	76
24. Ensayo en cámara, concentración de capsaicina.....	78
25. Ensayo en invernadero, concentración de capsaicina	79
26. Ensayo en cámara e invernadero.....	82

27. Ensayo en cámara, concentración de clorofila a y b ($\mu\text{g/ml}$).....	84
28. Ensayo en invernadero, concentración de clorofila a y b ($\mu\text{g/ml}$).....	86
29. Porcentaje de necrosis en hojas, del ensayo en invernadero.....	88
30. Ensayo en invernadero, necrosis en hojas.	89
31. Unidades formadoras de colonia (Ufc/g) del ensayo en cámara	91
32. Unidades formadoras de colonia (Ufc/g) del ensayo en invernadero.....	93
33. Curva de estándar vainillina, para la obtención de la capsaicina.....	128

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Principales poblaciones de bacterianas del suelo.....	22
2. Tratamientos ensayo en cámara, establecidos al sistema de cultivo de chile jalapeño (<i>Capsicum annuum</i> L. var <i>annuum</i> L. cv. 'Jalapeño').....	49
3. Tratamientos ensayo en invernadero, establecidos al sistema de cultivo de chile jalapeño (<i>Capsicum annuum</i> L. var <i>annuum</i> L. cv. 'Jalapeño').....	49
4. Parámetros caracterizados de los suelos, empleados en los ensayos en cámara e invernadero.....	56
5. Porcentaje de necrosis en hojas, del ensayo en invernadero.....	85
6. Poblaciones bacterianas obtenidas mediante pruebas bioquímicas, del ensayo en cámara.....	94
7. Poblaciones bacterianas obtenidas mediante pruebas bioquímicas, del ensayo en invernadero.....	95
8. Análisis estadístico prueba de Tukey, Etapa I (altura).....	121
9. Análisis estadístico prueba de Tukey, Etapa I (longitud aérea).....	121
10. Análisis estadístico prueba de Tukey, Etapa II (altura).....	122
11. Análisis estadístico prueba de Tukey, Etapa II (longitud aérea).....	122
12. Análisis estadístico prueba de Tukey, Etapa III (altura).....	122
13. Análisis estadístico prueba de Tukey, Etapa III (longitud aérea).....	123
14. Análisis estadístico prueba de Tukey, peso seco (planta).....	123
15. Análisis estadístico prueba de Tukey, peso fresco (planta).....	123
16. Análisis estadístico prueba de Tukey, peso seco fruto (g).....	123
17. Análisis estadístico prueba de Tukey, peso fresco fruto (g).....	123
18. Análisis estadístico prueba de Tukey, longitud raíz planta (cm).....	124
19. Análisis estadístico prueba de Tukey, longitud fruto (cm).....	124
20. Ensayo en cámara, absorbancia (nm) clorofila a.....	125
21. Ensayo en cámara, absorbancia (nm) clorofila b.....	125
22. Ensayo en cámara, concentración de clorofila a y b (µg/ml).....	126

23. Análisis estadístico prueba de Tukey, clorofila a.....	126
24. Análisis de varianza (ANOVA), clorofila a.....	126
25. Análisis estadístico prueba de Tukey, clorofila b.....	126
26. Análisis de varianza (ANOVA), clorofila b.....	126
27. Ensayo en cámara, concentración de capsaicoides (mg) por triplicado.....	128
28. Ensayo en cámara, análisis estadístico prueba de Tukey, capsaicina (mg).....	128
29. Análisis de varianza (ANOVA), capsaicina (mg).....	128
30. Análisis estadístico prueba de Tukey, Etapa I altura (cm).....	129
31. Análisis estadístico prueba de Tukey, Etapa I longitud aérea (cm).....	129
32. Análisis estadístico prueba de Tukey, Etapa II altura (cm).....	130
33. Análisis estadístico prueba de Tukey, Etapa II longitud aérea (cm).....	130
34. Análisis estadístico prueba de Tukey, Etapa III altura (cm).....	130
35. Análisis estadístico prueba de Tukey, Etapa III longitud aérea (cm).....	130
36. Análisis estadístico prueba de Tukey, peso fresco (g).....	131
37. Análisis estadístico prueba de Tukey, peso seco (g).....	131
38. Análisis estadístico prueba de Tukey, longitud raíz (g).....	131
39. Análisis estadístico prueba de Tukey, longitud fruto (cm).....	132
40. Análisis estadístico prueba de Tukey, peso fresco (g).....	132
41. Análisis estadístico prueba de Tukey, peso seco (g).....	132
42. Ensayo en invernadero, absorbancia clorofila a (663 nm) por triplicado.....	132
43. Ensayo en invernadero, absorbancia clorofila b (645 nm) por triplicado.....	133
44. Concentración de clorofila a y b ($\mu\text{g/ml}$).....	134
45. Análisis estadístico prueba de Tukey, clorofila a.....	134
46. Análisis de varianza (ANOVA), clorofila a.....	134
47. Análisis estadístico prueba de Tukey, clorofila b.....	134
48. Análisis de varianza (ANOVA), clorofila b.....	134

49. Concentración de capsaicina (capsaicoides/mg).....	134
50. Análisis estadístico prueba de Tukey, concentración de capsaicina.....	134
51. Análisis de varianza (ANOVA), capsaicina.....	134

ÍNDICE DE ECUACIONES

Ecuación	Página
1. Contenido de capsaicinoides expresados en mg de los frutos de chile jalapeño, determinados finalizados los tratamientos.....	46
2. Contenido de clorofila a (Cla) y clorofila b (Cib) expresados en $\mu\text{g mL}^{-1}$ de las plantas de chile jalapeño.....	46
3. Algoritmo de área necrótica en hojas.....	48

I. INTRODUCCIÓN

La agricultura orgánica depende en gran medida de la diversidad microbiana del suelo, la cual se encuentra constituida por bacterias, hongos, levaduras, etc. (Bhardwaj et al., 2014).

La diversidad microbiana influye directamente sobre la fertilidad y productividad del suelo, con respecto a la disponibilidad de nutrientes, la supresión de enfermedades para las plantas, y la degradación de diversos plaguicidas (Ferrera et al., 2015).

El suelo contiene una ingente diversidad biológica, que controla procesos ecosistémicos claves como la descomposición de la materia orgánica y el reciclado y mineralización de los nutrientes. Además, algunos grupos de organismos edáficos están íntimamente asociados a las raíces e influyen directa o indirectamente en las interacciones entre plantas jugando un papel decisivo en el modelado de las comunidades (Torres et al., 2009).

La incorporación al agro ecosistema de microorganismos en el control biológico de enfermedades de plantas cultivables, ha demostrado tener efectos supresivos frente a los fitopatógenos. Las poblaciones supresoras incluyen la presencia de especies bacterianas correspondientes a los géneros: *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Bacillus*, y *Serratia* y algunos géneros de hongos como: *Penicillium*, *Gliocladium* y *Trichoderma*, entre otros (Raaijmakers et al., 2006). Los mecanismos de control biológico ejercidos contra diversos patógenos del suelo por estos microorganismos se destacan: la competencia por nutrientes, producción de enzimas hidrolíticas y antibióticos, competencia por nutrientes e inducción de la resistencia sistémica (Steindorff et al., 2017).

La capacidad de producir antibióticos y enzimas, para inducir la resistencia sistémica en plantas, parasitar hongos fitopatógenos, junto con una alta versatilidad metabólica y una fuerte competencia por nutrientes, hacen que muchos aislamientos de *Trichoderma sp* sean útiles como biofertilizantes, que son productos a base de microorganismos del suelo (bacterias, hongos, levaduras, etc) que favorecen la nutrición y crecimiento vegetal y biopesticidas, que son

producto para el control biológico de plagas, cuyo ingrediente activo son microorganismos del suelo, los dos de carácter comercial (Baroncelli et al., 2015).

Sin embargo los estudios de control biológico han evaluado la eficiencia del agente de control frente a los patógenos, sin evaluar las interacciones que el mismo pueda tener sobre otras poblaciones microbianas presentes en el suelo.

Se establecieron los ensayos en cámara e invernaderos, aquellos tratamientos en inoculados con los agentes de control de *Trichoderma atroviride* y *Trichoderma virens* en presencia del patógeno *Fusarium Stilboides*, mediante el uso de medios microbiológicos se observó un aumento en el número de las poblaciones microbianas, identificando la presencia de los géneros (*Enterobacter spp*, *Pseudomonas spp* y *Kiebsiella spp*) en la rizósfera del chile jalapeño, a lo largo sus las etapas de desarrollo.

II. MOTIVACIÓN DE LA PROPUESTA

El uso de plaguicidas y agentes antimicrobianos, gozaron de un rol preponderante en la protección de cultivos contra plagas y enfermedades. Sin embargo su uso intensivo ha tenido efectos negativos sobre el ambiente y la salud humana. De acuerdo a lo reportado Bhardwaj et al., (2014) el uso prolongado de plaguicidas impacta en la disminución del 20 a 50% en la riqueza, de la diversidad microbiana del suelo, la conversión de hábitat naturales e interrupción de los ciclos ecológicos y biogeoquímicos.

En México se siembra una superficie de 22,148,245.07 ha (héctareas) con más de 200 especies cultivadas. El INEGI reporta un consumo de 1,374,897 toneladas de plaguicidas, dentro de los cuales se destaca el uso de plaguicidas nitrogenados y fosfatados correspondientes al año 2015 (SIAP-SAGARPA, 2015).

El empleo de microorganismos en el control biológico de enfermedades de plantas de importancia agrícola, constituye una alternativa eficiente, ecológica que contribuye al desarrollo de la agricultura sostenible, puesto que reduce los efectos inherentes al uso de plaguicidas. Entre los agentes de control biológico más estudiados se encuentran los microorganismos pertenecientes a los géneros *Streptomyces*, *Pseudomonas*, *Agrobacterium*, *Bacillus* y *Trichoderma* (Whipps, 2001).

El hongo *Trichoderma sp* es un eficiente agente de control biológico ampliamente usado en agricultura debido a su habilidad de colonizar sustratos rápidamente, inducir resistencia sistémica en plantas, promover el crecimiento vegetal y presentar actividad antagonista contra un amplio rango de hongos patógenos (Abdelrahman et al., 2016). Las especies pertenecientes al género *Trichoderma* son económicamente relevantes, puesto que se emplean en diversos cultivos (maíz, tomate, chile habanero, legumbres, etc.) como agentes de control biológico para el manejo de fitopatógenos y como promotores del crecimiento de las plantas (Martínez et al., 2014).

De acuerdo a lo anterior los estudios con *Trichoderma sp*, han estimado su capacidad antagonista dirigida a fitopatógenos, sin identificar las interacciones que el mismo pueda tener frente a otras poblaciones microbianas de la rizósfera.

III. ANTECEDENTES

3.1 Suelo agrícola

El suelo es un ecosistema natural, comprendido de sólidos (minerales y materia orgánica), líquidos y gases, se caracteriza por sus horizontes en los cuales se producen adiciones, pérdidas, transferencias, transformaciones de energía y materia; lo cual posibilita su capacidad de soportar la vida vegetal, animal, preservar la flora, fauna o el equilibrio ecológico y moderar la calidad ambiental (Ball et al., 2017; Hunter et al., 2017).

Dentro de sus usos se destaca el agrícola, derivado de la demanda por la producción de alimentos, sin embargo la forma en cómo se maneja el suelo y la elección de los futuros cultivos influye en las propiedades del suelo. Dentro de las propiedades que afectan la calidad del suelo se destacan la profundidad disponible para la exploración de raíces, el pH, la salinidad, la capacidad de intercambio catiónico, el nitrógeno intercambiable, la presencia e interacciones de microorganismos, la biomasa microbiana, materia orgánica, cobertura y crecimiento de la vegetación (Powlson et al., 2016).

El suelo de vocación agrícola muestran deterioro en su calidad, producto de los labores como cultivo intensivo sin rotaciones, permitiendo que se desarrolle la salinidad del suelo con el riego y permitiendo un descenso en los contenidos de materia orgánica. El deterioro también se presenta por el uso de sustancias agroquímicas (plaguicidas, fungicidas y pesticidas) dirigidas al control de enfermedades en los cultivos, lo cual repercutirá en la diversidad microbiana del suelo y su importancia dentro del ecosistema edáfico (Ball et al., 2017; Zilverberg et al., 2018).

3.1.1 Diversidad microbiana del suelo

La comunidad microbiana, dentro del ecosistema edáfico (suelo), es de vital importancia para su funcionamiento, debido a los procesos en los que interactúa destacándose: formación de humus mediante descomposición de exudados y restos vegetales, síntesis de nuevos compuestos, liberación de

nutrientes para las plantas a partir de formas inorgánicas insolubles, transformación del N₂ atmosférico a N disponible para las plantas, mejoramiento de la agregación, acción antagónica contra insectos, patógenos de plantas y malezas (Dubey et al., 2006).

El funcionamiento de los ecosistemas está regulado ampliamente por la dinámica de las bacterias del suelo, los géneros más comunes son *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Acinetobacter*, *Arthrobacter*, *Azospirillum* y *Bacillum* de acuerdo del tipo de suelo, se asocian a las plantas puesto que ejercen una serie de mecanismos que favorecen el crecimiento vegetal y control biológico de patógenos (Tejera et al., 2011).

De acuerdo a lo establecido por Lara et al., (2011) los géneros bacterianos *Azospirillum* y *Azobacter*, han demostrado que fijan nitrógeno en forma asimbiótica, también segregan sustancias promotoras del crecimiento: auxinas, giberelinas y citocininas, beneficiando a la planta ya que aumenta los pelos radiculares, logrando una mayor captación de nutrientes e indirectamente favoreciendo el rendimiento de los cultivos.

Las bacterias de la rizósfera tales como: *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Acinetobacter*, *Arthrobacter*, *Azospirillum* y *Bacillum* ejercen un efecto directo en la promoción del crecimiento vegetal, el cual se lleva a cabo tras la fijación biológica del nitrógeno, la solubilización de minerales como el fósforo y la producción de hormonas reguladoras del crecimiento vegetal; en cuanto al efecto indirecto está relacionado con la producción de sustancias antagonistas de patógenos e induciendo resistencia en las plantas (Tejera et al., 2011).

3.1.2 Filogenia de las bacterias del suelo

Existe variabilidad y abundancia de miembros poblaciones bacterianas, las cuales puede estar reguladas por un gran número de factores biológicos, químicos y físicos (Jansenn, 2006). A continuación se presentan los principales géneros de bacterias del suelo de diversos estudios, identificadas mediante técnicas dependientes de cultivo (Cuadro 1).

Cuadro 1. Poblaciones de bacterianas del suelo, identificadas mediante técnicas de cultivo (porcentajes reportados por literatura).

Phylum	Subclases	Bibliografía
Pseudomonas spp (1%)		Jansenn, 2006
Eubacteria 92%		Vos et al., 2011
Proteobacteria (40%)	<i>Alphaproteobacteria</i> (20%)	
	<i>Gammaproteobacteria</i> (8%)	Janssen, 2006 y
	<i>Betaproteobacteria</i> (10%)	Nannipieri et al., 2017
	<i>Deltaproteobacteria</i> (2%)	
Actinobacteria	o <i>Actinobacteridae</i>	
Actinomycetes (13%)	<i>Acidimicrobidae</i>	Fierer et al., 2005
	<i>Rubrobacteridae</i>	
Bacillus (45%)		
Firmicutes (23%)		
Acidobacteria 20%		
Verrucomicrobia 7%		
Bacteroidetes 5%		
Chloroflexi 3%		
Planctomycetes 2%		Janssen, 2006
Gemmatimonadetes 2%		
Streptomyces 30%		
Pseudomonas 10%		
Nocardia 10%		
Micromonospora 10%		
Flavobacterium 10%		

(Fuente: Jansenn, 2006)

3.1.3 Perturbaciones agrícolas a la microbiota del suelo

La microbiota del suelo interviene en los procesos de mineralización y descomposición de la materia orgánica, formación y estabilización de agregados, ataque a rocas y minerales, participación en los ciclos biogeoquímicos, además constituye un reservorio lábil de nutrientes (Castrillo et al., 2017).

El panorama ámbito agrícola evidencia transformaciones en las características fisicoquímicas del suelo, afectando la actividad y composición de la biota del suelo. Entre ellas la contaminación por plaguicidas resultante de las prácticas agrícolas, la persistencia de residuos tras su uso es una amenaza para la biota del suelo, incluyendo raíces de plantas y microorganismos benéficos, que apoyan un número importante de servicios del ecosistema edáfico (Rivera et al., 2017, Espershütz et al., 2007).

Jacobsen *et al.*, (2014) y Keswani et al., (2014) establecen que el cambio en las prácticas agrícolas, tras la aplicación de fertilizantes sintéticos y plaguicidas que reducen los microorganismos promotores del crecimiento en la rizósfera, a la agricultura orgánica ha destacado el uso de microorganismos que llevan a cabo una función análoga.

3.2 Control biológico:

El control biológico se define como el uso deliberado de uno o más organismos competidores, antagonistas, depredadores y parasitoides; los cuales tienen como objeto reducir o controlar la población de plagas ó enfermedades y sus efectos negativos sobre los cultivos (Mendoza et al., 2003).

El empleo de microorganismos en el control biológico reduce la exposición de los trabajadores agrícolas a plaguicidas, fungicidas, pesticidas u otros agroquímicos potencialmente peligrosos, el estudio del potencial de las bacterias y los hongos endófitos para el control biológico de fitonemátodos ha adquirido gran importancia, existe una amplia gama de organismos usados en el control biológico principalmente bacterias y hongos, entre los cuales se destacan las cepas de los géneros de *Trichoderma sp.*

Algunas especies del genero *Trichoderma sp* son comunes en suelos ácidos y ricos en materia orgánica las cuales son fáciles de aislar, de cultivar y propagar en diversos sustratos; la mayoría presentan un buen micoparasitismo; en el mercado existe una amplia variedad de especies de biocontrol entre ellas: *T. viride*, *T. harzarium* y *T. virens* (Benítez et al., 2004, Mena et al., 2003, Mohiddin et al, 2010).

3.3 *Trichoderma spp*

3.3.1 Descripción general

Los hongos del género *Trichoderma spp* se encuentran en diversos sustratos tales como suelo, madera en descomposición, hongos comestibles y algunos como endófitos en plantas; ocupa la primera posición en el segmento de agentes fúngicos de control biológico, debido a su naturaleza antagónica y modos de acción: micoparasitismo, secreción de las enzimas degradantes de la pared celular, secreción de antibiosis de metabolitos secundarios, que tienen propiedades antimicrobianas y competencia por nutrientes (Contreras et al., 2014, Montoya et al., 2016, Gupta et al., 2014, Keswani et al., 2014).

Trichoderma sp, considerado un colonizador secundario debido a su frecuente aislamiento a partir de la materia orgánica en descomposición, también es aislado a partir de la superficie de raíces de varias plantas puesto que parasita fitopatógenos, mediante la síntesis de metabolitos secundarios con actividad antimicrobiana (fitoalexinas), aumentar la pared celular por deposición de lignina y la activación de proteínas relacionadas con la patogénesis (Martínez, 2013; Shores et al., 2010). Este agente de control tiene la habilidad de aumentar el crecimiento, desarrollo de las plantas y germinación de las semillas mediante la producción de metabolitos secundarios, sesquiterpenos volátiles, gliotoxina y un par de tricoteceno (Mukherjee et al., 2013).

3.3.2 Biología de *Trichoderma spp*

Trichoderma spp se encuentra clasificado según Gupta et al. (2014) como:

Reino: Fungi

División: Ascomycota

Subdivisión: Pezizomycotina

Clase: Sordariomycetes

Orden: Hypocreales

Familia: Hypocreaceae

Genero: *Trichoderma*

Especies: *T.harzianum*, *T.hamatum*, *T.viridae*, *T. longbranchiatum*, etc.

Las especies del género *Trichoderma spp* presentan conidióforos complejos y altamente ramificados en forma piramidal o cónica dando origen a esterigmas, con extremos ahusados. Al microscopio las fiáldes se observan más estrechas en la base superior, permitiendo una buena correlación entre el sistema de ramificación del conidióforo y la disposición de éstas. Las colonias de *Trichoderma spp* presentan un rápido crecimiento, formando una colonia delgada producto de la conidiación que presenta a través de su desarrollo. Las colonias iniciales son lisas y transparentes posteriormente se forman penachos blancos y algodonosos (micelio blanco) formando una red densa responsable del pigmento antraquinona que presenta un color amarillo, característico de *Trichoderma spp* (Robbertse et al.,2017).

Las especies más empleadas en el control biológico se destacan, *T. atroviride* que es un hongo filamentoso del suelo, funciona como un agente de control biológico, para una amplia gama de patógenos de plantas importantes desde el punto de vista aéreo y del suelo. La actividad micoparasitaria de este organismo se atribuye a una combinación de competencia nutricional exitosa, la producción de enzimas degradantes de la pared celular, antibiosis y producción de celulasa (Balcázar et al., 2016; Brunner et al., 2005).

Trichoderma virens es un micoparásito agresivo, capaz de parasitar no solo las hifas sino también las estructuras de resistencia a los hongos. Además de su actividad micoparasitaria, también puede producir quitinasa extracelular y varios antibióticos y puede inducir la producción de fitoalexinas vegetales. *T. virens* ha sido considerado un agente de control biológico versátil y efectivo. Además es un endófito de la planta, capaz de colonizar asintóticamente la planta huésped y ocupar el mismo nicho que los fitopatógenos (Romão et al., 2016).

3.3.3 Mecanismos de biocontrol de *Trichoderma spp*

Su gran tolerancia a condiciones ambientales extremas y hábitat donde los hongos son causantes de diversas enfermedades, le permiten ser un eficiente agente de control. Gracias a su gran variabilidad se constituye en un reservorio de

posibilidades de control biológico bajo diferentes sistemas de producción y cultivos (Martínez et al., 2014, Robbertse et al., 2017).

3.3.3.1 Micoparasitismo:

Consiste en la capacidad de *Trichoderma sp* para competir con otros microorganismos colonizando la superficie de la raíz y compitiendo por los nutrientes segregados por las raíces del suelo rizosférico. La interacción antagónica establecida entre dos especies de hongos, donde una de estas especies ataca directamente a otra es conocida como micoparasitismo, esta interacción antagónica fúngica se clasifica en dos grupos con base en la agresividad del parasito hacia su huésped (Guilger et al., 2017).

El primer grupo comprende interacciones biotróficas, en donde el hongo patógeno se alimenta de su huésped sin provocar su muerte, este tipo de interacción es específico por ende estos hongos no pueden ser usados con éxito como agentes de biocontrol (Contreras et al., 2016). El segundo grupo comprende las interacciones necrotróficas, siendo los agentes fúngicos más agresivos hacia su presa y tienen una amplia gama de huéspedes, el mecanismo empleado por *Trichoderma sp* implica eventos secuenciales y cooperativos incluyendo un crecimiento quimiotrófico hacia el huésped, el contacto directo y el enrollamiento alrededor de las hifas del huésped (Sacorro et al., 2017).

Trichoderma sp a su vez produce cambios morfológicos en sus hifas permitiéndole la formación de estructuras penetrantes de tipo *apresorios* y la producción de enzimas hidrolíticas que degradan las paredes celulares (CWDE), permitiendo que las hifas del huésped sean penetradas por *Trichoderma sp*, lo cual conlleva a la muerte del huésped y el aprovechamiento de la biomasa (Monfil y Casas, 2014).

3.3.3.2 Cambios morfológicos:

Trichoderma sp es capaz de percibir su huésped y orienta su crecimiento hacia su presa ésta característica se asocia al micoparasitismo de *Trichoderma*

sp., se desconocen evidencias moleculares que indiquen la naturaleza de la señal percibida por *Trichoderma sp* para dirigir su crecimiento a una presa o huésped.

El cambio morfológico más evidente, relacionado con el ataque del huésped, es cuando *Trichoderma sp* se enrolla alrededor de las hifas del huésped y desarrolla estructuras de penetración (Harman et al., 2004, Bueno et al., 2017).

3.3.3.3 Enzimas hidrolíticas:

La producción de enzimas hidrolíticas permite el establecimiento de una relación exitosa de micoparasitismo, las principales actividades participes en la degradación de la pared celular del huésped, incluyen actividades de quitinasa, glucanasa, N-acetilglucosaminidasa y proteasa (Olmedo y Casas, 2014).

Las enzimas líticas participan dentro del proceso de micoparasitismo, reconociendo una presa potencial, los cultivos sumergidos de *Trichoderma sp* que crecen en condiciones limitadas de nutrientes suplementadas con componentes del huésped tales como quitina o paredes celulares, da como resultado una regulación positiva de enzimas de degradación de paredes celulares (Olmedo-Monfil et al., 2002, Suárez et al., 2007).

3.3.3.4 Policétidos:

Estos metabolitos secundarios tienen como función facilitar a los organismos la competencia por nutrientes, reducir las capacidades de los competidores y establecer comunicación química con los organismos circundantes (Olmedo y Casas, 2014). Se ha reportado que las especies *T. atroviride* y *T. virens* tienen presencia de genes que modifican los policétido sintasas (Kubicek et al., 2011).

3.3.3.5 Sinergismo entre enzimas y antibióticos:

Diversos estudios resaltan el efecto cooperativo entre las enzimas líticas y los antibióticos que promueven los mecanismos de biocontrol de *Trichoderma*. Esta cooperación se da cuando las enzimas líticas rompen la pared de la célula del huésped, permitiendo que los antibióticos se difundan fácilmente a la superficie

de la célula, aumentando la concentración de antibióticos en la membrana. En conjunto estos afectan la actividad de la célula huésped para reparar la pared celular previamente dañada amplificando el efecto de las enzimas líticas (Olmedo y Casas, 2014).

3.3.3.6 Competencia por nutrientes:

Dentro de los diversos mecanismos de biocontrol de *Trichoderma sp* se destaca su capacidad para desplazar otras especies de hongos en la rizósfera ya que son excelentes competidores por espacio y nutrientes, las cepas de *Trichoderma sp* se destacan ya que absorben fácilmente los nutrientes y crecen más rápido que sus competidores otorgándoles ventaja para sobrevivir y colonizar (Monfil y Casas, 2014).

El requerimiento por el hierro se ha asociado con la supresión de *Fusarium oxysporum* y *Fusarium stilboides* por *Trichoderma sp* mediante la producción de sideróforos, péptidos que funcionan como enlaces y transportadores de hierro (Segarra et al., 2010, Li et al., 2018). En *T. virens*, se han identificado tres clases de hidroxamato siderófo, un sideróforo ferrocrocino intracelular esta implicado en la distribución intra e intercelular del hierro a su vez este también participa en la protección celular contra el estrés oxidante. Los análisis genómicos han demostrado que cada genoma de *Trichoderma sp* contiene un gen que participa en la síntesis del ferricrocino, los resultados preliminares indican su papel en la protección contra el estrés oxidativo, como se demostró para *A. fumigatus* (Mukherjee et al., 2012).

3.3.4 Interacción de *Trichoderma spp* planta

3.3.4.1 Promoción del crecimiento en las plantas

La biofertilización es el uso de microorganismos beneficiosos para el suelo, bacterias y hongos que viven o no es asociación simbiótica con las plantas mejorando su nutrición, crecimiento y la calidad del suelo. Varias especies de *Trichoderma* han sido declaradas biofertilizantes dada su capacidad para colonizar

raíces, mejorar la nutrición de las plantas, su crecimiento y desarrollo así como la resistencia a tensiones abióticas (Olmedo y Casas, 2014).

Los primeros estudios efectuados con *Trichoderma* como promotor del crecimiento en plantas se efectuaron en rábano, tomate y tabaco (Baker et al., 1984; Windham et al., 1986). Se demostró que *T. harzianum rifai* y *T. koningii* incrementaron el crecimiento de las plantas posterior a su inoculación, variando la cantidad del sustrato y la concentración de conidios en el sustrato (Baker et al., 1984).

Estos resultados permitieron determinar que *Trichoderma sp* produce un factor regulador del crecimiento promoviendo la germinación de las semillas y un aumento en la biomasa (Baker et al., 1984). Las plantas de rábano que crecieron en condiciones gnotobióticas con *T. harzianum* fueron más grandes que aquellas que crecieron en condiciones similares sin *Trichoderma sp*.

Lynch et al., (1991), demostró que la promoción del crecimiento en lechuga posterior al tratamiento con *T. harzianum* aumentó las tasas de emergencia y peso seco después de 25 días.

A su vez *T. longiple* y *T. tomentosum* aumentaron el área foliar (58-71%), el peso seco de la raíz (91-102%) y el peso seco de la raíz (100-158%) de las plántulas de repollo en ensayos de invernadero (Rabeendran et al., 2000).

La aplicación de *Trichoderma sp* en suelo como una formulación de salvado de turba, el enraizamiento de clavel y crisantemo sus estacas mejoraron y se produjo una floración mas temprana, a su vez se reportaron aumentos en el peso de las plantas medicinales y ornamentales y el la producción de flores de: petunia, pervinca, caléndula y alyssum (Baker, 1988, Chang et al., 1997)

3.3.4.2 Colonización de las raíces en plantas

Esta interacción se produce en monocotiledóneas y dicotiledóneas la colonización se produce en raíces de las plantas o en toda la planta. *Trichoderma* durante la colonización de las raíces crece intercelularmente, la epidermis, la corteza y los vasos permanecen intactos en algunos casos se alteran mínimamente. Una vez que las hifas han entrado en las raíces, el hongo crece en

el espacio intercelular de la epidermis. La colonización de las raíces induce el fortalecimiento de las paredes celulares de las células vegetales mediante deposición de callosa, celulosa y la producción de compuestos fenólicos confiriendo alta rigidez a las paredes de la célula huésped a través de la reticulación mediada por peroxidasa (Olmedo y Casas, 2014).

Moran et al., 2009. Encontró mediante el análisis del proteoma un sistema enzimático en tres componentes (*Trichoderma sp*, plántulas de tomate y patógeno) la actividad de *T. harzianum* (gen qid74) dio como resultado un crecimiento reducido en pectina que contenía, una capacidad media y reducida para colonizar raíces de tomate, aumentó la superficie total de adsorción, permitiendo a la planta absorber, translocar y absorber nutrientes en los brotes, lo que resulta en un incremento en la biomasa vegetal (Samolski et al., 2012).

Otro mecanismo empleado por *Trichoderma* para colonizar las raíces se relaciona con la supresión en la producción de fitoalexina en las plantas, lo cual fue demostrado por Masunaka et al., 2011 para *Lotus japonicus* durante su interacción con *T. koningii* quien induce la codificación de enzimas.

3.3.4.3 Resistencia sistémica en plantas

Trichoderma puede activar la resistencia local o sistémica en las plantas, las primeras respuestas de defensa incluyen la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), muerte celular programada durante la respuesta hipersensible (HR), síntesis de metabolitos secundarios con actividad antimicrobiana (fitoalexinas), espesamiento de la pared celular por deposición de lignina y la activación de proteínas relacionadas con la patogénesis (Olmedo y Casas, 2014; Contreras et al., 2016).

Yedidia et al., 2000, 2003 demostraron tras la inoculación de *T. harzianum* T39 en plantas de pepino y algodón incrementó la producción de metabolitos secundarios fenólicos, también conocidos como fitoalexinas.

Los estudios efectuados a las plantas de algodón y pepino tratadas con cultivos celulares de *Trichoderma* aumentaron la síntesis de terpenoides y la

inducción de genes relacionados con la defensa en las plantas (Howell et al., 2000).

En la siguiente Figura 1, se esquematizan los cuatro niveles de interacciones en el proceso de fitoestimulación provocado por *Trichoderma sp*: comunicación basada en la liberación de compuestos orgánicos volátiles (COV), producción de auxina y precursores de auxinas que son detectadas por las plantas para modular la arquitectura de las raíces, activación de respuestas locales y sistémicas a través de contacto físico entre las hifas y la epidermis de la raíz o liberando elicitores y proliferación de micelio en partes internas de la planta (Contreras et al., 2014; Velázquez et al., 2011).

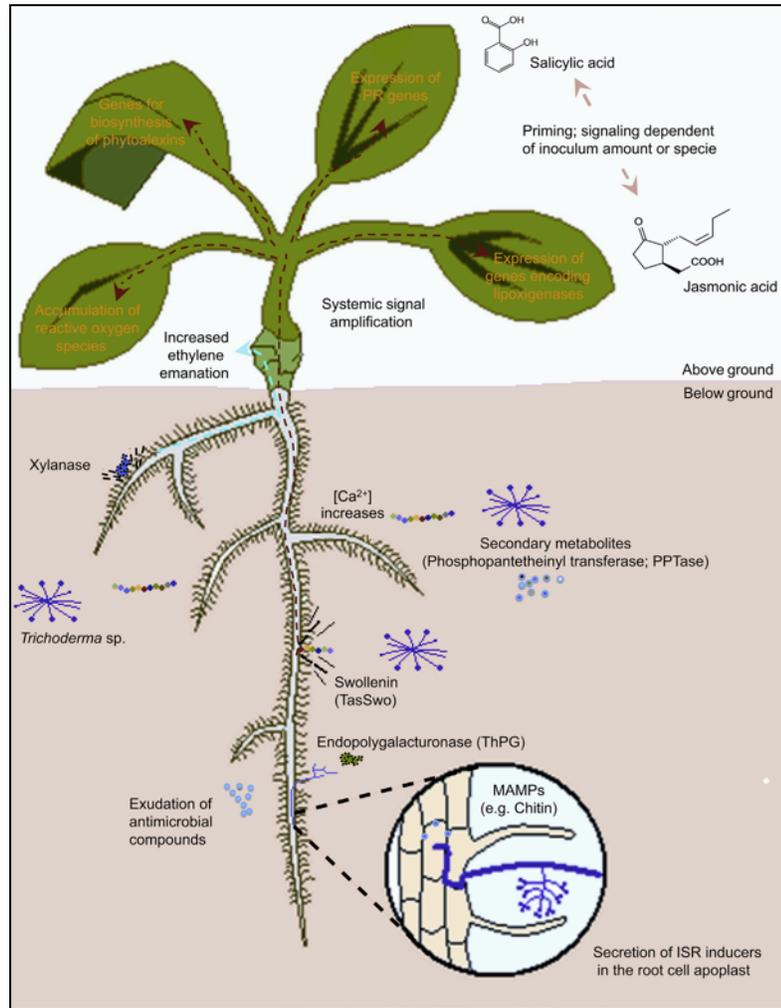


Figura 1. Mecanismo promotor de defensa de las plantas e interacciones.

Proceso de fitoestimulación inducido por *Trichoderma* spp.

3.3.5 Interacción con la rizósfera de la planta

Trichoderma spp es uno de los hongos más interactivo en la raíz, planta, suelo y en los entornos foliares, es conocido que *Trichoderma* spp cuenta con una amplia gama de sustancias antibióticas parasitantes, compite con otros microorganismos por exudados de semillas estimulando la germinación de los propágulos y compite por nutrientes y espacio (Howell, 2006).

Debido a lo cual *Trichoderma* spp es un colonizador eficaz, con un extraordinario potencial de biodegradación, para no restringir a los simbioses vegetales que colonizan la rizósfera. La solubilización de minerales es un fenómeno de importancia en los suelos agrícolas, dicho fenómeno esta regulado por microorganismos dentro de los que se destacan los géneros de hongos como

Mortierella spp, Penicillium spp, Aspergillus spp, Fusarium spp, Rhizoctonia spp y Trichoderma spp (Woo et al., 2003).

3.4 Sistema agrícola de estudio: Chile Jalapeño (*Capsicum annum* L. var. *annuum* L. cv. 'Jalapeño')

Los chiles y pimientos son tradicionales en la gastronomía mexicana, están constituidos principalmente por los cultivos de chile de árbol, chile habanero, chile campana, chile ancho y chile anaheim. Con una producción anual de 3.2 millones de toneladas y crecimiento anual promedio de 4.82% en periodo que comprende 2003, estos productos mostraron una creciente y estable participación en la oferta nacional.

China tiene una producción de 17.765.262 toneladas, ocupando el primer lugar en producción de chile verde, por su parte México con una producción de 2.797.204 toneladas, ocupa el segundo lugar en producción de chile verde, dicha actividad involucra 18.809 ha superficie cosechada y representa el 24.92% producción nacional (FAO, 2017, SAGARPA,2017).

Siendo un cultivo importante de exportación, ya que el 29.71% de la producción total se destina al mercado internacional; las exportaciones mexicanas representaron un porcentaje muy significativo de las importaciones de chile y pimientos que se hacen a los siguientes países: EEUU, 77.99%; Canadá, 55.45% y Guatemala, 52.25 %, posicionándolo como un proveedor predilecto en el comercio internacional de este cultivo (SAGARPA, 2017).

En la Figura 2, se presentan las regiones potenciales y estratégicas de producción de chile jalapeño durante las estacionalidades de primavera-verano.

Para la temporada de primavera-verano son 26 regiones potenciales que corresponden a las áreas históricamente productoras (2011 a 2016), más 16 regiones estratégicas con alto potencial productivo.

Siendo los estados sobresalientes en la producción de chile jalapeño Sinaloa (con 32 % del valor), Zacatecas (15 %) y Chihuahua (15 %) seguidos por San Luis Potosí (7%) y Tamaulipas (6%), estos cinco estados también encabezan

la lista por superficie sembrada y volumen de producción, para las temporadas de primavera-verano y otoño-invierno (SAGARPA, 2017).

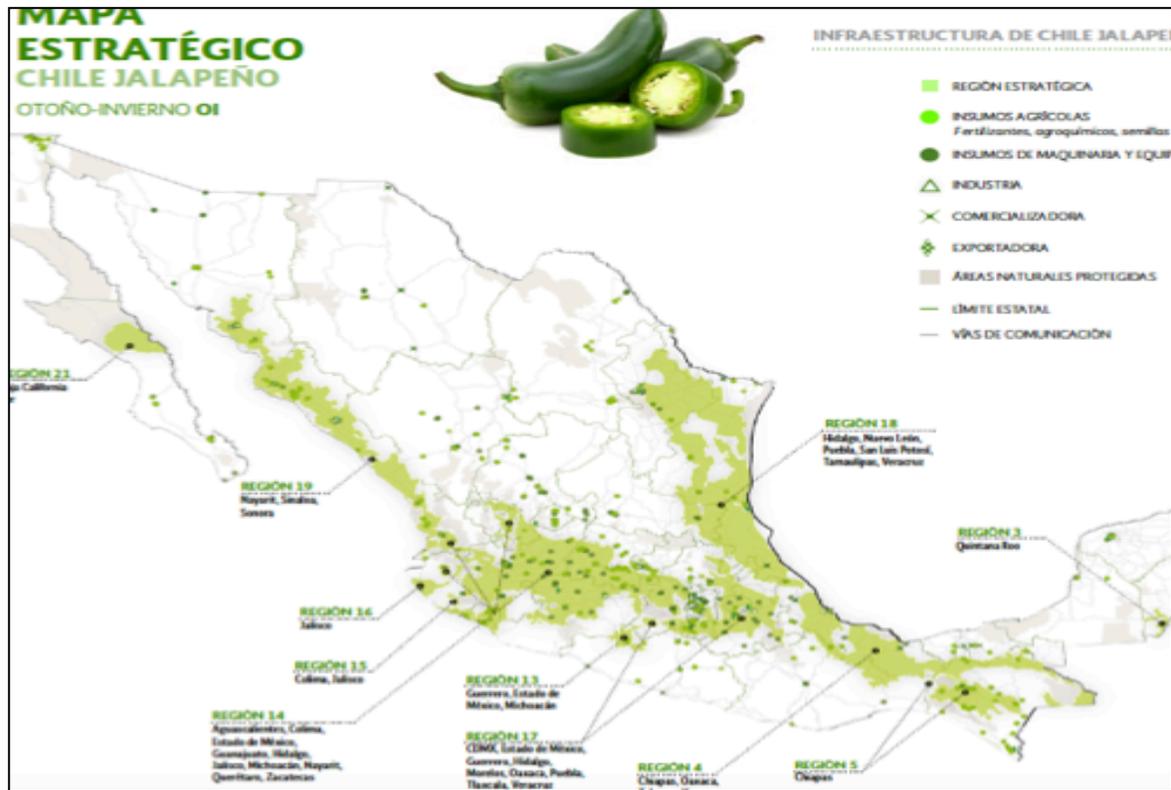
En cuanto a la temporada otoño-invierno en se presentan las regiones potenciales y estratégicas de producción de chile jalapeño, (Figura 3), podemos observar 21 regiones potenciales, áreas históricamente productoras entre 2011 a 2016 y 11 regiones estratégicas con potencial alto y medio para el cultivo de chile jalapeño para la temporada de otoño-invierno (SAGARPA, 2017).

El cultivo de ésta hortaliza es de suma importancia debido a su gran consumo, alta rentabilidad y a su amplia demanda de mano de obra.



REGIÓN	Tipo de región (productora)	Frontera agrícola (ha)	Ha con potencial	Superficie cosechada 2016 (ha)	Participación en la producción nacional 2016	Rendimiento promedio 2016 (ton/ha)	PMR 2016 (\$/ton)
2	Con potencial	518,095	472,082	1,314.00	0.43%	8.87	3,598
3	Con potencial	2,994,875	2,786,504	181.00	0.03%	5.19	6,623
4	Con potencial	722,655	693,865	2.70	0.00%	20.21	8,709
13	Con potencial	4,534,532	4,338,790	2,716.05	3.15%	31.75	6,823
14	Con potencial	53,019	51,681	216.00	0.23%	29.46	5,853
15	Con potencial	42,862	42,671	26.00	0.03%	35.23	6,119
17	Con potencial	1,638,592	1,467,265	131.00	0.05%	11.36	7,096
18	Con potencial	4,610,035	4,370,735	434.50	0.46%	29.27	6,438
19	Histórica	11,517	5,221	5.00	0.01%	30.20	7,800
20	Histórica	139,793	0	141.00	0.22%	42.28	6,427
21	Histórica	405,589	0	10,245.17	16.73%	44.69	4,530
22	Con potencial	2,066,055	1,926,962	50.00	0.05%	25.20	6,015
23	Histórica	160,793	0	2,280.00	2.14%	25.70	5,182
24	Histórica	205,769	30,301	300.00	0.44%	40.00	5,500
25	Histórica	692	61	433.00	0.55%	34.52	13,600
26	Histórica	101,227	29,277	334.00	0.40%	32.42	10,704
Nacional		19,731,931	17,657,740	18,809.42	24.92%	36.26	6,251

Figura 2. Regiones potenciales y estratégicas de producción de chile jalapeño. Primavera-verano. Fuente: SAGARPA, 2017.



REGIÓN	Tipo de región (productora)	Frontera agrícola (ha.)	Ha con potencial	Superficie cosechada 2016 (ha.)	Participación en la producción nacional 2016	Rendimiento promedio 2016 (ton/ha)	PMR 2016 (\$/ton)
3	Con potencial	73,829	70,479	147.00	0.05%	8.38	3,865
4	Con potencial	3,201,956	2,942,185	2,319.00	0.34%	3.97	7,725
5	Con potencial	566,602	538,461	19.00	0.01%	20.66	8,226
13	Con potencial	174,107	174,107	2.50	0.00%	5.10	12,000
14	Con potencial	4,501,099	4,338,015	1,227.80	1.25%	27.95	6,134
15	Con potencial	53,178	51,840	352.74	0.54%	41.77	6,439
16	Con potencial	43,746	43,639	294.00	0.45%	42.33	5,393
17	Con potencial	1,619,689	1,448,362	27.80	0.02%	16.58	6,280
18	Con potencial	4,578,404	4,350,178	812.50	0.68%	22.86	7,098
19	Con potencial	2,124,857	1,960,669	4,825.24	5.92%	33.58	6,573
21	Histórica	692	61	122.00	0.16%	36.27	12,600
Nacional		18,868,547	17,592,406	10,149.58	9.42%	25.40	6,766

Figura 3. Regiones potenciales y estratégicas de producción de chile jalapeño. Otoño-invierno. Fuente: SAGARPA, 2017.

3.4.1 Botánica y taxonomía

La clasificación taxonómica del chile es la siguiente:

Nombre Científico: *Capsicum sp*

División: Embriophyta, Asiphonograma

Subdivisión: Angiospermas

Clase: Dicotiledoneas

Orden: Polemoniales

Familia: *Solanaceae*

Género: *Capsicum*

Especie: *Capcicum frutescens*, *C. baccatum*, *C. chinense*, *C. Pubescens*, *C. annum var. Glabriusculum- aviculare*, *C. annum var. Annuum* entre otras.

El chile jalapeño es una variedad del género vegetal *Capsicum* de la familia *Solanaceae*, es una planta que tiene tallos erectos, herbáceos y ramificados de color verde oscuro; el sistema de raíces llega a profundidades de 0.70 a 1.20 m y lateralmente hasta 1.20 m; la altura promedio es de 60 cm. Las hojas son planas, simples y de forma ovoide alargada, y las flores perfectas (hermafroditas), formándose en las axilas de las ramas; a veces de color blanco o purpura. El fruto en algunas variedades se hace curvo cuando se acerca a la madurez; el color verde se debe a las altas cantidades de clorofila acumulada. Los frutos maduros toman color rojo o amarillo debido a los pigmentos; la picosidad la determina el pigmento capsaicina y el color define el momento adecuado de recolección (SAGARPA, 2017).

La clorofila es el principal agente capaz de absorber la energía lumínica y transformarla en energía química, para sintetizar los compuestos orgánicos requeridos por la planta. Las clorofilas a y b están presentes en el tejido fotosintético en una relación a:b y difieren entre si debido a que la clorofila b tiene un grupo formilo que sustituye una de las cadenas metilo lateral, mientras que la clorofila a tiene un metilo en esta posición (Badui & Cejudo, 2006)

La capsaicina es el compuesto más importante dentro del grupo de capsaicinoides y es uno de los compuestos activos que produce el sabor pungente en las diversas variedades de chile, se encuentra principalmente en el pericarpio, sin embargo en las semillas se acumula por difusión (Badui & Cejudo, 2006).



Figura 4. Fisiología planta y frutos. Chile jalapeño (*Capsicum annuum* L. var. *annuum* L. cv. 'Jalapeño').

Comprende tres etapas de desarrollo del cultivo, que comprende un periodo de 20 semanas y son: Emergencia y desarrollo de las hojas, desarrollo vegetativo y floración y fructificación y maduración de las semillas (Figura 5)

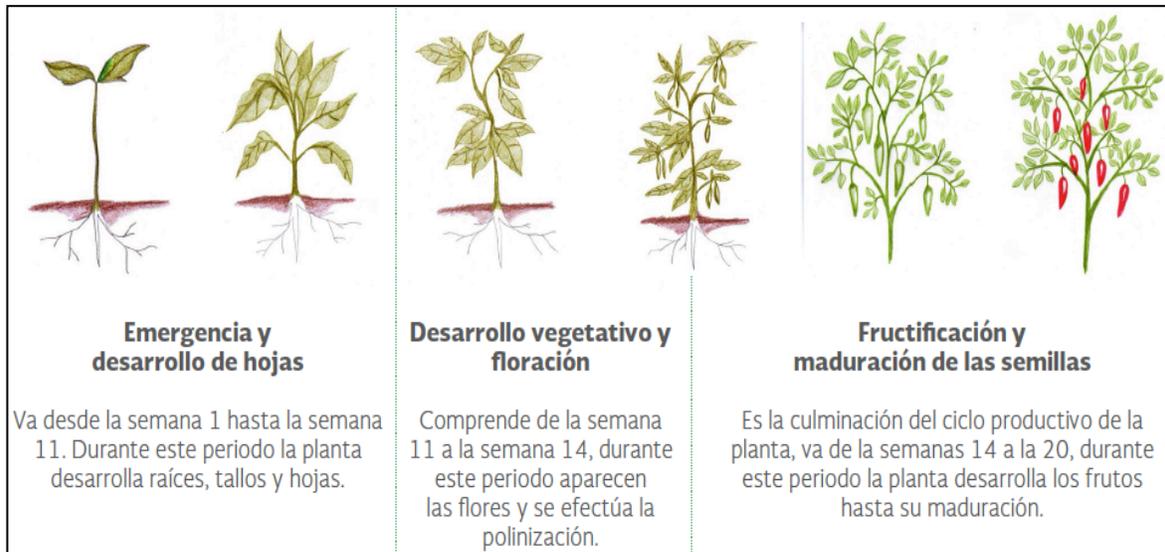


Figura 5. Etapas de desarrollo. Cultivo de chile jalapeño (*Capsicum annum* L. var. *annuum* L. cv. 'Jalapeño').

El chile es susceptible de presentar daño por enfermedades bióticas y no bióticas en cualquiera de sus etapas de su desarrollo. Las enfermedades ocasionadas por hongos, bacterias y virus representan la mayor problemática en la producción del chile (Salas et al., 2011).

Dentro de las enfermedades causadas por hongos se destaca la pudrición de la raíz, marchitez o secadera ocasionada por el patógeno *Fusarium stilboides*; el cual ingresa al sistema vascular y utiliza vasos de xilema para colonizar rápidamente el huésped de la planta y promover la obstrucción de los vasos. La colonización exitosa de plantas hospedadoras por *F. stilboides* conduce a la necrosis de los tejidos infectados, el posterior colapso del vaso vascular y la muerte de la planta (Beckman, 1987; Catharina et al., 2018).

Este proceso requiere una serie de pasos biológicos estrechamente controlados: Reconocimiento de raíces a través de señales de host desconocidas, fijación en la superficie de la raíz por hifas y diferenciación en estructuras penetrantes, penetración en la corteza de la raíz y degradación de las barreras físicas del huésped, adaptación al entorno hostil creado por los tejidos vegetales infectados y proliferación de hifas dentro de vasos de xilema y secreción de determinantes de virulencia y producción de microconidios (Catharina et al., 2018).

Finalmente los síntomas que la planta manifiesta son: clorosis y necrosis de las hojas, caída prematura y rizado de hojas, defoliación, pérdida de estructuras reproductivas, necrosis en la raíz, pudriciones de raíz o base del tallo, maduración adelantada e irregular de frutos y muerte de planta (Munkvold et al., 2017, Sandoval et al., 2018).

De acuerdo a lo reportado por Méndez et al. (2015) y Salas et al. (2011) las pérdidas en cultivos de chile jalapeño ocasionadas por *Fusarium stilboides*, oscilan entre un 10 y 60% a nivel nacional, mientras que en áreas específicas del Bajío y Puebla alcanzan el 100%, como consecuencia de la incidencia de ésta enfermedad, la superficie sembrada ha disminuido o se ha desplazado a nuevas áreas.

Los fungicidas son empleados en el control de este fitopatógeno, sin embargo su uso conlleva al aumento de la resistencia y puede afectar negativamente el medio ambiente y la salud humana. Por lo tanto, se necesitan soluciones más ambientalmente sostenibles, como los métodos de control biológico (De Senna et al., 2017).

4 HIPOTESIS

El tratamiento establecido para el sistema de cultivo de chile jalapeño (*Capsicum annuum* L. var. *annuum* L. cv. 'Jalapeño'), con los agentes de control biológico *Tricoderma atroviride* y *Tricoderma virens* dirigido al patógeno *Fusarium stilboides*, presenta un efecto sobre las poblaciones microbianas de la rizosfera de este cultivo.

5 OBJETIVOS

5.4 Objetivo general:

Estimar la población microbiana de la rizosfera, del cultivo de chile jalapeño (*Capsicum annuum* L. var. *annuum* L. cv. 'Jalapeño'), posterior al tratamiento con los agentes de control biológico *T. atroviride* y *T. virens*, dirigido a *Fusarium stilboides*.

5.5 Objetivos específicos:

- Establecer el tratamiento con los agentes de control biológico *T. atrivoide* y *T. virens*, en un sistema de cultivo de chile jalapeño (*Capsicum annuum* L. cv. Annuum) dirigido a *Fusarium stilboides*.
- Evaluar la capacidad antagónica de *T. atroviride* y *T. virens* dirigido a *Fusarium stilboides*, determinado por los parámetros fisiológicos del cultivo.
- Determinar las poblaciones bacterianas de la rizósfera del chile jalapeño, tratado con los agente de control biológico *T. atrivoide* y *T. virens*, determinados por métodos microbiológicos durante las etapas de desarrollo del cultivo.

6 METODOLOGÍA

6.1 Sitio de estudio

El trabajo experimental se realizó en el Laboratorio de mutagénesis ambiental del Centro de Estudios Académicos sobre Contaminación Ambiental (CEACA) de la Facultad de Química de la UAQ., el ensayo en cámara se efectuó, en la cámara de crecimiento Biotronette mark III (Lab-line Instrument, Illinois, Estados Unidos), con un fotoperiodo de 16/8 h a 24 ± 1 °C, 65 % de humedad relativa y $150 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de luz. El ensayo en invernadero se efectuó en el invernadero del Centro de Estudios Académicos sobre Contaminación Ambiental (CEACA) de la Facultad de Química de la UAQ.

6.2 Caracterización del suelo

Para el ensayo en cámara se empleó, el suelo arcilloso arenoso obtenido del municipio de Zimapán, estado de Hidalgo, México ($20^{\circ}73'73''\text{N}$, $99^{\circ}41'24''\text{O}$), tal como se muestra en la Figura 6.



Figura 6. Mapa cartográfico. Que delimita las coordenadas del suelo empleado, para el ensayo en camara .

Para el ensayo invernadero se empleo, el suelo arcilloso, obtenido del municipio de Querétaro, estado de Querétaro, México (20°35'17"N, 100°23'17"O), tal como se muestra en la Figura 7.

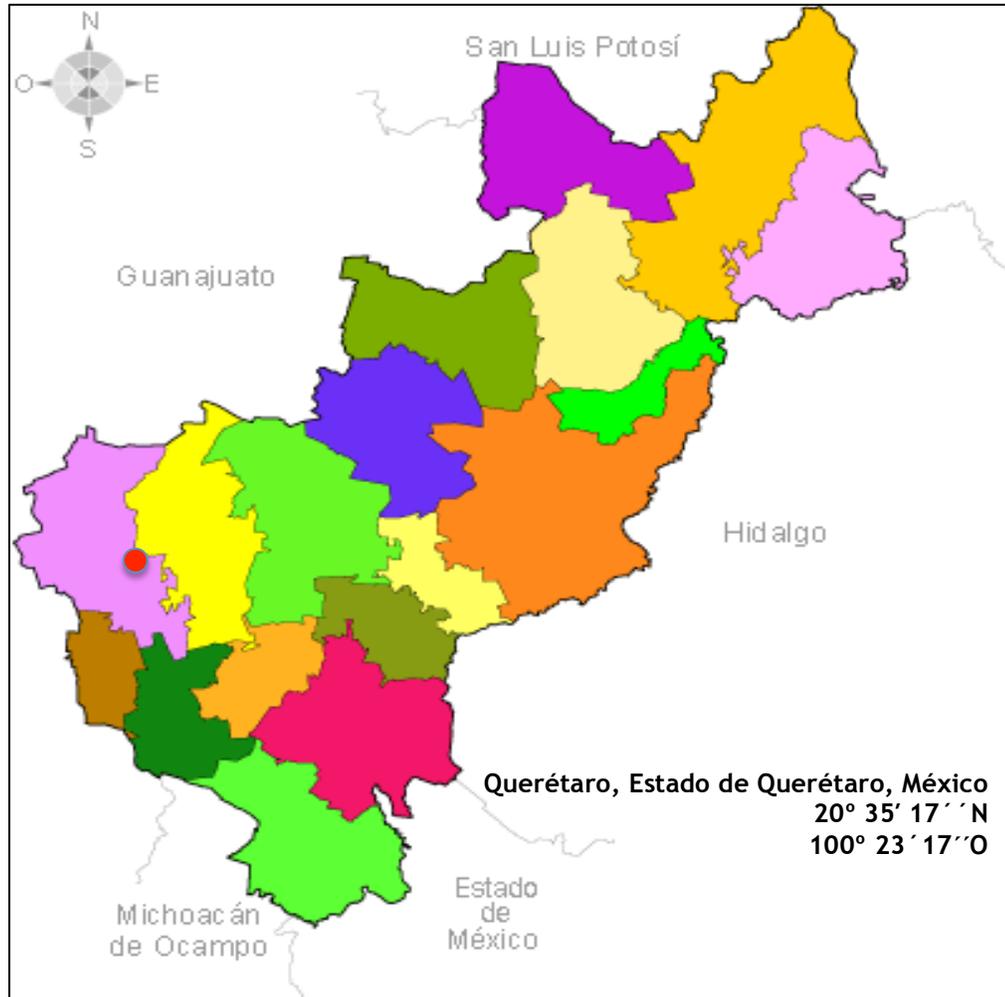


Figura 7. Mapa cartográfico. Que delimita las coordenadas del suelo, empleado para el ensayo en invernadero.

Según lo establecido en la NOM-021- SEMARNAT-2000 se caracterizaron y determinaron los parámetros de: pH, potencial redox, humedad del suelo, materia orgánica, conductividad eléctrica, análisis textural, temperatura, densidad real, densidad aparente, agregados estables, saturación de bases, capacidad de campo, capacidad de intercambio catiónico, nitrógeno total, y carbono orgánico.

6.3 Obtención de plantas de chile jalapeño

Para la obtención de las plantas, se emplearon semillas de chile jalapeño (*Capsicum annuum* L. var *annuum* L. cv. 'Jalapeño') de la casa comercial lark

seeds, variedad colossus (California, Estados Unidos). Se efectuó la siembra de las semillas en charolas de poliuretano, se colocaron dos semillas en cada cavidad (3x3 cm) (Velasco et al., 2001), el sustrato utilizado fue peat moss, teniendo como fecha de siembra el 26 de Junio de 2017 y el 12 de marzo de 2018, se regó cada tercer día cubriendo los requerimientos de riego.

El primer brote y la primera hoja verdadera en las plantas (Figura 8, A) se observó el 6 de Julio de 2017 para el ensayo en cámara y 23 de marzo de 2018 correspondiente al ensayo en invernadero (Figura 8, B)

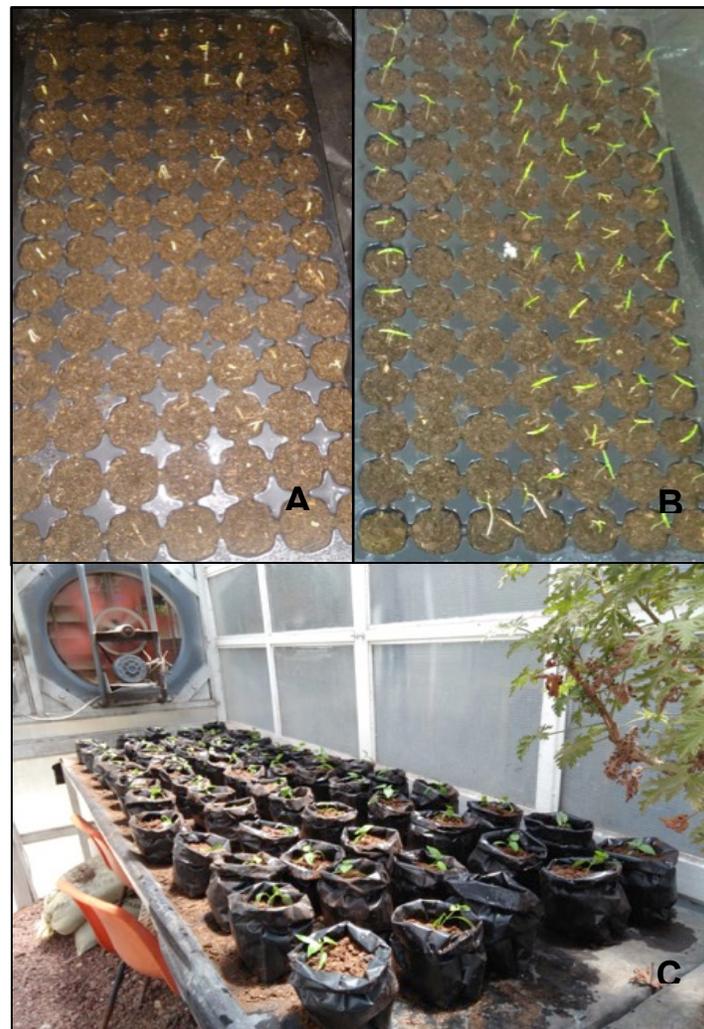


Figura 8. Germinación y trasplante de plántulas. A) Ensayo en cámara, B y C) invernadero, del sistema de cultivo de chile jalapeño (*Capsicum annuum* L. var *annuum* L. cv. 'Jalapeño').

Posterior a la germinación, las plántulas obtenidas se trasplantaron en bolsas de polietileno de tres kg, las cuales se llenaron con una relación 1:1 de peat moss y suelo arcilloso (ensayo en cámara) y suelo arcilloso arenoso (ensayo en invernadero).

Una vez que se las plantas se adaptaron las proceso de trasplante, fueron inoculados con los aislamientos de *Trichoderma atroviride*, *Trichoderma virens* y *Fusarium stilboides*, en función de los tratamientos establecidos (Figura 8, C) (Lardizabal y Medlicott 2010).

La cepas de *T. atroviride*, *T. virens* y *F. stilboides* (Figura 10) almacenadas en medio de agar papa dextrosa a 4° C, se activaron tomando una porción del micelio del cultivo con una aguja de disección, se efectuó una resiembra de los hongos en placas de APD y se incubo durante 8 días a 26° C.

Posteriormente se removieron las esporas de los hongos y se suspendieron en diluyente peptona y 0.05% v/v de Tween 80, se sónico durante 1 min y se filtro con una gasa estéril. El recuento de las esporas se realizo en cámara de Neubauer y se ajusto la concentración de los inóculos, 1×10^6 esporas mL^{-1} para los agentes de control *T. atroviride* y *T. virens* y 1×10^5 esporas mL^{-1} para el patógeno *F. stilboides* y la viabilidad de las esporas se determinó mediante vaciado en placa (Salas et al., 2011, Chávez et al., 2011).

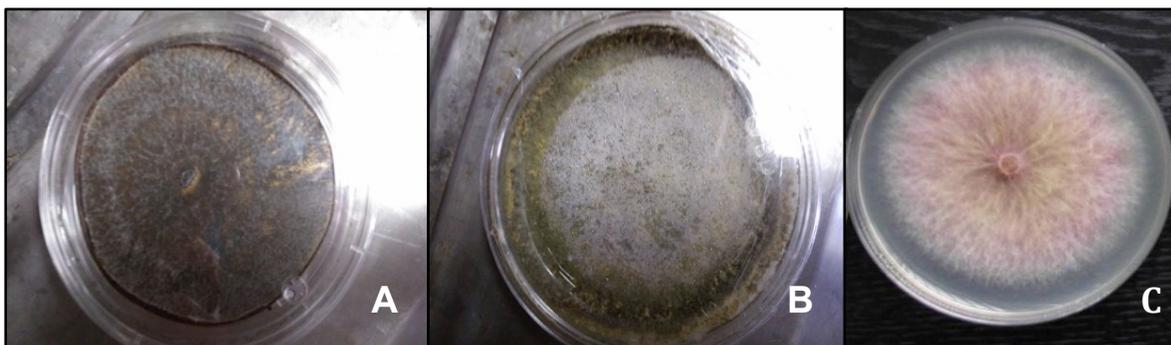


Figura 9. Cepas almacenadas en agar papa dextrosa. A) *Trichoderma atroviride*, B) *Trichoderma virens* y C) *Fusarium stilboides*.

Se inoculó por aspersión con una suspensión de 240 mL (1×10^6 esporas mL^{-1} agente de control y 1×10^5 esporas mL^{-1} patógeno), se permitió la interacción de las plantas con el agente de control durante dos semanas (Figura 11) para su posterior inoculación con el patógeno.

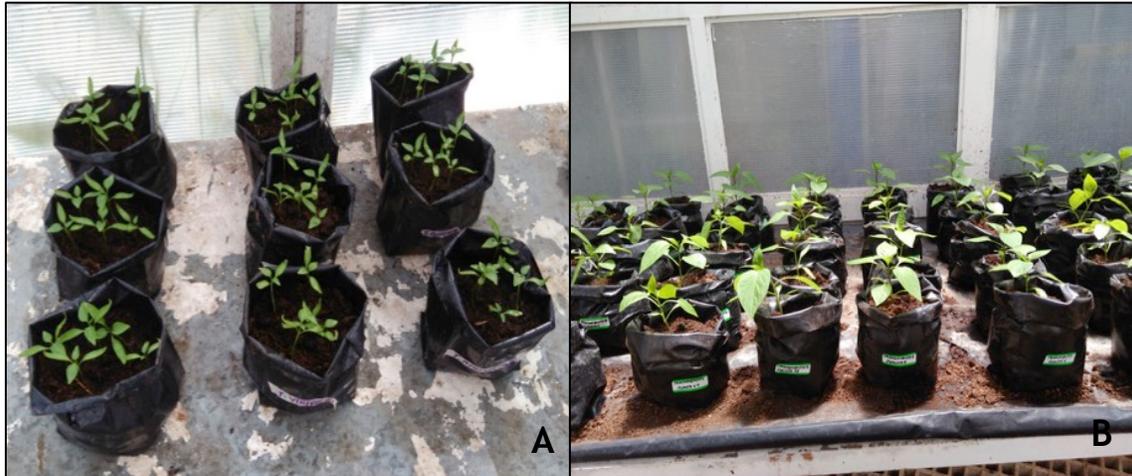


Figura 10. Plantas de chile jalapeño, inoculadas con los agentes de control biológico. A) Ensayo cámara B) Ensayo invernadero.

Las cepas de los agentes de control fueron otorgadas por el Doctor Sergio Casas, del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica (IPICYT) y la cepa del patógeno fue otorgada el Doctor Ramon Peniche del laboratorio de Microbiología Sanitaria de la Universidad Autónoma de Querétaro (UAQ).

6.4 Diseño experimental y tratamientos

Para el ensayo en cámara, se establecieron 6 tratamientos, con 7 repeticiones, para un total de 42 unidades experimentales distribuidas en un diseño experimental completamente al azar, de acuerdo a lo establecido por López et al., 2017, Casler, 2015 y Tapia et al., 2016 (Cuadro 2).

Cuadro 2. Tratamientos ensayo en camara, establecidos al sistema de cultivo de chile jalapeño (*Capsicum annum L. var annum L. cv. 'Jalapeño'*).

Tratamientos, Suelo Hgo.	
T1	Planta + Sustrato
T2	Planta + <i>Trichoderma atroviride</i>
T3	Planta + <i>Trichoderma atroviride</i> + <i>Fusarium stilboides</i>
T4	Planta + <i>Trichoderma virens</i>
T5	Planta + <i>Trichoderma virens</i> + <i>Fusarium stilboides</i>
T6	Planta + <i>Fusarium stilboides</i>

Para el ensayo en invernadero se estableció un diseño completamente al azar, con 4 tratamientos y 3 repeticiones por tratamiento, para un total de 60 unidades experimentales, de acuerdo a lo establecido por Nuncio et al., 2015 y Pinzón et al., 2015 (Cuadro 3).

Cuadro 3. Tratamientos ensayo en invernadero, establecidos al sistema de cultivo de chile jalapeño (*Capsicum annum L. var annum L. cv. 'Jalapeño'*).

Tratamientos, Suelo Qro.	
T1	Planta + Sustrato
T2	Planta + <i>Trichoderma atroviride</i> + <i>Fusarium stilboides</i>
T3	Planta + <i>Trichoderma virens</i> + <i>Fusarium stilboides</i>
T4	Planta + <i>Fusarium stilboides</i>

6.5 Parámetros fisiológicos del chile jalapeño plata y fruto.

6.5.1 Parámetros fisiológicos: De acuerdo a la metodología establecida por Hernández et al., (2012) y Hoyos et al., (2015), se registraron los siguientes parámetros en plantas de chile jalapeño durante 20 semanas:

- Altura de la planta (cm): medida desde el cuello de la raíz hasta el ápice.
- Longitud parte aérea planta (cm): se determinó con una cinta métrica en cm.

- Longitud raíz y longitud fruto (cm): se determinó con una cinta métrica en cm.
- Peso fresco planta y peso fresco fruto (gr) : para el análisis de esta variable se utilizaron bolsas de papel etiquetadas con su número de tratamiento y repetición y se pesaron mediante una balanza analítica.
- Peso seco planta y peso seco fruto (gr): se utilizaron las muestras recolectadas de peso fresco y se secaron en un horno sin flujo de aire a 55° C durante 48 h y se peso en una balanza analítica.

En los frutos obtenidos por cada bioensayo, se determino el contenido de capsaicina.

6.5.2 Determinación del contenido de capsaicina:

De acuerdo a lo establecido por Cerón et al., (2014), se tomaron los frutos obtenidos se les eliminaron los tallos y se sometieron a un proceso de secado en un deshidratador de alimentos a 56° C con un flujo de aire de 2 m^{s-1} durante 48 h.

Se pesaron 3 g de los chiles frescos y se mantuvieron en reflujo por 3 h con 70 ml de metanol, el extracto obtenido se filtro con papel filtro y se añadió 15% (p/p) de carbón activado al filtrado. Se filtro nuevamente el extracto y se evaporo el metanol a 64° C, el extracto obtenido sin disolvente se almaceno a -4° C.

Para la cuantificación de la capsaicina por análisis espectrofotométrico se empleo la metodología establecida por Marín et al., (2004), se tomaron 1000 µL del extracto y se disolvieron en agua, a los cuales se les añadió 2 mL de una solución 0.5M de HCl, junto con 1 mL de solución 0.5M de NaNO₂ y 0.025M de NaMoO₄ y se agitó.

La solución se dejó reposar durante 15 min, y después se añadieron 2 mL de una solución 0.1M de NaOH. Después de 30 min se midió la absorbancia 420 nm con un espectrofotmetro UV-Vis.

La curva estándar se elaboro con una solución de vainillina en acetato de etilo en las siguientes concentraciones: 0, 0.2, 0.4, 0.5, 1.0, 2.0, 3.0 y 4.0 mL, los estándares fueron tratados igual que las muestras, para calcular la concentración

de capsaicinoides en cada muestra de extracto de chile, se empleó la siguiente ecuación :

$$\text{Absorbancia} = 25.789 (\text{mg capsaicinoides}) - 0.063 (\text{Ecuación 1})$$

Ecuación 1: Concentración de capsaicinoides expresados en mg de los extractos de chile jalapeño (*Capsicum annuum* L. var *annuum* L. cv. 'Jalapeño').

6.6 Patogenicidad de *Fusarium stilboides*, en las plantas de chile jalapeño.

6.6.1 Incidencia de la enfermedad:

De acuerdo con lo establecido por López et al., 2016, se identificó la incidencia del patógeno, mediante la expresión de la necrosis y marchitez en los tejidos y % o número de plantas enfermas acorde a la etapas de desarrollo del chile jalapeño.

6.6.2 Concentración de clorofila a y b:

La concentración de clorofila a y b se estimó de acuerdo a la metodología establecida por Sumanta et al., (2014), para lo cual se tomaron 0.5 g del material vegetal fresco y se adicionó 10 ml de acetona al 80%, la muestra homogenizada se centrifugo a 10,000 rpm durante 15 min y se tomo 1mL y se diluyo en 14 mL de agua destilada.

La absorbancia se midió a dos longitudes de onda 663.2 nm y 646.8 nm, la determinación de las concentraciones de clorofila expresada en $\mu\text{g mL}^{-1}$ según las siguientes ecuaciones:

$$C_{la} (\mu\text{g mL}^{-1}) = 12.25 * A_{663.2} - 2.79 * A_{646.8} (\text{Ecuación 2 a})$$

$$C_{lb} (\mu\text{g mL}^{-1}) = 21.50 * A_{646.8} - 5.10 * A_{663.2} (\text{Ecuación 2 b})$$

Ecuación 2 a y b: Contenido de clorofila a (C_{la}) y clorofila b (C_{lb}) expresados en $\mu\text{g mL}^{-1}$ de las plantas de chile jalapeño, determinados en la semana 16 correspondiente a la etapa de, fructificación y maduración de las semillas.

6.6.3 Algoritmo de área necrótica:

Para cuantificar el área necrótica en hojas, Contreras et al. (2012) proponen un algoritmo basado en el color que usa los componentes verde y azul.

El componente verde se usa para aislar el área necrótica de la hoja (A_{np}) y el fondo totales, ya que ofrece un mejor contraste entre las regiones necrótica y no necrótica. El componente azul se utiliza para calcular el área foliar A_T total ya que es menos sensible a otros síntomas como la clorosis y ofrece una mejor diferenciación de la hoja del fondo.

Antes de aplicar una binarización de imágenes, se logró un filtro mediano basado en la apertura morfológica γ_B ; esta operación se basa en la ecuación (4a), que a su vez consiste en la dilatación morfológica δ_B y la erosión ε_B (ecuaciones 4b y 4c), permitiendo una mejor diferenciación entre zonas necróticas y no necróticas.

Una vez que se ha cuantificado el área necrótica y total de la hoja en píxeles, la evaluación del área necrótica A_n se calcula utilizando la ecuación (4d). Siendo A_n el porcentaje de área necrótica que cubre la hoja en relación con el área foliar total.

$$\gamma_B = A \circ B = (A \ominus B) \oplus B \text{ (Ecuación 4a)}$$

$$\delta_B = A \oplus B = \{z [(C) z \cap A] \subseteq A\} \text{ (Ecuación 4b)}$$

$$\varepsilon_B = A \ominus B = \{z (B)z \subseteq A\} \text{ (Ecuación 4c)}$$

$$A_n = \frac{A_{np}}{A_T} * 100\% \text{ (Ecuación 4d)}$$

6.7 Determinación de las poblaciones bacterianas del suelo.

6.7.1 Diluciones:

Se efectuaron las diluciones en serie 1×10^{-1} a 1×10^{-7} con base en la metodología establecida por Moreno y Albarracín, (2012).

Para lo cual se pesaron 0.5 g de muestra correspondientes, a los tratamientos establecidos para el bioensayo inicial y final, los cuales se colocaron en un tubo Falcon estéril y añadieron 9 ml de solución fisiológica de sembrado (agua destilada 0.9% NaCl).

Posteriormente se tomó un 1ml con una pipeta estéril, los cuales se depositaron en otro tubo Falcon y se efectuaron las diluciones en serie, de las cuales se sembraron mediante vaciado en placa, las diluciones 1×10^{-3} a 1×10^{-5} (bioensayo preliminar) y 1×10^{-4} a 1×10^{-5} (bioensayo final) e incubaron por 24 h a 28°C. Se procedió a efectuar el recuento bacteriano de las diluciones sembradas, las cuales corresponden a los tratamientos del ensayo en cámara: T1 (planta+sustrato), T3 (planta+*Trichoderma atroviride*+*Fusarium stilboides*), T5 (planta+*Trichoderma virens*+*Fusarium stilboides*) y T6 (planta+*Fusarium stilboides*).

Y los tratamientos del ensayo en invernadero: T1 (planta+sustrato), T2 (planta+*Trichoderma atroviride*+*Fusarium stilboides*), T3 (planta+*Trichoderma virens*+*Fusarium stilboides*) y T4 (planta+*Fusarium stilboides*).

6.7.2 Pruebas bioquímicas:

Se seleccionaron las colonias bacterianas de interés, se aislaron mediante la técnica de estriado en caja y se efectuó la identificación bacteriana mediante el uso de las pruebas bioquímicas: Agar hierro-triple azúcar (TSI), Agar Hierro Lisina (LIA), Movilidad, Indol Ornitina (MIO) y Agar Citrato Simmons.

6.8 Pruebas estadísticas

Con los datos obtenidos para los parámetros fisiológicos evaluados en la planta, fruto y la comparación entre los tratamientos mediante la prueba de Tukey y análisis de ANOVA, los cuales se desarrollaron en el paquete estadístico JMP (SAS Institute, Carolina del norte, Estados Unidos).

VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.4 Establecimiento del tratamiento del sistema de cultivo de chile jalapeño (*Capsicum annuum* L. cv. Annuum).

7.4.1 Caracterización del suelo:

En el siguiente cuadro (Cuadro 4) se presentan los parámetros y valores obtenidos, tras la caracterización efectuada en los suelos de Zimapán, Hidalgo y Querétaro, Qro, México.

De acuerdo a la NOM-021-SEMARNAT-2000, el pH clasifica los suelos de Querétaro en neutro y los de Zimapán, Hgo en moderadamente alcalinos, inherentes de zonas semiáridas. El potencial redox (Eh) obtenido, clasifica los suelos como reductores intermedios, indicando que tienen un potencial mínimo de reducción. Lo cual puede afectar la relación entre el proceso oxidativo como la respiración y reductivo como la reducción del nitrógeno atmosférico, desarrollada por la comunidad microbiana del suelo (Di Ciocco et al., 2014).

El porcentaje de humedad indica, que los suelos de Zimapán se clasifican en moderados, mientras que los de Querétaro en altos, lo anterior debido a que su textura es arcillosa, característica que le permite retener gran cantidad de agua y nutrientes dada su microporosidad y capacidad de intercambio catiónico (Bouma et al., 2017) .

Acorde a la clasificación de la NOM-021-SEMARNAT-2000, estos suelos presentan contenidos y/o concentraciones muy bajos (< 4.0 %) de Materia orgánica. La conductividad eléctrica obtenida, clasifica los suelos con efectos despreciables de salinidad (< 1.0 mS/cm).

De acuerdo a Bouma et al., (2017) los suelos de Zimapán presentaron textura arcillo arenoso y los de Querétaro textura arcillosa, los cuales se caracterizan por ser ligeros dada su escasa plasticidad, la acumulación de materia orgánica es mínima y el lavado de minerales es elevado.

Cuadro 4. Parámetros caracterizados de los suelos, empleados en los ensayos en cámara e invernadero.

Parámetros	Zimapán, Hgo	Querétaro, Qro
pH	7.87	7.10
Potencial redox (Eh)	-57.7 mV	1.75 mV
% Humedad	25.32 %	11.67 %
% MO	3.74%	2.27%
CEE	0.27 mS/cm	0.26 mS/cm
Textura	Arcilloso arenoso	Arcilloso
Arena%	40.89%	16.88%
Arcilla%	36.51%	64.27%
Limo%	22.59%	17.96%
Densidad real	1.09 Mg/cm ³	2.09 Mg/cm ³
Densidad aparente	1.162 Mg/cm ³	1.02 Mg/cm ³
Agregados estables %	30.79%	17.19%
Saturación de bases %	33.57%	82.59%
Cap. de campo %	13.46%	12.37%
CIC	8.36 cmol ⁽⁺⁾ /kg ⁻¹	12.96 cmol ⁽⁺⁾ /kg ⁻¹
Nitrógeno total	0.135%	0.78%
Carbono orgánico	1.28%	2.11%
Parámetros	Zimapán, Hgo	Querétaro, Qro
pH	7.87	7.10
Potencial redox (Eh)	-57.7 mV	1.75 mV
% Humedad	25.32 %	11.67 %
% MO	3.74%	2.27%
CEE	0.27 mS/cm	0.26 mS/cm

Textura	Arcilloso arenoso	Arcilloso
Arena%	40.89%	16.88%
Arcilla%	36.51%	64.27%
Limo%	22.59%	17.96%
Densidad real	1.09 Mg/cm ³	2.09 Mg/cm ³
Densidad aparente	1.162 Mg/cm ³	1.02 Mg/cm ³
Agregados estables %	30.79%	17.19%
Saturación de bases %	33.57%	82.59%
Cap. de campo %	13.46%	12.37%
CIC	8.36 cmol ⁽⁺⁾ /kg ⁻¹	12.96 cmol ⁽⁺⁾ /kg ⁻¹
Nitrógeno total	0.135%	0.78%
Carbono orgánico	1.28%	2.11%

Los valores obtenidos para densidad real y aparente, agregados estables y saturación de bases son característicos de suelos con texturas arcillosas (Mau et al., 2015). Se encontraron similitudes entre los parámetros evaluados, difiriendo en la capacidad de campo que fue menor para el suelo de Zimapán, lo cual se debe a que este suelo presentó una textura arenosa (Rowell, 2014).

De acuerdo a Rivas et al., (2017) y Nottingham et al., (2015), los contenidos de N obtenidos clasifican los suelos en contenidos medios para el suelo de Querétaro, Qro y contenidos bajos para el suelo de Zimapán, Hgo.

7.5 Confirmación de la capacidad antagonista de *T. atroviride* y *T. virens*, determinado por los parámetros fisiológicos del cultivo.

7.5.1 Parámetros fisiológicos planta

A continuación se presentan los valores obtenidos, acorde a las 3 etapas de desarrollo del cultivo evaluadas, para los dos bioensayos efectuados.

- **Altura de la planta: ensayo en cámara**

El ensayo en cámara presentó un comportamiento homogéneo, durante la etapa de emergencia y desarrollo de hojas en la altura entre los tratamientos (Figura 13 A y B).

De acuerdo a la prueba de medias de tukey ($p=0.05$) no se presentaron diferencias significativas, entre los tratamientos, debido a que esta fase se caracteriza por presentar un comportamiento lento, debido a que la planta es muy pequeña y apenas esta desarrollando un sistema radical y foliar (Figura 12 y Figura 13 A y B, respectivamente).

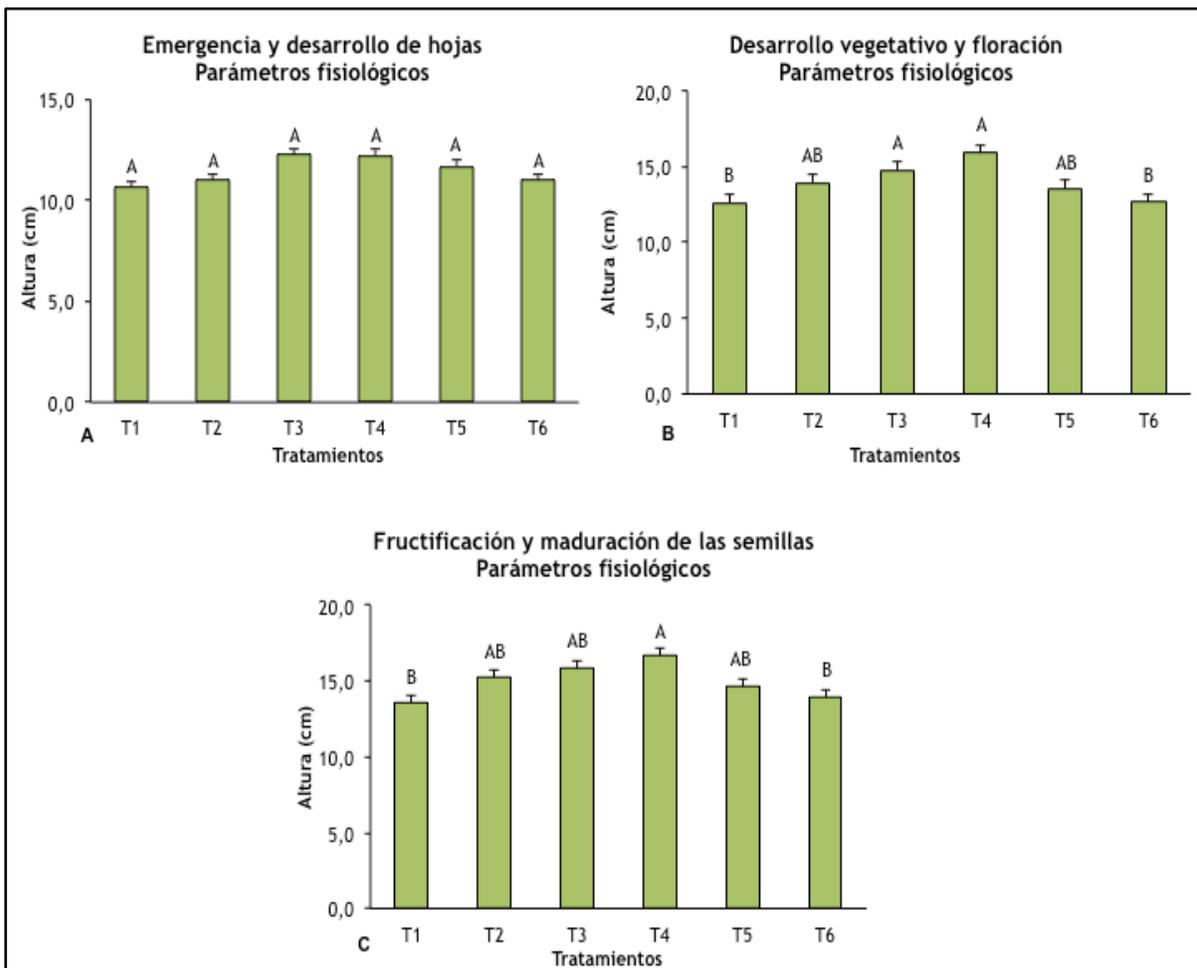


Figura 11. Ensayo en cámara, altura de la planta (cm). Niveles no conectados por la misma letra son significativamente diferentes ($p=0.05$) según la prueba de

Tukey.



Figura 12. Ensayo en cámara. plantas de chile jalapeño. A) primera etapa de desarrollo, B) segunda etapa de desarrollo y C) infectadas con el patógeno *Fusarium stilboides*.

Sin embargo a partir de la etapa de desarrollo vegetativo y floración, observamos diferencias entre los tratamientos, destacándose el tratamiento T4 (planta+*Trichoderma virens*) y T3 (planta+*Trichoderma atroviride*+*Fusarium stilboides*), los cuales presentaron una mayor altura (15.9 cm y 15.8 cm, respectivamente) en relación a los demás tratamientos (Figura 12 y Figura 13 B, respectivamente).

De acuerdo a Zeilinger et al., (2016) y Martínez et al., (2014) aislados de *Trichoderma* entre los que se encuentran *T. virens* y *T. atroviride*, afectan directamente a los patógenos de las plantas, influyen en la red fitohormonal de su planta huésped y la tolerancia al estrés, lo que lleva a una mejora del crecimiento de las mismas, se observaron resultados similares en los tratamientos T3 y T4, inoculados con los aislados de *Trichoderma* mencionados.

Jacobo et al., (2017) en su estudio identificaron que las cepas de *Trichoderma virens* Gv29.8 y *Trichoderma atroviride* IMI206040, promueven el crecimiento de la planta a través de la producción de la auxina fitohormona del ácido indol-3-acético (AIA) y los compuestos orgánicos volátiles 6-PP, sesquiterpenos y 1-octen-3-ol y 3-octanona .

Por otro lado el tratamiento T6 (planta+*Fusarium stilboides*) inoculado con el patógeno, presento una menor altura (13. 9 cm) en comparación al resto de los tratamientos, debido a la presencia de *Fusarium stilboides* (Figura 13 C)

De acuerdo a Salas et al., (2011), la patogenicidad de *Fusarium* se caracteriza por el desarrollo de un micelio blanquecino, que se extiende con el paso del tiempo y culmina con la necrosis parcial o total del tejido.

De acuerdo al estudio efectuado por Lomas et al., (2017) en tres especies de *Capsicum*: *C. baccatum*, *C. annuum* y *C. chinense*, inoculadas con *F. oxysporum f. sp* afectó al 100% de las plantas inoculadas; los principales síntomas visibles fueron la marchitez del follaje verde, intensa necrosis marrón en el tallo causando una podredumbre verde oscura que redujo el volumen del tallo y afectó hasta un tercio su longitud.

Los síntomas reportados por Lomas et al., (2017) y Salas et al., (2011), coinciden con los presentados en el tratamiento T6, incidiendo en el desarrollo normal de las plantas (Figura 13 C)

La tercera etapa de desarrollo (semana 14 a semana 20) el tratamiento T4 (planta+*Trichoderma virens*) fue el de mayor altura (16.6 cm) a partir de la semana 11, en comparación a los demás tratamientos (Figura 12.C). De acuerdo al estudio efectuado por Mannai et al., (2018) en diversas variedades de chile (*Capsicum annuum*) inoculadas con *Trichoderma virens*, la altura de la planta vario significativamente en un 26.41% en comparación con el control.

Sacorro et al., (2017) reportan que las interacciones entre *T. virens* y las raíces de la planta, ejercen efectos beneficiosos desencadenado un crecimiento mejorado e inducen la resistencia sistémica, los estudios anteriormente descritos respaldan los resultados obtenidos en el tratamiento T4 a lo largo de las etapas de desarrollo del chile jalapeño.

- **Altura de la planta: ensayo en invernadero**

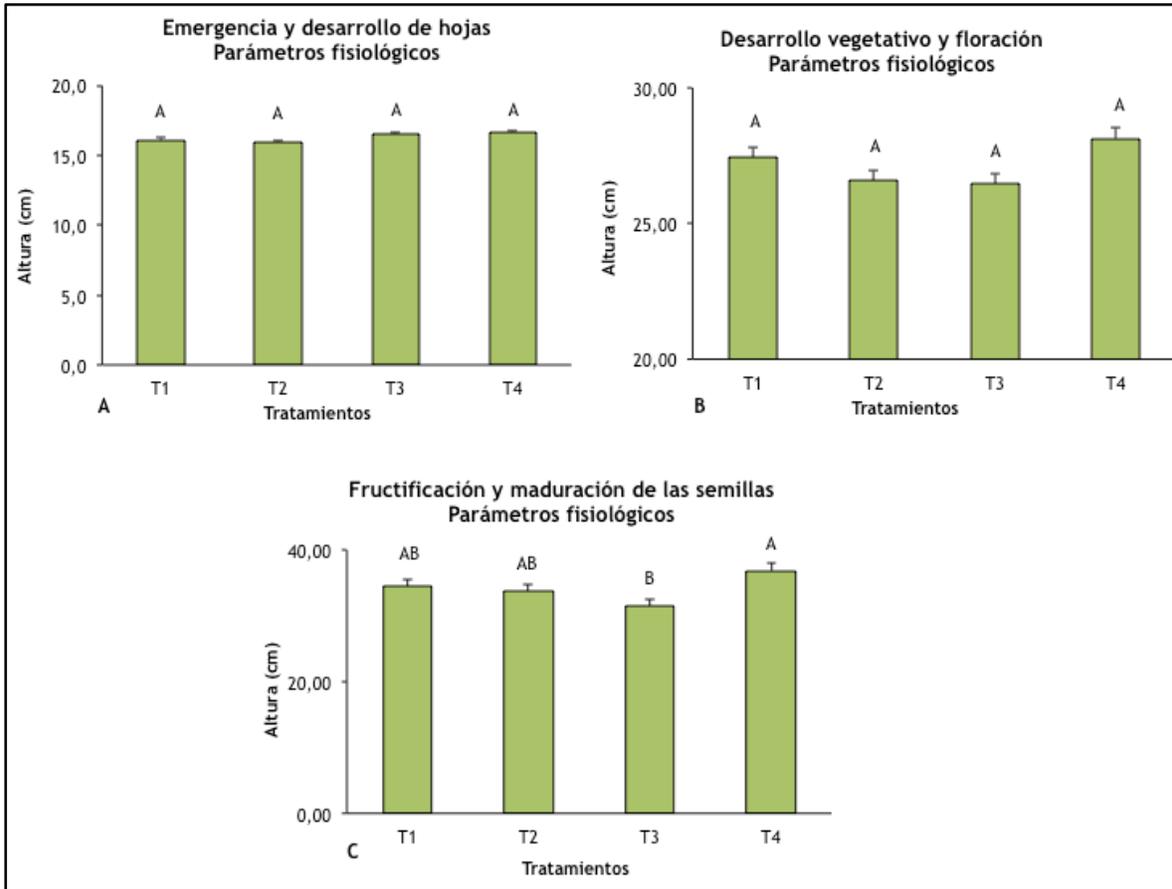


Figura 13. Ensayo en invernadero, altura de la planta (cm). Niveles no conectados por la misma letra son significativamente diferentes ($p=0.05$) según la prueba de Tukey.

El ensayo en invernadero presentó un comportamiento homogéneo en las dos primeras etapas de desarrollo del chile jalapeño, las cuales corresponden a emergencia y desarrollo de hojas y desarrollo vegetativo y floración (Figura 15 A y B).

De acuerdo a la comparación de medias de Tukey ($p=0.05$) no se presentaron diferencias significativas, entre los tratamientos correspondiente a las dos primeras etapas de desarrollo del chile jalapeño (Figura 14 A y B).



Figura 14. Ensayo en invernadero. Plantas de chile jalapeño durante las etapas de A) emergencia y desarrollo de hoja, B) desarrollo vegetativo y floración y C) marchitez ocasionada por *Fusarium stilboides*.

A partir de la tercera etapa de desarrollo del chile jalapeño, observamos diferencias entre los tratamientos, siendo el tratamiento T4 (planta+*Fusarium stilboides*) el que presentó una mayor altura y el tratamiento T3 (planta+*Trichoderma virens*+*Fusarium stilboides*) el de menor altura y afectación del patógeno (36.83 cm y 31.50 cm respectivamente), en relación a los demás tratamientos (Figura 14 C).

En el estudio efectuado por Naegele et al., (2017) al inocular *F. oxysporum* y *F. solani* en dos variedades de chile jalapeño “Jalapeño precoz” y “Jalapeño temprano”, ninguno presentó una alta incidencia de la enfermedad (10% y 0%, respectivamente), las dos variedades presentaron resistencia al patógeno y un desarrollo normal.

Doñas et al., (2015) en su estudio identificaron que la variedad de chile jalapeño “Palermo”, presentó una mayor altura 2.5 m, en relación a las otras variedades de jalapeño empleadas (Tesor y SCM 334) las cuales se encontraban inoculadas

con el patógeno *F. stilboides*. Los estudios anteriormente descritos apoyan los resultados obtenidos, puesto que el tratamiento T4 no presentó síntomas de la enfermedad, producto de la inoculación con *Fusarium stilboides*, en cambio las plantas de este tratamiento presentaron un mejor desarrollo en su fisiología.

Creemos que como respuesta a la incidencia de *fusarium stilboides* en las plantas del tratamiento T4, estas desarrollaron un mecanismo de defensa, impidiendo el desarrollo del patógeno.

De acuerdo a Shigenaga *et al.*, (2016) las hormonas vegetales o fitohormonas juegan un papel integral como moléculas de señalización en la defensa y respuesta inmune, entre las que se encuentran el ácido jasmónico y el etileno, los resultados de estas interacciones son cambios en la fisiología de la planta que culminan en una respuesta de defensa apropiada contra el ataque de patógenos.

- Longitud aérea: ensayo en cámara

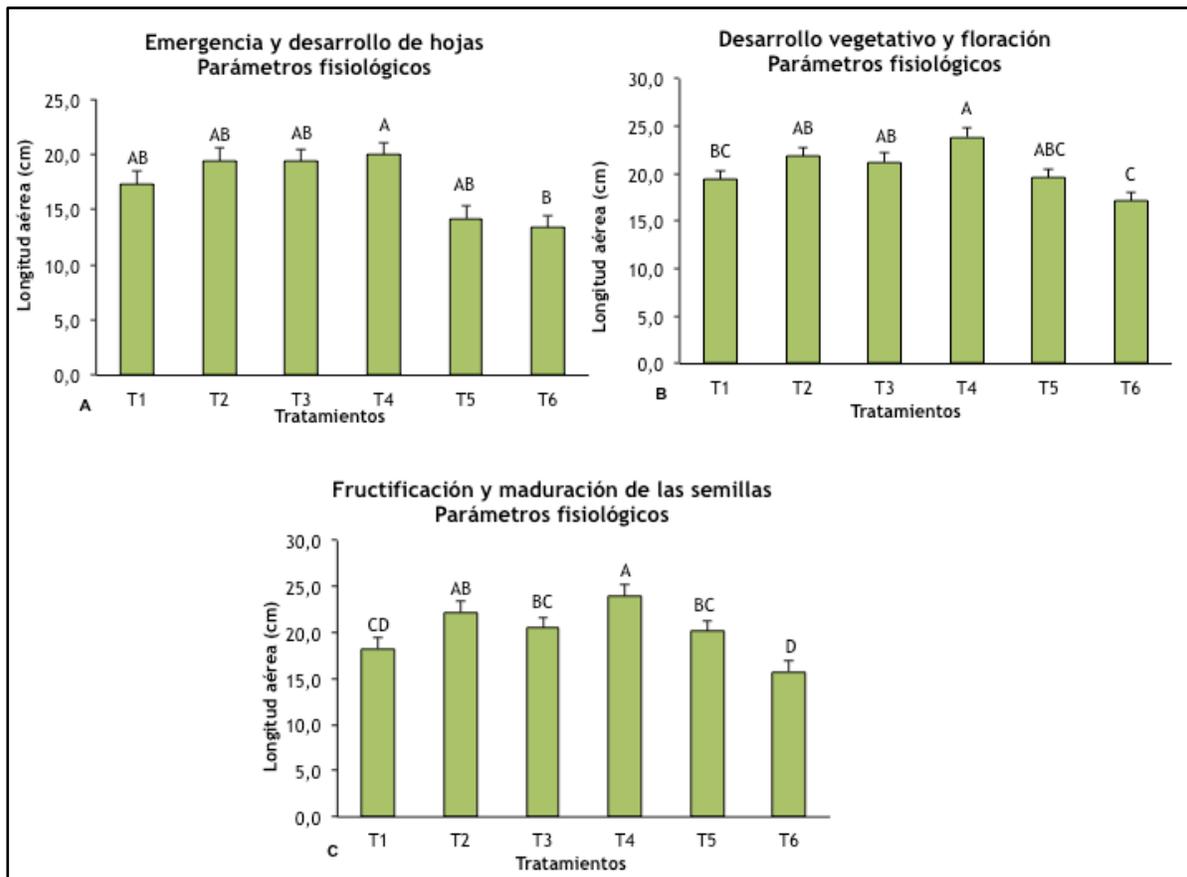


Figura 15. Ensayo en cámara, longitud aérea (cm). Niveles no conectados por la misma letra son significativamente diferentes ($p=0.05$) según la prueba de Tukey.

De acuerdo a la comparación de medias Tukey ($p=0,05$) en la etapa de emergencia y desarrollo de hojas, se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos; el tratamiento T4 (planta+*Trichoderma virens*) presentó una mayor longitud aérea (19.9 cm) coincidiendo con el parámetro fisiológico de altura. El tratamiento T6 (*Fusarium stilboides*) presentó durante las tres etapas de desarrollo una menor longitud aérea (13.3 cm), debido a que este tratamiento presentó síntomas de necrosis principalmente las hojas (Figura 15 C)

Se obtuvieron diferencias significativas de acuerdo a la prueba de tukey ($p=0.05$) entre los tratamientos, para la etapa de desarrollo vegetativo y floración

siendo los tratamientos T4 (planta+*Trichoderma virens*) y T2 (planta+*Trichoderma atroviride*), aquellos que presentaron una mayor longitud aérea (23.9 cm y 21.8 cm, respectivamente) (Figura 16 B).

Siendo los tratamientos T4 y T2 aquellos que presentaron las mejores características fisiológicas, a lo largo del desarrollo del cultivo,(ver Figuras 16 C), correspondiente a la etapa de fructificación y maduración de las semillas, en cuanto a la longitud aérea durante esta etapa presentaron valores de 24.0 cm y 22.2 cm, respectivamente. A su vez el tratamiento T6 (planta+*Fusarium stilboides*) presentó una menor longitud aérea (15.8 cm), debido a la incidencia del patógeno.

De acuerdo a lo reportado por Li et al., (2015) *Trichoderma spp* en simbiosis con la planta, favorece el desarrollo de plantas debido a la producción de fitohormonas, la solubilización de minerales poco solubles, la reducción en la toxicidad contaminante y la regulación de la microflora rizosférica.

En los estudios efectuados por Domínguez et al., (2016) observaron que los tamaños más altos en las plantas de tomate, longitud del tallo, raíz y aérea se presentaron en aquellos tratados con tres cepas de *T. harzianum* T34

Ong et al., (2015), identificaron que las plantas de Chile kulai (*Capsicum annum* var Kulai) tratados con *Trichoderma harzianum*, favorecieron los parámetros de crecimiento en términos de altura y longitud aérea a partir de la etapa de floración hasta la obtención de los frutos. En contraste con los resultados obtenidos, podemos relacionar que la incidencia de las dos especies de *Trichoderma* (*T.virens* y *T.atroviride*), en ausencia del patógeno, favorecieron el desarrollo de la longitud aérea en las plantas siendo superior al tratamiento control T1 (planta+suelo).

- **Longitud aérea ensayo en invernadero**

En el ensayo en invernadero, se observó un comportamiento homogéneo, a lo largo del desarrollo del cultivo en la longitud aérea de la planta (Figura 17), en todos los tratamientos T1: planta+suelo, T2: planta+*Trichoderma atroviride*+*Fusarium stilboides*, T3: planta+*Trichoderma virens*+*Fusarium stilboides*

y T4: planta+*Fusarium stilboides*, se obtuvieron valores alrededor de 30 cm correspondientes a la etapa de fructificación y maduración de las semillas.

La producción de chile en invernadero se efectúa principalmente para propiciar un mejor ambiente en el crecimiento y desarrollo de la planta, debido a que el viento, la radiación y la temperatura menor de 15 °C, favoreciendo el rendimiento y la calidad de la planta y fruto (Tapia et al., 2016).

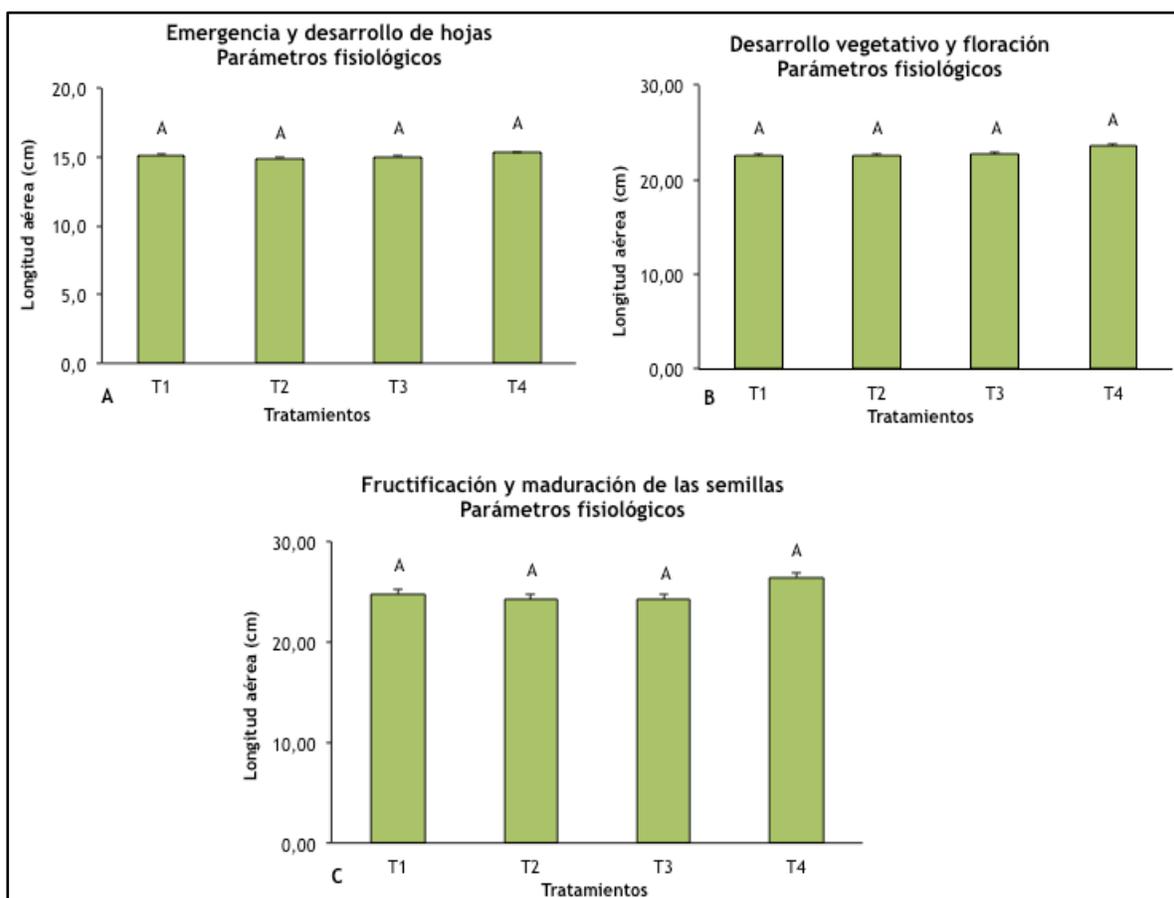


Figura 16. Ensayo en invernadero, longitud aérea (cm). Niveles no conectados por la misma letra son significativamente diferentes ($p=0.05$) según la prueba de Tukey.

De acuerdo a la comparación de medias de tukey ($p=0.05$), no se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos, en relación a la longitud aérea, evaluada a partir de la semana 1 a la semana 20 las cuales

correspondes a las tres etapas de desarrollo del chile jalapeño (Figura 17 A, B y C).

De acuerdo a Beltran et al., (2016) se sabe que las plantas en invernadero aprovechan mejor la luz, los nutrientes y el agua, lo cual puede explicar la homogeneidad y mayor longitud aérea de las plantas bajo invernadero, respaldando los resultados obtenidos.

- **Peso fresco y seco planta, ensayo en cámara**

En el ensayo en cámara, se obtuvo un comportamiento homogéneo en el peso seco y fresco en los tratamientos evaluados, **T1**:planta+suelo, **T2**:planta+*Trichoderma atroviride*, **T3**:planta+*Trichoderma atroviride*+*Fusarium stilboides*, **T4**:planta+*Trichoderma virens*, **T5**:planta+*Trichoderma virens*+*Fusarium stilboides* y **T6**:planta+*Fusarium stilboides*, para peso seco valores alrededor de 6.0 g, y de peso fresco: 2.0 g, tras finalizar la etapa de fructificación y maduración de las semillas.

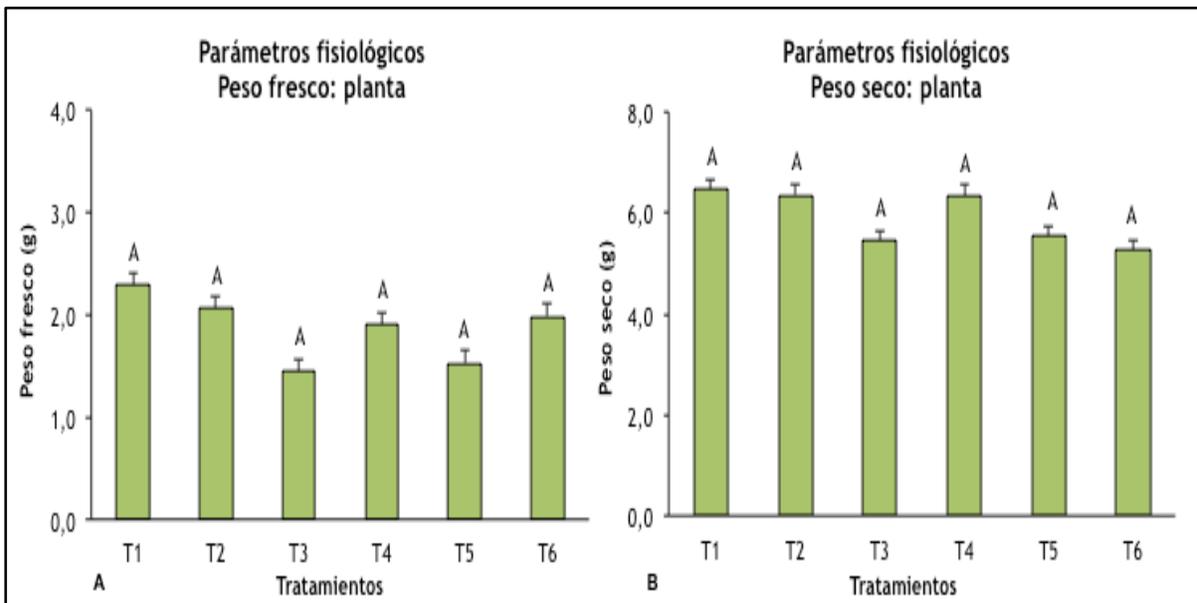


Figura 17. Ensayo en cámara, peso seco y peso fresco (g). Niveles no conectados por la misma letra son significativamente diferentes ($p=0.05$) según la prueba de Tukey.

De acuerdo a la comparación de medias de tukey ($p=0.05$) no se presentaron diferencias significativas, en los tratamientos para el parámetro de peso seco y fresco de las plantas de chile jalapeño (Figura 18 A y B), tras finalizar el ensayo en cámara.

De acuerdo con lo observado por Zaidi et al., (2015) la inoculación con *Trichoderma spp* provocó una disminución significativa en los esteroides, triterpenos y ácidos grasos; un componente importante relacionado con una mayor biomasa, crecimiento y maduración del chile.

En su estudio Parkash et al., (2015) tras inocular *Trichoderma harzani* en *Capsicum chinensis* Jacq. "Bhut Jolokia", observaron el rendimiento total del fruto (120-150 frutos de chile), sin embargo no se obtuvieron aumentos en la biomasa de la planta. Los resultados obtenidos en nuestro ensayo preliminar, son similares a los reportados en los estudios aquí mencionados, puesto que obtuvimos un comportamiento similar en los pesos secos y frescos de los tratamientos evaluados.

- **Peso fresco y seco (planta), ensayo en invernadero**

En el ensayo en invernadero, se obtuvo un comportamiento homogéneo en el peso fresco de la planta, alrededor de 15 g en los tratamientos evaluados **T1:**planta+suelo, **T2:**planta+*Trichoderma atrivoide*+*Fusarium stilboides*, **T3:**planta+*Trichoderma virens*+*Fusarium stilboides* y **T4:** planta+*Fusarium stilboides*, mientras que para el peso seco, el tratamiento que presentó un mayor valor fue el tratamiento T4 (8.7 g), seguido de los tratamientos T1 (5.6 g), T2 (5.2) y T3 (4.4 g).

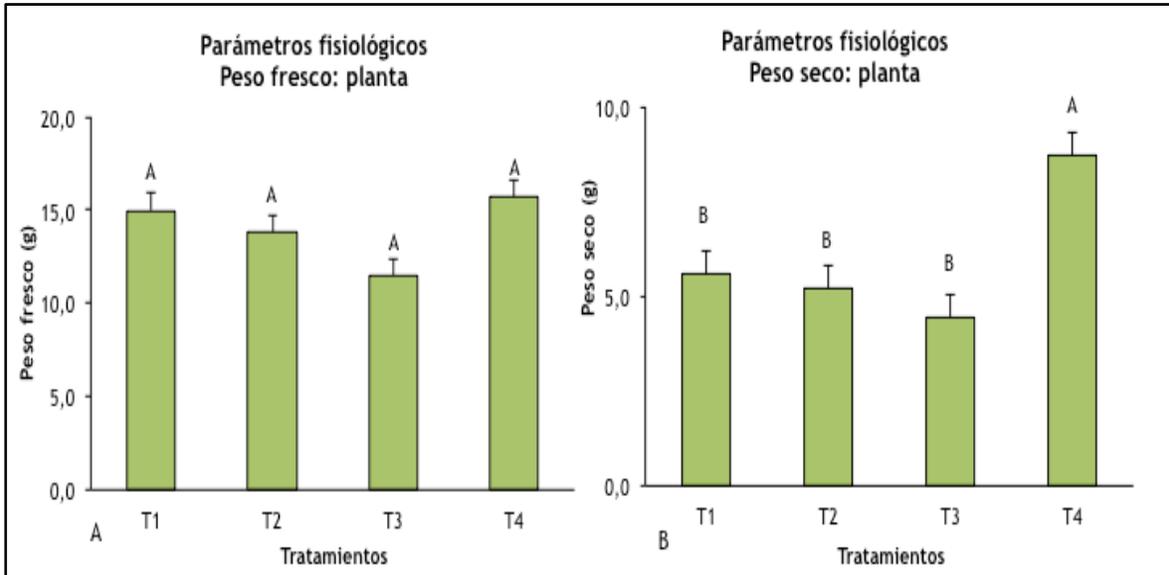


Figura 18. Ensayo en invernadero, peso seco y fresco (g). Niveles no conectados por la misma letra son significativamente diferentes ($p=0.05$) según la prueba de Tukey.

De acuerdo a la comparación de medias de tukey ($p=0.05$) no se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos para el parámetro de peso fresco, mientras que el peso seco presentó diferencias siendo el tratamiento T4 el que presentó un mayor peso seco en relación a los demás tratamientos, (Figura 19 A y B), tras finalizar el ensayo en invernadero.

En el estudio efectuado por Meyer et al., (2001) tras la inoculación de *Trichoderma virens* y *harzanium* a diversos pimientos morrón (*Capsicum annuum* L.), observaron que el peso seco y fresco de la planta no se vio afectado por el tratamiento, sin embargo en las plantas control aumentó el peso seco en un 58%.

Con base en los resultados obtenidos el tratamiento T4, al estar inoculado con el patógeno *Fusarium stilboides*, ha desarrollado un mecanismo de defensa que ha favorecido la fisiología de la planta, como se ha observado a lo largo del ensayo en invernadero.

- Longitud raíz y fruto, ensayo en cámara

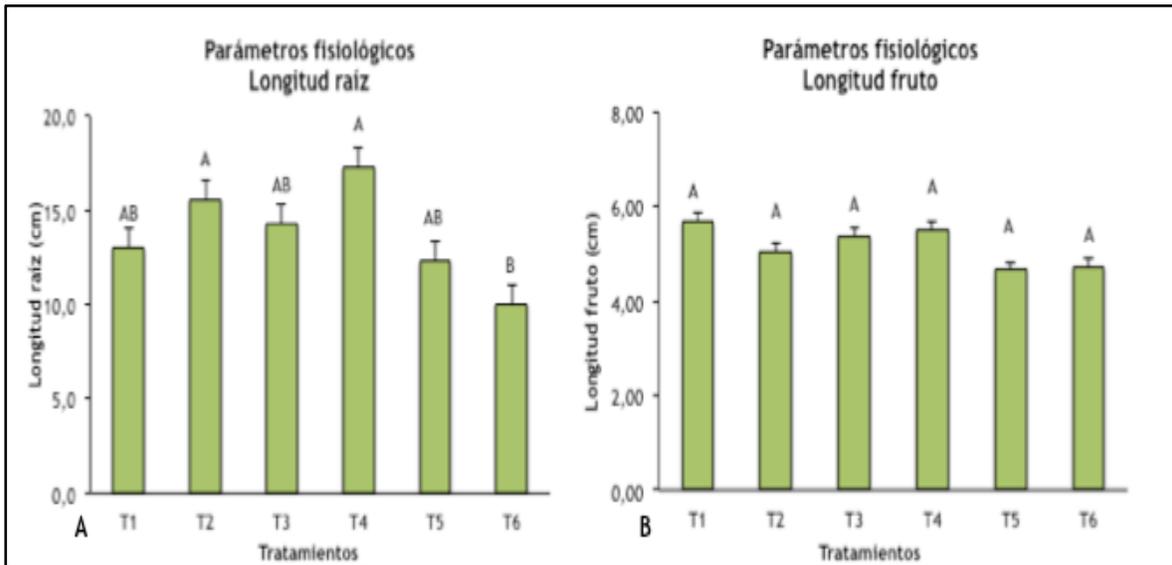


Figura 19. Ensayo en cámara, longitud raíz y del fruto (cm). Niveles no conectados por la misma letra son significativamente diferentes ($p=0.05$) según la prueba de Tukey.

De acuerdo a la comparación de medias de Tukey ($p=0.05$) se presentaron diferencias significativas, siendo el tratamiento T4 (planta+*Trichoderma virens*) el que presentó una mayor longitud en la raíz (17.3 cm), seguido del tratamiento T2 (planta+*Trichoderma atroviride*) (15.6 cm), en relación a los demás tratamientos.

Por otro lado no se observan diferencias entre los tratamientos, para la longitud del fruto en la cual se obtuvieron valores aproximados a 6.0 cm, correspondientes al ensayo en cámara.

En el estudio efectuado en tomate Li et al., (2015), comprobaron que *T. harzianum* SQR-T037 liberaba una fitohormona (harzianolida) similar a la auxina que aumentaba significativamente la longitud total de la raíz y el número de raíces de las plantas de tomate.

Lee et al., (2016) identificaron que los tomates expuestos a *T. viride* (BBA 70239) mostraron un aumento significativo en la biomasa de la planta (> 99%) un tamaño de planta más grande y un desarrollo significativo de las raíces laterales.

Los resultados obtenidos en el ensayo en cámara, son similares a los reportados en los estudios anteriormente mencionados, debido a que los tratamientos T2 y T4 inoculados con las dos cepas de *T. atroviride* y *T. virens*, favorecieron la longitud de la raíz en la planta, producto de la colonización de la misma.

- **Longitud raíz y fruto, ensayo en invernadero**

En el ensayo en invernadero, se observó un comportamiento homogéneo, a lo largo del desarrollo del cultivo en la longitud de la raíz (ver Figura 26), en todos los tratamientos T1: planta+suelo, T2: planta+*Trichoderma atroviride*+*Fusarium stilboides*, T3: planta+*Trichoderma virens*+*Fusarium stilboides* y T4: planta+*Fusarium stilboides*, se obtuvieron valores alrededor de 18.5 cm y 7.2 cm, respectivamente finalizada la etapa de fructificación y maduración de las semillas.



Figura 20. Ensayo en invernadero, longitud de la raíz (cm).

De acuerdo a la comparación de medias de tukey ($p=0.05$), no se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos evaluados, para el

parámetro de longitud de la raíz y fruto de las plantas de chile jalapeño, (Figura 22) tras finalizar el ensayo en invernadero.

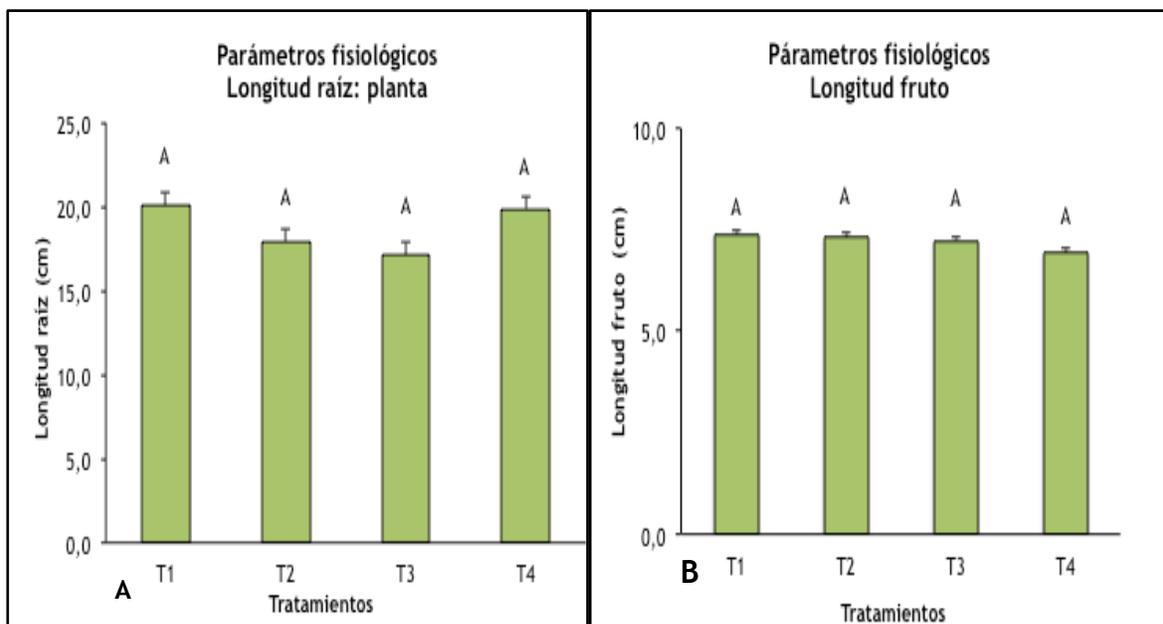


Figura 21. Ensayo en invernadero, longitud raíz (cm). Niveles no conectados por la misma letra son significativamente diferentes ($p=0.05$) según la prueba de Tukey.

De acuerdo a Kedrics et al., (2014) la adaptación está modulada por varios factores bióticos y abióticos afectan las poblaciones y la diversidad de las comunidades fúngicas en los ecosistemas agrícolas, incluidas las especies vegetales y su etapa de crecimiento, la competencia microbiana total, las propiedades físicas y químicas del suelo, la aplicación de pesticidas o fertilizantes y la región geográfica.

En su estudio Contreras et al., (2016) señala que en el hábitat de *Trichoderma* spp, existen distintas señales ambientales que impiden su reproducción asexual; tal es el caso de la escasez de nutrientes, el pH ambiental, la luz, humedad o algún tipo de lesión en el micelio. Estos observaron que el desarrollo reproductivo de las especies de *Trichoderma atroviride* y *virens*, se vio afectado por las condiciones de estrés a las que fueron sometidas (escasez de

nutrientes en el suelo, pH y humedad) lo cual no permitió la adaptación y supervivencia de los hongos en el suelo, afectando la transición de micelio a espora.

En el estudio efectuado por Van der Does et al., (2017) establece que la colonización por parte de *Fusarium oxysporum* y *stilboides* del tejido vegetal vivo requiere que los mismos sean capaces de responder los cambios ambientales que se dan en el suelo (pH, nutrientes, humedad, salinidad etc) mediante el uso de sensores y vías de transducción de señales, que regulan los genes necesarios para la adaptación al entorno del huésped.

De acuerdo a los estudios anteriormente mencionados creemos que no se expresaron los hongos inoculados, debido a que el desarrollo de las plantas fue homogéneo durante el bioensayo final, al igual que la longitud de la raíz; donde esperábamos que los tratamientos T2 y T3 inoculados con *Trichoderma atroviride* y *virens* tuvieran una mayor longitud, debido a la generación de micorrizas y el tratamiento T6 inoculado con *Fusarium stilboides*, presentara marchitez y necrosis.

7.5.2 Parámetros fisiológicos del fruto:

En cuanto a los frutos obtenidos por tratamiento de chile jalapeño, se determinaron los parámetros de peso seco, fresco y capsaicina, correspondientes a los dos ensayos.

- **Peso fresco y seco fruto del ensayo en cámara e invernadero**

En el bioensayo preliminar, se observo un comportamiento homogéneo en el parámetro de peso seco y peso fresco, en todos los tratamientos T1: planta+suelo, T2: planta+*Trichoderma atrivoide*, T3: planta+*Trichoderma atrivoide*+*Fusarium stilboides*, T4: planta+*Trichoderma virens*, T5: planta+*Trichoderma virens*+*Fusarium stilboides* y T6: planta+*Fusarium stilboides*, se obtuvieron valores aproximados de 5.5 g y 0.5 g, respectivamente.

De acuerdo a la comparación de medias de tukey ($p=0.05$), no se observan diferencias significativas entre los tratamientos evaluados, para el

parámetro de peso seco y fresco del fruto (Figura 23 A y B) obtenidas tras finalizar el ensayo en cámara.

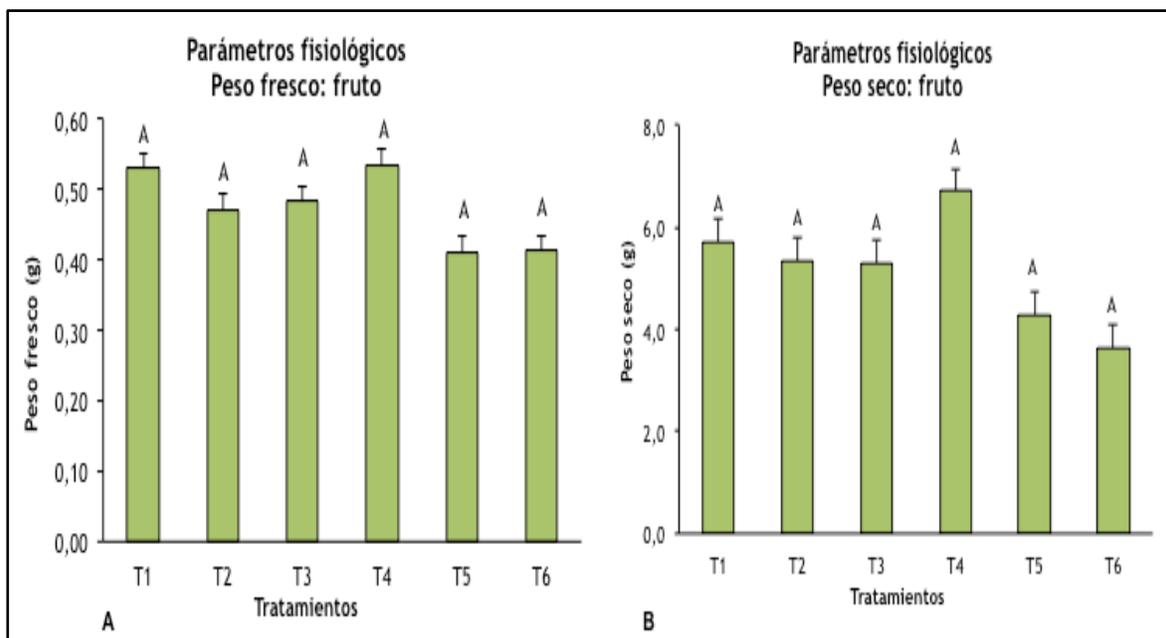


Figura 22. Ensayo en cámara peso fresco y seco fruto (g). Niveles no conectados por la misma letra son significativamente diferentes ($p=0.05$) según la prueba de Tukey.

En el estudio efectuado por Velázquez et al., (2015) la activación de la resistencia sistémica en chile serrano, adquirida por la inoculación con agentes fúngicos de control y patógenos (*Trichoderma* spp y *Fusarium* spp) y los factores bióticos o abióticos, lo cual puede conducir a un costo energético adicional, produciendo plantas y frutos de menor tamaño y peso.

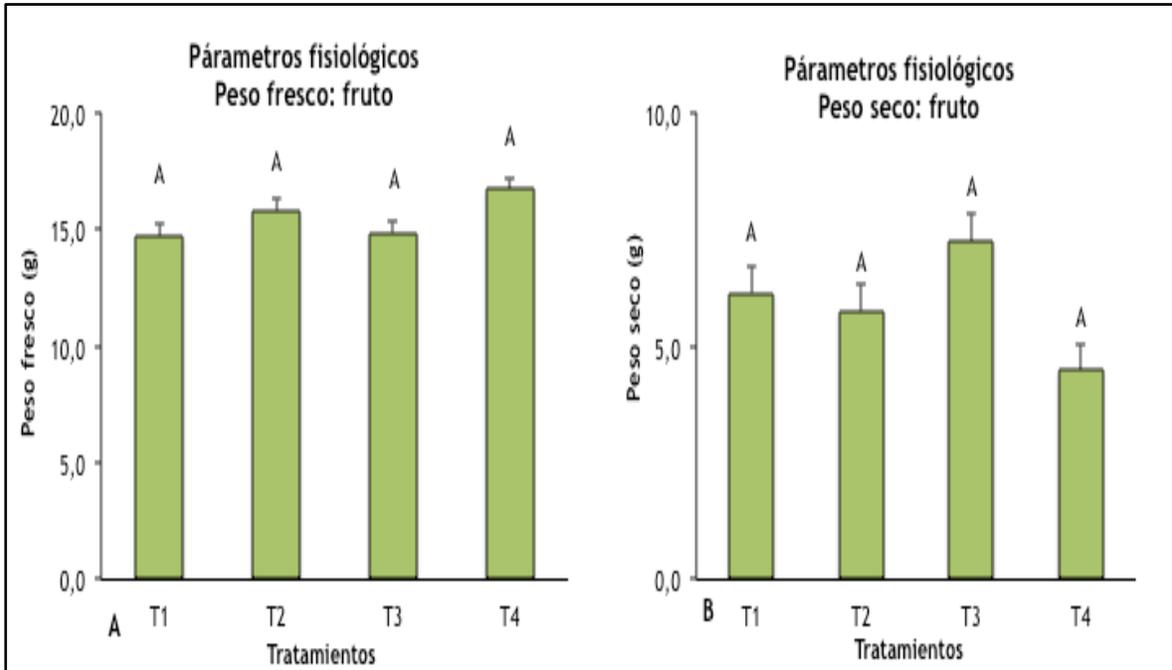


Figura 23. Ensayo en invernadero peso fresco y seco fruto (g). Niveles no conectados por la misma letra son significativamente diferentes ($p=0.05$) según la prueba de Tukey.

En el ensayo en invernadero, se observó un comportamiento homogéneo en el parámetro de peso seco y peso fresco, en todos los tratamientos T1:planta+suelo, T2:planta+*Trichoderma atrivoide*+*Fusarium stilboides*, T3:planta+*Trichoderma virens*+*Fusarium stilboides* y T4: planta+*Fusarium stilboides*, se obtuvieron valores aproximados de 16.0 g y 6.5 g, respectivamente.

De acuerdo a la comparación de medias de tukey ($p=0.05$), no se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos evaluados, para el parámetro de peso seco y fresco (Figura 31 A y B), obtenidos tras finalizar el ensayo en invernadero.

Reyes et al., (2014) y Aguirre et al., (2016) no encontraron diferencia en la biomasa de los frutos de chile habanero (*Capsicum chinense Jacq.*) al inocularse con *Trichoderma* spp, es probable que la demanda de fotosintatos por los mismos, reduzca la posibilidad de que sean transportados a la floración y el amarre de frutos.

De acuerdo a los estudios anteriormente mencionados coinciden con los resultados obtenidos, dado que los tratamientos en los dos ensayos efectuados (cámara e invernadero) presentaron pesos secos y homogéneos en los frutos obtenidos.

Sin embargo las condiciones de los ensayos fueron diferentes, creemos que para el ensayo en cámara la influencia de *Trichoderma atroviride* y *virens* favoreció más los parámetros fisiológicos de la planta que a los frutos y actuó mejor como agente de control frente a *Fusarium stilboides*. Por otro lado en el ensayo en invernadero, creemos que las plantas desarrollaron resistencia sistémica, ya que las condiciones del invernadero favorecieron la temperatura, fue menor la humedad y la incidencia de la luz. A su vez los nutrientes del suelo fueron menores.

- **Contenido de capsaicina, ensayo en cámara e invernadero**

En el ensayo en cámara se obtuvieron diferencias entre las concentraciones de capsaicinoides para los tratamientos evaluados, T1: planta+suelo, T2: planta+*Trichoderma atrivoide*, T3: planta+*Trichoderma atrivoide*+*Fusarium stilboides*, T4: planta+*Trichoderma virens*, T5: planta+*Trichoderma virens*+*Fusarium stilboides* y T6: planta+*Fusarium stilboides*.

Siendo los tratamientos T2 y T4 aquellos que presentaron la mayor concentración (0.0087 y 0.0081 mg capsaicinoides 100 g⁻¹), seguidos de los tratamientos T3 y T6 (0.0071 y 0.0072 mg capsaicinoides 100 g⁻¹) y T5 (0.0059 mg capsaicinoides 100 g⁻¹), finalmente la menor concentración se obtuvo en el tratamiento T1 (0.0028 mg capsaicinoides 100 g⁻¹), (Figura 25).

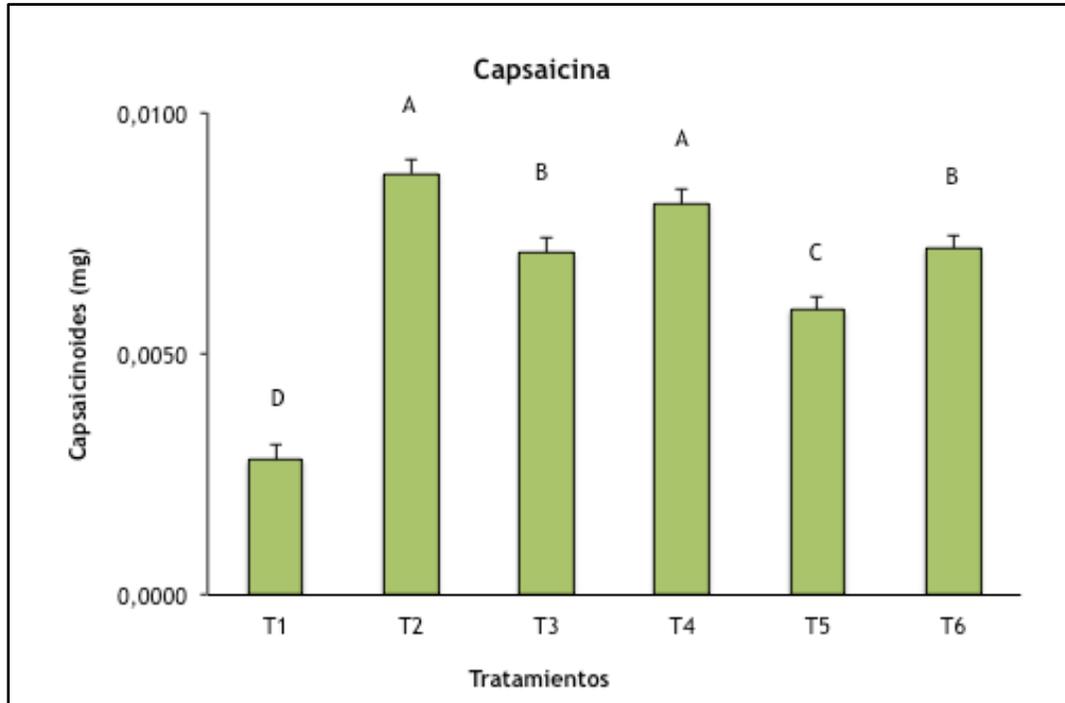


Figura 24. Ensayo en cámara, concentración de capsaicina (mg capsaicinoides 100 g⁻¹). Niveles no conectados por la misma letra son significativamente diferentes (p=0.05) según la prueba de Tukey.

De acuerdo a la comparación de medias de Tukey (p=0.05), se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos evaluados, para las concentraciones de capsaicina obtenidas, (ver Figura 25), obtenidos tras finalizar el ensayo en cámara.

En el ensayo en invernadero, se obtuvieron diferencias entre las concentraciones de capsaicinoides para los tratamientos evaluados, T1:planta+suelo, T2:planta+*Trichoderma atrivoide*+*Fusarium stilboides*, T3:planta+*Trichoderma virens*+*Fusarium stilboides* y T4: planta+*Fusarium stilboides*.

Siendo el tratamiento T2 el que presento una mayor concentración de capsaicina (0.0045 mg capsaicinoides 100 g⁻¹), seguido de los tratamientos T3 y T4 (0.0039 y 0.0038 mg capsaicinoides 100 g⁻¹ , respectivamente) y la menor

concentración se presentó en el tratamiento T1 (0.0029 mg capsaicinoides 100 g⁻¹).

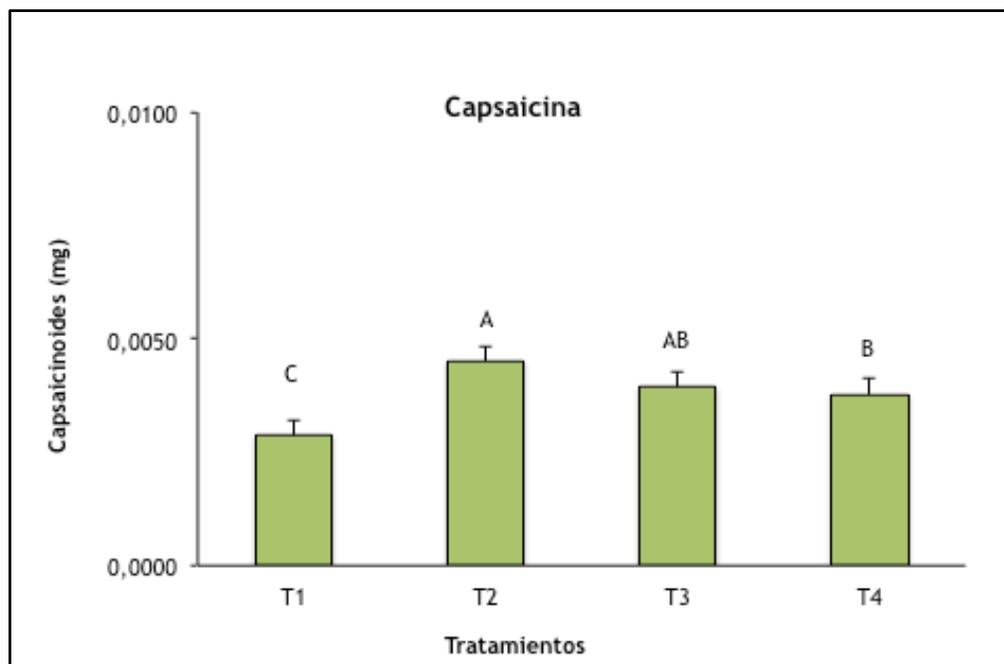


Figura 25. Ensayo en invernadero, concentración de capsaicina (mg capsaicinoides 100 g⁻¹). Niveles no conectados por la misma letra son significativamente diferentes ($p=0.05$) según la prueba de tukey.

De acuerdo a la comparación de medias de tukey ($p=0.05$), se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos evaluados, para las concentraciones de capsaicina (ver Figura 26), obtenidos tras finalizar el ensayo en invernadero.

De acuerdo Pereira *et al.*, (2016) la asociación con hongos micorrízicos arbusculares tales como *Trichoderma spp*, promueve cambios fisiológicos y bioquímicos en las plantas, activando diversas rutas metabólicas que pueden dar como resultado un aumento de los compuestos secundarios como los capsaicinoides en chile.

De acuerdo con Bacon *et al.*, (2017), se ha encontrado que aceites esenciales aislados de fuentes vegetales son agentes antimicrobianos efectivos,

extractos de *Capsicum annuum fruit* han sido investigados hasta cierto punto, y las propiedades antimicrobianas han sido reportadas con resultados mixtos. El extracto de la fruta de jalapeño, específicamente, ha inhibido *Streptococcus pyogenes*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium sporogenes* y *Clostridium tetani*.

Padilha *et al.*, (2015) encontraron una gran variabilidad en los compuestos bioactivos presentes y sus concentraciones en diferentes variedades de *C. pimientos annuum*, algunos de estos compuestos tales como capsaicinoides pueden afectar el crecimiento y metabolismo de hongos, insectos y bacterias.

Los resultados obtenidos coinciden con los estudios anteriormente mencionados puesto que para el bioensayo preliminar, los tratamientos que presentaron una mayor concentración fueron aquellos inculados con *Trichoderma* spp en ausencia del patógeno (T2: planta+*Trichoderma atrivoide* y T4: planta+*Trichoderma virens*) y para el bioensayo final los tratamientos T2 y T· (T2: planta+*Trichoderma atroviride*+*Fusarium stilboides* y T3: planta+*Trichoderma virens*+*Fusarium stilboides*), coincidiendo con la actividad antimicrobiana de la capsaicina y aumento en metabolitos secundarios de parte de *Trichoderma spp*.

7.4 Patogenicidad de *Fusarium stilboides*, ensayo en cámara e invernadero:

El bioensayo preliminar presento marchitez y necrosis principalmente en sus hojas, en el tratamiento T6 (planta+*Fusarium stilboides*), a partir de la semana 8 correspondiente a la etapa de emergencia y desarrollo de hojas (ver Figura 27 A). La expresión de necrosis y marchitez producida por *Fusarium stilboides* se hizo más progresiva a partir de la semana 13, correspondiente a la etapa de desarrollo vegetativo y floración (Figura 27 B).

En general los tratamientos a excepción del tratamiento T6 (planta+*Fusarium stilboides*), muestran una óptima apariencia, calidad en los esquejes y ausencia de signos o síntomas de la enfermedad producida por el patógeno inducido en las plantas de chile jalapeño (*Fusarium stilboides*).

El bioensayo final presento síntomas de la enfermedad en el tratamiento T3 (planta+*Trichoderma virens*+*Fusarium stilboides*), en la planta número 2 y 13 a

lo largo del desarrollo del chile jalapeño, ocasionando la necrosis total en las plantas (Figura 27 C).



Figura 26. Ensayo en cámara e invernadero. A) Necrosis de *Fusarium solitroides* visible en hojas, B) Marchitez en hojas ensayo en cámara y C) Marchitez y necrosis prolongada, ensayo en invernadero.

De acuerdo con Frans et al., (2017) la pudrición en el pimiento es una enfermedad fúngica importante que ocasiona el crecimiento y/o la necrosis foliar,

base del tallo y la pulpa de la fruta, causada principalmente por miembros del complejo de especies de *Fusarium spp.*

En el estudio efectuado por Frans et al., (2018) demostraron que la adaptabilidad del patógeno a la planta, se deriva de las condiciones climáticas, puesto que la temperatura influye en la pudrición interna de la planta. Las temperaturas altas y humedades relativas influyen en que la infección y necrosis y/o marchitez, ocasionada por *Fusarium oxysporum* y *Fusarium proliferatum* sea mayor en Chile Morrón, mientras que las temperaturas más bajas parecen reducir la posibilidad de que se manifieste infección y necrosis y/o marchitez. Los resultados coinciden con los estudios anteriormente mencionados, puesto que se observó una mayor incidencia del patógeno en la totalidad de plantas del tratamiento T6 (Planta+*Fusarium stilboides*), correspondiente al ensayo en cámara, debido a que al estar en la cámara de crecimiento las condiciones de humedad y temperatura fueron mayores, en comparación con el tratamiento T3 (planta+*Trichoderma virens*+*Fusarium stilboides*), del ensayo en invernadero, puesto que contó con mayor espacio entre plantas. Por otro lado se observaron los síntomas de la enfermedad mencionados por Frans et al., (2017), principalmente en las hojas y tallo para el tratamiento T6 (ensayo en cámara) y las raíces en el tratamiento T3 (ensayo en invernadero).

De acuerdo a Lamdan et al., (2015) los agentes de control biológico *Trichoderma virens* y *atroviride*, interactúan con la planta y patógeno, promoviendo el crecimiento de las plantas e induciendo resistencia sistémica, lo cual reduce la enfermedad en las partes aéreas de la planta.

En el estudio efectuado por Salim et al., (2017), tras inocular *Trichoderma harzianum*, en plantas de tomate infectadas con el patógeno, *F. oxysporum f.sp. lycopersici*, observaron que la incidencia de la enfermedad fue menor en aquellos tratamientos inoculados con el agente de control, debido a que *Trichoderma harzianum* tiene muchos efectos positivos sobre la resistencia sistémica y de la planta a las enfermedades de las mismas. Los resultados reportados anteriormente, coinciden con los resultados obtenidos en nuestro estudio, dado

que los tratamientos inoculados con los dos agentes de control *T.atroviride* y *T.virens*, no presentaron síntomas de la enfermedad (bioensayo preliminar) , salvo en el tratamiento T3 (planta+*Trichoderma virens*+*Fusarium stilboides*), en el cual solo 2 plantas presentaron incidencia del patógeno, de las 15 evaluadas (ensayo en invernadero).

7.5.3 Determinación de clorofila a y b, ensayo en cámara e invernadero:

En el ensayo en cámara, se obtuvieron diferencias entre las concentraciones de clorofila a y b obtenidas para los tratamientos evaluados T1:planta+suelo, T2:planta+*Trichoderma atroviride*, T3:planta+*Trichoderma atroviride*+*Fusarium stilboides*, T4:planta+*Trichoderma virens*, T5:planta+*Trichoderma virens*+*Fusarium stilboides* y T6:planta+*Fusarium stilboides*. Siendo el tratamiento T2 el que obtuvo una mayor concentración de clorofila a y b (13.1 y 3.7 Cl en µg/ml), seguido del tratamiento T3 (8.9 y 2.5 Cl en µg/ml), seguido de los tratamientos T1 (6.7 y 2.0 Cl en µg/ml), T5 (6.5 y 1.7 Cl en µg/ml) y T4 (5.6 y 1.3 Cl en µg/ml) finalmente la menor concentración se presentó en el tratamiento T6

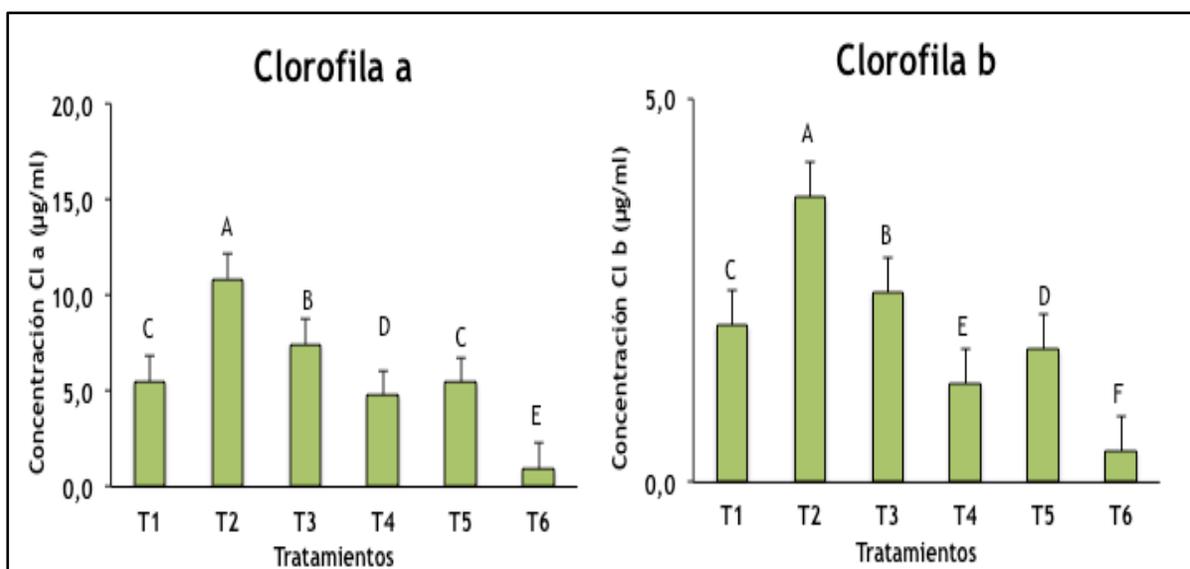


Figura 27. Ensayo en cámara, concentración de clorofila a y b (µg/ml). Niveles no conectados por la misma letra son significativamente diferentes ($p=0.05$) según la prueba de Tukey.

De acuerdo a la comparación de medias de tukey ($p=0.05$), se presentaron diferencias significativas en los tratamientos para las concentraciones de clorofila a y b (Figura 28), obtenidos tras finalizar el ensayo en cámara.

Abdelrahman et al., (2016), establecen que *Trichoderma spp* interacciona con las raíces de las plantas a través de señales químicas, esta simbiosis oportunista es impulsada por la capacidad de *Trichoderma spp* de capturar sacarosa y otros nutrientes vegetales, aumentando la capacidad de inmunidad de las plantas hacia los patógenos y mejora su capacidad fotosintética.

En el estudio efectuado por Patel et al., (2017) identificaron que la concentración de clorofila a y b, aumento en un 55 y 31 % en las plantas de tomate, inoculadas con *Trichoderma asperellum*, en comparación con las plantas control.

Majid et al., (2016) en sus estudio observaron que en diversas especies de plantas de chile tratadas con *T. harzanium*, mostraron un aumento significativo en el contenido de clorofila de las hojas.

Los resultados obtenidos se asemejan con los reportados anteriormente ya que las mayores concentraciones de clorofila a y b obtenidas, se presentaron en los tratamientos T2 (planta+*Trichoderma atroviride*) y T3 (planta+*Trichoderma atroviride*+*Fusarium stilboides*) inoculados con *T. atroviride*, en comparación con el tratamiento control.

Li et al.,(2018) y Patel et al.,(2017) en su estudio demostraron que *Fusarium oxysporum* y *Fusarium stilboides*, tienen la capacidad de degradar la clorofila principalmente en el área foliar producto de la enfermedad inducida en las plantas.

De acuerdo con De Castro et al., (2016) el patógeno *Fusarium solani f. sp. cultura piperis*, afecta las partes aéreas de la plantas al amarillear y marchitar las hojas, en su estudio se observo la reducción del contenido de clorofila, en plantas de pimiento inoculadas con el patógeno, lo cual puede deberse a la translocación de toxinas a las partes aéreas.

Tremacoldi 2010, afirmó que las toxinas producidas por los hongos patógenos inhiben las enzimas que están directa o indirectamente presentes en la fotosíntesis. Esta inhibición causa la degradación de la clorofila y/o la reducción de la síntesis de clorofila, lo que resulta en el desarrollo de la clorosis de la hoja.

Siendo el tratamiento T6 (planta+*Fusarium stilboides*) el que presento un menor contenido de clorofila a y b, podemos relacionarlo con el patógeno inoculado, puesto que se presentaron los síntomas de la enfermedad, reportados por los artículos anteriormente mencionados (De Castro *et al.*, 2016) y Tremacoldi 2010).

En el ensayo en invernadero, se obtuvieron diferencias entre las concentraciones de clorofila a y b obtenidas para los tratamientos evaluados T1:planta+suelo, T2:planta+*Trichoderma atroviride*+*Fusarium stilboides*, T3:planta+*Trichoderma virens*+*Fusarium stilboides* y T4: planta+*Fusarium stilboides*.

Siendo el tratamiento T4 aquel que obtuvo la mayor concentración de clorofila a y b (3.3 y 1.70 Cl en µg/ml), seguido de los tratamientos T1 (3.1 y 1.52 Cl en µg/ml) y T3 (3.0 y 1.42 Cl en µg/ml), finalmente la menor concentración se presento en el tratamiento T2 (1.9 y 0.93 Cl en µg/ml).

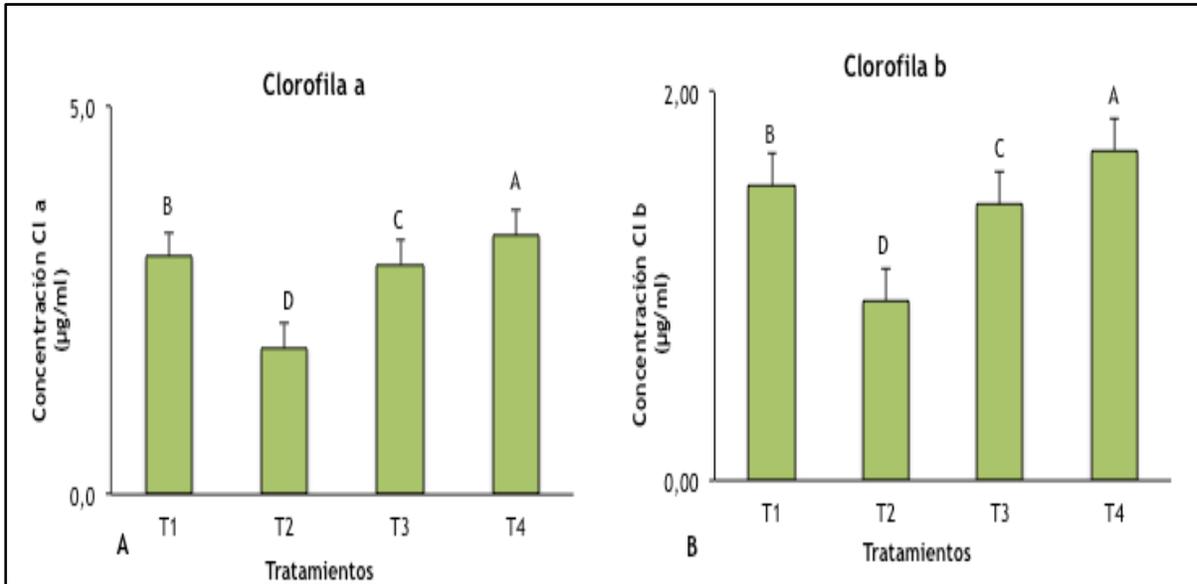


Figura 28. Ensayo en invernadero, concentración de clorofila a y b (µg/ml). Niveles no conectados por la misma letra son significativamente diferentes ($p=0.05$) según la prueba de Tukey.

De acuerdo a la comparación de medias de tukey ($p=0.05$), se presentaron diferencias significativas en los tratamientos para las concentraciones de clorofila a y b (Figura 29), obtenidos tras finalizar el bioensayo final.

Kalaji et al., (2016), establece que la clorofila es una herramienta para controlar el estado fisiológico de las plantas en condiciones de estrés abiótico, la fotosíntesis es particularmente sensible a las limitaciones ambientales, por lo que las mediciones fotosintéticas son un componente importante de los estudios de estrés de las plantas.

En el estudio de Singh et al., (2017), plantas de tomate sometidas a estrés abiótico producto de la interacción con patógenos fúngicos, observaron que aumentó significativamente el contenido de clorofila (24-56%), puesto que elevó las actividades enzimáticas antioxidantes de superóxido dismutasa (SOD, 28-41%), catalasa (CAT, 24-56%) y peroxidasa (POX, 26-44%) en las plantas.

De acuerdo con los estudios anteriormente mencionados, los resultados obtenidos para el tratamiento T4, son acordes debido a que este tratamiento se

indujo el patógeno *Fusarium stilboides* haciendo que la planta desarrolle mecanismos de resistencia sistémica e inhibición, de la enfermedad producida por *Fusarium stilboides*, lo cual favoreció el contenido de clorofila a y b en comparación al tratamiento control T1.

En cuanto a los tratamientos T2 y T3, creemos que se presentó una menor concentración de clorofila a y b, debido a que la influencia de *Trichoderma atroviride* y *virens* ejerció un mayor control biológico frente al patógeno. En el estudio efectuado por Baldi et al., (2015) y Macias et al., (2018) observaron que la aplicación de *Trichoderma* spp, no afectó la clorofila en las hojas de las plantas de tomate.

7.5.4 Necrosis

El algoritmo de necrosis se aplicó al ensayo en invernadero en los tratamientos T1:planta+suelo, T2:planta+*Trichoderma atroviride*+*Fusarium stilboides*, T3: planta+*Trichoderma virens*+*Fusarium stilboides* y T4: planta+*Fusarium stilboides*.

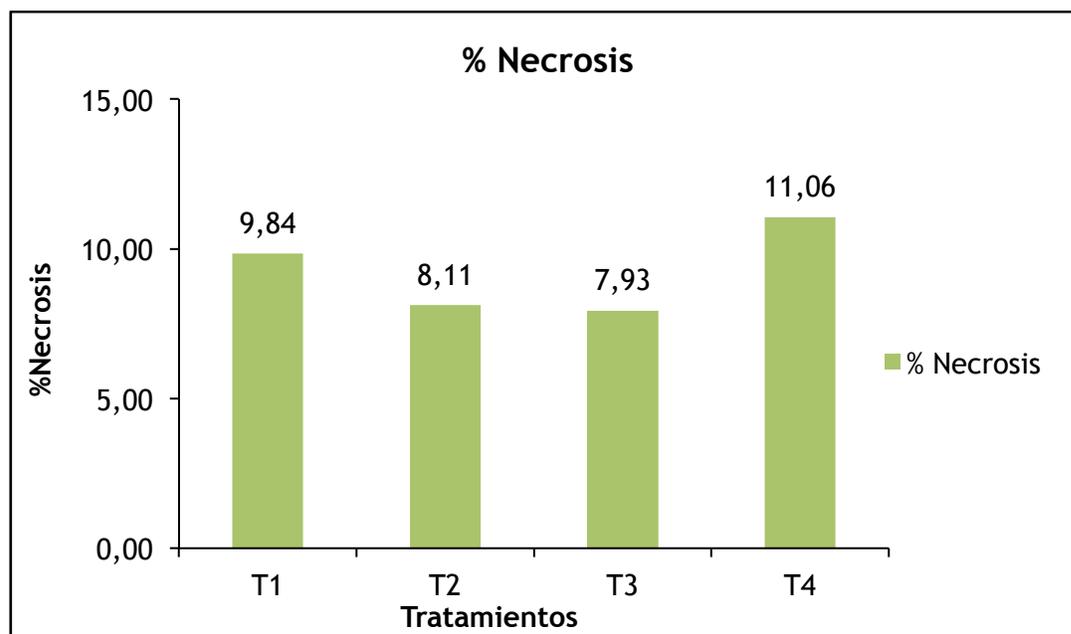


Figura 29. Porcentaje de necrosis en hojas, del ensayo en invernadero.

Se obtuvo 5 fotos por planta (hoja), 3 repeticiones para un total de 75 fotos (hoja) por tratamiento, siendo el tratamiento T4 aquel que presentó un mayor

porcentaje de necrosis, seguido del tratamiento T1 (11.06% y 9.84% de necrosis, respectivamente); finalmente los menores porcentajes de necrosis se presentaron en los tratamientos T2 y T3 (8.11% y 7.93% de necrosis, respectivamente), tal como se observa en la siguiente figura y cuadro (Figura 30 y Cuadro 5).

Cuadro 5. Porcentaje de necrosis en hojas, del ensayo en invernadero.

Tratamiento	Área hojas en píxeles (LA)	Área necrótica en píxeles (LN)	Índice (LA/LN)	Porcentaje necrosis % (LA/LN)x100
T1	114758,2	11565,0	9,92	9,84
T2	95048,5	7879,2	12,06	8,11
T3	85228,8	6522,9	13,07	7,93
T4	95033,6	10454,0	9,09	11,06

A continuación se presentan algunas de las imágenes obtenidas mediante al algoritmo de imágenes, aplicado en los tratamientos T1:planta+suelo, T2:planta+*Trichoderma atroviride*+*Fusarium stilboides*, T3: planta+*Trichoderma virens*+*Fusarium stilboides* y T4: planta+*Fusarium stilboides*, del ensayo en invernadero.

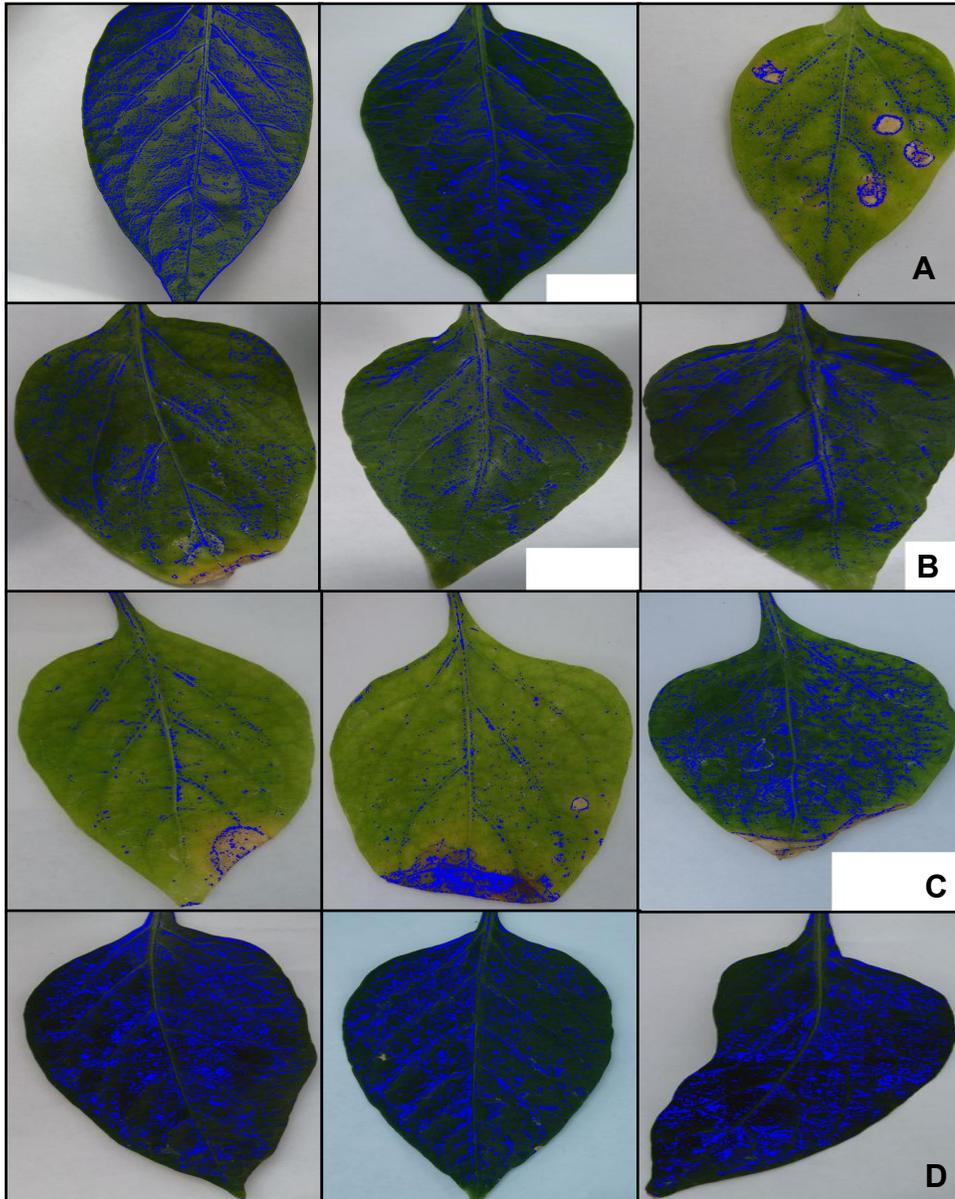


Figura 30. Ensayo en invernadero, necrosis en hojas. Imagen original con las zonas de daño detectadas con azul aplicada en los tratamientos A) T1: planta+suelo B) T2: planta+*Trichoderma atroviride*+*Fusarium stilboides* C) T3: planta+*Trichoderma virens*+*Fusarium stilboides* y D) T4: planta+*Fusarium stilboides*

De acuerdo Contreras et al., (2012) y Pérez et al., (2016a) la muerte en el tejido de la planta en un área localizada se llama necrosis y comúnmente resulta en marrón o negro, lesiones a menudo precedidas de coloración amarillenta,

clorosis, o un colapso en la clorofila y después caída prematura de hojas, rizado de hojas, maduración adelantada e irregular de frutos, pudriciones de raíz o base del tallo y muerte de planta.

En el estudio efectuado por Doñas et al., (2015) observaron que las plantas de chile jalapeño (*Capsicum annuum* L.), sometidas a estrés abiótico presentaron un mayor nivel de necrosis en los tejidos aéreos. De acuerdo a los estudios anteriormente mencionados, los resultados obtenidos para el tratamiento T4 coinciden, ya que este fue el que presentó un mayor porcentaje de necrosis en comparación a los demás tratamientos.

7.5 Distribución y abundancia en las poblaciones bacterianas, del cultivo de chile jalapeño, determinados por métodos microbiológicos.

7.5.1 Conteo bacteriano:

Las pruebas empleadas nos permitieron identificar las unidades formadoras de colonia determinadas para el ensayo en cámara, en los tratamientos: T1:planta+suelo, T3:planta+*Trichoderma atrivoide*+*Fusarium stilboides*, T5:planta+*Trichoderma virens*+*Fusarium stilboides* y T6:planta+*Fusarium stilboides*, evaluadas durante las 3 etapas de desarrollo del chile jalapeño.

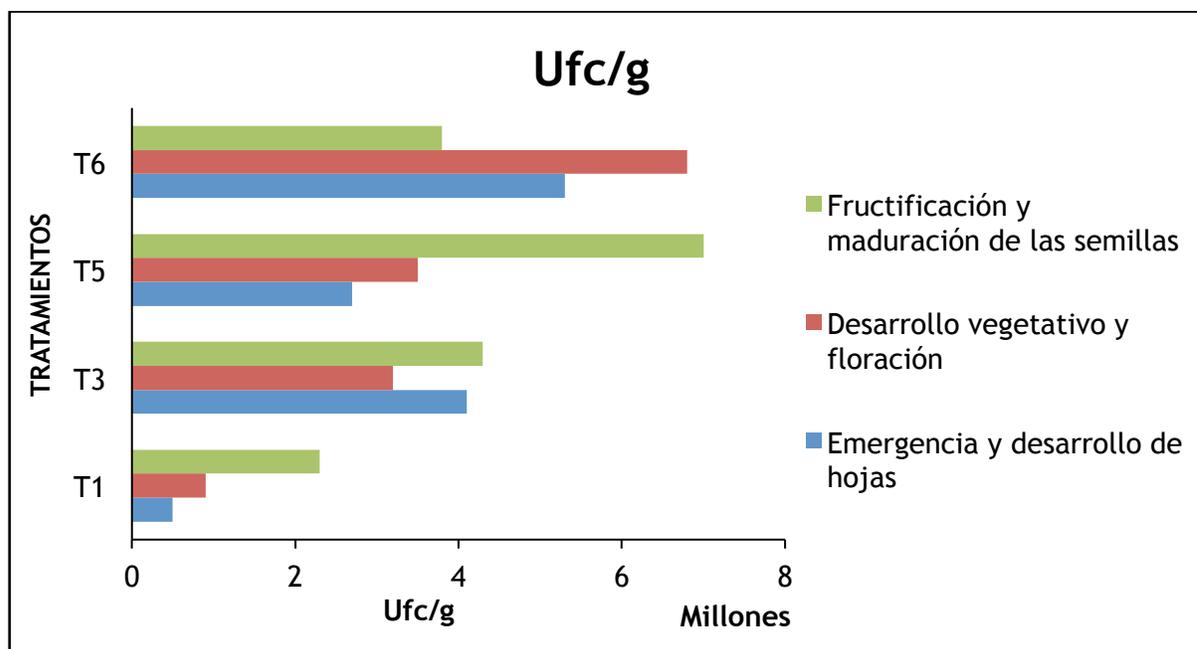


Figura 31. Unidades formadoras de colonia (Ufc/g) del ensayo en cámara.

Siendo el tratamiento T6 aquel que presento más unidades formadoras de colonia (5.3×10^6 Ufc/g) en las dos primeras etapas de desarrollo del chile jalapeño, seguido de los tratamientos T5 (4.4×10^6 Ufc/g) en la etapa de fructificación y maduración de las semillas y T3 (3.9×10^6 Ufc/g) para la etapa de emergencia y desarrollo de las cosas como para la fructificación y maduración de las semillas, finalmente el una menor unidad formadoras de colonia se presento en el tratamiento T1 (1.2×10^6 Ufc/g) en las tres etapas de desarrollo del chile jalapeño.

En el estudio efectuado por Shen *et al.*, (2015) observo que la resistencia sistémica de las plantas de chile, indujo la supresión de *Fusarium* spp y modifico la composición de la comunidad microbiana de la rizosfera, aumentando la diversidad bacteriana y taxones de consorcios microbianos potencialmente estimulantes.

De acuerdo con Berendens *et al.*, (2012) la comunicación entre la planta y el microbioma de la raíz se ve afectada por el estrés o la presencia de patógenos, que pueden causar una mayor atracción o promoción de microorganismos beneficiosos que pueden ayudar a superar la restricción.

En el estudio efectuado por Singh *et al.*, (2014) la formulación de *T. viride* tampoco tuvo ningún efecto adverso sobre los microbios rizosféricos beneficiosos, como las micorrizas arbusculares (*Glomus* spp.) En la rizósfera de tomate y chile en todas los tratamientos establecidos con el agente de control.

En el estudio efectuado por Lombardi *et al.*, (2018) al inocular *T. harzanium* en plantas de tomate, observaron que se estimula el aumento en la diversidad microbiana en la rizosfera del tomate. De acuerdo a los estudios anteriormente mencionados, los resultados obtenidos para el ensayo en cámara son acordes, dado que el tratamiento T6 (planta+*Fusarium stilboides*) presento un mayor número de unidades formadoras de colonia, debido a la incidencia del patógeno generando mecanismos de defensa en la planta, lo cual favoreció la comunidad microbiana.

Los siguientes tratamientos que mostraron un aumento en relación a las unidades formadoras de colonia fueron los tratamientos T5 (planta+*Trichoderma virens*+*Fusarium stilboides*) y T3 (planta+*Trichoderma atrivoide*+*Fusarium stilboides*), en comparación al tratamiento control T1 (planta+suelo).

Para el ensayo en invernadero se determinaron las unidades formadoras de colonia en los tratamientos, T1:planta+suelo, T2:planta+*Trichoderma atrivoide*+*Fusarium stilboides*, T3:planta+*Trichoderma virens*+*Fusarium stilboides* y T4:planta+*Fusarium stilboides*, evaluadas durante las 3 etapas de desarrollo del chile jalapeño.

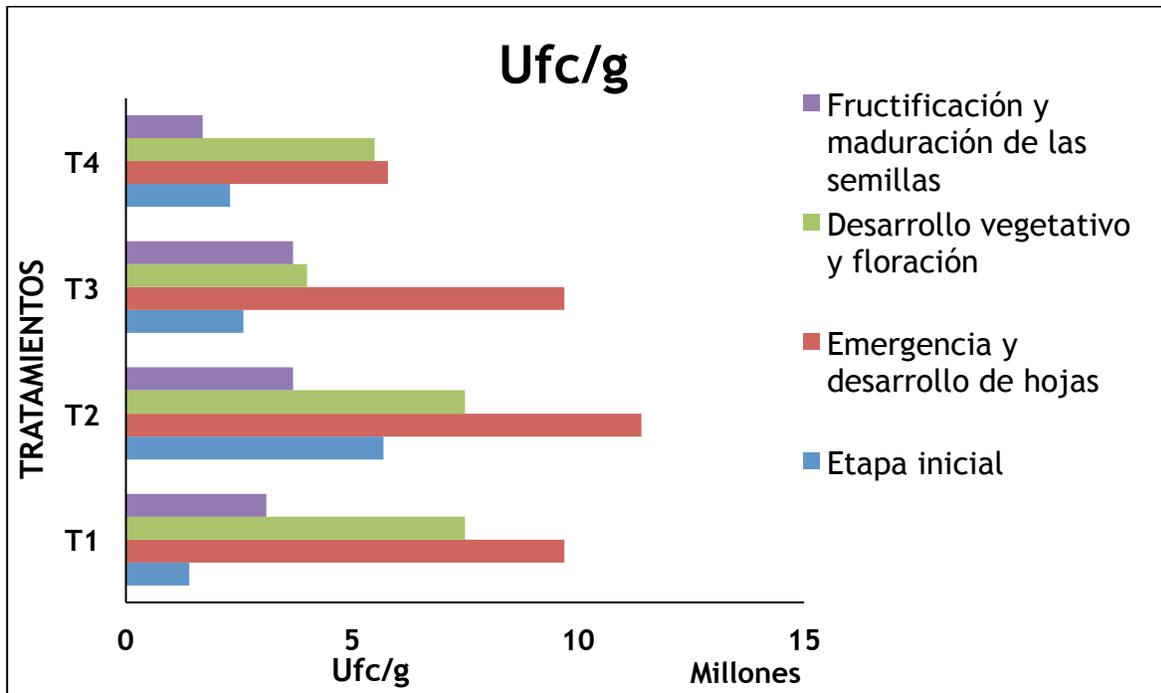


Figura 32. Unidades formadoras de colonia (Ufc/g) del ensayo en invernadero.

Siendo el tratamiento T2, aquel que presento un mayor número de unidades formadoras de colonia (7.1×10^6 Ufc/g) principalmente en las etapas de emergencia y desarrollo de las hojas y desarrollo vegetativo y floración, seguido de los tratamientos T1 (5.4×10^6 Ufc/g) en las etapas de etapas de emergencia y desarrollo de las hojas y desarrollo vegetativo y floración y T3 (5.0×10^6 Ufc/g) en la etapa de emergencia y desarrollo de hojas, finalmente el menor número de unidades formadoras de colonia se presento en el tratamiento T4 (3.8×10^6 Ufc/g) en las tres etapas de desarrollo.

De acuerdo con Cai *et al.*, (2015) *Trichoderma* spp regula la población rizósferica dada a la interacción directa que se produce con la planta, debido a la capacidad de la misma de aumentar la biodisponibilidad de elementos insolubles o escasamente solubles (P y Fe, Mn, Cu y Zn).

En el estudio efectuado por Li *et al.*, (2015), al inocular *Trichoderma harzianum* (SQR-T037) en cultivos de tomate identificaron, que se produjo una mayor abundancia de micro flora del suelo: bacterias, hongos, actinomicetos y comunidades de *Trichoderma* spp.

En el estudio realizado por Fernández *et al.*, (2017) las poblaciones de la rizosfera de plantas de tomate, se cambiaron cuando el patógeno *Fusarium oxysporum* se inoculó y disminuyó significativamente hasta en un 50%.

Los resultados obtenidos, son acordes con estudios anteriormente reportados, debido a que se observó que el tratamiento T2 inoculado con *T. atroviride* presentó un mayor número de unidades formadoras de colonia a lo largo de las 3 etapas de desarrollo del chile jalapeño, en contraste el tratamiento T4 presentó un menor número de unidades formadoras de colonia debido a la incidencia del patógeno *Fusarium stilboides*, en comparación con el tratamiento control. De acuerdo a lo cual podemos destacar que la presencia del agente de control en el bioensayo final, aumentó la microbiota del suelo.

7.5.2 Pruebas bioquímicas ensayo en cámara e invernadero:

Las pruebas efectuadas nos permitió identificar las poblaciones bacterianas, del ensayo en cámara en cada etapa de desarrollo del chile jalapeño, indicando la presencia de géneros cultivables en el suelo, los cuales se presentan en el Cuadro 6.

Cuadro 6. Poblaciones bacterianas obtenidas mediante pruebas bioquímicas, del ensayo en cámara.

Emergencia y desarrollo de hojas	Desarrollo vegetativo y floración	Fructificación y maduración de las semillas
<i>Escherichia spp</i>	<i>Escherichia spp</i>	<i>Escherichia spp</i>
<i>Salmonella spp</i>	<i>Klebsiella spp</i>	<i>Shigella spp</i>
<i>Klebsiella spp</i>	<i>Shigella spp</i>	<i>Pseudomonas spp</i>
<i>Shigella spp</i>	<i>Pseudomonas spp</i>	<i>Klebsiella spp</i>
<i>Proteus spp</i>		
<i>Pseudomonas spp</i>		

Las pruebas efectuadas nos permitió identificar las poblaciones bacterianas, del ensayo en invernadero en cada etapa de desarrollo del chile jalapeño, indicando la presencia de géneros cultivables en el suelo, los cuales se presentan en el Cuadro 7.

Cuadro 7. Poblaciones bacterianas obtenidas mediante pruebas bioquímicas, del ensayo en invernadero.

Etapas inicial	Emergencia y desarrollo de hojas	Desarrollo vegetativo y floración	Fructificación y maduración de las semillas
<i>Escherichia spp</i>	<i>Escherichia spp</i>	<i>Salmonella spp</i>	<i>Pseudomonas spp</i>
<i>Shigella spp</i>	<i>Shigella spp</i>	<i>Shigella spp</i>	<i>Shigella spp</i>
<i>Proteus spp</i>	<i>Pseudomonas spp</i>	<i>Escherichia spp</i>	<i>Klebsiella spp</i>
<i>Enterobacter spp</i>	<i>Salmonella spp</i>	<i>Klebsiella spp</i>	<i>Salmonella spp</i>
	<i>Klebsiella spp</i>		<i>Escherichia spp</i> <i>Proteus spp</i>

En el estudio efectuado por Cai et al., (2015, 2017), tras la aplicación de un fertilizante enriquecido con *Trichoderma* (BF) en cultivos de tomate, aumento la biodiversidad de bacterias y hongos, principalmente proteobacterias.

De acuerdo a Akter et al., (2016), algunos géneros de bacterias como *Pseudomonas spp*, *Klebsiella spp* y *Enterobacter spp* han demostrado actividades como rizobacterias promotoras del crecimiento de las plantas, los efectos de estos agentes sobre la supresión de la enfermedad están relacionados con la exclusión de fitopatógenos por colonización agresiva del entorno radicular o por la producción de un amplio espectro de enzimas líticas extracelulares, diversos antibióticos, cianuro de hidrógeno o activación de los mecanismos de defensa de las plantas.

En el estudio efectuado por Mendoza et al., (2017) observaron que las bacterias promotoras de la rizosfera (*Enterobacter spp*, *Pseudomonas spp* y *Klebsiella spp*) que mejores resultados presentaron favoreciendo el crecimiento de la raíz, del tallo y la mayor absorción de micro y macronutrientes, en las tres especies de vegetales analizadas de chícharo (*Pisum sativum*), calabaza (*Cucurbitapepo*) y girasol (*Helianthus annuus*).

En el estudio efectuado por [] la aplicación de *Pseudomonas* spp, en plantas de chile habanero promovió el crecimiento y acumulación de biomasa aérea, de los frutos, radical y rendimiento, incrementando la productividad de chile habanero.

En el estudio efectuado por Angulo et al., (2018) Las cepas bacterianas de *Pseudomonas tolaasii* y *Pseudomonas* spp, mostraron mayor efecto en altura de planta, área foliar, diámetro de tallo y volumen radical con respecto al testigo sin fertilizar en ambos cultivares de chile jalapeño y chile pimienta bell pepper.

De acuerdo a los estudios mencionados anteriormente, podemos destacar que las especies encontradas (*Pseudomonas* spp, *Klebsiella* spp y *Enterobacter* spp), favorecen el suelo y los cultivos agrícolas puesto que son promotores del crecimiento vegetal, promueven nutrientes para las plantas y las preparan frente a los patógenos.

Dentro de las especies encontradas, se destacan los géneros bacterianos de *Salmonella* spp, *Shigella* spp, *Proteus* spp y *Escherichia coli*, las cuales se caracterizan por ser bacterias patógenas para el ser humano, es posible encontrarlos en los suelos agrícolas debido a que presentan características que podrían ser adecuadas para estas bacterias, especialmente cuando son regados con aguas depuradas, dada la elevada concentración de nutrientes y los valores de humedad y temperatura existentes (Gondim et al., 2016 y Zao et al., 2017).

Los patógenos deben su habilidad para sobrevivir un largo periodo de tiempo a sus estructuras de resistencia (clamidosporas y esclerocios) y los que sobreviven periodos transitorios como saprofitos en la materia orgánica en descomposición (Wall et al., 2015).

Se establecieron los tratamientos para los dos ensayos efectuados cámara e invernadero, con los agentes de control *Trichoderma atroviride* y *Trichoderma virens* dirigidos al patógeno *Fusarium stilboides*, se emplearon dos sustratos obtenidos de Zimapan, Hgo y Querétaro, Qro, así como se

establecieron dos condiciones diferentes de crecimiento para los ensayos uno en cámara de crecimiento y en invernadero.

De acuerdo a los resultados obtenidos, para el ensayo en cámara se destaca que los tratamientos T4 (*Trichoderma virens*) y T2 (*Trichoderma atroviride*), inoculadas con el agente de control en ausencia del patógeno, favorecieron los parámetros fisiológicos de altura, longitud aérea y de la raíz a lo largo del desarrollo del chile jalapeño. Por otro lado los tratamientos T3 (*Trichoderma atroviride*) y T5 (*Trichoderma virens*), del ensayo en cámara, inoculados con el agente de control en presencia del patógeno, inhibieron la enfermedad producida por *Fusarium stilboides* (marchitez del chile) resaltando su acción como agentes de control biológico.

En cuanto al tratamiento T6 (*Fusarium stilboides*) presentó un menor desarrollo en sus parámetros fisiológicos, contenido de clorofila y capsaicina, debido a la incidencia y expresión de la enfermedad (necrosis) producto del patógeno.

El ensayo en invernadero, no presento diferencias significativas en el desarrollo de sus parámetros fisiológicos (altura, longitud, peso seco y fresco) a lo largo de las etapas de desarrollo del cultivo. En cuanto al contenido de clorofila a y b y capsaicina, se presentaron diferencias entre los tratamientos, siendo el tratamiento T4 (*Fusarium stilboides*), quien presento un mayor contenido de capsaicina lo anterior creemos que se debe a la resistencia sistémica o mecanismos de defensa desarrollados por la planta, frente al patógeno que estaba inoculado. Por otro lado el tratamiento T2 (*Trichoderma atroviride*+*Fusarium stilboides*) presento una mayor concentración de capsaicina, en relación a los demás tratamientos evaluados, lo anterior se puede deber a la presencia del agente de control que favoreció la producción de metabolitos secundarios, asociados a la capsaicina en la planta.

La evaluación de necrosis, mediante análisis de algoritmo de imágenes nos permitió identificar que el tratamiento T4 (planta+*Fusarium stilboides*), fue el

que tubo un mayor porcentaje de necrosis, seguido del tratamiento T1 (planta+suelo) en relación a los demás tratamientos, en el ensayo en invernadero

Las poblaciones bacterianas, identificadas por pruebas bioquímicas, para los dos ensayos cámara e invernadero, indican la presencia de los géneros (*Escherichia spp*, *Shigella spp* , *Pseudomonas spp*, *Kiebsiella spp*, *Proteus spp* y *Salmonella spp*) en la rizosfera del chile jalapeño.

Los géneros *Pseudomonas spp*, *Klebsiella spp* y *Enterobacter spp*, son rizobacterias promotoras del crecimiento el plantas. Por otro lado los géneros bacterianos *Salmonella spp*, *Shigella spp*, *Proteus spp* y *Escherichia coli*, creemos que se encontraron debido al riego con aguas contaminadas o aporte de materia fecal de animales de la zona.

Los tratamientos que presentaron un mayor número de poblaciones microbianas, son aquellos tratados con los agentes de control *Trichoderma atroviride* y *Trichoderma virens* en presencia con el patógeno *Fusarium stilboides*.

VIII. CONCLUSIONES

1. Se estableció el tratamiento en chile jalapeño (*Capsicum annuum* L. cv. Annuum), con los agentes de control biológico *T. atroviride* y *T. virens* en dos ensayos: cámara de crecimiento e invernadero, se observó que los agentes de control biológico *T. atroviride* y *T. virens*, en ausencia del patógeno *Fusarium stilboides*, favorecieron los parámetros fisiológicos de la planta como altura, longitud aérea de la raíz y fruto.
2. La actividad antagónica de *T. atroviride* y *T. virens* contra *Fusarium stilboides*, mostraron la inhibición del patógeno, al no presentarse síntomas de la enfermedad (marchitez y necrosis) en las plantas tratadas con los agentes de control. A su vez se vio favorecido los contenidos de clorofila a y b en el ensayo en cámara (13.1 y 3.7 Cl en µg/ml) e invernadero (3.3 1.70 Cl en µg/ml).
3. Se identificaron los géneros bacterianos *Escherichia spp*, *Shigella spp*, *Pseudomonas spp*, *Klebsiella spp*, *Proteus spp* y *Salmonella spp* en la rizosfera del chile jalapeño, el mayor número de poblaciones bacterianas se presentaron en los tratamientos inoculados con los agentes de control biológicos *T. atroviride* y *T. virens* a lo largo de las etapas de desarrollo del chile jalapeño.
4. El consorcio bacteriano identificado se caracteriza por ser promotoras del crecimiento de las plantas, se cree que en presencia de *T. atroviride* y *T. virens* favorecieron el desarrollo fisiológico del cultivo.

IX. PERSPECTIVAS

Establecer en campo el tratamiento con los agentes de control biológico *Trichoderma atroviride* y *virens* en Chile jalepeño, dirigido a diferentes especies de *Fusarium* spp.

Con la finalidad de identificar la variabilidad de comunidades microbianas en la rizosfera del Chile, establecer análisis moleculares acorde a las etapas de desarrollo del mismo.

REFERENCIAS

- Abdelrahman, M., Abdel-Motaal, F., El-Sayed, M., Jogaiah, S., Shigyo, M., Ito, S. I., & Tran, L. S. P. (2016). Dissection of *Trichoderma longibrachiatum*-induced defense in onion (*Allium cepa* L.) against *Fusarium oxysporum* f. sp. cepa by target metabolite profiling. *Plant Science*, 246, 128-138.
- Angulo-Castro, A., Ferrera-Cerrato, R., Alarcón, A., Almaraz-Suárez, J. J., Delgadillo-Martínez, J., Jiménez-Fernández, M., & García-Barradas, O. (2018). Crecimiento y eficiencia fotoquímica del fotosistema ii en plántulas de 2 variedades de *Capsicum annum* L. inoculadas con rizobacterias u hongos micorrícicos arbusculares. *Revista Argentina de Microbiología*, 50(2), 178–188. doi:10.1016/j.ram.2017.03.011
- Aguirre-Medina, J. F., & Espinosa Moreno, J. A. (2016). Crecimiento y rendimiento de *Capsicum annum* L. inoculado con endomicorriza y rizobacterias. *Revista mexicana de ciencias agrícolas (REMEXCA)*, 7(7), 1539-1550.
- Akter, S., Kadir, J., Juraimi, A. S., & Saud, H. M. (2016). In vitro evaluation of *Pseudomonas* bacterial isolates from rice phylloplane for biocontrol of *Rhizoctonia solani* and plant growth promoting traits. *Journal of Environmental Biology*, 37(4), 597.
- Balcázar-López, E., Méndez-Lorenzo, L. H., Batista-García, R. A., Esquivel-Naranjo, U., Ayala, M., Kumar, V. & Folch-Mallol, J. L. (2016). Xenobiotic compounds degradation by heterologous expression of a *Trametes sanguineus* laccase in *Trichoderma atroviride*. *PloS one*, 11(2), e0147997.
- Ball, B. C., Guimarães, R. M., Cloy, J. M., Hargreaves, P. R., Shepherd, T. G., & McKenzie, B. M. (2017). Visual soil evaluation: A summary of some applications and potential developments for agriculture. *Soil and Tillage Research*, 173, 114-124.
- Barbedo, J. G. A. (2016). A novel algorithm for semi-automatic segmentation of plant leaf disease symptoms using digital image processing. *Tropical Plant Pathology*, 41(4), 210-224

- Baroncelli, R., Piaggieschi, G., Fiorini, L., Bertolini, E., Zapparata, A., Pè, M. E., & Vannacci, G. (2015). Draft whole-genome sequence of the biocontrol agent *Trichoderma harzianum* T6776. *Genome Announcements*, 3(3), e00647-15.
- Baker, R., Elad, Y., Chet, I. (1984). The controlled experiment in the scientific method with special emphasis on biological control. *Phytopathology* 74, 1019–1021.
- Baldi Elena, Amadei Paolo, Pelliconi Fabio & Toselli Moreno. (2015). Use of *Trichoderma* Spp. and Arbuscular Mycorrhizal Fungi to Increase Soil Beneficial Population of Bacteria in a Nectarine Commercial Orchard: Effect on Root Growth, Nutrient Acquisition and Replanting Disease.
- Bhardwaj, D., Ansari, M. W., Sahoo, R. K., & Tuteja, N. (2014). Biofertilizers function as key player in sustainable agriculture by improving soil fertility, plant tolerance and crop productivity. *Microbial Cell Factories*, 13(1), 66.
- Badui Dergal, S., & Cejudo Gómez, H. R. T. (2006). *Química de los alimentos*. Pearson educación.
- Beckman, C. H. (1987). *The nature of wilt diseases of plants*. APS press.
- Beltrán-Morales, F. A., García-Hernández, J. L., Ruiz-Espinoza, F. H., Valdez-Cepeda, R. D., Preciado-Rangel, P., Fortis-Hernández, M., & González-Zamora, A. (2016). Efecto de sustratos orgánicos en el crecimiento de seis variedades de chile jalapeño (*Capsicum annuum* L.). *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 3(7), 143-149
- Benítez T, rincón AM.; Limón M.C.; and Codón A. (2004). Biocontrol mechanism of *Trichoderma* strains. *International Microbiology*. 2004. 7:249-260.
- Bueno, A. C. S. O., Castro, G. L. S., Rêgo, M. C. F., Batista, T. F. V., Filippi, M. C. C., & da Silva, G. B. (2017). *Trichoderma* reduces scald and protects the photosynthetic apparatus in rice plants. *Biocontrol Science and Technology*, 27(4), 449-460.
- Brunner, K., Zeilinger, S., Ciliento, R., Woo, S. L., Lorito, M., Kubicek, C. P., & Mach, R. L. (2005). Improvement of the fungal biocontrol agent *Trichoderma atroviride* to

enhance both antagonism and induction of plant systemic disease resistance. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(7), 3959-3965.

Bouma, J., Van Ittersum, M. K., Stoorvogel, J. J., Batjes, N. H., Droogers, P., & Pulleman, M. M. (2017). Soil capability: Exploring the functional potentials of soils. In *Global Soil Security*(pp. 27-44). Springer, Cham.

Cai, F., Chen, W., Wei, Z., Pang, G., Li, R., Ran, W., & Shen, Q. (2015). Colonization of *Trichoderma harzianum* strain SQR-T037 on tomato roots and its relationship to plant growth, nutrient availability and soil microflora. *Plant and Soil*, 388(1-2), 337-350.

Cai, F., Pang, G., Li, R. X., Li, R., Gu, X. L., Shen, Q. R., & Chen, W. (2017). Bioorganic fertilizer maintains a more stable soil microbiome than chemical fertilizer for monocropping. *Biology and Fertility of Soils*, 53(8), 861-872.

Casler, M. D. (2015). Fundamentals of experimental design: Guidelines for designing successful experiments. *Agronomy Journal*, 107(2), 692-705.

Castrillo, G., Teixeira, P. J. P. L., Paredes, S. H., Law, T. F., De Lorenzo, L., Feltcher, M. E., & Paz-Ares, J. (2017). Root microbiota drive direct integration of phosphate stress and immunity. *Nature*, 543(7646), 513.

Catharina, L., & Carels, N. (2018). Specific enzyme functionalities of *Fusarium oxysporum* compared to host plants. *Gene*, 676, 219-226.

Cerón-Carrillo, T., Munguía-Pérez, R., García, S., & Santiesteban-López, N. A. (2014). Actividad antimicrobiana de extractos de diferentes especies de chile (capsicum). *Revista Iberoamericana de Ciencias*, 1(1).

Contreras-Cornejo, H. A., Macías-Rodríguez, L., Alfaro-Cuevas, R., & López-Bucio, J. (2014). *Trichoderma* spp. improve growth of *Arabidopsis* seedlings under sal stress through enhanced root development, osmolite production, and Na⁺ elimination through root exudates. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 27(6)503-514.

- Contreras-Cornejo, H. A., Macías-Rodríguez, L., del-Val, E., & Larsen, J. (2016). Ecological functions of *Trichoderma* spp. and their secondary metabolites in the rhizosphere: interactions with plants. *FEMS Microbiology Ecology*, 92(4), fiw036.
- Contreras-Medina, L. M., Osornio-Rios, R. A., Torres-Pacheco, I., Romero-Troncoso, R. D. J., Guevara-González, R. G., & Millan-Almaraz, J. R. (2012). Smart sensor for real-time quantification of common symptoms present in unhealthy plants. *Sensors*, 12(1), 784-805.
- Cosme-Velázquez, Yesenia, Guzmán-Plazola, Remigio Anastacio, Sandoval-Islas, Sergio, Corona-Torres, Tarcisio, & Mendoza-Pérez, Doricela. (2015). Efecto del acibenzolar S-metil en plantas de chile serrano (*Capsicum annuum*) infectadas con *Phytophthora capsici* en diferentes edades. *Revista mexicana de fitopatología*, 33(2), 156-172.
- Chang, P.F.L., Xu, Y., Narasimhan, M.L., Cheah, K.T., Durzo, M.P., Damsz, B., Kononowicz, A.K., Abad, L., Hasegawa, P.M., Bressan, R.A., (1997). Induction of pathogen resistance and pathogenesis-related genes in tobacco by a heat-stable *Trichoderma* micelial extract and plant signal messengers. *Plant Physiology* 100, 341–352.
- Chávez-Sandoval, R. A., Martínez-Peniche, R. Á., Hernández-Iturriaga, M., Fernández-Escartín, E., Arvizu-Medrano, S., & Soto-Muñoz, L. (2011). Control biológico y químico contra *Fusarium stilboides* en pimiento morrón (*Capsicum annuum* L.) en poscosecha. *Revista Chapingo. Serie horticultura*, 17(2), 161-172.
- Di Ciocco, C. A., Sandler, R. V., Falco, L. B., & Coviella, C. E. (2014). Actividad microbiológica de un suelo sometido a distintos usos y su relación con variables físico-químicas. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo*, 46(1), 0-0.
- De Castro, G. L. S., de Lemos, O. F., Tremacoldi, C. R., Moraes, F. K. C., dos Santos, L. R. R., & Pinheiro, H. A. (2016). Susceptibility of in vitro black pepper plant to the filtrate from a *Fusarium solani* f. sp. piperis culture. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 127(1), 263-268.

- De Senna, A., & Lathrop, A. (2017). Antifungal Screening of Bioprotective Isolates against *Botrytis cinerea*, *Fusarium pallidoroseum* and *Fusarium moniliforme*. *Fermentation*, 3(4), 53.
- De la Federación, D. O. (2002). Norma Oficial Mexicana NOM-021-SEMARNAT-2000. Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudio, muestreo y análisis: México, 31, 85.
- Domínguez, S., Rubio, M. B., Cardoza, R. E., Gutiérrez, S., Nicolás, C., Bettiol, W., & Monte, E. (2016). Nitrogen metabolism and growth enhancement in tomato plants challenged with *Trichoderma harzianum* expressing the *Aspergillus nidulans* acetamidase amdS gene. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1182.
- Doñas-Uclés, F., Pérez-Madrid, D., Amate-Llobregat, C., Rodríguez-García, E. M., & Camacho-Ferre, F. (2015). Production of pepper cultivar Palermo grafted onto Serrano de Morelos 2, Jalapeno, and three commercial rootstocks. *Hortscience*, 50(7), 1018-1022.
- Dubey, S. K., Tripathi, A. K., & Upadhyay, S. N. (2006). Exploration of soil bacterial communities for their potential as bioresource. *Bioresource Technology*, 97(17), 2217-2224.
- Epelde, L., Lanzen, A., Blanco, F., Urich, T., & Garbisu, C. (2015). Adaptation of soil microbial community structure and function to chronic metal contamination at an abandoned Pb-Zn mine. *FEMS Microbiol Ecol*, 91(1), 1-11.
- Esperschütz, J., Gatteringer, A., Mäder, P., Schloter, M., & Fließbach, A. (2007). Response of soil microbial biomass and community structures to conventional and organic farming systems under identical crop rotations. *FEMS Microbiology Ecology*, 61(1), 26-37.
- FAO, 2016. Food and Agriculture Organization of United Nations [En línea] Available at: <http://faostat.fao.org/beta/es/#compare> [Último acceso: 27.05.2016].

- Frans, M., Moerkens, R., Van Gool, S., Sauviller, C., Van Laethem, S., Luca, S., & Ceusters, J. (2018). Modelling greenhouse climate factors to constrain internal fruit rot (*Fusarium spp.*) in bell pepper. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 1-8.
- Frans, M., Aerts, R., Van Laethem, S., & Ceusters, J. (2017). Environmental effects on growth and sporulation of *Fusarium spp.* causing internal fruit rot in bell pepper. *European Journal of Plant Pathology*, 149(4), 875-883
- Ferrera, I., Mas, J., Taberna, E., Sanz, J., & Sánchez, O. (2015). Biological support media influence the bacterial biofouling community in reverse osmosis water reclamation demonstration plants. *Biofouling*, 31(2), 173-180.
- Fernández, E., Trillas, M. I., & Segarra, G. (2017). Increased rhizosphere populations of *Trichoderma asperellum* strain T34 caused by secretion pattern of root exudates in tomato plants inoculated with *Botrytis cinerea*. *Plant Pathology*, 66(7), 1110-1116.
- Fierer, N., J. A. Jackson, R. Vilgalys, and R. B. Jackson. (2005). Assessment of soil microbial community structure by use of taxon-specific quantitative PCR assays. *Applied and Environmental Microbiology*. 71:4117–4120.
- Gupta, V. G., Schmoll, M., Herrera-Estrella, A., Upadhyay, R. S., Druzhinina, I., & Tuohy, M. (Eds.). (2014). *Biotechnology and biology of trichoderma*. Newnes.
- Guilger, M., Pasquoto-Stigliani, T., Bilesky-Jose, N., Grillo, R., Abhilash, P. C., Fraceto, L. F., & De Lima, R. (2017). Biogenic silver nanoparticles based on *trichoderma harzianum*: synthesis, characterization, toxicity evaluation and biological activity. *Scientific Reports*, 7, 44421.
- Gondim-Porto, C., Platero, L., Nadal, I., & Navarro-García, F. (2016). Fate of classical faecal bacterial markers and ampicillin-resistant bacteria in agricultural soils under Mediterranean climate after urban sludge amendment. *Science of the Total Environment*, 565, 200-210.
- Harman, G.E, Howell CR, Viterbo A, Chet I, Lorito M. (2004). *Trichoderma* species opportunistic, a virulent plant symbionts. *Nature Reviews* 2:43-56.

- Hernández del Valle, G., Hernández González, O., Guridi Izquierdo, F., & Arbelo Fortes, N. (2012). Influencia de la siembra directa y las aplicaciones foliares de extracto líquido de Vermicompost en el crecimiento y rendimiento del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) cv. cc-25-9. *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias*, 21(2), 86-90.
- Hoyos-Carvajal, L., Cardona, A., Osorio, W., & Orduz, S. (2015). Efecto de diversos aislamientos de *Trichoderma* spp. en la absorción de nutrientes en frijol (*Phaseolus vulgaris*) en dos tipos de suelo. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 9(2), 268-278.
- 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 Journal*. 87, 4–10.
- Howell, C.R., (2006). Understanding the mechanisms employed by *Trichoderma virens* to affect biological control of cotton diseases. *Phytopathology* 96, 178–180.
- Hunter, J. J. (2017). Plant spacing implications for grafted grapevine I. Soil characteristics, root growth, dry matter partitioning, dry matter composition and soil utilisation. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 19(2), 25-34.
- Jacobsen, C. S., & Hjelmsø, M. H. (2014). Agricultural soils, pesticides and microbial diversity. *Current Opinion in Biotechnology*, 27, 15-20.
- Jacobo, M. F. N., Badillo, F. B. S., Rostás, M., Bremont, J. F. J., Stewart, A., & Mendoza, A.M. (2017). Environmental growth conditions of *Trichoderma* spp. affects indole acetic acid derivatives, volatile organic compounds, and plant growth promotion. *Frontiers in Plant Science*, 8, 102.
- Jangir, M., Pathak, R., Sharma, S., & Sharma, S. (2018). Biocontrol mechanisms of *Bacillus* sp., isolated from tomato rhizosphere, against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Biological Control*, 123, 60-70.
- Janssen, P.H (2006). Identifying the dominant soil bacterial taxa in libraries of 16S rRNA and 16S rRNA genes. *Applied Environmental and Microbiology*. 72:1719–1728.

- Kalaji, H. M., Jajoo, A., Oukarroum, A., Brestic, M., Zivcak, M., Samborska, I. A., & Ladle, R. J. (2016). Chlorophyll a fluorescence as a tool to monitor physiological status of plants under abiotic stress conditions. *Acta Physiologiae Plantarum*, 38(4), 102.
- Keswani C, Mishra S, Sarma B, Singh S, Singh H. (2014). Unraveling the efficient applications of secondary metabolites of various *Trichoderma* spp. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 98:533-544.
- Kredics, L., Hatvani, L., Naeimi, S., Körmöczi, P., Manczinger, L., Vágvölgyi, C., & Druzhinina, I. (2014). Biodiversity of the genus *Hypocrea/Trichoderma* in different habitats. In *Biotechnology and biology of Trichoderma* (pp. 3-24).
- Kubicek, C.P., Herrera-Estrella, A., Seidl-Seiboth, V., Martínez, D.A., Druzhinina, I.S., Thon, M., Zeilinger, S., Casas-Flores, S., Horwitz, B.A. (2011). Comparative genome sequence analysis underscores mycoparasitism as the ancestral life style of *Trichoderma*. *Genome Biology*.12, R40.
- Lamdan, N. L., Shalaby, S., Ziv, T., Kenerley, C. M., & Horwitz, B. A. (2015). Secretome of *Trichoderma* interacting with maize roots: role in induced systemic resistance. *Molecular & Cellular Proteomics*, 14(4), 1054-1063.
- Lara, C. (2014). Bacterias nativas con potencial en la producción de ácido indolacético para mejorar los pastos. *Zootecnia Tropical*, 29(2).
- Lara, C., Oviedo, L. E., & Betancur, C. A. (2011). Bacterias nativas con potencial en la producción de ácido indolacético para mejorar los pastos. *Zootecnia tropical*, 29(2), 187-194.
- Lardizabal, R.D., & Medlicott, A.P (2010). Manual de producción de chile jalapeño, Compendio de manuales de producción de frutas y hortalizas. Publicaciones Técnicas del Programa de Entrenamiento y Desarrollo de Agricultores MCAH/ EDA. La Lima, Cortés, Honduras. pp. 460. Primera Edición.
- Li, R. X., Cai, F., Pang, G., Shen, Q. R., Li, R., & Chen, W. (2015). Solubilisation of phosphate and micronutrients by *Trichoderma harzianum* and its relationship with the promotion of tomato plant growth. *PLoS one*, 10(6), e0130081.

- Li, N., & Kang, S. (2018). Do volatile compounds produced by *Fusarium oxysporum* and *Verticillium dahliae* affect stress tolerance in plants?. *Mycology*, 1-10.
- Lynch J, K Wilson, M Ousley, J Whipps. (1991). Response of lettuce to *Trichoderma* treatment. *Letters in Applied Microbiology* 12: 56-61.
- Lomas-Cano, T., Boix-Ruiz, A., de Cara-García, M., Marín-Guirao, J. I., Palmero-Llamas, D., Camacho-Ferre, F., & Tello-Marquina, J. C. (2016). Etiological and epidemiological concerns about Pepper root and lower stem rot caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-capsici* f. sp. *nova*. *Phytoparasitica*, 44(3), 283-293.
- Lombardi, N., Vitale, S., Turrà, D., Reverberi, M., Fanelli, C., Vinale, F., & Woo, S. L. (2018). Root exudates of stressed plants stimulate and attract *Trichoderma* soil fungi. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 31(10), 982-994.
- López-Gómez, J. D., Villegas-Torres, O. G., Nava, H. S., Rodríguez, M. A., López, P. J., & Fernández, E. M. (2017). Rendimiento y calidad del chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) por efecto del régimen nutrimental. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 8(8), 1747-1758.
- López-López, N., Segarra, G., Vergara, O., López-Fabal, A., & Trillas, M. I. (2016). Compost from forest cleaning green waste and *Trichoderma asperellum* strain T34 reduced incidence of *Fusarium circinatum* in *Pinus radiata* seedlings. *Biological control*, 95, 31-39.
- Majid, M. U., Awan, M. F., Fatima, K., Tahir, M. S., Ali, Q., Rashid, B., & Husnain, T. (2016). *Phytophthora capsici* on chilli pepper (*Capsicum annuum* L.) and its management through genetic and bio-control: a review. *Zemdirbyste-Agriculture*, 103(4).
- Mannai, S., Jabnoun-Khiareddine, H., Nasraoui, B., & Daami-Remadi, M. (2018). Rhizoctonia Root Rot of Pepper (*Capsicum annuum*): Comparative Pathogenicity of Causal Agent and Biocontrol Attempt using Fungal and Bacterial Agents. *Journal of Plant Pathology & Microbiology*, 9(431), 2.

- Marín, A., Ferreres, F., Tomás-Barberán, F. A., & Gil, M. I. (2004). Characterization and quantitation of antioxidant constituents of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(12), 3861-3869.
- Martínez Evangelista, Z (2013). Isolation and characterization of soil *Streptomyces* species as potential biological control agents against fungal plant pathogens. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. May 2014, Volume 30, Issue 5, pp 1639–1647.
- Martínez-Medina, A., Alguacil, M. D. M., Pascual, J. A., & Van Wees, S. C. (2014). Phytohormone profiles induced by *Trichoderma* isolates correspond with their biocontrol and plant growth-promoting activity on melon plants. *Journal of Chemical Ecology*, 40(7), 804-815.
- Macías-Rodríguez, L., Guzmán-Gómez, A., García-Juárez, P., & Contreras-Cornejo, H. A. (2018). *Trichoderma atroviride* promotes tomato development and alters the root exudation of carbohydrates, which stimulates fungal growth and the biocontrol of the phytopathogen *Phytophthora cinnamomi* in a tripartite interaction system. *FEMS Microbiology Ecology*, 94(9), f137.
- Mau, R. L., Liu, C. M., Aziz, M., Schwartz, E., Dijkstra, P., Marks, J. C., & Hungate, B. A. (2015). Linking soil bacterial biodiversity and soil carbon stability. *The ISME Journal*, 9(6), 1477.
- Mendoza-Mendoza, A., Pozo, M. J., Grzegorski, D., Martínez, P., García, J. M., Olmedo Monfil, & Herrera-Estrella, A. (2003). Enhanced biocontrol activity of *Trichoderma* through inactivation of a mitogen-activated protein kinase. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, (PNAS) 100(26), 15965-15970.
- Mendoza-Hernández, J. C., García, M. C. M. B. L., Muñoz-González, G. I., Vega-Hernández, J. A. M., & Pérez-Osorio, G. (2017). Evaluación en el Crecimiento y nutrición de las plantas de Chícharo (*Pisumsativum*), Calabaza (*Cucurbita Pepo*) Y Girasol (*Helianthus Annuus*) Inoculadas Con BPCV. *Journal of Agriculture and Environmental Sciences*, 6(2), 42-53.

- Mena, J; Pimentel, E; Veloz, L; Hernández, AT; León, L; Ramírez, Y; Sánchez, I; Mencho,JD; López, A; Pujol, M; Borroto, C; Ramos, E; Alvarez, JM; Marín, M; Jiménez, G; García, G; Pico, VM; Expósito, M; Coca, Y; Gómez, M; Olazabal, A; Hernández, A; Falcón, V; De la Rosa, M; Menéndez, I; Raíces, M. (2003). Aislamiento y determinación de cepas bacterianas con actividad nematicida. Mecanismo de acción de *C. paurometabolum* C-924 sobre nematodos. *Biotecnología Aplicada* 20(4):248- 252.
- Méndez Aguilar, Reinaldo, Rodríguez Guerra, Raúl, Ramírez Meraz, Moisés, Álvarez Ojeda, María Genoveva, Vázquez García, Enrique, Arcos Cavazos, Gerardo, Tenorio Pérez, Valeriano, Hernández Delgado, Sanjuana, & Mayek Pérez, Netzahualcóyotl. (2015). Identificación de fuentes de resistencia a pudriciones de la raíz en germoplasma de chile serrano (*Capsicum annuum* L.). *Revista mexicana de Ciencias Agrícolas*, 6(7), 1507-1518.
- Meyer, S. L., Roberts, D. P., Chitwood, D. J., Carta, L. K., Lumsden, R. D., & Mao, W. (2001). Application of *Burkholderia cepacia* and *Trichoderma virens*, alone and in combinations, against *Meloidogyne incognita* on bell pepper. *Nematropica*, 31(1), 75-86.
- Mohiddin, F.A., Khan, S.M., Bhat, B.H. (2010). Why *Trichoderma* is considered super hero (super fungus) againsts the evil parasites?. *Journal Plant Pathology*, 9: 92-102.
- Montoya-Gonzalez AH, Quijano-Vicente G, Morales-Maza A, Ortiz-Uribe N, Hernandez-Martinez R (2016) Isolation of *Trichoderma* Spp. from Desert Soil, Biocontrol Potential Evaluation and Liquid Culture Production of Conidia Using Agricultural Fertilizers. *Journal of Fertilizers & Pesticides*, 7: 163. doi:10.4172/2471-2728.1000163.
- Monfil, V. O., & Casas-Flores, S. (2014). Molecular mechanisms of biocontrol in *Trichoderma spp.* and their applications in agriculture. In *Biotechnology and biology of Trichoderma* (pp. 429-453).

- Moreno J.R. & Albarracín V.H (2012). Aislamiento, cultivo e identificación de microorganismos ambientales a partir de muestras naturales. *Reduca (Biología)*, 5(5).
- Mukherjee, P.K., Horwitz, B., Kenerley, C.M., 2012. Secondary metabolism in *Trichoderma* a genomic perspective. *Microbiology* 158, 35–45.
- Mukherjee, P.K., Horwitz, B.A., Herrera-Estrella, A., Schmoll, M., & Kenerley, C.M., (2013a). *Trichoderma* research in the genome era. *Annual Review Phytopathology*. 51, 105e129.
- Munkvold, G. P. (2017). *Fusarium* species and their associated mycotoxins. In *Mycotoxigenic Fungi* (pp. 51-106). Humana Press, New York, NY.
- Naegele, R. P., Granke, L. L., Fry, J., Hill, T. A., Ashrafi, H., Van Deynze, A., & Hausbeck, M. K. (2017). Disease resistance to multiple fungal and oomycete pathogens evaluated using a recombinant inbred line population in pepper. *Phytopathology*, 107(12), 1522-1531.
- Nannipieri, P., Ascher, J., Ceccherini, M. T., Landi, L., Pietramellara, G., & Renella, G. (2017). Microbial diversity and soil functions. *European Journal of Soil Science*, 68(1), 12-26.
- Nieto-Jacobo, M. F., Steyaert, J. M., Salazar-Badillo, F. B., Nguyen, D. V., Rostás, M., Braithwaite, M., & Mendoza-Mendoza, A. (2017). Environmental growth conditions of *Trichoderma* spp. affects indole acetic acid derivatives, volatile organic compounds, and plant growth promotion. *Frontiers in Plant Science*, 8, 102.
- Nottingham, A. T., Turner, B. L., Stott, A. W., & Tanner, E. V. (2015). Nitrogen and phosphorus constrain labile and stable carbon turnover in lowland tropical forest soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 80, 26-33.
- Nuncio-Orta, G., Mendoza-Villarreal, R., Robledo-Torres, V., Vazquez-Badillo, M., & Almaraz-Suárez, J. J. (2015). Influencia de Rizobacterias en la Germinación y Vigor de Semillas de Chile jalapeño (*Capsicum annuum* L.'var. Grande'). *ITEA- Información Técnica Económica Agraria*, 111(1), 18-33.

- Olmedo-Monfil, V., Mendoza-Mendoza, A., Gomez, I., Cortes, C., & Herrera-Estrella, A. (2002). Multiple environmental signals determine the transcriptional activation of the mycoparasitism related gene *prb1* in *Trichoderma atroviride*. *Molecular Genetics and Genomics*, 267(6), 703-712.
- Olmedo-Monfil, V., & Casas-Flores, S. (2014). Molecular mechanisms of biocontrol in *Trichoderma spp.* and their applications in agriculture. *Biotechnology and Biology of Trichoderma*, Elsevier, 429-453.
- Ong, G. H., Subramaniam, G., & Tan, A. L. (2015). Comparative Study of *Trichoderma*-infused Compost on Growth and Yield of Chili Plants. *Asian Journal of Microbiology, Biotechnology and Environmental Sciences*, 17(4), 883-888.
- Okon Levy, N., Meller Harel, Y., Haile, Z. M., Elad, Y., Rav - David, E., Jurkevitch, E., & Katan, J. (2015). Induced resistance to foliar diseases by soil solarization and *Trichoderma harzianum*. *Plant pathology*, 64(2), 365-374.
- Padilha, H. K. M., Pereira, E. D. S., Munhoz, P. C., Vizzotto, M., Valgas, R. A., & Barbieri, R. L. (2015). Genetic variability for synthesis of bioactive compounds in peppers (*Capsicum annuum*) from Brazil. *Food Science and Technology*, 35(3), 516-523.
- Parkash, V., & Saikia, A. J. (2015). Production and Multiplication of Native Compost Fungal Activator by Using Different Substrates and Its Influence on Growth and Development of *Capsicum chinensis Jacq.* "*Bhut Jolokia*". *Biotechnology research international*, 2015.
- Patel, S., & Saraf, M. (2017). Interaction of root colonizing biocontrol agents demonstrates the antagonistic effect against *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici* on tomato. *European Journal of Plant Pathology*, 149(2), 425-433.
- Patel, S., & Saraf, M. (2017). Biocontrol efficacy of *Trichoderma asperellum* MSST against tomato wilting by *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici*. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 50(5-6), 228-238.

- Pérez-Acevedo, C. E., Carrillo-Rodríguez, J. C., Chávez-Servia, J. L., Perales-Segovia, C., del Valle, R. E., & Villegas-Aparicio, Y. (2017). Diagnóstico de síntomas y patógenos asociados con marchitez del chile en Valles Centrales de Oaxaca* Diagnosis of symptoms and pathogens associated with pepper wilt in Central Valleys of Oaxaca. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 8(2), 281-293.
- Pereira, J. A. P., Vieira, I. J. C., Freitas, M. S. M., Prins, C. L., Martins, M. A., & Rodrigues, R. (2016). Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on *Capsicum* spp. *The Journal of Agricultural Science*, 154(5), 828-849.
- Pinzón Espinoza, L., & Candelero de la Cruz, J., & Tun Suárez, J., & Reyes Oregel, V., & Alejo, J. (2015). Control de *Meloidogyne incognita* en tomate (*Solanum lycopersicum* L.) con la aplicación de *Trichoderma harzianum*. *Fitosanidad*, 19 (1), 5-11
- Powlson, D. S., Stirling, C. M., Thierfelder, C., White, R. P., & Jat, M. L. (2016). Does conservation agriculture deliver climate change mitigation through soil carbon sequestration in tropical agro-ecosystems?. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 220, 164-174.
- Rabeendran N, D Moot, E Jones, A Stewart. (2000). An inconsistent growth promotion of cabbage and lettuce from *Trichoderma* isolates. 53rd Conference Proceedings of The New Zealand Plant Protection Society Incorporated, p. 143-146.
- Raaijmakers JM, de Bruijn I, de Kock MJ (2006) Cyclic lipopeptide production by plant-associated *Pseudomonas* spp.: diversity, activity, biosynthesis, and regulation. *Molecular Plant Microbe Interactions* 19:699–710
- Rivas, R. M. F., de León, G. S., Leal, J. A. R., Ramírez, J. M., & Romero, F. M. (2017). Characterization of dissolved organic matter in an agricultural wastewater-irrigated soil, in semi arid Mexico. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 33(4), 575-590.
- Rivera-Becerril, F., van Tuinen, D., Chatagnier, O., Rouard, N., Béguet, J., Kuszala, C. & Martin-Laurent, F. (2017). Impact of a pesticide cocktail (fenhexamid, folpel,

deltamethrin) on the abundance of Glomeromycota in two agricultural soils. *Science of The Total Environment*, 577, 84-93.

Reyes, R. A.; López, A. M.; Ruiz, S. E.; Latournerie, M. L.; Pérez, G. A.; Lozano, C. M. G. Y Zavala, L. M. J. 2014. Efectividad de inoculantes microbianos en el crecimiento y productividad de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.). *Agrociencia* 48:285-294.

Reyes-Ramírez, A., López-Arcos, M., Ruiz-Sánchez, E., Latournerie-Moreno, L., Pérez-Gutiérrez, A., Lozano-Contreras, M. G., & Zavala-León, M. J. (2014). Efectividad de inoculantes microbianos en el crecimiento y productividad de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.). *Agrociencia*, 48(3), 285-294.

Robbertse, B., Strobe, P. K., Chaverri, P., Gazis, R., Ciufu, S., Domrachev, M., & Schoch, C. L. (2017). Improving taxonomic accuracy for fungi in public sequence databases: applying 'one name one species' in well-defined genera with *Trichoderma/Hypocrea* as a test case. *Database*, 2017.

Robles-Hernández, L., Hernández-Huerta, J., González-Franco, A. C., Hernández-Rodríguez, O. A., Núñez-Barrios, A., & Pérez-Leal, R. (2016). *Streptomyces* PRIO41 as plant growth promoter of jalapeño pepper plants and as biocontrol agent of *Fusarium*. *Phyton, International Journal of Experimental Botany*, 84(2), 253-261.

Rowell, D. L. (2014). *Soil science: Methods & applications*. Longman, Harlow, 350 pp

Romão-Dumaresq, A. S., Dourado, M. N., de Lima Favaro, L. C., Mendes, R., Ferreira, A., & Araújo, W. L. (2016). Diversity of cultivated fungi associated with conventional and transgenic sugarcane and the interaction between endophytic *Trichoderma virens* and the host plant. *PloS one*, 11(7), e0158974.

SAGARPA (2017). *Planeación agrícola nacional 2017-2030, Chiles y pimientos mexicanos*. México. 32pp Fecha de consulta: 10 octubre de 2016. URL: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/257072/PotencialChiles_y_Pimientos-parte_uno.pdf.

- Sarrocco, S., Matarese, F., Baroncelli, R., Vannacci, G., Seidl-Seiboth, V., Kubicek, C. P., & Vergara, M. (2017). The constitutive endopolygalacturonase TvPG2 regulates the induction of plant systemic resistance by *Trichoderma virens*. *Phytopathology*, 107(5), 537-544.
- Sandoval-Denis, M., Guarnaccia, V., Polizzi, G., & Crous, P. W. (2018). Symptomatic Citrus trees reveal a new pathogenic lineage in *Fusarium* and two new *Neocosmospora* species. *Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, 40, 1-25.
- Salas-Marina, M. A., Silva-Flores, M. A., Uresti-Rivera, E. E., Castro-Longoria, E., Herrera-Estrella, A., & Casas-Flores, S. (2011). Colonization of *Arabidopsis* roots by *Trichoderma atroviride* promotes growth and enhances systemic disease resistance through jasmonic acid/ethylene and salicylic acid pathways. *European Journal of Plant Pathology*, 131(1), 15-26.
- Salim, H. A., Simon, S., Lal, A. A., & Abdulrahman, A. L. (2017). Effectiveness of some integrated disease management factors (IDM) on *Fusarium* wilt infected tomato. *Journal of Scientific Agriculture*, 1, 244-248.
- Samolski, I., Rincón, A.M., Pinzón, L.M., Viterbo, A., Monte, E., (2012). The qid74 gene from *Trichoderma harzianum* has a role in root architecture and plant biofertilization. *Microbiology* 158, 129–138.
- Segarra, G., Casanova, E., Avilés, M., & Trillas, I. (2010). *Trichoderma asperellum* strain T34 controls *Fusarium* wilt disease in tomato plants in soilless culture through competition for iron. *Fungal Microbiology*, 59, 141–149.
- Shen, Z., Ruan, Y., Chao, X., Zhang, J., Li, R., & Shen, Q. (2015). Rhizosphere microbial community manipulated by 2 years of consecutive biofertilizer application associated with banana *Fusarium* wilt disease suppression. *Biology and Fertility of Soils*, 51(5), 553-562.
- Steindorff, A. S., Noronha, E. F., Ulhoa, C. J., Kuo, A., Salamov, A. A., Haridas, S., & Grigoriev, I. V. (2017). Genome sequencing and comparative analysis of the

biocontrol agent *Trichoderma harzianum* sensu stricto TR274. (No. LBNL-178254). Lawrence Berkeley National Laboratory (LBNL), Berkeley, CA (United States).

SIAP-SAGARPA (2015). Un panorama del cultivo del chile. SIAP. México. 20 pp. Fecha de consulta: 10 octubre de 2016. URL: <http://infosiap.siap.gob.mx/images/stories/infogramas/100705monografia-chile.pdf>

Singh, R. P., & Jha, P. N. (2017). The PGPR *Stenotrophomonas maltophilia* SBP-9 augments resistance against biotic and abiotic stress in wheat plants. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1945.

Singh, H. B., Singh, A., Sarma, B. K., & Upadhyay, D. N. (2014). *Trichoderma viride* 2% WP (Strain No. BHU-2953) formulation suppresses tomato wilt caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* and chilli damping-off caused by *Pythium aphanidermatum* effectively under different agroclimatic conditions. *International Journal of Environment, Agriculture and Biotechnology*, 7, 313-320.

Shigenaga, A. M., & Argueso, C. T. (2016). No hormone to rule them all: Interactions of plant hormones during the responses of plants to pathogens. In *Seminars in cell & developmental biology* (Vol. 56, pp. 174-189). Academic Press.

Shoresh, M., Harman, G. E. & Mastouri, F. (2010). Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents. *Annual Review Phytopathology*.48, 21–43.

Suárez, M.B., Vizcaíno, J.A., Llobell, A., & Monte, E. (2007). Characterization of genes encoding novel peptidases in the biocontrol *Trichoderma harzianum* CECT 2413 using the TrichoEST functional genomic approach. *Current Genetics*. 51, 331–342.

Sumanta, N., Haque, C. I., Nishika, J., & Suprakash, R. (2014). Spectrophotometric analysis of chlorophylls and carotenoids from commonly grown fern species by using various extracting solvents. *Research Journal of Chemical Sciences*. ISSN, 2231, 606X.

Tapia-Vargas, M., Larios-Guzmán, A., Díaz-Sánchez, D. D., Ramírez-Ojeda, G., Hernández-Pérez, A., Vidales-Fernández, I., & Guillén-Andrade, H. (2016).

Producción hidropónica de chile habanero negro (*Capsicum chinense* Jacq.).
Revista Fitotecnia Mexicana, 39(3), 241-245.

Tavera-Zavala, Dulce Daniela, Hernández-Escareño, Jesús Jaime, Ulibarri, Gérard, Sánchez-Yáñez, Juan Manuel (2017). Inoculación de *Trichoderma harzianum* en *Zea mays* y su efecto a la adición del fertilizante nitrogenado al 50%. Journal of the Selva Andina Research Society. ISSN 2072-9294

Tejera-Hernández, Berto; Rojas-Badía, Marcia M. & Heydrich-Pérez, Mayra. (2011). Potencialidades del género *Bacillus* en la promoción del crecimiento vegetal y el control biológico de hongos fitopatógenos. Revista CENIC. Ciencias Biológicas, Septiembre-Diciembre, 131-138. Volumen.

Tremacoldi CR (2010) Fungal diseases of black pepper in the state of Pará and control recommendations, 21st edn. Embrapa Amazônia Oriental, Belém.

Torres-Cañabate, P., Hinojosa, M. B., García-Ruiz, R., Daniell, T., & Carreira, J. A. (2009). Relación entre variabilidad biogeoquímica y rasgos estructurales de la comunidad microbiana en suelos forestales: Bosques de Abies pinsapo como caso de estudio. *Revista Ecosistemas*, 18(2).

USDA (2016). Claves para la taxonomía de suelos. Departamento de Agricultura de los Estados Unidos, Servicio de conservación de los recursos naturales. Washington D.C, 2016.

Van der Does, H. C., & Rep, M. (2017). Adaptation to the host environment by plant-pathogenic fungi. *Annual Review of Phytopathology*, 55, 427-450.

Velázquez-Robledo, R., Contreras-Cornejo, H., Macías-Rodríguez, L.I., Hernández-Morales, A., Aguirre, J., Casas-Flores, S., López-Bucio, J., Herrera-Etsrella, A. (2011). Role of the 4-phosphopantetheinyl transferase of *Trichoderma virens* in secondary metabolism, and induction of plant defense responses. *Molecular Plant-Microbe Interact.* 12, 1459–1471.

Velasco-Velasco, V. A., G. Alcántar-González, P. Sánchez-García, E. Estañol-Botello, E. Zavaleta-Mejía, E. Cárdenas-Soriano, R. Rodríguez-Montessoro y A. Martínez-

- Garza. (2001). Efecto de N, P y K en plantas de chile jalapeño infectadas con el virus jaspeado del tabaco. *Terra* 19: 117–125.
- Wall, D. H., Nielsen, U. N., & Six, J. (2015). Soil biodiversity and human health. *Nature*, 528(7580), 69.
- Windham, M., Elad, Y., Baker, R. (1986). A mechanism for increased plant growth induced by *Trichoderma* spp. *Phytopathology* 76,518–521.
- Whipps, J. M. (2001). Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany*, 52 (suppl_1), 487-511.
- Woo, S.L., et al. (2003). Identifying biocontrol genes in *Trichoderma* spp. and mechanisms for activating biocontrol processes. 8th International Congress of Plant Pathology, Christchurch, New Zealand Abstracts, vol. 268.
- Yedidia, I., Benhamou, N., Kapulnik, Y., Chet, I. (2000). Induction and accumulation of PR proteins activity during early stages of root colonization by the mycoparasite *Trichoderma harzianum* strain T-203. *Plant Physiology. Biochemistry*. 38, 863–873.
- Yedidia, I., Shoresh, M., Kerem, Z., Benhamou, N., Kapulnik, Y., Chet, I. (2003). Concomitant induction of systemic resistance to *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* in cucumber by *Trichoderma asperellum* (T-203) and the accumulation of phytoalexins. *Applied and Environmental Microbiology*. 69, 7343–7353.
- Young, J. M., Rawlence, N. J., Weyrich, L. S., & Cooper, A. (2014). Limitations and recommendations for successful DNA extraction from forensic soil samples: a review. *Science & Justice*, 54(3), 238-244.
- Vos, P., Garrity, G., Jones, D., Krieg, N. R., Ludwig, W., Rainey, F. A., & Whitman, W. (Eds.). (2011). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: Volume 3: The Firmicutes (Vol. 3)*. Springer Science & Business Media.
- Zaidi, A., Ahmad, E., Khan, M. S., Saif, S., & Rizvi, A. (2015). Role of plant growth promoting rhizobacteria in sustainable production of vegetables: current perspective. *Scientia Horticulturae*, 193, 231-239.

- Zhao, X., Wang, J., Zhu, L., Ge, W., & Wang, J. (2017). Environmental analysis of typical antibiotic-resistant bacteria and ARGs in farmland soil chronically fertilized with chicken manure. *Science of the Total Environment*, 593, 10-17.
- Zeilinger, S., Gruber, S., Bansal, R., & Mukherjee, P. K. (2016). Secondary metabolism in *Trichoderma*—Chemistry meets genomics. *Fungal Biology Reviews*, 30(2), 74-90.
- Zinger, L., Chave, J., Coissac, E., Iribar, A., Louisanna, E., Manzi, S., & Taberlet, P. (2016). Extracellular DNA extraction is a fast, cheap and reliable alternative for multi-taxa surveys based on soil DNA. *Soil Biology and Biochemistry*, 96, 16-19.
- Zilverberg, C. J., Heimerl, K., Schumacher, T. E., Malo, D. D., Schumacher, J. A., & Johnson, W. C. (2018). Landscape dependent changes in soil properties due to long-term cultivation and subsequent conversion to native grass agriculture. *CATENA*, 160, 282-297.

XII. APENDICE

12. Tablas de datos

12.1 Ensayo en cámara: parámetros fisiológicos y análisis estadístico.

A continuación se presentan los análisis estadísticos, de los parámetros fisiológicos evaluados en planta y fruto, y análisis de varianza (ANOVA) de la concentración de clorofila a y b y capsaicina.

De acuerdo a los resultados obtenidos en los análisis de varianza (ANOVA) de una vía, podemos concluir que la hipótesis nula se acepta ($<.0001$).

Cuadro 8. Análisis estadístico prueba de Tukey, Etapa I (altura).

Emergencia y desarrollo de hojas: Altura (cm)				
Tratamiento		Media	Des. Estandar	Error Estandar
T1	A	10.7	2.6	0.69
T2	A	11.0	2.8	0.76
T3	A	12.2	3.0	0.81
T4	A	12.2	3.6	0.96
T5	A	11.7	2.3	0.61
T6	A	11.0	2.0	0.53

Cuadro 9. Análisis estadístico prueba de Tukey, Etapa I (longitud aérea).

Emergencia y desarrollo de hojas: Longitud aérea (cm)					
Tratamiento			Media	Des. Estandar	Error Estandar
T1	A	B	17.3	6.1	1.6
T2	A	B	19.4	3.8	1.0
T3	A	B	19.3	4.7	1.3
T4	A		19.9	5.6	1.5
T5	A	B	14.2	6.5	1.7
T6		B	13.3	6.2	1.7

Cuadro 10. Análisis estadístico prueba de Tukey, Etapa II (altura).

Desarrollo vegetativo y floración: Altura (cm)					
Tratamiento			Media	Des. Estandar	Error Estandar
T1		B	12.6	1.6	0.43
T2	A	B	13.9	1.8	0.47
T3	A		14.8	2.3	0.61
T4	A		15.9	1.8	0.47
T5	A	B	13.6	2.6	0.97
T6		B	12.6	1.5	0.40

Cuadro 11. Análisis estadístico prueba de Tukey, Etapa II (longitud aérea).

Desarrollo vegetativo y floración: Longitud aérea (cm)						
Tratamientos				Media	Des. Estandar	Error Estandar
T1		B	C	19.4	4.1	1.11
T2	A	B		21.8	2.9	0.78
T3	A	B		21.2	3.6	0.95
T4	A			23.9	1.3	0.35
T5	A	B	C	19.6	3.1	1.17
T6			C	17.1	3.2	0.86

Cuadro 12. Análisis estadístico prueba de Tukey, Etapa III (altura)

Fructificación y maduración de las semillas: Altura (cm)					
Tratamientos			Media	Des. Estandar	Error Estandar
T1		B	13.6	1.7	0.45
T2	A	B	15.3	2.5	0.66
T3	A	B	15.8	2.5	0.67
T4	A		16.6	1.7	0.46
T5	A	B	14.6	2.6	0.69
T6		B	13.9	1.4	0.37

Cuadro 13. Análisis estadístico prueba de Tukey, Etapa III (longitud aérea)

Fructificación y maduración de las semillas: Longitud aérea (cm)				
Tratamiento		Media	Des. Estandar	Error Estandar
T1	C D	18,3	3,3	0,89
T2	A B	22,2	2,5	0,68
T3	B C	20,5	3,1	0,82
T4	A	24,0	0,96	0,26
T5	B C	20,1	3,0	0,80
T6	D	15,8	2,2	0,59

Cuadro 14. Análisis estadístico prueba de Tukey, peso seco (planta)

Peso seco, planta (g)				
Tratamiento		Media	Des. Estandar	Error Estandar
T1	A	6.5	2.8	1.0
T2	A	6.4	2.9	1.1
T3	A	5.4	2.5	0.93
T4	A	6.3	1.3	0.5
T5	A	5.5	1.7	0.64
T6	A	5.3	1.5	0.57

Cuadro 15. Análisis estadístico prueba de Tukey, peso fresco (planta)

Peso fresco, planta				
Tratamiento		Media	Des. Estandar	Error Estandar
T1	A	2,3	0,99	0,37
T2	A	2,1	1,0	0,38
T3	A	1,4	0,56	0,21
T4	A	1,9	0,42	0,16
T5	A	1,5	0,60	0,23
T6	A	2,0	0,52	0,20

Cuadro 16. Análisis estadístico prueba de Tukey, peso seco fruto (g).

		Peso seco, fruto		
Tratamiento		Media	Des. Estandar	Error Estandar
T1	A	5.7	1.8	0.75
T2	A	5.3	2.1	0.78
T3	A	5.3	2.6	1.2
T4	A	6.7	1.1	0.40
T5	A	4.3	3.3	1.3
T6	A	3.6	0.8	0.28

Cuadro 17. Análisis estadístico prueba de Tukey, peso fresco fruto (g).

		Peso fresco, fruto		
Tratamiento		Media	Des. Estandar	Error Estandar
T1	A	0.53	0.19	0.08
T2	A	0.47	0.23	0.09
T3	A	0.48	0.24	0.11
T4	A	0.53	0.11	0.04
T5	A	0.41	0.33	0.13
T6	A	0.41	0.17	0.06

Cuadro 18. Análisis estadístico prueba de Tukey, longitud raíz planta (cm).

		Longitud raíz: planta			
Tratamiento		Media	Des. Estandar	Error Estandar	
T1	A	B	13.0	2.8	1.1
T2	A		15.6	4.6	1.8
T3	A	B	14.3	2.7	1.0
T4	A		17.3	4.1	1.5
T5	A	B	12.3	2.3	0.9
T6		B	10.0	2.5	1.0

Cuadro 19. Análisis estadístico prueba de Tukey, longitud fruto (cm).

Longitud fruto				
Tratamiento		Media	Des. Estandar	Error Estandar
T1	A	5.68	0.69	0.28
T2	A	5.06	0.67	0.25
T3	A	5.38	1.23	0.55
T4	A	5.53	0.59	0.22
T5	A	4.66	1.42	0.54
T6	A	4.73	0.65	0.23

Cuadro 20. Ensayo en cámara, absorbancia (nm) clorofila a.

Clorofila a (663 nm, absorbancia)				
	1	2	3	Promedio
T1	0.491	0.488	0.483	0.487
T2	0.956	0.960	0.961	0.959
T3	0.655	0.655	0.655	0.655
T4	0.412	0.415	0.421	0.416
T5	0.477	0.478	0.480	0.478
T6	0.084	0.084	0.084	0.084

Cuadro 21. Ensayo en cámara, absorbancia (nm) clorofila b.

Clorofila b (645 nm absorbancia)				
	1	2	3	Promedio
T1	0.210	0.211	0.211	0.211
T2	0.400	0.400	0.401	0.400
T3	0.270	0.271	0.271	0.271
T4	0.157	0.157	0.162	0.159
T5	0.193	0.194	0.195	0.194
T6	0.038	0.038	0.039	0.038

Cuadro 22. Ensayo en cámara, concentración de clorofila a y b ($\mu\text{g/ml}$).

Tratamientos	Concentracion de clorofila a y b	
	Cl a ($\mu\text{g/ml}$)	Cl b ($\mu\text{g/ml}$)
T1	6.68	2.04
T2	13.10	3.72
T3	8.94	2.48
T4	5.64	1.29
T5	6.52	1.73
T6	1.16	0.40

Cuadro 23. Análisis estadístico prueba de Tukey, clorofila a.

Tratamientos (clorofila a)	Media	Des. Estandar	Error Estandar
T1 C	5.5	0.05	0.03
T2 A	10.9	0.03	0.02
T3 B	7.4	0.00	0.00
T4 D	4.8	0.06	0.04
T5 C	5.4	0.02	0.01
T6 E	0.9	0.00	0.00

Cuadro 24. Análisis de varianza (ANOVA), clorofila a.

Análisis de varianza					
Fuente	DF	Suma de cuadrados	Media	F Ratio	Prob >F
Tratamiento	5	15.975.964	319.519	29343.61	<.0001*
Error	12	0.01307	0.0011		
C. Total	17	15.977.271			

Cuadro 25. Análisis estadístico prueba de Tukey, clorofila b

Tratamiento (clorofila b)	Media	Des. Estandar	Error Estandar
T1 C	2.0	0.03	0.02
T2 A	3.7	0.01	0.01
T3 B	2.5	0.02	0.01

T4	E	1.3	0.04	0.03
T5	D	1.7	0.01	0.01
T6	F	0.40	0.01	0.01

Cuadro 26. Análisis de varianza (ANOVA), clorofila b.

Análisis de varianza					
Fuente	DF	Suma de cuadrados	Media	F Ratio	Prob > F
Tratamiento	5	18.886311	3.77726	6475.307	<.0001
Error	12	0.007000	0.00058		
C. Total	17	18.893311			

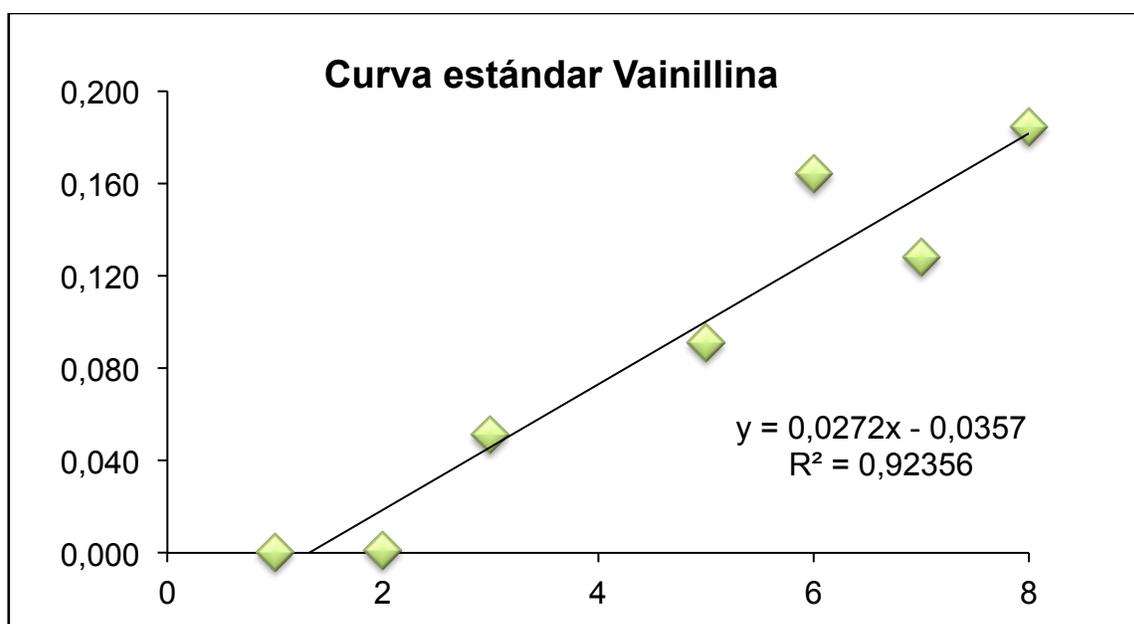


Figura 33. Curva de estándar vainillina, para la obtención de la capsaicina.

Cuadro 27. Ensayo en cámara, concentración de capsaicinoides (mg) por triplicado.

Tratamientos	Concentración de capsaicinoides (mg)		
T1	0.0028	0.0029	0.0027
T2	0.0080	0.0093	0.0089
T3	0.0071	0.0073	0.0069

T4	0.0079	0.0081	0.0083
T5	0.0057	0.0059	0.0061
T6	0.0071	0.0075	0.0069

Cuadro 28. Ensayo en cámara, análisis estadístico prueba de Tukey, capsaicina (mg).

Tratamientos		Media	Des. Estandar	Error Estandar
T1	D	0.0028	0.00010	0.00006
T2	A	0.0087	0.00067	0.00038
T3	B	0.0071	0.00020	0.00012
T4	A	0.0081	0.00020	0.00012
T5	C	0.0059	0.00020	0.00012
T6	B	0.0072	0.00031	0.00018

Cuadro 29. Análisis de varianza (ANOVA), capsaicina (mg).

Análisis de varianza					
Fuente	DF	Suma de cuadrados	Media	F Ratio	Prob > F
Tratamiento	5	0.00006689	0.000013	120.396	<0.001
Error	12	0.00000133	0.000000111		
C. Total	17	0.00006822			

12.2 Ensayo en invernadero: parámetros fisiológicos y análisis estadístico.

Cuadro 30. Análisis estadístico prueba de tukey, Etapa I altura (cm).

Emergencia y desarrollo de hojas: Altura				
Tratamiento		Media	Des. Estandar	Error Estandar
T1	A	16.1	11.6	2.1
T2	A	15.9	11.3	2.1
T3	A	16.5	10.9	2.0
T4	A	16.6	11.6	2.1

Cuadro 31. Análisis estadístico prueba de tukey, Etapa I longitud aérea (cm).

Emergencia y desarrollo de hojas: Longitud aérea				
Tratamiento		Media	Des. Estandar	Error Estandar
T1	A	15.1	9.3	1.7
T2	A	14.9	8.9	1.6
T3	A	15.0	8.2	1.5
T4	A	15.3	9.4	1.7

Cuadro 32. Análisis estadístico prueba de tukey, Etapa II altura (cm).

Desarrollo vegetativo y floración: Altura				
Tratamiento		Media	Des. Estandar	Error Estandar
T1	A	27.43	3.34	0.61
T2	A	26.57	3.31	0.60
T3	A	26.47	4.40	0.80
T4	A	28.13	3.37	0.62

Cuadro 33. Análisis estadístico prueba de tukey, Etapa II longitud aérea (cm).

Desarrollo vegetativo y floración: Longitud aérea				
Tratamiento		Media	Des. Estandar	Error Estandar
T1	A	22.53	3.58	0.65
T2	A	22.53	2.49	0.45
T3	A	22.73	3.07	0.56
T4	A	23.57	2.73	0.50

Cuadro 34. Análisis estadístico prueba de tukey, Etapa III altura (cm).

Fructificación y maduración de las semillas: Altura					
Tratamiento			Media	Des. Estandar	Error Estandar
T1	A	B	34.40	8.57	1.56
T2	A	B	33.77	9.74	1.78
T3		B	31.50	7.94	1.45

T4	A	36.83	9.66	1.76
-----------	----------	--------------	-------------	-------------

Cuadro 35. Análisis estadístico prueba de tukey, Etapa III longitud aérea (cm).

Fructificación y maduración de las semillas: Longitud aérea				
Tratamiento		Media	Des. Estandar	Error Estandar
T1	A	24.77	5.27	0.96
T2	A	24.23	6.42	1.17
T3	A	24.20	6.41	1.17
T4	A	26.40	4.69	0.86

Cuadro 36. Análisis estadístico prueba de tukey, peso fresco (g).

Peso fresco				
Tratamiento		Media	Des. Estandar	Error Estandar
T1	A	15.0	5.4	1.4
T2	A	13.8	6.5	1.7
T3	A	11.5	4.3	1.1
T4	A	15.7	6.5	1.7

Cuadro 37. Análisis estadístico prueba de tukey, peso seco (g).

Peso seco				
Tratamiento		Media	Des. Estandar	Error Estandar
T1	B	5.6	2.5	0.6
T2	B	5.2	1.9	0.5
T3	B	4.4	2.1	0.5
T4	A	8.7	4.0	1.0

Cuadro 38. Análisis estadístico prueba de tukey, longitud raíz (g).

Longitud raíz				
Tratamiento		Media	Des. Estandar	Error Estandar
T1	A	20.1	5.8	1.5
T2	A	17.9	4.5	1.2
T3	A	17.1	5.3	1.4

T4	A	19.9	4.8	1.2
-----------	---	------	-----	-----

Cuadro 39. Análisis estadístico prueba de Tukey, longitud fruto (cm).

Longitud fruto				
Tratamiento		Media	Des. Estandar	Error Estandar
T1	A	7.4	1.3	0.3
T2	A	7.3	0.8	0.2
T3	A	7.2	1.1	0.3
T4	A	6.9	1.4	0.4

Cuadro 40. Análisis estadístico prueba de Tukey, peso fresco (g).

Peso fresco				
Tratamiento		Media	Des. Estandar	Error Estandar
T1	A	14.7	6.1	1.5
T2	A	15.8	6.1	1.9
T3	A	14.8	6.7	1.7
T4	A	16.7	3.9	1.1

Cuadro 41. Análisis estadístico prueba de Tukey, peso seco (g).

Peso seco				
Tratamiento		Media	Des. Estandar	Error Estandar
T1	A	6.1	4.4	1.4
T2	A	5.8	5.3	1.3
T3	A	7.2	3.5	0.9
T4	A	4.5	2.6	0.7

Cuadro 42. Ensayo en invernadero, absorbancia clorofila a (663 nm) por triplicado.

Tratamientos	Clorofila a (absorbancia, 663 nm)		
	1	2	3
T1	0.277	0.277	0.277
T2	0.169	0.168	0.168
T3	0.266	0.265	0.265
T4	0.299	0.299	0.299

Cuadro 43. Ensayo en invernadero, absorbancia clorofila b (645 nm) por triplicado.

Tratamientos	Clorofila b (absorbancia, 645 nm)		
	1	2	3
T1	0,145	0,145	0,145
T2	0,083	0,083	0,083
T3	0,129	0,129	0,129
T4	0,142	0,141	0,141

Cuadro 44. Concentración de clorofila a y b ($\mu\text{g/ml}$).

Tratamientos	Cl a ($\mu\text{g/ml}$)	Cl b ($\mu\text{g/ml}$)
T1	3.1	1.7
T2	1.9	0.9
T3	3.0	1.4
T4	3.3	1.5

Cuadro 45. Análisis estadístico prueba de Tukey, clorofila a.

Tratamiento (clorofila a)		Media	Des. Estandar	Error Estandar
T1	B	3.1	0.0000	0.0000
T2	D	1.9	0.0058	0.0033
T3	C	3.0	0.0115	0.0067
T4	A	3.3	0.0000	0.0000

Cuadro 46. Análisis de varianza (ANOVA), clorofila a.

Análisis de varianza					
Fuente	DF	Suma de cuadrados	Media	F Ratio	Prob >F
Tratamiento	3	3.7266917	1.24223	29813.53	<.0001
Error	8	0.0003333	0.00004167		
C. Total	11	3.727025			

Cuadro 47. Análisis estadístico prueba de Tukey, clorofila b.

Tratamiento (clorofila b)		Media	Des. Estandar	Error Estandar
T1	B	1.52	0.01155	0.00667
T2	D	0.93	0.00577	0.00333
T3	C	1.42	0.00000	0.00000
T4	A	1.70	0.00000	0,00000

Cuadro 48. Análisis de varianza (ANOVA), clorofila b.

Análisis de varianza					
Fuente	DF	Suma de cuadrados	Media	F Ratio	Prob >F
Tratamiento	3	0.98315833	0.327719	7865.267	<.0001
Error	8	0.00033333	0.000042		
C. Total	11	0.98349167			

Cuadro 49. Concentración de capsaicina (capsaicinoides/mg).

Tratamientos	Capsaicinoides/ mg		
T1	0.00264	0.00334	0.00264
T2	0.00465	0.00462	0.00427
T3	0.00415	0.00380	0.00388
T4	0.00384	0.00357	0.00392

Cuadro 50. Análisis estadístico prueba de Tukey, concentración de capsaicina.

Tratamiento		Media	Des. Estandar	Error Estandar
T1	C	0.0029	0.00040	0.00023
T2	A	0.0045	0.00021	0.00012
T3	A B	0.0039	0.00018	0.00011
T4	B	0.0038	0.00018	0.00011

Cuadro 51. Análisis de varianza (ANOVA), capsaicina.

Análisis de varianza					
Fuente	DF	Suma de cuadrados	Media	F Ratio	Prob >F
Tratamiento	3	0.000004159	0.000001387	20.1497	0.0004
Error	8	0.000000550	0.000000069		