

# UNIVERSIDAD DEL PAPALOAPAN

---

---

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO  
CAMPUS LOMA BONITA

EVALUACIÓN DE LA COMBINACIÓN DE QUITOSANO Y  
*Trichoderma harzianum* SOBRE *Fusarium oxysporum* EN  
PLÁNTULAS DE CHILE SOLEDAD (*Capsicum annuum* L.)

## TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE:  
MAESTRO EN PRODUCCIÓN  
Y  
PROCESAMIENTO AGRÍCOLA

PRESENTA:

JONAS MANUEL JIMÉNEZ RODRÍGUEZ

DIRECTOR:

DR. ADOLFO AMADOR MENDOZA

CO- DIRECTOR:

DRA. ANA ROSA RAMÍREZ SEÑEZ

LOMA BONITA, OAXACA, 2024.



# UNIVERSIDAD DEL PAPALOAPAN

## DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

OFICIO	DEP/2024/425
ASUNTO	Autorización de impresión de tesis

San Juan Bautista Tuxtepec, Oaxaca, a 13 de septiembre de 2024

**M. EN C. HÉCTOR LÓPEZ ARJONA**  
**VICE-RECTOR ACADÉMICO**  
**UNIVERSIDAD DEL PAPALOAPAN**

Sirva la presente para informarle que, el jurado evaluador del examen para obtener el grado de **Maestro en Producción y Procesamiento Agrícola** del **C. Jonas Manuel Jiménez Rodríguez**, con número de **Matrícula 21180022**, ha autorizado la impresión del manuscrito que lleva por título **“EVALUACIÓN DE LA COMBINACIÓN DE QUITOSANO Y *Trichoderma harzianum* SOBRE *Fusarium oxysporum* EN PLÁNTULAS DE CHILE SOLEDAD (*Capsicum annuum L.*)”**, para su posterior presentación y defensa por el sustentante.

Agradezco su atención y quedo a sus órdenes para cualquier duda o aclaración.

Atentamente  
*terra uberrima, mens aperta*  
Bou Lo-tama, chí jí jú

**Dr. José Abad Zavaleta**  
Jefe de la División de Estudios de Posgrado



C.c.p. Dr. Adolfo Amador Mendoza– Director de tesis.  
C.c.p. Dra. Ana Rosa Ramírez Seañez– Coordinadora de la Maestría en Producción y Procesamiento Agrícola.  
C.c.p. M. E. Yesenia Barrientos Arrenal – Jefa del Departamento de Servicios Escolares.  
C.c.p. Archivo.



# UNIVERSIDAD DEL PAPALOAPÁN

## DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

OFICIO	DEP/2024/426
ASUNTO	Jurado para examen de grado

San Juan Bautista Tuxtepec, Oaxaca, a 13 de septiembre de 2024

**JONAS MANUEL JIMÉNEZ RODRÍGUEZ**  
**MAESTRÍA EN PRODUCCIÓN Y PROCESAMIENTO AGRÍCOLA**  
**UNIVERSIDAD DEL PAPALOAPAN**

Por este medio le informo que el jurado de su examen para obtener el grado de **Maestro en Producción y Procesamiento Agrícola** estará integrado por los siguientes investigadores.

Profesor Investigador	Jurado de Examen
Dr. Rogelio Enrique Palacios Torres	Presidente
Dr. Hipólito Hernández Hernández	Secretario
Dr. Adolfo Amador Mendoza	Vocal
Dr. José Antonio Yam Tzec	Primer Suplente
Dra. Ana Rosa Ramírez Seañez	Segundo Suplente

Sin más por el momento, le envío saludos cordiales.

Atentamente

*terra uberrima, mens aperta*  
Bou Lo-tama, chí jí jú

**Dr. José Abad Zavaleta**  
Jefe de la división de estudios  
de posgrado.



**M. en C. Héctor López Arjona**  
Vicerrector Académico  
Vo. Bo:



C.c.p. Dr. Adolfo Amador Mendoza– Director de tesis.  
C.c.p. Dra. Ana Rosa Ramírez Seañez– Coordinadora de la Maestría en Producción y Procesamiento Agrícola.  
C.c.p. M. E. Yesenia Barrientos Arenal – Jefa del Departamento de Servicios Escolares.  
C.c.p. Archivo.

---

## HOJA DE ORIGINALIDAD

El presente trabajo no ha sido aceptado o empleado para el otorgamiento de título o grado diferente o adicional al actual. La tesis es resultado de las investigaciones del autor, excepto donde se indican las fuentes de información consultadas. El autor otorga su consentimiento a la **Universidad del Papaloapan** para la reproducción del documento con el fin del intercambio bibliotecario siempre y cuando se indique la fuente.

---

## AGRADECIMIENTOS

### **Quisiera expresar mi más profundo agradecimiento:**

A mi director de tesis, el Dr. Adolfo Amador Mendoza, por experiencia, comprensión y paciencia, que contribuyeron la culminación de este proyecto.

A mi co-directora de tesis, la Dra. Ana Rosa Ramírez Seañez, por su apoyo moral, académico e incondicional en el transcurso de este camino. No tengo palabras para expresar mi gratitud por su inmenso apoyo.

A mi asesor, el Dr. Hipólito Hernández Hernández, por sus asesorías y la resolución de dudas cuando más la necesité, muchas gracias.

A la Dra. Blanca Estela Barrera Figueroa, por brindarme las pautas y el material didáctico para la identificación de la cepa fúngica.

A la Dra. Nelda Xanath Martínez Galero, por su apoyo en la validación de las muestras por Espectrometría Infrarroja en la Universidad del Papaloapan campus Tuxtepec.

A mis amigos, Rosalba Guadalupe Gómez Raymundo y Keyla Ninive López Luevano, por su apoyo incondicional, su cariño, las palabras de motivación y porque siempre estuvieron presentes cuando más las necesité. También a Crisanto López Robles, Oscar Alberto Navarro Santiago y Juan Carlos Rodríguez Muñoz, por sus consejos, compañía y porque siempre me brindaron apoyo.

A la empresa de Bioproductos Agrícolas de la Cuenca por su apreciable beca para la impresión de tesis que me han brindado. Su apoyo me ha sido de gran importancia para la culminación de este proyecto, y así mismo, alcanzar el grado de Maestro.

A la UNPA por brindarme las instalaciones y los catedráticos, que fueron parte de mi desarrollo profesional, junto con el desarrollo experimental de este proyecto.

A CONAHCYT, estoy profundamente agradecido por la confianza depositada en mí y la beca que me brindaron para culminar esta etapa de mi desarrollo profesional.

---

## DEDICATORIAS

Dedico mi tesis principalmente a Dios, por darme la fuerza necesaria para culminar esta meta.

A mis padres Rafaela Reyna Rodríguez Gracida y Jonas Jiménez Morales, por todo su amor y por motivarme a seguir hacia adelante.

A mi tía Irma Rodríguez Gracida, por su apoyo y amor incondicional para culminar este proyecto.

Finalmente a mis hermanos, por brindarme su apoyo moral.

---

## ÍNDICE GENERAL

HOJA DE ORIGINALIDAD.....	I
AGRADECIMIENTOS.....	II
DEDICATORIAS.....	III
ÍNDICE GENERAL.....	IV
ÍNDICE DE TABLAS.....	VII
ÍNDICE DE FIGURAS.....	VIII
ABREVIATURAS Y NOMENCLATURA.....	XIII
RESUMEN.....	XVII
ABSTRACT.....	XIX
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. MARCO TEÓRICO.....	4
2.1. Generalidades del chile.....	4
2.1.1. Información general.....	4
2.1.2. Origen.....	4
2.1.3. Clasificación taxonómica de <i>Capsicum annuum</i> .....	5
2.1.4. Descripción botánica de chile ( <i>Capsicum annuum</i> ).....	5
2.1.5. Requerimientos edafoclimáticos.....	7
2.1.6. Usos.....	8
2.2. Producción de chile verde.....	8
2.2.1. Producción de chile a nivel mundial.....	8
2.2.2. Producción de chile verde a nivel nacional.....	9
2.2.3. Producción de chile verde en el estado de Oaxaca.....	9
2.3. Principales enfermedades de <i>Capsicum annuum</i> .....	11
2.3.1. Enfermedades causadas por virus.....	11
2.3.2. Enfermedades causadas por bacterias.....	11
2.3.3. Enfermedades causadas por hongos.....	12
2.3.4. Enfermedad causada por <i>Fusarium oxysporum</i> Schltdl. ....	12
2.4. Control de <i>Fusarium oxysporum</i> en <i>Capsicum annuum</i> .....	14
2.4.1. Control químico.....	14
2.4.2. Control biológico.....	15
3. ANTECEDENTES.....	22
4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	25
5. JUSTIFICACIÓN.....	27
6. OBJETIVOS.....	29
6.1. Objetivo general.....	29
6.1.1. Objetivos específicos.....	29
7. HIPÓTESIS.....	30

<b>8. MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>31</b>
<b>8.1. Fase de laboratorio.....</b>	<b>31</b>
8.1.1. Ubicación del experimento .....	31
8.1.2. Extracción de quitosano UNPA.....	31
8.1.3. Rendimiento global de la muestra .....	33
8.1.4. Análisis fisicoquímico de las muestras .....	33
8.1.5. Caracterización del quitosano.....	33
8.1.6. Aislamiento y caracterización de <i>Fusarium oxysporum</i> Schldl. ....	34
8.1.7. Reproducción y caracterización de <i>Trichoderma harzianum</i> Rifai...	36
8.1.8. Prueba de confrontación de cultivo dual <i>in vitro</i> .....	39
<b>8.2. Fase de invernadero .....</b>	<b>41</b>
8.2.1. Ubicación.....	41
8.2.2. Material vegetal .....	41
8.2.3. Diseño experimental.....	41
8.2.4. Siembra de semillas .....	42
8.2.5. Germinación y desarrollo .....	43
8.2.6. Toma de datos.....	43
8.2.7. Variables evaluadas .....	43
8.2.8. Cuantificación de nutrientes .....	44
<b>8.3. Fase de campo.....</b>	<b>44</b>
8.3.1. Ubicación.....	44
8.3.2. Condiciones climáticas .....	45
8.3.3. Trasplante.....	45
8.3.4. Diseño experimental.....	45
8.3.5. Efecto antagónico de los bioinoculantes en plántulas .....	46
8.3.6. Procesamiento estadístico.....	49
<b>9. RESULTADOS .....</b>	<b>50</b>
<b>9.1. Caracterización de quitosano.....</b>	<b>50</b>
9.1.1. Caracterización fisicoquímica .....	50
9.1.2. Rendimiento global de la muestra .....	50
9.1.3. Análisis colorimétrico .....	51
9.1.4. Obtención de espectros infrarrojo por transformada de Fourier (FT-IR)	52
<b>9.2. Caracterización <i>Fusarium oxysporum</i> Schldl.....</b>	<b>52</b>
9.2.1. Descripción macroscópica.....	52
9.2.2. Descripción morfológica .....	54
9.2.3. Identificación molecular .....	54
<b>9.3. Caracterización <i>Thichoderma harzianum</i> Rifai .....</b>	<b>54</b>
9.3.1. Descripción macroscópica.....	54
9.3.2. Descripción morfológica .....	55
9.3.3. Tasa de desarrollo de <i>Trichoderma harzianum</i> .....	56
9.3.4. Reproducción en medio líquido .....	57
9.3.5. Cuantificación de esporas .....	57
9.3.6. Prueba de confrontación de cultivo dual <i>in vitro</i> de <i>Trichoderma harzianum</i> Rifai contra <i>Fusarium oxysporum</i> Schldl.....	58
<b>9.4. Variables de crecimiento.....</b>	<b>60</b>

---

9.4.1.	Diámetro del tallo.....	60
9.4.2.	Altura de plántulas.....	61
9.4.3.	Número de hojas.....	62
9.4.4.	Área foliar.....	63
9.4.5.	Número de brotes axilares.....	64
<b>9.5.</b>	<b>Cuantificación de nutrientes.....</b>	<b>65</b>
<b>9.6.</b>	<b>Efecto antagonico de los bioinoculantes en plántulas.....</b>	<b>67</b>
9.6.1.	Incidencia y severidad.....	67
9.6.2.	Re-aislamiento de la cepa.....	69
<b>10.</b>	<b>DISCUSIÓN.....</b>	<b>71</b>
<b>10.1.</b>	<b>Caracterización de quitosano.....</b>	<b>71</b>
10.1.1.	Caracterización fisicoquímica.....	71
10.1.2.	Rendimiento global de la muestra.....	73
10.1.3.	Análisis colorimétrico.....	74
10.1.4.	Obtención de espectros infrarrojo por transformada de Fourier (FT-IR).....	75
<b>10.2.</b>	<b>Caracterización <i>Fusarium oxysporum</i> Schldl.....</b>	<b>76</b>
<b>10.3.</b>	<b>Caracterización <i>Thichoderma harzianum</i> Rifai.....</b>	<b>77</b>
<b>10.4.</b>	<b>Prueba de confrontación de cultivo dual <i>in vitro</i>.....</b>	<b>79</b>
<b>10.5.</b>	<b>Respuesta de crecimiento.....</b>	<b>80</b>
<b>10.6.</b>	<b>Cuantificación de nutrientes.....</b>	<b>81</b>
<b>10.7.</b>	<b>Efecto antagonico de los bioinoculantes en plántulas.....</b>	<b>82</b>
<b>11.</b>	<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>84</b>
<b>12.</b>	<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>85</b>
<b>13.</b>	<b>ANEXOS.....</b>	<b>114</b>

---

---

## ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
<b>Tabla 1</b> Clasificación taxonómica de <i>Capsicum annuum</i> .	<b>5</b>
<b>Tabla 2</b> Producción de chile soledad ( <i>Capsicum annuum</i> ) en el estado de Oaxaca.	<b>10</b>
<b>Tabla 3</b> Escala de evaluación del tipo de antagonismo ejercido por las cepas de <i>Trichoderma harzianum</i> contra <i>Fusarium oxysporum</i> .	<b>40</b>
<b>Tabla 4</b> Descripción de los tratamientos para la evaluación de las variables morfológicas.	<b>42</b>
<b>Tabla 5</b> Concentraciones de los bioinóculos empleados en cada tratamiento.	<b>42</b>
<b>Tabla 6</b> Descripción de los tratamientos para la evaluación del efecto antagónico.	<b>46</b>
<b>Tabla 7</b> Escala de severidad para evaluar el daño en plantas de chile soledad.	<b>47</b>
<b>Tabla 8</b> Días de evaluación de la severidad presente en plántulas de chile soledad.	<b>48</b>
<b>Tabla 9</b> Contenido de minerales, proteína, humedad y pH en las diferentes muestras analizadas.	<b>51</b>
<b>Tabla 10</b> Análisis colorimétrico en muestras biológicas de exoesqueleto de camarón, quitosano UNPA y quitosano Sigma Aldrich®. <sup>1</sup>	<b>51</b>
<b>Tabla 11</b> Capacidad antagónica de <i>Trichoderma harzianum</i> (Th) sobre <i>Fusarium oxysporum</i> (Fo) en medio PDA.	<b>60</b>

---

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
<b>Figura 1</b>	Producción de chile verde ( <i>Capsicum annuum</i> ) en los principales estados de la República Mexicana. <b>9</b>
<b>Figura 2</b>	Ciclo de la enfermedad de <i>Fusarium oxysporum</i> . <b>14</b>
<b>Figura 3</b>	Quitosano a partir de quitina por desacetilación. <b>18</b>
<b>Figura 4</b>	Mecanismo propuesto de la actividad antifúngica del quitosano sobre los hongos. <b>19</b>
<b>Figura 5</b>	Condiciones climáticas de julio-agosto de 2023, durante las pruebas de patogenicidad y antagonismo realizadas en plántulas de chile soledad ( <i>Capsicum annuum</i> ). <b>45</b>
<b>Figura 6</b>	Espectros FTIR de quitosano UNPA (—) obtenido a partir del exoesqueleto de camarón y quitosano Sigma Aldrich® comercial (—). <b>53</b>
<b>Figura 7</b>	Aspecto macroscópico de <i>Fusarium oxysporum</i> en medio PDA. (A y B) superficie y (C) reverso de la colonia. (A) Crecimiento inicial del micelio aéreo color blanquecino algodonoso; (B) micelio con coloración rosácea-morada después de 10 días de incubación; (C) en el centro del micelio existe coloración morado oscuro y blanquecino en los bordes. <b>53</b>
<b>Figura 8</b>	Características microscópicas de <i>Fusarium oxysporum</i> en medio PDA. (A) Fiálides cortas con cabezas falsas; (B) microconidios; (C) macronocidios; y (D) clamidosporas glosobas. Aumento 100X. Tinción azul de metileno 0.1% (p/v). <b>54</b>
<b>Figura 9</b>	Aspecto macroscópico de <i>Trichoderma harzianum</i> en medio PDA. (A y B) Superficie y (C) reverso de la colonia. (A) micelio blanquecino en sus primeros estadios; (B) eventualmente después de la esporulación se tornó a un <b>55</b>

- 
- color verde oscuro después de 10 días de incubación; y (C) en el centro se torna de color verde oscuro con bordes blanquecinos.
- Figura 10** Características microscópicas de *Trichoderma harzianum*. **56**  
(A) Conidióforos y presencia de fiálides alargadas y delgadas; (B) conidios globosos; y (C) clamidosporas marrones subglobosas. Aumento 40X (A); 100X (B, C).
- Figura 11** Tasa de desarrollo de la cepa *Trichoderma harzianum* (Th) **56**  
en agar PDA (pH = 5.6 ± 0.20) incubadas a 28 °C, con 5 días de incubación. Columnas con una letra en común no son significativamente diferentes (Tukey, P<0.05).
- Figura 12** Longitud de crecimiento de *Trichoderma harzianum* en el día **57**  
1 (A), día 3 (B) y día 5 (C) en caja Petri con medio PDA, donde ocurrió la colonización de toda el área de la misma.
- Figura 13** Medio V8 con crecimiento activo de *Trichoderma harzianum*. **58**  
Bifase del medio, (A) parte superior, micelio activo; y (B) parte inferior, el contenido de esporas.
- Figura 14** Crecimiento micelial (mm) en la prueba dual *in vitro* de **59**  
*Trichoderma harzianum* (Th) y *Fusarium oxysporum* (Fo) en agar PDA (pH = 5.6 ± 0.20) a 28 °C, con 10 días de incubación. Columnas con una letra en común no son significativamente diferentes (Tukey, P<0.05).
- Figura 15** Confrontación de cultivo dual *in vitro* de *Trichoderma* **59**  
*harzianum* frente a *Fusarium oxysporum* en medio PDA con 10 días de incubación. (A) Se observa una clase 2 en la escala de Bell *et al.* (1982); (B) micoparasitismo de *Trichoderma harzianum* sobre las hifas y conidios de *Fusarium oxysporum*, aumento de 100X; (C) cepa control de *Fusarium oxysporum*.
- Figura 16** Diámetro de tallos (A) y altura de plántulas (B), en chile **62**  
soledad (*Capsicum annuum*). Evaluadas a los 15, 22, 29, 36
-

- 
- y 43 días después de la siembra (DDS), con cuatro tratamientos, donde: T=Testigo, Q=Quitosano, Th=*Trichoderma harzianum* y Th+Q=*Trichoderma harzianum* + Quitosano. Columnas con una letra en común no son significativamente diferentes (Tukey,  $P<0.05$ ).
- Figura 17** Número de hojas (A) y área foliar (B), en plántulas de chile soledad (*Capsicum annuum*). Evaluadas a los 15, 22, 29, 36 y 43 días después de la siembra (DDS), con cuatro tratamientos, donde: T=Testigo, Q=Quitosano, Th=*Trichoderma harzianum* y Th+Q=*Trichoderma harzianum* + Quitosano. Columnas con una letra en común no son significativamente diferentes (Tukey,  $P<0.05$ ). **64**
- Figura 18** Número de brotes axilares en plántulas de chile soledad (*Capsicum annuum*). Evaluadas a los 43 días después de la siembra (DDS), con cuatro tratamientos, donde: T=Testigo, Q=Quitosano, Th=*Trichoderma harzianum* y Th+Q=*Trichoderma harzianum* + Quitosano. Columnas con una letra en común no son significativamente diferentes (Tukey,  $P<0.05$ ). **65**
- Figura 19** Conductividad eléctrica (A) y potasio (B), presente en savia de peciolo y tallos en plántulas de chile soledad (*Capsicum annuum*). Evaluadas a los 44 días después de la siembra (DDS), con cuatro tratamientos, donde: T=Testigo, Q=Quitosano, Th=*Trichoderma harzianum* y Th+Q=*Trichoderma harzianum* + Quitosano. Columnas con una letra en común no son significativamente diferentes (Tukey,  $P<0.05$ ). **66**
- Figura 20** Nitratos (A), fosfato (B) y pH (C), presente en savia de peciolo y tallos en plántulas de chile soledad (*Capsicum annuum*). Evaluadas a los 44 días después de la siembra (DDS), con cuatro tratamientos, donde: T=Testigo, **67**
-

---

Q=Quitosano, Th=*Trichoderma harzianum* y Th+Q=*Trichoderma harzianum* + Quitosano. Columnas con una letra en común no son significativamente diferentes (Tukey, P<0.05).

- Figura 21** Porcentaje de incidencia y severidad de la enfermedad causada por *Fusarium oxysporum*, en plántulas de chile soledad (*Capsicum annuum*) a los 10, 20, 30 y 45 días después de la inoculación (DDI), con cuatro tratamientos, donde: T=Testigo, Q=Quitosano, Th=*Trichoderma harzianum* y Th+Q=*Trichoderma harzianum* + Quitosano. **69**
- Figura 22** Severidad presentada en plántulas de chile soledad (*Capsicum annuum*) a los 15 (A), 20 (B), 30 (C) y 45 (D) días después de la inoculación (DDI) de *Fusarium oxysporum* en una concentración  $1 \times 10^6$  esporas/mL. El tratamiento (D) más resistente fue (Th+Q), seguido de (Q), luego (Th) y finalmente (T). Donde: T=Testigo, Q=Quitosano, Th=*Trichoderma harzianum* y Th+Q=*Trichoderma harzianum* + Quitosano. **70**
- Figura 23** Re-aislamiento de *Fusarium oxysporum* en plántulas infectadas de chile soledad (*Capsicum annuum*). (A) Raíces y tallos infectados; (B) crecimiento del micelio color blanquecino algodonoso a los 5 días de incubación; (C) hifas y microconidios característicos, aumento 100X. **70**
- Figura 24** Tratamiento de la muestra. (A) Lavado de exoesqueleto de camarón; (B) secado; (C) triturado; (D) doble molienda; y (E) tamizado a tamaño de partícula de  $250 \mu\text{m}$ . **114**
- Figura 25** Obtención de quitosano UNPA. (A) Desproteínización (NaOH 0.4M/1h/25°C); (B) desmineralización (HCl 0.6N/3h/25°C); (C) desacetilación (NaOH 0.4M/1h/25°C); (D) despigmentación (doble blanqueado con NaClO al 38%/20 min/T °amb.); (E) lavado hasta la neutralidad; y (F) **114**

---

	muestra final obtenida de quitosano.	
<b>Figura 26</b>	Caracterización fisicoquímica del quitosano UNPA. (A) Determinación de % minerales; (B) % proteínas; (C) % de humedad; (D) análisis de color; (E) pH; y (F) obtención de espectros infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR).	<b>115</b>
<b>Figura 27</b>	Aislamiento y caracterización de <i>Fusarium Oxysporum</i> .	<b>115</b>
<b>Figura 28</b>	Reproducción y caracterización de <i>Trichoderma harzianum</i> . (A) Medio sólido; y (B) medio líquido. (C) Confrontación dual <i>in vitro</i> de Th con Fo.	<b>115</b>
<b>Figura 29</b>	Obtención de plántulas de chile soledad ( <i>Capsicum annum</i> ). (A) Siembra de semillas; (B) medición de parámetros morfológicos; (C) plántulas a los 42 días después de la siembra (DDS).	<b>116</b>
<b>Figura 30</b>	Cuantificación de nutrientes en plántulas de chile soledad ( <i>Capsicum annum</i> ). (A) Colecta de la muestra; (B) extracción de savia en peciolo y tallos; y (C) medición en instrumentos HANNA Checker® y ionómetros LAQUAtwin.	<b>116</b>
<b>Figura 31</b>	Efecto antagónico de los bioinoculantes en plántulas ( <i>Capsicum annum</i> ). (A) Plántulas en contenedores de poliuretano de 8 oz.; (B) incidencia y severidad presente en plántulas.	<b>116</b>
<b>Figura 32</b>	Resultado del análisis molecular de la cepa ( <i>Fusarium oxysporum</i> ).	<b>117</b>

---

## ABREVIATURAS Y NOMENCLATURA

ha	Hectárea
t	Tonelada
t ha <sup>-1</sup>	Tonelada por hectárea
et al.	Y otros
SADER	Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura
SIAP	Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera
INTAGRI	Instituto para la Innovación Tecnológica en Agricultura
MEXU	Herbario Nacional de México
cm	Centímetros
cm <sup>3</sup>	Centímetros cúbicos
mm	Milímetros
mm <sup>2</sup>	Milímetros cúbicos
%	Porcentaje
°C	Grados Celsius
msnm	Metros sobre el nivel del mar
pH	Potencial de hidrógeno
CMV	Virus del mosaico del pepino
PVY	Virus Y de la papa
PepMoV	Virus del moteado del chile
TMV	Virus del mosaico del tabaco
TEV	Virus del jaspeado del tabaco
AMV	Virus del mosaico de la alfalfa
sp.	Especie de
spp.	Especies de
β	Beta
kDa	Kilodalton
OH	Hidroxilo

---

NH <sub>2</sub>	Amino
C	Carbono
-D, D-	Dextrógiro
N	Nitrógeno
O	Oxígeno
DDA	Grado de desacetilación
CIM	Concentración inhibitoria mínima
PM	Peso molecular
ADN	Ácido desoxirribonucleico
ARN	Ácido ribonucleico
SAR	Resistencia sistémica adquirida
ISR	Resistencia sistémica inducida
SA	Ácido salicílico
JA	Ácido jasmónico
ET	Etileno
PRR	Receptores de reconocimiento de patrones
PAMP	Patrones moleculares asociados a patógenos
DAMP	Patrones moleculares asociados a daños
HR	Respuesta hipersensible
ABA	Ácido abscísico
M.N.	Moneda nacional
USD	Dólar estadounidense
FMS	Fermentación en medio sólido
h	Horas
HCl	Ácido clorhídrico
NaOH	Hidróxido de sodio
KMnO <sub>4</sub>	Permanganato de potasio
M	Molar
N	Normal
p/v	Peso sobre volumen
cP	centiPoise

---

---

FTIR	Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier
IR	Espectrometría Infrarroja
mg L-1	Miligramo por litro
NP	Nanopartículas
CS	Quitosano
CSAg	Quitosano-plata
CSCu	Quitosano-cobre
ppm	Partes por millón
g/L	Gramo sobre litro
mL	Mililitro
v/v	Volumen sobre volumen
DDI	Días después de la inoculación
DDS	Días después de la siembra
f. sp.	Forma specialis
UNPA	Universidad del Papaloapan
N	Norte
W	Oeste
INEGI	Instituto Nacional de Estadística y Geografía
kg	Kilogramo
g	Gramo
$\mu\text{m}$	Micrómetro
L	Litro
rpm	Revoluciones por minuto
NaClO	Hipoclorito de sodio
min.	Minutos
AOAC	Asociación Científica Dedicada a la Excelencia Analítica (Association of Analytical Communities)
CIE	Comisión Internacional de la Iluminación
L*a*b*	L*=Luminosidad; a*=coordenadas rojo/verde; b*=coordenadas amarillo/azul.
PDA	Agar Papa Dextrosa

---

---

FERTILAB	Fertilidad de Suelos
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
D	Diámetro
TD	Tasa de desarrollo
TME	Caldo selectivo E de Trichoderma
$\mu\text{L}$	Microlitro
PI	Porcentaje de inhibición de micelio fúngico
PTR	Perfil Tubular Rectangular
INIFAP	Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias
T	Testigo
Q	Quitosano
Th	<i>Thichoderma harzianum</i>
Th+Q	<i>Thichoderma harzianum</i> + Quitosano
Fo	<i>Fusarium oxysporum</i>
A	Área
IE	Incidencia de la enfermedad
PSE	Porcentaje de severidad de la enfermedad
$\Sigma$	Sumatoria
% M	Porcentaje de minerales
% DM	Porcentaje de desmineralización
% P	Porcentaje de proteínas
% Dp	Porcentaje de desproteínización
% H	Porcentaje de humedad
N-H	Amida
DCO	Día del primer contacto entre hifas
TA	Tipo de antagonismo
MP	Micoparasitismo
$\mu\text{s cm}^{-1}$	microSiemens por centímetro
c/u	Cada uno

---

---

## RESUMEN

El cultivo de chile soledad (*Capsicum annuum* L.) es uno de los productos ampliamente cultivados en la región de la Cuenca del Papaloapan, donde su fruto es apreciado por su valor en el mercado. En 2023, el municipio de San Juan Bautista Tuxtepec alcanzó una producción de 530.55 toneladas y una superficie sembrada de 94.7 hectáreas. Por su parte, el municipio de Loma Bonita produjo 338.79 toneladas, con una superficie sembrada de 53.80 hectáreas. Aunado a su importancia económica, esta hortaliza se ve afectada por enfermedades fúngicas como *Fusarium oxysporum* Schltdl., que ocasiona marchitamiento y retraso en el crecimiento de las plántulas, causando pérdidas económicas para los productores. Al mismo tiempo, para proteger sus cultivos, los agricultores recurren al uso de agroquímicos. Sin embargo, el uso inadecuado de estos productos ha favorecido el surgimiento de resistencias en hongos fitopatógenos. Por lo tanto, se ha planteado el uso de bioinoculantes amigables con el medio ambiente, como el quitosano y *Trichoderma harzianum* Rifai, que desempeñan un papel importante en la defensa frente al ataque de este agente fitopatógeno y reducen los daños provocados por el exceso de productos químicos. El objetivo de este trabajo fue evaluar la actividad antagonista de la combinación de quitosano y *T. harzianum* contra *F. oxysporum* en plántulas de chile soledad (*C. annuum*). Se realizaron cuatro tratamientos: Testigo (T), Quitosano (Q), *T. harzianum* (Th), y *T. harzianum* + Quitosano (Th+Q). Los tratamientos consistieron en una aplicación al momento de la siembra para la germinación, y una segunda aplicación en la base del tallo para el desarrollo de las plántulas a los 7, 15, 22, 29, 36 y 43 días después de la siembra (DDS). Los resultados mostraron que, a los 43 DDS, se presentaron diferencias significativas en cuanto al diámetro de las plantas, la altura, el número de hojas, el área foliar y los brotes axilares, con mejores resultados en los tratamientos (Q) y (Th+Q). Finalmente, en la prueba de antagonismo, los síntomas de enfermedad causados por *F. oxysporum* mostraron que, al día 45 después de la inoculación (DDI), los síntomas fueron más severos en el tratamiento (T), con un índice de enfermedad (IE) de 93.33% y un porcentaje de severidad de la

---

enfermedad (PSE) de 90.37%, lo que se reflejó en una marchitez más severa. Los demás tratamientos mostraron los siguientes valores: (Q) alcanzó un IE de 26.66% y un PSE de 20%; (Th) un IE de 33.33% y un PSE de 25.92%; y (Th+Q) un IE de 13.33% y un PSE de 8.14%. La combinación de bioinoculantes demostró el mayor antagonismo para el combate de la enfermedad.

---

## ABSTRACT

The cultivation of soledad chili (*Capsicum annuum* L.) is one of the products widely cultivated in the región of the Papaloapan Basin, where its fruit is appreciated for its market value. In 2023, the municipality of San Juan Bautista Tuxtepec reached a production of 530.55 t and a planted area of 94.7 ha. The municipality of Loma Bonita produced 338.79 t, with a planted area of 53.80 ha. In addition to its economic importance, this vegetable is affected by fungal diseases such as *Fusarium oxysporum* Schltdl, which causes wilting and stunted seedling growth, causing economic losses for growers. At the same time, to protect their crops, farmers resort to the use of agrochemicals. However, the inappropriate use of these products has favored the emergence of resistance in phytopathogenic fungi. Therefore, the use of environmentally friendly bioinoculants, such as chitosan and *Trichoderma harzianum* Rifai, has been proposed, which play an important role in the defense against the attack of this phytopathogenic agent and reduce the damage caused by the excess of chemical products. The objective of this work was to evaluate the antagonistic activity of the combination of chitosan and *T. harzianum* against *F. oxysporum* in seedlings of soledad chili (*C. annuum*). Four treatments were carried out: Control (T), Chitosan (Q), *T. harzianum* (Th), and *T. harzianum* + Chitosan (Th+Q). The treatments consisted of one application at sowing for germination, and a second application at the base of the stem for seedling development at 7, 15, 22, 29, 36 and 43 days after sowing (DDS). The results showed that, at 43 DDS, there were significant differences in plant diameter, height, number of leaves, leaf area and axillary buds, with better results in the treatments (Q) and (Th+Q). Finally, in the antagonism test, disease symptoms caused by *F. oxysporum* showed that, at day 45 after inoculation (DDI), symptoms were more severe in treatment (T), with a disease index (SI) of 93.33% and a percentage disease severity (PSE) of 90.37%, which was reflected in a more severe wilt. The other treatments showed the following values: (Q) achieved an IE of 26.66% and a PSE of 20%; (Th) an IE of 33.33% and a PSE of 25.92%; and

---

(Th+Q) an IE of 13.33% and a PSE of 8.14%. The combination of bioinoculants showed the highest antagonism for disease control.

---

## 1. INTRODUCCIÓN

El chile verde (*Capsicum annuum* L.) es una de las hortalizas más importantes en el mundo, según informa la Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER) (2021), por el valor que aporta a la producción agrícola de las regiones de siembra y la generación de ingresos competitivos para los productores. Este cultivo pertenece al género *Capsicum*, el cual comprende 26 especies silvestres, de las cuales, cinco especies están domesticadas: *Capsicum annuum* L., *Capsicum frutescens* L., *Capsicum chinense* Jacq., *Capsicum baccatum* L., y *Capsicum pubescens* Ruiz y Pavon (Kraft *et al.*, 2014; Barboza *et al.*, 2022). De acuerdo con las cifras de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, 2022), la especie más cultivada del mundo es *C. annuum*, con una producción mundial estimada de más de 36.97 millones de toneladas, donde China ocupa el primer lugar en producción con un total de 16.83 millones de toneladas y una superficie sembrada de 759,817 ha, seguido de México que ocupa un segundo lugar, con un total de 3.11 millones de toneladas y una superficie sembrada de 156,718 ha. Por otro lado, cabe mencionar que México es considerado el centro de origen y diversificación de esta especie (Tripodi *et al.*, 2021), donde se haya una extensa diversidad genética de chiles verdes, entre los cuales se conocen al menos 200 variedades criollas y 64 variedades domesticadas, teniendo una amplia producción, distribución y consumo en todo el territorio nacional (SADER, 2023). Es así que, para el estado de Oaxaca y Veracruz, se cultiva la variedad conocida como chile soledad (*C. annuum*), también llamado chile serranito o serrano delgado (Aguilar-Rincón *et al.*, 2010), donde se reportó que cada uno tuvo una producción de 1,764.78 t con una superficie sembrada de 328.90 ha y 13,164.04 t con 1,389.67 ha respectivamente (SIAP, 2023). Cabe mencionar que, en la región de la Cuenca del Papaloapan, ubicada en el estado de Oaxaca, se cultiva esta variedad de chile (chile soledad), cuya actividad representa una fuente de ingresos para los productores locales (Arrazola, 2022), sin embargo, la producción y productividad de este cultivo se reduce debido a diferentes factores bióticos y abióticos (Vysali *et al.*, 2021). Entre los factores bióticos, se ve afectado por enfermedades que causan un deterioro en

---

las plantas y los frutos (Vijay *et al.*, 2023), y aunque existe una diversidad de microorganismos que lo afectan, tiene mayor relevancia *Fusarium oxysporum* Schltdl. (Tilahun *et al.*, 2024), causante del marchitamiento del chile, que causa síntomas como clorosis, necrosis, caída de hojas, decoloración marrón en el sistema de vasos y retraso del crecimiento (Dewi *et al.*, 2021). Siendo una de las principales enfermedades del chile que se transmite por el suelo y por las semillas, provocando pérdidas en la producción de los cultivos (Menge *et al.*, 2020). Este problema causa pérdidas económicas para los productores, los cuales recurren al uso de agroquímicos para combatir el problema, que conlleva un alto gasto económico por el precio elevado de estos compuestos químicos afectando su economía (Hu, 2020). Además, el uso indiscriminado de estos productos, es el causante de daños ambientales, afectaciones a la salud de las personas junto con la fauna silvestre terrestre y acuática, así como el surgimiento de resistencias fúngicas, por consiguiente, surge una pérdida de la efectividad de los mismos (Carmona y Sautua, 2017; Kole *et al.*, 2019; Mitra *et al.*, 2021). A partir de esta situación, surge la necesidad de desarrollar métodos de manejo de enfermedades de este cultivo que no sean dañinos con el ambiente, y uno de los cuales es el control biológico mediante el uso de bioinoculantes con capacidad antagónica sobre *F. oxysporum*.

El bioinoculante que se propone es la cepa fúngica de la especie *Trichoderma harzianum* Rifai, que presenta importancia agrícola por su actividad biocontroladora de una amplia gama de hongos fitopatógenos que afectan cultivos de importancia alimenticia (Saldaña-Mendoza *et al.*, 2023; Xiao *et al.*, 2023). Su mecanismo de acción está mediado por su actividad micoparasitaria y por competencia de nutrientes (Yassin *et al.*, 2021; Güçlü y Özer, 2022; Mukherjee *et al.*, 2022). Además, en cultivos de chile, este organismo presenta un alto potencial como controlador biológico contra *F. oxysporum* (Anjum *et al.*, 2020; Hewedy *et al.*, 2020). Junto a *T. harzianum*, se propone el uso del quitosano, que es un polímero natural obtenido de la desacetilación de la quitina (Klinger *et al.*, 2019), la cual se encuentra distribuida en la naturaleza y es el principal constituyente del

---

exoesqueleto de invertebrados marinos, además de encontrarse en el cuerpo de insectos, artrópodos y moluscos (Mao *et al.*, 2017; Luo *et al.*, 2019). Este biopolímero natural posee atributos benéficos en la agricultura, por su protección de plantas hortícolas contra patógenos, en la productividad y el crecimiento de las plantas, especialmente en condiciones ambientales desfavorables (Shahrajabian *et al.*, 2021). Además, existen evidencias de que hay sensibilidad de los hongos patógenos hacia este compuesto, el cual es un inhibidor de la germinación y efectivo sobre los conidios e hifas de estos hongos (Palma-Guerrero *et al.*, 2008). Por lo tanto, se espera que con la formulación y aplicación de estos bioinoculantes, brinde a este estudio información importante para desarrollar una estrategia de cultivo económica y compatible con el medio ambiente para el manejo de enfermedades fúngicas como *F. oxysporum*; además que los productores disminuyan sus costos de producción, y así mismo, se minimice el efecto nocivo provocado por el uso excesivo de agroquímicos.

---

## 2. MARCO TEÓRICO

### 2.1. Generalidades del chile

#### 2.1.1. Información general

El chile (*Capsicum annuum* L.) es considerada una de las especies más importantes, pues pertenece a las hortalizas más cultivadas del mundo (FAO, 2022) y, en México es donde se encuentra la mayor diversidad genética, puesto que se conocen alrededor de 200 variedades criollas, con 64 variedades domesticadas (SADER, 2023). Sus diferentes variedades se han adaptado a diferentes tipos de climas y suelos, lo que ha contribuido que su distribución geográfica sea amplia (Liu *et al.*, 2023).

El chile pertenece a la familia de las solanáceas, conformada por 31 especies, de las cuales menciona el Instituto para la Innovación Tecnológica en Agricultura (INTAGRI) (2020) y Barboza *et al.* (2022), cinco han sido domesticadas: *Capsicum baccatum* L., *Capsicum chinense* Jacq., *Capsicum pubescens* Ruiz y Pavon, *Capsicum frutescens* L. y *Capsicum annuum* L. Donde la especie mayor distribuida pertenece a la especie *C. annuum*, y se pueden encontrar de forma cultivada o silvestre (Aguirre y Muñoz, 2015; Villalón-Mendoza *et al.*, 2023).

#### 2.1.2. Origen

Todas las especies del género *Capsicum* son originarias de América central y del sur (Carrizo-García *et al.*, 2016), y de acuerdo a los especialistas México se considera el centro de origen (Tripodi *et al.*, 2021). La domesticación de *Capsicum annuum* probablemente ocurrió en el noreste o en centro-este de México, donde los restos más antiguos datan de hace 7 a 9 mil años de antigüedad (Pérez *et al.*, 2015), y se obtuvieron del estrato pre-cerámico de las cuevas de Coxcatlán, en el Valle de Tehuacán, Puebla y las cuevas de Romero y Valenzuela, en Ocampo, Tamaulipas, junto con restos de otros cultivos como maíz (*Zea mays* L.), frijol (*Phaseolus* sp.) y calabaza (*Cucurbita* sp.) (Kraft *et al.*, 2014).

---

### 2.1.3. Clasificación taxonómica de *Capsicum annuum*

La clasificación del chile de acuerdo con el Herbario Nacional de México (MEXU) (2019), es la siguiente:

**Tabla 1. Clasificación taxonómica de *Capsicum annuum*.**

<b>Reino</b>	<b>Plantae</b>
Filo:	Tracheophyta
Clase:	Magnoliopsida
Orden:	Solanales
Familia:	Solanaceae
Género:	<i>Capsicum</i>
Especie:	<i>Capsicum annuum</i>
Nombre científico	<i>Capsicum annuum</i> L.

**Fuente:** MEXU (2019).

### 2.1.4. Descripción botánica de chile (*Capsicum annuum*)

#### 2.1.4.1. Raíz

El eje principal de la raíz consiste en una región vigorosa con presencia de raíces laterales localizadas en el eje. Se distribuyen horizontalmente a una longitud de 30 a 50 cm y su crecimiento alcanza los 30 a 60 cm de profundidad. Generalmente, las raíces representan aproximadamente el 10% del peso total (Bosland y Votava, 2012).

#### 2.1.4.2. Tallo

Los tallos son de consistencia herbácea, de forma cilíndrica o angular, de color verde a verde parduzco en etapas jóvenes, y en la madurez a veces con líneas púrpuras en los nudos (antocianinas), glabros a moderadamente pubescentes, cuyo diámetro varío de 0.5 a 1.5 cm (Bosland y Votava, 2012; Barboza *et al.*, 2022).

---

#### 2.1.4.3. Hoja

La lámina es ampliamente lanceolada u ovada, entera, delgada, pueden ser de color verde pálido a oscuro, glabras a moderadamente pubescentes en ambas caras, especialmente en los nervios principales abaxialmente, de 1.5 a 12 cm de largo y 2.5 a 5 cm de ancho, el ápice es acuminado, la base es cuneada o aguda (Bosland y Votava, 2012; Barboza *et al.*, 2022).

#### 2.1.4.4. Flor

Las flores típicas de *C. annuum* son solitarias, axilares, terminales, hermafroditas y de ovario súpero. El pedicelo mide más de 1.5 cm de longitud; el cáliz es campanulado, ligeramente pentadentado, aproximadamente de 2mm de longitud generalmente alargado y cubriendo la base de la fruta. La corola es color blanco o verde, rotada en la mayoría de las especies, con cinco a siete pétalos que miden de 10 a 20 mm de longitud. El diámetro de las flores es de 10 a 15 mm. Las anteras son anguladas, ovario bilocular, pero a menudo multilocular, estilo simple, blanco o purpura (Bosland y Votava, 2012; Barboza *et al.*, 2022).

#### 2.1.4.5. Fruto

Los frutos presentan diferentes formas, tamaños y color. La longitud varía entre 1cm hasta 32.5 cm con cuerpos cilíndricos y epidermis lisa. Normalmente los frutos son picantes, color verde que varía desde el claro hasta muy oscuro inmaduro que cambia de color rojo en la maduración, presenta semillas y tiene dos o más lóculos, cada uno dividido por una placenta central (Bosland y Votava, 2012; Barboza *et al.*, 2022).

#### 2.1.4.6. Semillas

Las semillas son pequeñas, numerosas con más de 50 por fruto, tienen una dimensión de 3.8-4.4 mm de largo y 3.2-3.6 mm de ancho, en forma de C o D, aplanadas y comprimidas, la cubierta de la semilla lisa a ligeramente reticulada con el embrión imbricado. Cuando la semilla está verde tiene un color blanco y al madurar presenta un color amarillo pálido (Barboza *et al.*, 2022).

---

## **2.1.5. Requerimientos edafoclimáticos**

### 2.1.5.1. Temperatura

Es una planta que para germinar requiere temperaturas cálidas de entre 20 y 30°C, la cual puede variar de 16 a 32°C, para crecer y dar frutos. Lo importante es que la temperatura no descienda menos de los 18°C, porque el crecimiento de la planta se detiene (SADER, 2022). Este cultivo se puede desarrollar a nivel del mar y hasta una altitud de 2,500 msnm (SIAP, 2023).

### 2.1.5.2. Riego

No se requiere riego en condiciones de lluvias. En zonas áridas y semi-áridas es necesario realizarla para mantener una adecuada humedad en el suelo. Además, son sensibles al estrés hídrico durante su fase de floración y fructificación (Bosland y Votava, 2012).

### 2.1.5.3. Suelo

Las condiciones de suelo para el cultivo de chile, se requiere que sean de buen drenado, con textura franco arenoso, franco limoso o franco arcilloso y con pequeña cantidad materia orgánica, retención intermedia de agua, y para favorecer su desarrollo es recomendable un pH de 5.5 a 7.0 grados de acidez (SIAP, 2010; Orellana- Benavides *et al.*, 2012).

### 2.1.5.4. Humedad relativa

La humedad relativa óptima para la floración y cuajado del fruto oscila entre 50 y 70%; valores altos favorecen la proliferación de enfermedades y dificultan la fecundación de las flores. Mientras que la humedad baja, ocasiona frutos deformes y pequeños. Si a esto se le suman altas temperaturas, se provoca caída de flores y frutos recién cuajados (Proain, 2020a).

### 2.1.5.5. Luminosidad

El chile necesita iluminación intensa, de lo contrario, el ciclo vegetativo se alarga. Por otro lado, la sombra tenue en campo puede ser benéfica para el cultivo (reduce el estrés de agua y la quema de frutos por el sol); sin embargo, el exceso

---

de sombra disminuye la tasa de crecimiento del cultivo y puede provocar aborto de flores y frutos (Orellana- Benavides *et al.*, 2012).

### **2.1.6. Usos**

Los usos múltiples del chile y sus derivados datan de la época prehispánica, y puede comerse fresco, cocido o como condimento en platillos típicos (Aguirre y Muñoz, 2015). En la agroindustria se usa para la fabricación de enlatados, encurtidos, deshidratados, molidos o congelados, y también se le puede encontrar en pastas y en salsas (SIAP, 2023). De forma, el chile se emplea en otros campos como en la industria de los cosméticos (Mate *et al.*, 2023), la medicina (Jang *et al.*, 2020), en la fabricación de fármacos y agroquímicos, así como ritos y ceremonias (INTAGRI, 2020; Anaya-Esparza *et al.*, 2021).

## **2.2. Producción de chile verde**

### **2.2.1. Producción de chile a nivel mundial**

A nivel mundial el chile (*C. annuum*), es una de las principales hortalizas cultivadas, con una producción que asciende a las 36,972,494.39 t y una superficie sembrada de 2,020,819 ha. China es el país con la mayor participación de producción de esta hortaliza con 16,837,404.78 t, que representa el 45.54% y una superficie sembrada de 759,817 ha con un 37.59% a nivel mundial. En segundo lugar, de producción se ubica México con 3,113,244.27 t que significa el 8.42%, y el tercer lugar en superficie sembrada con 156,718 ha que representa el 7.75%. Para el caso de Indonesia, ocupa el tercer lugar en producción y el segundo en superficie sembrada con 3,020,262.11 t y 334,545 ha, participando con el 8.16% de la producción y el 7.75% en área a nivel mundial (FAO, 2022; SIAP, 2023). Cabe mencionar que anteriormente, el chile verde ha presentado una tendencia de crecimiento de 20.8 millones a 38 millones de toneladas de producto fresco, entre el periodo 2000-2019, y la superficie cosechada del cultivo también tuvo un incremento de 1.4% en el mismo período (INTAGRI, 2020).

---

### 2.2.2. Producción de chile verde a nivel nacional

El chile (*C. annuum*) es una de las hortalizas más cultivadas con mayor importancia económica en México, para el año 2023, la producción (Otoño-Invierno + Primavera-Verano) alcanzó un valor de 3,681,061.47 t, con una superficie sembrada de 173,869.11 ha. Los principales estados productores de chile que destacan son Chihuahua con una producción de 836,619.66 t, que representa el 22.72% a nivel nacional, seguido de Sinaloa 813,081.23 t con el 22.08%, Zacatecas 497,777.23 t que es 13.52%, San Luis Potosí 348,651.21 t con el 9.47% y Sonora 197,883.60 t igual al 5.35%; por lo que, estos 5 estados concentraron el 73.18% de la producción nacional y el resto del país obtuvo el 26.81% (SIAP, 2023) como se muestra en la Figura 1 respectivamente.

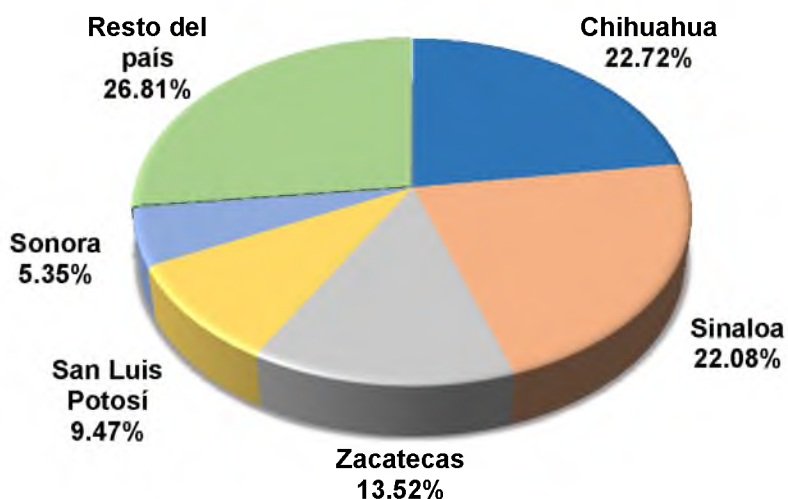


Figura 1. Producción de chile verde (*Capsicum annuum*) en los principales estados de la República Mexicana. Fuente: elaboración propia con datos del SIAP (2023).

### 2.2.3. Producción de chile verde en el estado de Oaxaca

Para el estado de Oaxaca, en el 2023, se reportó una producción (Otoño-Invierno + Primavera-Verano) de 9055.69 t de chile verde (*C. annuum*), que representa el 0.24%, con una superficie sembrada de 2288.18 ha, ocupando el lugar vigesimotercero de la lista de estados productores de México (SIAP, 2023).

### 2.2.3.1. Producción de chile soledad

Respecto a la producción de chile verde soledad (*C. annum*), Oaxaca se posiciona como el segundo estado, después de Veracruz, con una producción (Otoño-Invierno + Primavera-Verano) de 1,764.78 t y una superficie sembrada de 328.90 ha (SIAP, 2023). Referente a la cuenca del Papaloapan, el municipio de San Juan Bautista Tuxtepec alcanzó la mayor producción en el estado con 530.55 t, y una superficie sembrada de 94.7 ha. Para el municipio de Loma Bonita se produjeron 338.79 t, con una superficie sembrada de 53.80 ha (SIAP, 2023). En la Tabla 2, se muestran los municipios del estado de Oaxaca que se dedican a la producción de chile soledad.

**Tabla 2. Producción de chile soledad (*Capsicum annum*) en el estado de Oaxaca.**

Municipio	Superficie sembrada	Producción	Rendimiento
	(ha)	(t)	(t ha <sup>-1</sup> )
San Juan Bautista Tuxtepec	94.7	530.55	6.49
Loma Bonita	53.8	338.79	7.73
San José Chiltepec	26.6	183.84	7.47
San Lucas Ojitlán	30	130.5	4.35
Santa María Jacatepec	17.55	109	7.01
San Juan Cotzocón	21.5	101.7	5.98
Santiago Yaveo	23.5	101.15	5.78
Santiago Jocotepec	19.3	80.95	4.19
San Juan Lalana	11.2	52.66	4.7
Ayotzintepec	9.3	45.47	4.89
San Juan B. Valle Nacional	6	42.2	7.03
Asunción Ixtaltepec	5.25	19.69	3.75
San Felipe Jalapa de Díaz	7	19.6	2.8
San Felipe Usila	2	5.5	2.75
San Pedro Ixcatlán	1.2	3.18	2.65
<b>Total</b>	<b>328.9</b>	<b>1,764.78</b>	<b>6.06</b>

**Fuente:** Elaboración propia con información del SIAP (2023).

---

### **2.3. Principales enfermedades de *Capsicum annuum***

El cultivo de chile (*C. annuum*) es susceptible a enfermedades que afectan su producción, entre ellas se encuentran las causadas por hongos, oomicetos, bacterias y virus, que son una limitante para el rendimiento de este cultivo (Palma-Martínez, 2017).

#### **2.3.1. Enfermedades causadas por virus**

Las enfermedades causadas por virus ocasionan con frecuencia pérdidas considerables al cultivo, llegando a ocurrir en ciertos años pérdidas totales. Los virus reportados en México para el cultivo de chile son: Virus del mosaico del pepino (CMV), Virus Y de la papa (PVY), Virus del moteado del chile (PepMoV), Virus del mosaico del tabaco (TMV), Virus del jaspeado del tabaco (TEV), Virus del mosaico de la alfalfa (AMV), entre otros (Chew *et al.*, 2008; Velásquez-Valle *et al.*, 2013), los cuales son transmitidos principalmente por mosquita blanca y pulgón verde (Proain, 2020b). Las plantas infectadas por virus tienen un ciclo vegetativo más corto y presentan ampollamiento, enanismo, mosaicos, moteados, necrosis, clorosis y deformaciones (Astier *et al.*, 2007).

#### **2.3.2. Enfermedades causadas por bacterias**

Dentro de las enfermedades causadas por bacterias en chile, se encuentra la llamada mancha foliar, causada por *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, catalogada como una de las más económicamente amenazantes, debido a que puede infectar todas las partes aéreas de la planta, provocando pequeñas manchas de color café y aspecto húmedo, de contorno redondeado a irregular. Si existen condiciones de alta humedad y temperatura, las lesiones toman un color negro y un aspecto grasoso. Estas lesiones en las hojas pueden crecer y fusionarse con lo que el resto de la lámina foliar tomando una coloración amarilla (Velásquez-Valle *et al.*, 2013). Además, se ha propuesto que existen otros biotipos diferentes de esta bacteria causante de la mancha foliar: *X. euvesicatoria* pv. *euvesicatoria*, *X. euvesicatoria* pv. *perforans*, *X. hortorum* pv. *gardneri* y *X. vesicatoria* (Utami *et al.*, 2022).

---

### 2.3.3. Enfermedades causadas por hongos

Las enfermedades ocasionadas por hongos producen lo que se conoce como Marchitez del chile, la cual es causada por un complejo de hongos entre los que se encuentran los géneros de *Fusarium*, *Phytium*, *Rizoctonia*, *Phytophthora*, *Alternaria* y *Verticillium* (Velásquez-Valle *et al.*, 2013). El daño principal se localiza usualmente en el cuello de la raíz o base del tallo y causa un marchitamiento repentino y muerte de la planta, aunque también se puede presentar en la parte aérea de la planta. La infección se facilita en lugares donde hay encharcamientos de agua o bien donde se siembra año tras año chile y jitomate sin realizar rotación de cultivos (Proain, 2020b).

### 2.3.4. Enfermedad causada por *Fusarium oxysporum* Schldl.

Los patógenos transmitidos por el suelo causan infección a través de las raíces. *Fusarium* es un género complejo con distribución mundial que causa enfermedades en plantas, animales y humanos (Gordon, 2017). En el suelo se encuentran cepas patógenas y no patógenas de *Fusarium oxysporum* Schldl., pero la cepa patógena causa marchitez vascular grave en más de 150 especies de cultivos agrícolas, incluidos el chile (*Capsicum* spp.) plátano (*Musa paradisiaca* L.), tomate (*Solanum lycopersicum* L.), melón (*Cucumis melo* L.), sandía (*Citrullus lanatus* Thunb.) y algodón (*Gossypium* spp.) (Bertoldo *et al.*, 2015). Cabe mencionar que existen más de 100 formas especiales de *F. oxysporum*, donde cada forma *specialis* (f. sp.) (Correll, 1991) se subdividen en razas patógenas dependiendo de su grado de virulencia, las cuales emergen como resultado de mutaciones en genes asociados a la patogenicidad (Jangir *et al.* 2021).

#### 2.3.4.1. Síntomas de *Fusarium oxysporum* en chile (*Capsicum annuum*)

Los síntomas en plantas de chile causadas por *F. oxysporum*, son el marchitamiento, clorosis, necrosis, caída de hojas, decoloración marrón en el sistema de vasos y retraso del crecimiento. En general, el marchitamiento de las plantas de chile comienza en las hojas viejas de la parte inferior y luego se extiende a las hojas más jóvenes de la parte superior (Dewi *et al.*, 2021). Cabe mencionar que los síntomas de marchitamiento aparecen como resultado de un

---

estrés hídrico severo, principalmente debido al taponamiento de los vasos conductores, además, en la infección severa las hojas inferiores se marchitan y caen, lo que lleva a una disminución del número de hojas por tallo, dejando tallos desnudos en las plantas infectadas (Gabrekiristos y Demiyo, 2020).

#### 2.3.4.2. Ciclo de la enfermedad

El marchitamiento por *Fusarium* es una enfermedad transmitida por el suelo que se caracteriza por el marchitamiento de las plantas, ocasionado un amarillamiento de las hojas y una reducción del rendimiento del cultivo (Jangir *et al.*, 2021). El patógeno prospera en climas cálidos; por lo tanto, los síntomas son graves a 25-30 °C (Joshi, 2018). Al ser un hongo con características anamórficas, produce esporas asexuales, como, microconidios, macroconidios y clamidosporas (Gordon, 2017). La germinación de estas esporas se desencadena por la secreción de exudados de las puntas de las raíces, heridas presentes en las mismas o por la formación de raíces laterales de la planta huésped (Li, 2022). Tras la germinación, se inicia el desarrollo de la hifa de infección que penetra en la epidermis de la raíz en la punta. A partir de entonces, la hifa prolifera intercelularmente a través de las células corticales de la raíz hasta que entra en el tejido del xilema. Al llegar al tejido vascular, el hongo se ramifica profusamente y produce microconidios y macroconidios que son transportados acrópetamente por la atracción transpiratoria del sistema vegetal (Bishop y Cooper, 1983). Los microconidios germinan y las hifas se propagan sistémicamente por todo el hospedador. El bloqueo de los vasos del xilema finalmente da como resultado el oscurecimiento del tejido vascular, un síntoma destacado del marchitamiento por *Fusarium*. La progresión de la enfermedad con el tiempo conduce a la curvatura de las hojas, clorosis, marchitamiento y, finalmente, la muerte del huésped. En esta etapa, el hongo esporula ampliamente en la superficie de los tejidos de la planta muerta. La enfermedad se propaga a otros huéspedes, a través de partes de la planta infectadas, trasplantes o semillas y suelo contaminado (Gordon, 2017 ; Joshi, 2018). Es importante mencionar que este fitopatógeno permanece en el suelo por largo tiempo, en forma de clamidosporas (Li, 2022). En la Figura 2 se muestra el ciclo de la enfermedad de *F. oxysporum* en plantas.

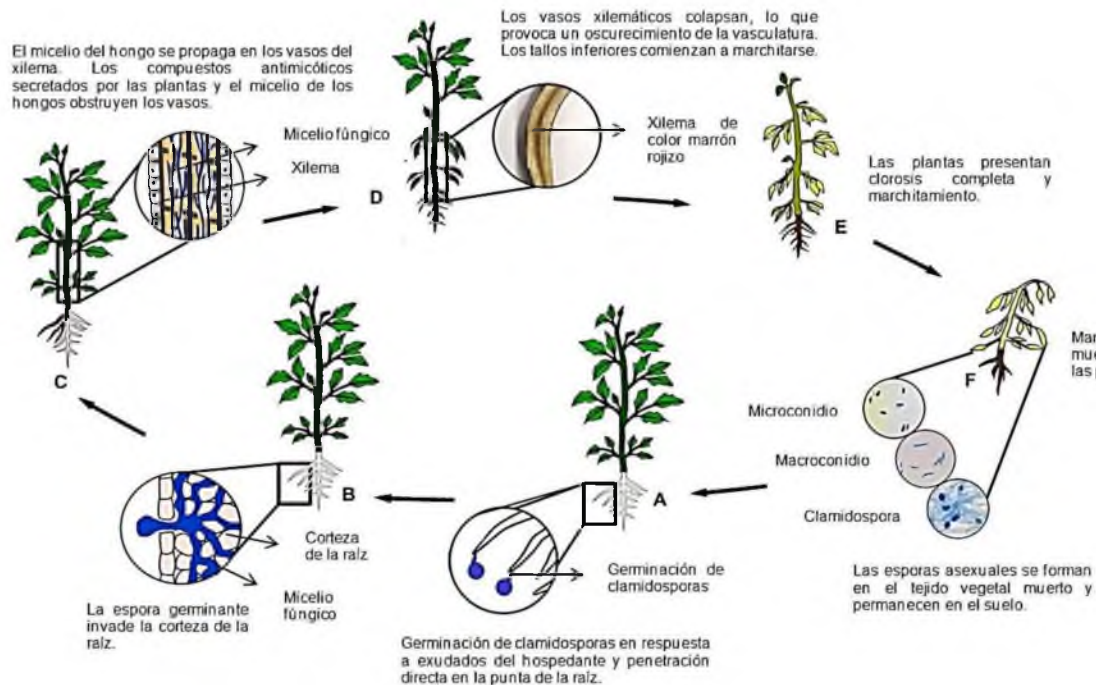


Figura 2. Ciclo de la enfermedad de *Fusarium oxysporum*. Fuente: adaptado de Jangir *et al.* (2021).

## 2.4. Control de *Fusarium oxysporum* en *Capsicum annuum*

### 2.4.1. Control químico

El control químico se basa en la utilización de fungicidas, es decir, productos químicos capaces de prevenir la infección o realizar algún tipo de control posterior a la infección (Pérez y Forbes, 2008). Por ello, ha sido considerado uno de los principales métodos de control de enfermedades ocasionadas por hongos en el sector agrícola. En un principio, los cultivos fueron protegidos con éxito, con aplicaciones de sulfato de cobre y azufre. Actualmente, el número de principios activos disponibles se ha incrementado enormemente, entre los que se destacan los ftalimidias o los ditiocarbamatos de generación intermedia y caracterizada por tener múltiples sitios de acción (Cabrera *et al.*, 2019). Por ello, para el control del marchitamiento, pudriciones de raíz y del tallo, ocasionados por *F. oxysporum*, los grupos químicos eficaces se citan los bencimidazoles y triazoles (sistémicos) y los imidazoles, fenilpirroles, ftalimidias y ditiocarbamatos (no sistémicos) (Kang *et al.*, 2001; Suty-Heinze y Dutzmann, 2004; Fravel *et al.*, 2005; Kopacki y Wagner, 2006).

---

En los últimos años el uso intensivo, y en ocasiones desmedido, de los compuestos fungicidas ha generado diversas controversias, debido a los efectos adversos que se ha demostrado pueden causar a la salud humana y al medio ambiente. Por lo que, es importante destacar que la aplicación de fungicidas provoca una disminución de las poblaciones de microorganismos antagónicos naturales presentes en el suelo, ocasionando una disminución de la diversidad microbiana y favoreciendo la persistencia de organismos patógenos como *Fusarium* que afectan a los cultivos. Lo que ha llevado a la búsqueda de prácticas sustentables, como el control biológico de enfermedades en plantas (Laatikainen y Heinonen-Tanski, 2002; Cabrera *et al.*, 2019).

#### **2.4.2. Control biológico**

La aplicación de fungicidas y productos químicos puede controlar enfermedades en los cultivos, sin embargo, su costo y las afectaciones al medio ambiente ha llevado a buscar métodos alternativos, incluyendo el uso de microorganismos (Dhanasekaran *et al.*, 2012). En este sentido el control biológico ha surgido como una alternativa al control químico (Cabrera *et al.*, 2019). Por tanto, el control biológico de patógenos en plantas se considera un área nueva de investigación que se inició a mediados del siglo pasado, y que ha tenido resultados aceptables para el control de las enfermedades de las plantas, debido al poco desequilibrio ecológico que ocasiona y amplía la posibilidad de usarse en programas de manejo integrado (Zavaleta, 1994). En inicios de esta nueva área de investigación Köhl *et al.* (2019) definen control biológico, como la aplicación de organismos vivos y sus derivados para controlar enfermedades y plagas de las plantas, no solo a través de efectos antagónicos directos contra patógenos y plagas de las plantas, sino también indirectamente a través de la inducción de resistencia. En la naturaleza existe una interacción continua entre los potenciales patógenos y sus antagonistas de forma tal que estos últimos contribuyen a que no haya enfermedad en la mayoría de los casos; es decir, el control biológico funciona naturalmente (Fernández y Vega, 2001). Aunado a ello, los mecanismos generales de control biológico pueden definirse como directos o indirectos del agente de control

---

biológico sobre el fitopatógeno. Los mecanismos directos incluyen competencia por nutrientes y espacio, producción de antibióticos y enzimas líticas, inactivación de las enzimas del patógeno y el parasitismo. Mientras que, los mecanismos indirectos corresponden a aquellos que producen cambios morfológicos y bioquímicos en la planta huésped, tales como, tolerancia al estrés, solubilización de nutrientes inorgánicos y la resistencia inducida. Los principales agentes de control biológico utilizados contra *Fusarium* corresponden a los hongos del género *Trichoderma* que son recodidas como agentes de biocontrol con gran potencial para inhibir hongos patógenos que causan pérdidas significativas en los cultivos, y algunas especies del género *Bacillus* (Cabrera *et al.*, 2019; Hewedy *et al.*, 2020).

Se han realizado estudios sobre la efectividad de las cepas de *Trichoderma* en el crecimiento de plantas de pimiento (*C. annuum*) en presencia de *F. oxysporum*, donde los aislados de *Trichoderma harzianum* Rifai mostraron los valores más altos de reducción de la severidad de la enfermedad bajo condiciones de invernadero (Hewedy *et al.*, 2020).

#### 2.4.2.1. *Trichoderma harzianum* Rifai como controlador biológico

Las especies del género *Trichoderma* son antagonistas más utilizados para el control de enfermedades de plantas producidos por hongos fitopatógenos, debido a su fácil manipulación de aislamiento y cultivo, y que no ataca a plantas (Guédez *et al.*, 2008). Es por ello, que *T. harzianum* es una de las especies más utilizadas en el manejo de enfermedades de las plantas (Meher *et al.*, 2020 ; Rush *et al.*, 2021), ya que posee buenas cualidades para el control de enfermedades en plantas causadas por patógenos fúngicos del suelo, principalmente de los géneros *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, *Sclerotium*, *Pythium* y *Fusarium* (Ezziyyani *et al.*, 2004). Es importante mencionar que las especies de *Trichoderma* actúan como hiperparásitos competitivos que producen metabolitos antifúngicos y enzimas hidrolíticas a los que se le atribuyen los cambios estructurales a nivel celular, tales como vacuolización, granulación, desintegración del citoplasma y lisis celular, encontrados en los organismos con los que interactúa (Ezziyyani, *et al.*, 2004; Pérez-Torres, 2017). En tanto, *T. harzianum* es un hongo agresivo, de rápida

---

proliferación y producción de esporas que compite fuertemente por la luz (Howell, 2003), los minerales (Sharma *et al.*, 2012) y el espacio (Naher *et al.*, 2012).

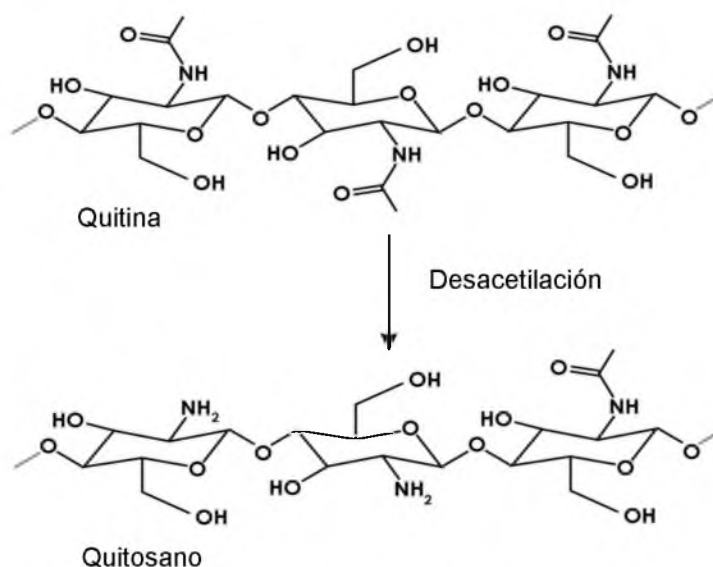
#### 2.4.2.1.1. Mecanismos de acción

Los mecanismos por los que las cepas del género *T. harzianum* desplazan o inhiben al fitopatógeno son fundamentalmente a través de tres mecanismos principales: competencia por nutrientes (carbono, nitrógeno y hierro) (Güçlü y Özer, 2022), micoparasitismo (Mukherjee *et al.*, 2022), y antibiosis a través de la síntesis de metabolitos secundarios con efectos inhibidores o letales sobre hongos patógenos (El-Debaiky, 2017; Mironenka *et al.*, 2021). Además, las cepas del género *Trichoderma* pueden prevenir indirectamente la infección por patógenos, al inducir respuestas de resistencia en las plantas con las que interactúan (Harman *et al.*, 2004; Woo *et al.*, 2023).

#### 2.4.2.2. Quitosano

El quitosano es un biopolímero desacetilado de la quitina ( $\beta$ -(1-4)-poli-N-acetil-D-glucosamina), el segundo más abundante en la naturaleza (Tian y Liu, 2020), obtenido mediante hidrólisis química o enzimática (El-Knidri *et al.*, 2020). Cabe señalar, que la extracción de estos dos biopolímeros (quitosano/quitina) se extrae principalmente del exoesqueleto de crustáceos, como cangrejos y camarones, además, los insectos y hongos también son fuentes de quitosano (Hahn *et al.*, 2020). La estructura resulta en un polisacárido policatiónico lineal de la familia aminoglucopirano (Yan y Fukamizo, 2019), compuesto de unidades  $\beta$ -1,4-vinculadas: 2-amino-2-deoxi- $\beta$ -D-glucosa (D-glucosamina desacetilada) y N-acetil-D-glucosamina con menor peso molecular y cristalinidad que la quitina (>100 kDa) (Moreno *et al.*, 2018). Su estructura es similar a la de la celulosa, salvo que el grupo hidroxilo (-OH) en la posición C-2 en la celulosa se sustituye por un grupo amino (-NH<sub>2</sub>) en el quitosano (Azmana *et al.*, 2021). En la Figura 3 se muestra la estructura de la quitina y el quitosano como resultado de la desacetilación. El quitosano presenta un alto contenido de nitrógeno (N) del 8% (Lichtfouse *et al.*, 2019), que se refleja en la cantidad de grupos aminos libres en la estructura, brindándole el carácter policatiónico que le facilita interactuar con sustancias o

moléculas cargadas negativamente, que le confiere numerosas potencialidades para su empleo en diversos campos que incluyen el sector agrícola, la medicina, la industria cosmética, la industria de textiles, entre otras (Jiménez-Gómez y Cecilia, 2020; Azmana *et al.*, 2021). Dependiendo de las circunstancias experimentales, el grado de desacetilación (DDA) afecta a las propiedades fisicoquímicas de este compuesto como: la resistencia a la tracción, solubilidad, área superficial, viscosidad, conductividad, porosidad y flexibilidad, así como, a las biológicas: potenciador de la adsorción, biodegradabilidad, antioxidante, biodisponibilidad y biocompatibilidad (Park *et al.*, 2010; Fan *et al.*, 2012). Por tanto, el DDA es una característica distintiva que convierte al quitosano en un candidato atractivo para varias aplicaciones prácticas, cuyo valor en la mayoría de quitosanos comerciales, se encuentran en un rango del 70% y el 90% (Hussain *et al.*, 2013).

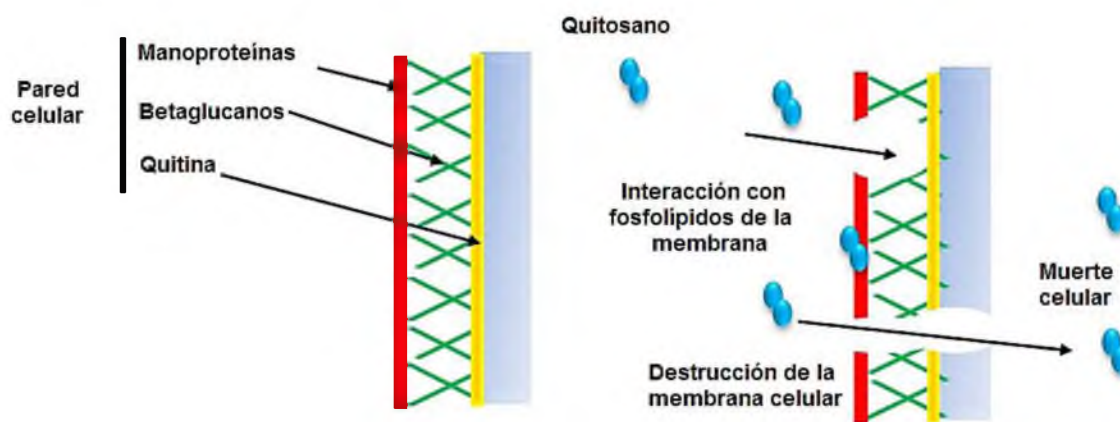


**Figura 3. Quitosano a partir de quitina por desacetilación. Fuente: adaptado de Azmana *et al.* (2021).**

#### 2.4.2.2.1. Actividad antifúngica del quitosano

El quitosano tiene actividad antifúngica contra hongos patógenos, como *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea*, *Rhizoctonia solani*, *Candida lambica*, *Phomopsis asparagi* (Abd El-Hack *et al.*, 2020). Sus propiedades antifúngicas están relacionadas principalmente con la interacción del quitosano con la pared celular o

la membrana celular. Sin embargo, la concentración inhibitoria mínima (CIM) del quitosano contra los hongos varían y están altamente asociadas con el peso molecular (PM) y el grado de desacetilación (DDA) del quitosano, el pH del solvente y el tipo de hongo al que se dirige (Younes *et al.*, 2014; Garcia *et al.*, 2018; Lopez-Moya *et al.*, 2019). Además, los contenidos de ácidos grasos insaturados presentes en la membrana celular podrían estar correlacionados positivamente con la susceptibilidad al quitosano (Palma-Guerrero, 2010), porque un mayor contenido de ácidos grasos insaturados exhibe una mejor fluidez de la membrana, lo que lleva a una carga más negativa en la membrana celular (Kumariya *et al.*, 2015). De manera similar, además de sus efectos antifúngicos extracelulares, el quitosano de bajo peso molecular puede penetrar la pared celular y la superficie celular, lo que conduce a la inhibición de la síntesis de ADN/ARN y proteínas provocando la muerte del microorganismo fúngico (Dutta *et al.*, 2012), como se muestra en la Figura 4. Aunado a ello, Ke *et al.* (2021) han sugerido que el quitosano también afecta la actividad mitocondrial. De igual importancia, este biopolímero posee propiedades fungistáticas en la germinación de esporas, y la inhibición del crecimiento del hongo (Qin *et al.*, 2020).



**Figura 4. Mecanismo propuesto de la actividad antifúngica del quitosano sobre los hongos.**  
**Fuente:** adaptado de Abd El-Hack *et al.* (2020).

#### 2.4.2.2.2. Actividad estimulante del quitosano en el crecimiento en plantas

Los bioestimulantes mejoran la absorción y asimilación de nutrientes de las

---

plantas, haciéndolas más tolerantes al estrés biótico o abiótico, mejorando sus características agronómicas, a través del estímulo de respuestas exógenas de defensa similares a las vacunas, promoviendo ciertas enzimas como: las fitoalexinas, quitinasas, pectinasas y glucanasas, que estimula el crecimiento vegetal (Dutta *et al.*, 2009). Por tal razón, el quitosano juega un papel muy importante como bioestimulante en cultivares de plantas de interés agrícola, actuando como promotores de crecimiento y rendimiento de los cultivos (Reyes-Perez *et al.*, 2023). Es así, que la presencia de quitosano en el suelo mejora las interacciones simbióticas entre planta y microorganismos, como ocurre por ejemplo en las micorrizas (Jiménez-Gómez y Cecilia, 2020). También mejoran la acción de organismos biológicos controladores de plagas como *Trichoderma* sp. y *Bacillus* sp., son adecuados para la encapsulación de biocidas, mejorando la eficacia en plagas patógenas; conjuntamente, también puede mejorar el metabolismo de frutos o plantas, lo que mejora la germinación y productividad de los cultivos (Schisler *et al.*, 2004). Así mismo, este compuesto aumenta la eficiencia fotosintética al tiempo que mejora la tolerancia de las plantas a la salinidad, las altas temperaturas y la sequía (Pichyangkura y Chadchawan, 2015). Además, el quitosano puede emplearse como una fuente de carbono adicional, para estimular el desarrollo de plantas y fomentar la absorción de agua, al mismo tiempo que se reduce la transpiración (Pirbalouti *et al.*, 2017; Shahrajabian *et al.*, 2021). Reyes-Pérez *et al.* (2020) mencionan que, con la utilización del quitosano, se han obtenido resultados relevantes en cultivos de granos como arroz y frijol, en tubérculos como la papa y hortalizas como el tomate, entre los más importantes, los cuales han registrado mejoras en el crecimiento y desarrollo acelerando el ciclo fenológico, adelantando la floración y fructificación, así como ejerciendo una influencia marcada en el incremento del rendimiento.

#### 2.4.2.2.3. Quitosano como inductor de resistencia en plantas

El control de enfermedades de las plantas mediante la inducción de respuestas de resistencia de las plantas representa una solución interesante para evitar pérdidas de rendimiento y proteger el medio ambiente (Rendina *et al.*, 2019). Cabe mencionar que la resistencia en las plantas es activada por un gran número de

---

factores bióticos (hongos, bacterias, virus, e insectos) y abióticos (químicos y físicos) conocidos como resistencia inducida (Meena *et al.*, 2020). Actualmente, se conocen dos tipos de resistencia inducida: la resistencia sistémica adquirida (SAR) y resistencia sistémica inducida (ISR), que son mediadas por fitohormonas, como el ácido salicílico (SA), el ácido jasmónico (JA) y el etileno (ET) (Malerba y Cerana, 2016). La primera línea de reconocimiento en las plantas hacia los fitopatógenos es a través de los receptores de reconocimiento de patrones (PRR), que reconocen compuestos microbianos, como el flagelo bacteriano o la quitina fúngica, denominados patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP), patrones moleculares asociados a microbios (MAMP) o patrones moleculares asociados a daños (DAMP) (Mauch-Mani *et al.*, 2017). El quitosano se comporta como un elicitor general, induciendo resistencia por un reconocimiento mediado por PRR activando la resistencia sistémica adquirida (SAR) (Lopez-Moya *et al.*, 2019). Las respuestas de defensa causadas por el quitosano incluyen un aumento del  $\text{Ca}^{2+}$  citosólico, deposición de callosa, explosión oxidativa, respuesta hipersensible (HR), ácido abscísico (ABA), ET, JA, SA, enzimas relacionadas con la defensa y fitoalexinas (Gai *et al.*, 2019; De Lamo *et al.*, 2020; Dubin *et al.*, 2021).

#### 2.4.2.3. Valor comercial del quitosano

De los procesos industriales actuales se deriva el valor comercial del quitosano, el cual depende de la fuente (biomasa), pureza, grado de desacetilación (DDA), peso molecular y viscosidad intrínseca, entre otras características, que determinan su valor en el mercado (Romero-Serrano y Pereira, 2020). El precio del quitosano en cantidades menores es de \$ 38.2 M.N. (2 USD) por gramo de la marca Sigma Aldrich<sup>®</sup> México, con un DDA  $\geq$  75% (Merck KgaA, 2024).

---

### 3. ANTECEDENTES

Amador-Mendoza *et al.* (2016), evaluaron tres métodos para para extracción de quitina, donde los métodos que utilizaron son: el químico (Hidrólisis alcalina-ácida), biológico o fermentación en medio sólido (FMS) y físico (ultrasonificación) en exoesqueletos de chapulín y camarón. En los productos de cada método se evaluó el porcentaje de desmineralización, desproteínización y cambio de color. Los resultados demostraron que la FMS con *Lactobacillus plantarum* BG-112 a las 120 h produjo 32.43% y 32.63% de desproteínización y 40.31% y 15.40% de desmineralización, la hidrólisis alcalina-ácida presentó 98.19% y 96.75% de desproteínización y 98.91% y 92.66% de desmineralización. Por último, en la ultrasonificación empleando 40% de amplitud, la desproteínización fue de 64.58% y 61.12%; y una desmineralización de 13.71% y 12.29% con esos sustratos. El tratamiento químico generó una mayor remoción de proteínas y minerales en comparación con los demás tratamientos con un tiempo de proceso de 5 h, y los rendimientos alcanzados de quitina fueron de 51.94% y 47.68% para chapulín y camarón respectivamente. Así mismo, Liyanage *et al.* (2022) extrajeron quitosano de residuos de exoesqueleto de camarón (*Litopenaeus vannamei*) en Sri Lanka por hidrólisis alcalina-ácida usando HCl 1M en proporción 1:30 (p/v), a temperatura ambiente durante 6 h, NaOH 1M en 1:10 (p/v) a 100 °C durante 3 h, y una solución de KMnO<sub>4</sub> al 1% en 1:10 (p/v) durante 1 h, seguida de una mezcla con ácido oxálico al 1% en 1:10 (p/v) para su decoloración. Para el proceso de desacetilación de la quitina, se empleó NaOH al 40% al 1:30 (p/v) durante 2 horas a 100 °C, al finalizar obtuvieron una cantidad comparativamente mayor de rendimiento de quitosano 33,53% con 91,78 ± 0,66 % de contenido de materia seca, 8,22 ± 0,66 % de contenido de humedad, 1,08 ± 0,24 % de contenido de cenizas, 80,43% del grado de desacetilación (DDA), 435,87 ± 1,03 cP de viscosidad dinámica y una buena estabilidad térmica hasta 312 °C. El análisis de espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) confirmó la estructura del quitosano por la presencia de sus bandas IR características: las bandas amida-I y amida-II en 1656cm<sup>-1</sup> y 1553cm<sup>-1</sup> en el espectro del quitosano respectivamente. Además, este estudio sugiere que las actividades extractivas de

---

quitosano brinden una alternativa a la acumulación de desechos del exoesqueleto de camarón en las fábricas, al mismo tiempo que se generan ingresos económicos a partir de este tipo de desechos.

Por otra parte, en el caso de la aplicación de quitosano en plántulas de chile se han realizado algunos estudios que demuestran que este biopolímero mejoró las características agronómicas del cultivo. Es así que, Dery *et al.* (2023) realizaron la aplicación de diferentes concentraciones de quitosano (2, 50 y 100 mg L<sup>-1</sup>) y dos métodos de aplicación (foliar y basal) en las características de crecimiento y rendimiento del chile pimiento (*Capsicum annuum* L.). Las variables evaluadas fueron la altura, el diámetro del tallo, el número de hojas, el contenido de clorofila y rendimiento de la planta. Los resultados mostraron que a las 6 semanas después de la siembra, la concentración óptima de quitosano fue de 100 mg L<sup>-1</sup> por aplicación foliar, ya que presentaron mejor altura (50.30 cm), diámetro del tallo (6.17 mm), sin diferencias significativas en el número de hojas, mayor contenido de clorofila, así como un incremento en el número de frutos, diámetro de los mismos (7.23 mm) y mejor rendimiento del cultivo. También Mawale y Giridhar (2024), utilizaron nanopartículas (NP) sintetizadas a base de quitosano (NP de quitosano (CS), quitosano-plata (CSAg) y quitosano-cobre (CSCu) *Capsicum annuum* L., donde las plántulas mostraron características fisiológicas y bioquímicas mejoradas cuando se utilizaron concentraciones de 1, 10 y 20 ppm de nanopartículas (CS, CSAg y CSCu) para la inmersión de semillas en 24 h, mejorando el contenido de clorofila 20-75%, carotenoides 20-30%, fenólicos totales 20-45%, flavonoides totales 40-125 %, azúcares reductores 15-40%, actividad antioxidante total 10-82%, y capsaicinoides totales 125-142%. Respecto al efecto antagónico que presenta el quitosano sobre *Fusarium oxysporum* Schldl., existen estudios recientes que lo sustentan. Por lo cual, Mejdoub-Trabelsi *et al.* (2020) investigaron la actividad antifúngica del quitosano contra cepas de *Fusarium* en plantas de papa, y con base en ensayos *in vitro* demostraron que el quitosano aplicado a una concentración de 4.0 g/L de solución de ácido acético-agua destilada disminuyó significativamente el crecimiento

---

micelial de *F. oxysporum* en un 88.4 %. También en las aplicaciones *in vivo* en plantas inoculadas con *Fusarium* exhibieron una severidad de marchitamiento entre un 33.5% y un 45.3% menor en comparación con el control. Además, el tratamiento de tubérculos con quitosano (4,0 g/L) de solución de ácido acético-agua destilada, antes de la inoculación, redujo la severidad de la pudrición seca inducida por *F. oxysporum* 60% respectivamente.

Respecto a la aplicación de *Trichoderma harzianum* Rifai, cabe mencionar que Bader *et al.* (2020) evaluaron el sustrato adecuado para la reproducción de *T. harzianum* y el efecto de su aplicación en plantas de pimiento (*Capsicum annuum* L.), donde el desarrollo de biomasa fúngica y la esporulación se realizó en medio orgánicos: arroz, salvado de trigo, turba, salvado de trigo+turba (1:1 v/v), los cuales fueron inoculados por separado con *T. harzianum* (1 mL  $1 \times 10^8$  conidios/1250 cm<sup>3</sup> incubado a 25°C). La mezcla de salvado+turba mostró la mayor colonización fúngica y esporulación a los 5 días después de la inoculación. En relación a las plantas de chile, estas fueron sembradas en el sustrato salvado+turba inoculada con cepas de *T. harzianum*, e incrementó el crecimiento de las plantas de pimiento a los 45 días después de la inoculación (DDI). Además de que se incrementó el desarrollo aéreo y la capacidad fotosintética en más del 100%. Finalmente, Hewedy *et al.* (2020) evaluaron la actividad antagónica *in vitro* e *in vivo* de *Trichoderma harzianum* Rifai, *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckf y Nirenberg, *Trichoderma longibrachiatum* Rifai y *Trichoderma viride* Persoon contra *Fusarium oxysporum* Schltdl. f. sp. *capsici*, donde los aislados de *T. harzianum* presentaron alta inhibición sobre el crecimiento de la cepa patógena, así mismo mostraron los valores más altos de reducción de la severidad de la enfermedad en plantas de pimiento (*Capsicum annuum* L.) bajo condiciones de invernadero.

---

## 4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El cultivo de chile soledad (*Capsicum annuum* L.), también conocido como serrano delgado o serranito, es un producto ampliamente cultivado en la región de la cuenca del Papaloapan por el alto valor que alcanza su fruto; sin embargo, la producción de este cultivo se ve afectado por enfermedades que causan un deterioro de las plantas y frutos en cualquier etapa de su desarrollo, que se reflejan en pérdidas económicas para los productores locales.

Entre la diversidad de microorganismos existentes que causan enfermedades a *C. annuum*, se encuentran los hongos fitopatógenos de la especie *Fusarium oxysporum* Schltdl., que ocasiona el marchitamiento del chile, provocando necrosis y pudrición en raíces, clorosis en hojas, lesiones necróticas en tallos, pudrición en frutos y retraso del crecimiento en plántulas.

Tradicionalmente, las recomendaciones técnicas para prevenir y/o combatir esta enfermedad fúngica, consiste en el uso de fungicidas como el Tebuconazole, Carbendazim, Tiabendazol, Tiofanato de Metilo y Benomyl, así mismo, aunque la efectividad de estos productos alcanzan un alto nivel de protección contra este patógeno, muchos agricultores poseen limitado conocimiento sobre el uso correcto de ellos, lo que conlleva a realizar su uso excesivo, aumentando la cantidad de dosis con la intención de aumentar la efectividad; no obstante, el uso indiscriminado trae consecuencias negativas a largo plazo, pues se ha establecido que solo un 0.1 % de la cantidad de agroquímicos aplicados tienen efecto sobre el patógeno, y el restante circula por el medio ambiente; trayendo afectaciones como la erosión del suelo y pérdida de la fertilidad del mismo, contaminación de los mantos acuíferos por infiltración, daño de la fauna local por intoxicación, afectaciones a la salud de las personas y resistencia fúngica.

Por último, los altos costos que implica adquirir estos productos para los productores es otra problemática que conlleva a la búsqueda de soluciones más económicas y más amigables con el medio ambiente, como el control biológico

---

mediante el uso de bioinoculantes formulados con quitosano y *Trichoderma harzianum* Rifai para minimizar el efecto negativo que ha traído el uso de agroquímicos y, también para mejorar la producción de chile soledad de manera local.

---

## 5. JUSTIFICACIÓN

Actualmente la siembra de chile soledad (*Capsicum annuum* L.) representa una fuente de ingreso para los productores locales de la Cuenca del Papaloapan, principalmente en el municipio de Loma Bonita, Oaxaca, los cuales son afectados por microorganismos fitopatógenos como *Fusarium oxysporum* Schltdl. produciendo pérdidas económicas, perdidas en la producción y, daño tanto en la cosecha y postcosecha.

Aunado a esto, los productores recurren al uso de agroquímicos para contrarrestar los daños causados por *F. oxysporum*, que en la mayoría de los casos la aplicación se realiza de forma inadecuada, provocando resistencias de este fitopatógeno, ocasionando daños más severos y de difícil control. Lo que ha llevado a realizar un replanteamiento de las tácticas de control de esta enfermedad, a través del control biológico mediante la formulación y aplicación de bioinoculantes.

Dentro de los bioinoculantes utilizados como antagonistas de *F. oxysporum*, se incluyen al quitosano, que presenta propiedades como inductor de la defensa vegetal frente al ataque de este agente fitopatógeno, a través de la estimulación de la biosíntesis de hidrolasas antifúngicas como quitinasas, quitosanasas y glucanasas en hojas y raíces; que desempeñan un papel en la defensa de la planta ante el ataque de estos hongos, ocasionado la hidrólisis de la pared celular. Así mismo se ha implementado el uso de *Trichoderma harzianum* Rifai, cuyas propiedades involucran la competencia por sustrato y nutrientes, su capacidad hiperparásita que sintetiza metabolitos antifúngicos y enzimas hidrolíticas que provocan la desintegración y lisis celular cuando interactúa *F. oxysporum*.

Respecto a lo anterior, no existen estudios que nos brinden información veraz sobre los beneficios del uso de bioinoculantes para el control de *F. oxysporum* en cultivo de chile soledad; por lo que en este estudio se realizará la formulación y aplicación de bioinoculantes a base de hongos de la especie *T. harzianum* junto

---

con quitosano en plántulas de chile soledad, para evaluar el grado de protección contra *F. oxysporum*; para que posteriormente los resultados obtenidos brinden en un futuro las pautas necesarias para realizar una mejora en las técnicas de cultivo usando *T. harzianum* y quitosano como control biológico y otorgue beneficios como son: la reducción de los efectos nocivos provocados por el uso excesivo de agroquímicos y la disminución de los costos de producción en el cultivo de chile soledad en beneficio de los productores.

---

## 6. OBJETIVOS

### 6.1. Objetivo general

Evaluar la actividad antagónica de la combinación de quitosano y *Trichoderma harzianum* Rifai contra *Fusarium oxysporum* Schltdl. en plántulas de chile soledad (*Capsicum annuum* L.).

#### 6.1.1. Objetivos específicos

- Aislar e identificar a *Fusarium oxysporum*, en plantas de chile soledad (*Capsicum annuum*) infectadas.
- Extraer quitosano a base del exoesqueleto de camarón (*Penaeus* sp.) por hidrólisis química.
- Formular bioinoculantes a base de quitosano y *Trichoderma harzianum*.
- Evaluar la morfología de las plántulas de chile soledad (*Capsicum annuum*) por efecto de la aplicación de quitosano y *Trichoderma harzianum*.
- Sembrar e inocular con *Fusarium oxysporum* plántulas de chile soledad (*Capsicum annuum*).
- Evaluar el efecto antagónico de quitosano y *Trichoderma harzianum* sobre *Fusarium oxysporum* en plántulas de chile soledad (*Capsicum annuum*), a los 45 días después de la siembra (DDS).

---

## 7. HIPÓTESIS

La aplicación de bioinoculantes formulados con quitosano y *Trichoderma harzianum* Rifai tendrá un efecto antagónico amplio contra la infección de *Fusarium oxysporum* Schltdl. en plántulas de chile soledad (*Capsicum annuum* L.).

---

## 8. MATERIALES Y MÉTODOS

### 8.1. Fase de laboratorio

#### 8.1.1. Ubicación del experimento

Esta fase experimental se realizó en el Laboratorio Químico Biológico de la Universidad del Papaloapan (UNPA) Campus Loma Bonita, siendo las coordenadas del sitio 18°05'57.4" de latitud Norte (N) y 95°53'45.4" de longitud Oeste (W), ubicado en el municipio de Loma Bonita, Oaxaca (INEGI, 2020). Este municipio colinda al Norte, Este y Sur con el estado de Veracruz de Ignacio de la Llave; y al Oeste con la comunidad de San Juan Bautista Tuxtepec. Presenta un clima cálido húmedo y subhúmedo con abundantes lluvias en verano, con precipitación de 1,500-2,500 mm al año (INEGI, 2010). Una temperatura promedio de 14.7 a 41.9°C, con sensación térmica máxima de 57°C, y una altitud media de 35 msnm (Molina *et al.*, 2019).

#### 8.1.2. Extracción de quitosano UNPA

##### 8.1.2.1. Recolección, lavado y secado de muestras de camarón

Se recolectó muestras de exoesqueleto de camarón en la zona pesquera del puerto de Alvarado, Veracruz, coordenadas 18°45'56.6" de latitud Norte (N) y 95°45'31.1" de longitud Oeste (W), a una altitud de 10 msnm (INEGI, 2020), las cuales fueron trasladadas al laboratorio Químico Biológico de la UNPA Campus Loma Bonita. Por consiguiente, se seleccionó 1 kg de muestra húmeda y se lavó con agua corriente para la remoción de los restos orgánicos. En seguida se realizó el secado de la misma (Estufa de secado marca ECOSHEL, modelo 9065, México) a una temperatura de 70 °C por 24 h, hasta que obtuvo un peso constante (Amador-Mendoza *et al.*, 2016).

##### 8.1.2.2. Molienda del exoesqueleto

El exoesqueleto limpio y seco, se molió en una licuadora industrial (Internacional, modelo: LI-12A), posteriormente en una licuadora doméstica (Oster, modelo

---

006798-013-000). La muestra molida se tamizó (Tamiz No. 60 FIICSA, T60-8m, México) a un tamaño de partícula de 250  $\mu\text{m}$  (Amador-Mendoza *et al.*, 2022).

### 8.1.2.3. Purificación de quitosano

#### 8.1.2.3.1. Desproteínización química (Hidrólisis alcalina)

Se realizó en vasos de precipitado de 2.0 L con una solución acuosa de hidróxido de sodio (NaOH) 0.4 M, en una relación 1/15 (p/v) y agitación constante (agitador magnético con calefacción, marca Barnstead Thermolyne Cimarec<sup>®</sup>) de 1000 rpm durante 1 h a una temperatura de 25 °C. Al término, la muestra sólida se lavó con agua corriente hasta la neutralidad (Cira *et al.*, 2002; Amador-Mendoza *et al.*, 2022).

#### 8.1.2.3.2. Desmineralización química (Hidrólisis ácida)

Se efectuó en vasos de precipitado de 2.0 L conteniendo una solución de ácido clorhídrico (HCl) al 0.6 N, en una relación (1/15) (p/v) y agitación constante (agitador magnético con calefacción, marca Barnstead Thermolyne Cimarec<sup>®</sup>) de 1000 rpm durante 3 h. Una vez concluido se lavó con agua corriente hasta la neutralidad conforme a las condiciones determinadas por Cira *et al.* (2002) y Amador-Mendoza *et al.* (2022).

#### 8.1.2.3.3. Desacetilación de la quitina (Hidrólisis alcalina)

Se realizó en vasos de precipitado de 2.0 L con una solución acuosa de hidróxido de sodio (NaOH) 0.4 M, en una relación 1/15 (p/v) y agitación constante (agitador magnético con calefacción, marca Barnstead Thermolyne Cimarec<sup>®</sup>) de 1000 rpm durante 1 h a una temperatura de 25 °C. Al término, la muestra sólida se lavó con agua corriente hasta la neutralidad (Cira *et al.*, 2002).

#### 8.1.2.3.4. Despigmentación química

Por último, este proceso se completó a través un doble blanqueado, el cual consistió en resuspender los residuos desproteínizados y desmineralizados (utilizando matraces de Erlenmeyer de 2.0 L) en una solución de hipoclorito de sodio (NaClO) al 38%, bajo agitación constante (agitador magnético con

---

cafección, marca Barnstead Thermolyne Cimarec<sup>®</sup>) de 1000 rpm a temperatura ambiente durante 20 min. Al término del primer blanqueado, la muestra se filtró y resuspendió por segunda vez en hipoclorito bajo las condiciones antes descritas. El producto resultante se lavó hasta llegar a la neutralidad y se secó a 35 °C durante 24 h (Estufa de secado, marca ECOSHEL, modelo 9065, México) (Amador-Mendoza *et al.*, 2022).

### 8.1.3. Rendimiento global de la muestra

Para el rendimiento global del proceso de extracción de quitosano UNPA, se calculó usando la siguiente fórmula (1) propuesta por Luo *et al.* (2019) y usada por Hahn *et al.* (2020):

$$\text{Rendimiento de quitosano (\%)} = \frac{\text{Quitosano obtenido (g)}}{\text{Exoesqueleto de camarón seco (g)}} \times 100 \dots \dots (1)$$

### 8.1.4. Análisis fisicoquímico de las muestras

Para evaluar la calidad del quitosano obtenido se realizó el análisis fisicoquímico de muestras de exoesqueleto de camarón, quitosano UNPA obtenido y quitosano Sigma Aldrich<sup>®</sup> comercial, donde se tomó cantidades homogéneas por triplicado de 3.0 g cada una, para sus respectivos análisis de % proteínas por el método de Kjeldahl (AOAC 43, 689, 2005), % humedad (H) (AOAC 33, 749, 2005) potencial de hidrógeno (pH) (Ionómetro Laquatwin<sup>®</sup> EC11), % minerales (cenizas) (AOAC 7,132, 2005) y análisis de color (Espectrofotómetro ColorFlex HunterLab<sup>®</sup>) en el espacio de color CIE 1976 L\*a\*b\* (CIELAB), cuyos valores se identificó en el programa Colorizer y se procedió a la lectura para realizar las cartillas de colores respectivos (Amador-Mendoza *et al.*, 2016).

### 8.1.5. Caracterización del quitosano

#### 8.1.5.1. Obtención de espectros infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR)

Se obtuvo espectros infrarrojos de las muestras de quitosano resultante y se utilizó quitosano comercial (Sigma Aldrich<sup>®</sup> México) como blanco. Las muestras se pulverizaron a un tamaño de partícula de 250 μm. Estas se analizaron por

---

espectroscopia de infrarrojo en un intervalo de 400-4000  $\text{cm}^{-1}$  en un espectrofotómetro e interferómetro con reflectancia total atenuada (Marca: Perkin Elmer, modelo: DYNASCAN Spectrum 100, USA), que se obtuvo con una resolución de 4  $\text{cm}^{-1}$  en un rango de 4000-515  $\text{cm}^{-1}$  con un total de 16 barridos (Amador-Mendoza *et al.*, 2022).

### **8.1.6. Aislamiento y caracterización de *Fusarium oxysporum* Schldl.**

#### 8.1.6.1. Sitio de colecta

Las muestras se colectaron el 25 de agosto de 2022, en los cultivos de productores de chile soledad de la localidad de San Benito el Encinal, perteneciente al municipio de Loma Bonita, Oaxaca, siendo las coordenadas del sitio 17°59'05.5" de latitud Norte (N) y 95°54'39.9" de longitud Oeste (W) (INEGI, 2020).

#### 8.1.6.2. Colecta del material vegetal

Se colectó 20 plantas de chile soledad (hojas, tallos y raíces) que presentaban síntomas de marchitez, amarillamiento de las hojas y pudrición del tallo, las cuales se guardaron por separado en bolsas de polietileno, se etiquetaron y se trasladaron al Laboratorio Químico Biológico de la UNPA Campus Loma Bonita, para su posterior procesamiento (Akbar *et al.*, 2018; Oljira y Berta, 2020).

#### 8.1.6.3. Aislamiento de *Fusarium oxysporum* a partir de tejido vegetal

Las muestras se lavaron con agua corriente para retirar residuos orgánicos y de suelo. Enseguida, en condiciones asépticas cada parte de las plantas (hojas, tallos y raíces) se cortaron en segmentos de 5 mm, los cuales se sumergieron en solución de hipoclorito de sodio ( $\text{NaClO}$ ) al 0.5% durante 1 minuto respectivamente (Gabrekiristos *et al.*, 2020). Posteriormente, el material biológico se lavó 3 veces con agua destilada estéril por 1 minuto y se secó sobre papel filtro estéril (Biri y Gomathinayagam, 2021). Finalmente, las muestras se colocaron en placas con medio Agar Papa Dextrosa (PDA) (90 x 15 mm). Todas las placas se etiquetaron, se sellaron con Clean Pack e incubaron a 28 °C durante 5-7 días para permitir el crecimiento micelial (López-Orona *et al.*, 2019; Dewi *et al.*, 2021).

---

#### 8.1.6.4. Purificación de la cepa

Después del crecimiento de las colonias fúngicas, se seleccionó el micelio con aspecto algodonoso blanquecino y de pigmentación difusible roja, rosa o violeta que son característicos del género *Fusarium*, las cuales se aislaron para su purificación en cajas Petri con medio PDA (pH =  $5.6 \pm 0.20$ ) a 28 °C durante 7 días para obtener un cultivo puro. Posteriormente las muestras aisladas se observaron al microscopio óptico (marca VELAB™, modelo VE-B3) para confirmar la presencia de *Fusarium* (Hernández-Amasifuen *et al.*, 2019; Oljira y Berta, 2020). Finalmente, para la obtención de cultivos puros, para este estudio se adaptó la metodología de cultivos monospóricos propuesta por Morales-Rodríguez *et al.* (2007).

#### 8.1.6.5. Mantenimiento de la cepa

Para el mantenimiento de la cepa, se transfirió a cajas Petri con medio PDA (pH =  $5.6 \pm 0.20$ ) a 4 °C para su posterior empleo (Hami *et al.*, 2021).

#### 8.1.6.6. Caracterización de la cepa aislada

##### 8.1.6.6.1. Descripción macroscópica

Para la identificación macroscópica, los aislados puros de *F. oxysporum* fueron reactivados en cajas Petri (90 x 15 mm) con medio PDA (pH =  $5.6 \pm 0.20$ ), y se incubaron a 28 °C con un fotoperiodo de 12 h de oscuridad por 10 días. El experimento se realizó por triplicado y se efectuaron registros cada 24 h, donde se observó la morfología y pigmentación de la colonia, de acuerdo a Ferniah *et al.* (2014), Endriyas *et al.* (2020), Tilahun *et al.* (2020) y Hernández-Hernández *et al.* (2022).

##### 8.1.6.6.2. Identificación morfológica

La identificación se llevó a cabo utilizando un microscopio óptico (marca VELAB™, modelo VE-B3). Los resultados obtenidos se compararon con la clave de Nelson *et al.* (1983), el manual de laboratorio de Leslie y Summerell (2006), y Campbell y Johnson (2013).

---

#### 8.1.6.6.3. Identificación molecular

La identificación molecular de la cepa pura aislada se realizó en los Laboratorios de Fertilidad de Suelos S. de R.L. (FERTILAB). Para la amplificación (PCR punto final) se emplearon los oligos universales para hongos EF1-728F y EF1- 986R. La identificación molecular se realizó mediante el análisis de la secuenciación del gen factor de elongación (EF1).

#### **8.1.7. Reproducción y caracterización de *Trichoderma harzianum* Rifai**

##### 8.1.7.1. Reproducción en medio sólido

El aislado monospórico de *T. harzianum*, provino de las cepas del Laboratorio de Bioprocesos de la Universidad del Papaloapan (UNPA), Campus Tuxtepec. Para la reactivación de la cepa se tomó una porción de esporas y se cultivó en cajas Petri (90 x 15 mm) con medio PDA (pH = 5.6 ± 0.20), y se incubó una temperatura de 28 °C, con un fotoperiodo de 12 h de oscuridad, durante 7 días (Pineda-Insuasti *et al.*, 2017; Samaniego-Fernández *et al.*, 2018).

##### 8.1.7.2. Caracterización del aislado monospórico

###### 8.1.7.2.1. Descripción macroscópica

Para confirmar que la cepa utilizada correspondía a *T. harzianum*, las cepas puras se cultivaron en cajas Petri (90 x 15 mm) con medio PDA (pH = 5.6 ± 0.20), y se incubaron a 28 °C con un fotoperiodo de 12 h de oscuridad por 10 días, donde se realizaron las observaciones macroscópicas para su identificación. El experimento se realizó por triplicado. Para ello, se efectuaron registros cada 24 h, donde se visualizó el aspecto y pigmentación de las colonias, la textura algodonosa o no del micelio, la formación de dos o más anillos concéntricos constituidos por conidios pigmentados de verde (Jiang *et al.*, 2016; Asis *et al.*, 2021; Matas-Baca *et al.*, 2023).

###### 8.1.7.2.2. Identificación morfológica

La identificación microscópica del aislado de *T. harzianum* se realizó utilizando las claves taxonómicas de Bisset (1984, 1991a, b); De Hoog *et al.* (2000); Wantanabe

---

(2002); Romero-Arenas *et al.* (2009); Chaverri *et al.* (2015). Con las que se observó y comparó la forma de las hifas, esporas, conidióforos y clamidosporas.

#### 8.1.7.2.3. Tasa de desarrollo de *Trichoderma harzianum*

Con un asa bacteriológica se tomó una porción de esporas en el borde de cada colonia en crecimiento activo de 8 días de edad, y se colocó en nuevas cajas Petri (90 x 15 mm) con medio PDA (pH = 5.6 ± 0.20) y se incubó a 28 °C con un fotoperiodo de 12 h. Este experimento se realizó cuatro veces. Se midió la longitud de crecimiento micelial de *T. harzianum* cada 24 h con un Vernier (TRUPER®), cuya medición culminó cuando la cepa colonizó toda el área de la caja Petri. Para lo cual, se utilizó los procedimientos de Asman y Rosmana (2021), Admasu *et al.* (2022):

$$D = \frac{(d^1 + d^2)}{2} \dots \dots \dots (2)$$

Donde:

D = Diámetro (mm) del micelio del hongo en crecimiento.

d<sup>1</sup> = Diámetro vertical (mm) del micelio del hongo en crecimiento.

d<sup>2</sup> = Diámetro horizontal (mm) del micelio del hongo en crecimiento.

Posteriormente se calculó la tasa de desarrollo de cada uno de los cultivos a través de la fórmula (3) empleada por Romero *et al.* (2013):

$$TD = \frac{(VC \text{ Final} - VC \text{ Inicial})}{D} \dots \dots \dots (3)$$

Donde:

TD=Tasa de desarrollo

VC Final= Diámetro (mm) alcanzado en el tiempo final.

VC Inicial= Diámetro (mm) en el tiempo inicial.

D= Número de días que demoró la cepa en colonizar toda la caja Petri.

---

### 8.1.7.3. Reproducción en medio líquido

Las muestras de *T. harzianum* en medio PDA (pH =  $5.6 \pm 0.20$ ), una vez reproducida en cajas Petri totalmente llenas y esporuladas de la muestra fúngica, en condiciones asépticas, se realizó cortes de 5 x 5 mm en el agar y se agregó en caldo selectivo E de *Trichoderma* (TME) para su reproducción: 200 mL de jugo V-8, 800 mL de agua destilada, 1 g de melaza. El caldo se incubó a una temperatura de 28 °C con un fotoperiodo de 12 h, durante 30 días en agitación constante (Sánchez-López *et al.*, 2012).

#### 8.1.7.3.1. Cuantificación de esporas

Para la cuantificación de esporas en medio líquido, se realizó en la cámara de Neubauer (Modelo MARIENFELD, profundidad 0.100 mm, 0.0025 mm<sup>2</sup>). Para ello, en condiciones asépticas se tomó 5 mL de caldo con esporas de hongo *T. harzianum* y se colocó en un vaso de precipitado limpio y estéril. Enseguida, se realizaron diluciones seriadas para minimizar la concentración de esporas. Por lo que de la muestra original de 1000  $\mu\text{L}$  (1 mL), se tomó la cantidad de 100  $\mu\text{L}$  de medio concentrado de esporas y se diluyó con 900  $\mu\text{L}$  de agua destilada estéril en un tubo de microcentrífuga, en un factor de 10 (1:10) o a la décima parte y, se agitó en un Vortex (modelo: Daigger<sup>®</sup>, Vortex-Genie<sup>®</sup> 2). Posteriormente se tomó 20  $\mu\text{L}$  por duplicado de la dilución suspendida y se colocó en cada uno de los fondos de la cámara de Neubauer hasta que cada uno de los compartimientos quedó lleno por la dilución. Finalmente, la cámara se colocó en el microscopio óptico y, en el cuadrante central se contabilizó el contenido de esporas en 5 cuadrantes menores que lo conforman (4 de los extremos y 1 en el centro), tomando en cuenta todas las esporas que se encontró dentro de las líneas de borde superior e izquierda, y las esporas que se encontró en las líneas de borde inferior y derecha no se realizó el registró (Gallego-Albiach y Pérez-Igualada, 2021; Martínez *et al.*, 2022).

La concentración de espora se determinó aplicando la siguiente ecuación (4) (Araujo *et al.* 2016):

---

$$\text{Esporas/mL} = \frac{\text{NE}}{\text{SR} \cdot \text{PdC} \cdot \text{F}} \dots\dots\dots (4)$$

Donde:

NE= Número de esporas.

SR= Superficie recontada (mm<sup>2</sup>).

    Cuadro grande 1 mm<sup>2</sup>;

    Cuadrado de grupo: 0.25 mm<sup>2</sup>;

    Cuadrado pequeño 0.05 mm<sup>2</sup>.

PdC= Profundidad de la cámara (0.01 mm).

F= Factor de dilución.

#### **8.1.8. Prueba de confrontación de cultivo dual *in vitro***

Para el experimento de confrontación, se utilizó el método de cultivo dual, con el fin de determinar las actividades inhibitorias de las cepas antagonistas frente al patógeno fúngico. Por tanto, con un asa bacteriológica se colocó una porción de micelio con crecimiento activo de *T. harzianum*, a una distancia de 10 mm del borde de la placa con PDA (pH = 5.6 ± 0.20). Al lado opuesto de la placa con medidas similares anteriormente descritas (tamaño de micelio y borde de la placa), se colocó el patógeno fúngico *F. oxysporum* (Martínez-Alvarez *et al.*, 2012). Así mismo, se inocularon placas PDA con únicamente el hongo antagonista y el patógeno, que se utilizaron como controles. Las placas inoculadas se incubaron a 28°C durante 10 días, y cada experimento se repitió cuatro veces para su validación (Kumar *et al.*, 2019). Enseguida se midió cada 24 h el crecimiento radial con un Vernier (TRUPER®) a lo largo de tres ejes como lo describen Martínez-Álvarez *et al.* (2012), de la colonia del hongo antagonista en relación con la del hongo patógeno. Así mismo se midió el radio de cada una de las cepas control (Huang *et al.*, 2011; Liu *et al.*, 2023a).

Posteriormente se comprobó el número de días en los que se produjo el primer contacto entre hifas de ambos hongos. Para lo cual, se determinó la escala de

---

antagonismo de cinco grados propuesta por Bell *et al.* (1982), que se describe en la Tabla 3.

**Tabla 3. Escala de evaluación del tipo de antagonismo ejercido por las cepas de *Trichoderma harzianum* contra *Fusarium oxysporum*.**

Clase	Descripción
1	<i>Trichoderma harzianum</i> sobrecrece completamente al patógeno y cubre totalmente la superficie del medio.
2	<i>Trichoderma harzianum</i> sobrecrece las dos terceras partes de la superficie del medio.
3	<i>Trichoderma harzianum</i> y el patógeno colonizan cada uno aproximadamente la mitad de la superficie y ningún organismo parece dominar al otro.
4	El patógeno coloniza las dos terceras partes de la superficie del medio y parece resistir a la invasión por <i>Trichoderma harzianum</i> .
5	El patógeno sobrecrece completamente a <i>Trichoderma harzianum</i> y ocupa la superficie total del medio.

**Fuente:** Bell *et al.* (1982).

Finalmente, para calcular el efecto de micoparasitismo de *T. harzianum* sobre el crecimiento micelial de *F. oxysporum*, se calculó el porcentaje de inhibición del crecimiento radial del patógeno fúngico en comparación con el control, mediante la siguiente fórmula (5) (Meena *et al.*, 2017; y Admasu *et al.*, 2022):

$$PI = \frac{(C-T)}{C} \times 100 \dots \dots \dots (5)$$

Donde:

PI= Porcentaje de inhibición de micelio fúngico.

C= Diámetro (mm) de la colonia del patógeno en el grupo de control.

T= Diámetro (mm) de la colonia del patógeno con tratamiento.

---

El nivel de micoparasitismo de *T. harzianum* sobre *F. oxysporum* se estimó en relación al porcentaje de inhibición (PI) que presentó de acuerdo a los siguientes valores: 1 - baja actividad antagonista (PI<51%), 2 - actividad antagonista moderada (PI = 51–60%), 3 - actividad antagonista alta (PI = 61–75%), 4 - actividad antagonista muy alta (PI>75%) (Karličić *et al.*, 2020; Admasu *et al.*, 2023).

## **8.2. Fase de invernadero**

### **8.2.1. Ubicación**

Para la obtención de plántulas de chile soledad, esta fase se llevó a cabo en las instalaciones del invernadero de la universidad del Papaloapan (UNPA) campus Loma Bonita, siendo las coordenadas 18°05'56.1" de latitud Norte (N) y 95°53'47.2" de longitud Oeste (W), ubicado en el municipio de Loma Bonita, Oaxaca (INEGI, 2020). Las características que presenta la estructura son: un área de 504 m<sup>2</sup>, tipo cenital de dos naves (8 m x 31.5 m c/u), construido con PTR de acero galvanizado, cal. 14 G90. Cubierto por malla anti-áfidos en los costados y en la parte superior presenta plástico al 25 % de sombra calibre 720.

### **8.2.2. Material vegetal**

Se utilizaron semillas mejoradas de chile soledad (*Capsicum annuum* L.) variedad CHISER-522, donadas por el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) del Campo Experimental las Huastecas, México.

### **8.2.3. Diseño experimental**

Para la evaluación de variables en charola, se utilizó un diseño experimental completamente al azar con 4 tratamientos, con 30 repeticiones por tratamiento, con un total de 120 unidades experimentales evaluadas. Cada tratamiento se describe en la Tabla 4.

**Tabla 4. Descripción de los tratamientos para la evaluación de las variables morfológicas.**

<b>Tratamiento</b>	<b>Descripción</b>
T	Testigo
Q	Quitosano
Th	<i>T. harzianum</i>
Th+Q	<i>T. harzianum</i> + Quitosano

Para la aplicación de cada tratamiento fue una dosis de 5 mL por unidad experimental, y se dividió en dos fases: la primera consistió en la aplicación al momento de la siembra para la germinación de la semilla de chile soledad; y la segunda aplicación, en la base del tallo para el desarrollo de las plántulas a los 7, 15, 22, 29, 36 y 43 días después de la siembra (DDS). Las concentraciones empleadas en cada tratamiento se describen en la Tabla 5.

**Tabla 5. Concentraciones de los bioinóculos empleados en cada tratamiento.**

<b>Tratamiento</b>	<b>Germinación</b>	<b>Desarrollo</b>
T	Agua corriente estéril	Agua corriente estéril
Q	3 g/L	10 g/L
Th	<i>T. harzianum</i> 1x10 <sup>10</sup> esporas/mL	<i>T. harzianum</i> 1x10 <sup>10</sup> esporas/mL
Th + Q	<i>T. harzianun</i> 1x10 <sup>10</sup> esporas/mL + 3 g/L Quitosano	<i>T. harzianun</i> 1x10 <sup>10</sup> esporas/mL + 10 g/L Quitosano

#### **8.2.4. Siembra de semillas**

Para la obtención de plántulas de chile soledad (*C. annuum*), se realizó el sembrado de las semillas el 18 de mayo de 2023 en charolas de poliestireno de alta densidad, con 200 cavidades y medidas: 66.4 cm de largo x 33.5 cm de ancho x 7.0 cm de alto. Se utilizó un total de 2 charolas y se llenaron con sustrato húmedo 30 cavidades en cada extremo de las charolas, para lo cual se depositó una semilla por cavidad, dando un total de 120 semillas sembradas (Castillo-Aguilar *et al.* 2015). El sustrato utilizado para germinación en charola fue de la

---

marca COSMOPEAT® (sustrato de esfagno grado hortícola). Una vez colocadas las semillas en cada cavidad de la charola, se agregó los bioinóculos compuestos por quitosano y *T. harzianum* a cada uno de los tratamientos. Enseguida se prosiguió con el cubrimiento de la semilla con sustrato seco con 0.5 cm de grosor, para finalmente regarlo hasta alcanzar el punto de humedad del mismo. Se regó diariamente con agua corriente con la finalidad de mantener la humedad del sustrato, así como una humedad relativa del 50-70%, hasta alcanzar la germinación total de las semillas.

#### **8.2.5. Germinación y desarrollo**

Con la finalidad de evitar el daño de las estructuras de la plántula de chile soledad durante su emergencia, se revisó las charolas en germinación entre cuarto y el quinto día. Una vez alcanzada la germinación de las semillas al día 10, para prevenir la deficiencia nutricional de cada una de las plántulas, se regó diariamente con solución Steiner (1961) al 25%, en la mañana a las 9am y en la tarde a las 5pm, hasta que su desarrollo llegó a su estadio de plántula al día 43 (Castillo- Aguilar *et al.*, 2015).

#### **8.2.6. Toma de datos**

Obtenida la germinación total de las semillas, se contabilizó los días después de la siembra (DDS). De esta manera, se realizó la toma de datos de las variables evaluadas a los 15, 22, 29, 36 y 43 DDS.

#### **8.2.7. Variables evaluadas**

Para el registro de datos se midió las siguientes variables: diámetro de tallo (cm), altura (cm), número de hojas, área foliar y brotes axilares. Para la medición del diámetro del tallo se utilizó un Vernier Analógico 6', marca Truper®, modelo: CAL-6MP. Respecto al número de hojas desarrolladas, se contabilizó cada hoja nueva desarrollada en cada plántula. Para la altura y el área foliar, se usó un flexómetro marca Truper, modelo: FH-8M.

---

Para calcular el área foliar se usó el método descrito por Swart *et al.* (2004). La medición se realizó en una hoja verdadera completamente extendida. Y se determinó la longitud en cm (L), ancho en cm (W) y área en cm<sup>2</sup> (A) en hojas individuales. Para lograr un ajuste adecuado, se empleó el modelo de regresión descrito por Swart *et al.* (2004), como se muestra en la ecuación (6):

$$A=0.61906*LW+0.2060*W^2-0.5142*W\dots\dots\dots(6)$$

Donde:

A= Área

L=Distancia desde la punta de la hoja hasta el punto de ramificación de la nervadura principal y la primera nervadura lateral.

W= Región más ancha a través de la lámina perpendicular a la longitud.

### **8.2.8. Cuantificación de nutrientes**

Para el día 44 DDS, se seleccionaron plántulas desarrolladas de cada tratamiento (4 plántulas por tratamiento) y se realizó la cuantificación de nutrientes, para lo cual, se extrajo 2 mL del extracto celular de peciolo (savia) junto con el extracto celular del tallo, con una prensa de extracción de savia (TRUPER®). Posteriormente se realizó una dilución con agua desionizada (1:99) para la cuantificación de nutrientes con ionómetros LAQUAtwin®, con los cuales se determinó la conductividad eléctrica marca HORIBA (LAQUAtwin EC11), nitratos HORIBA (LAQUAtwin NO311), potasio HORIBA (LAQUAtwin K11), pH HORIBA (LAQUAtwin Ph33) y fóstatos marca HANNA Checker® (HI706) (Cabanzo-Atilano *et al.*, 2020; Álvarez-Herrera *et al.*, 2022).

## **8.3. Fase de campo**

### **8.3.1. Ubicación**

Esta fase experimental se realizó en campo abierto en el municipio de Loma Bonita, Oaxaca, cuyas coordenadas del sitio son 18°06'16.5" de latitud Norte (N) y 95°52'45.3" de longitud Oeste (W) (INEGI, 2020).

### 8.3.2. Condiciones climáticas

Los datos climatológicos durante el experimento en campo, fueron registrados en la estación meteorológica (EMA) de la Universidad del Papaloapan, la temperatura máxima fue 38.2 °C y la temperatura mínima de 22.2 °C, la mayor precipitación se presentó en el mes de julio con 48.75 mm, y la menor precipitación en agosto con 0.4 mm, en la Figura 5 se muestran los datos respectivamente.

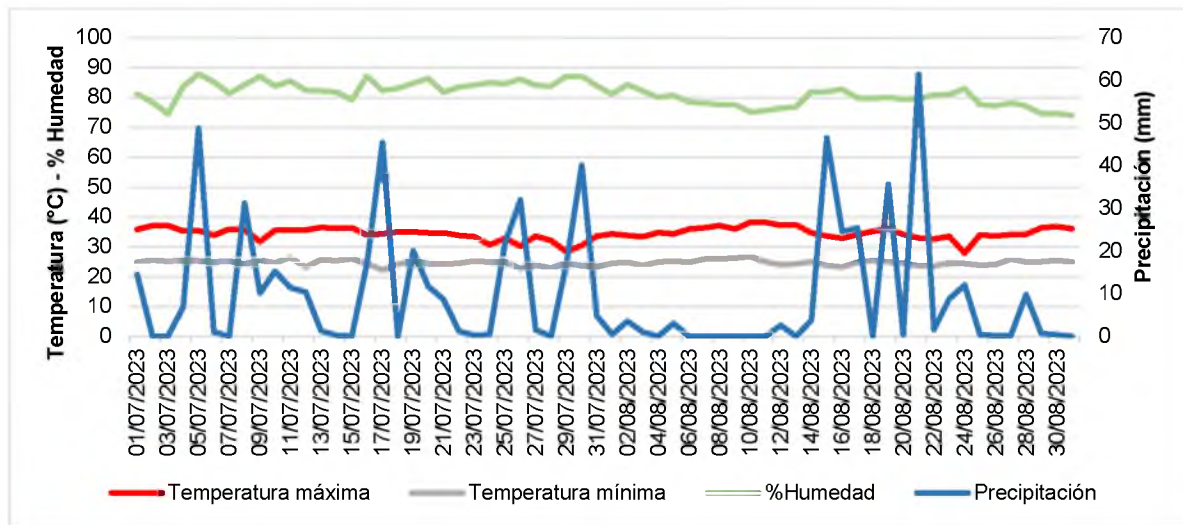


Figura 5. Condiciones climáticas de julio-agosto de 2023, durante las pruebas de patogenicidad y antagonismo realizadas en plántulas de chile soledad (*Capsicum annuum*).

### 8.3.3. Trasplante

Para las pruebas de patogenicidad de *F. oxysporum* y la evaluación del efecto antagonístico de los bioinoculantes aplicados en las plántulas de chile soledad, el día 02 de julio de 2023 se realizó el trasplante del material vegetal de 45 días después de la siembra (DDS) con 15 y 19 cm de altura aproximadamente en contenedores de poliuretano de 8 oz., con sustrato húmedo estéril marca COSMOPEAT® (sustrato de esfagno grado hortícola) (Reyes *et al.*, 2020).

### 8.3.4. Diseño experimental

Para la evaluación del efecto antagonístico de los bioinoculantes, se utilizó un diseño experimental completamente al azar con 4 tratamientos, con 30 repeticiones por

---

tratamiento, con un total de 120 unidades experimentales evaluadas. Cada tratamiento se describe en la Tabla 6.

**Tabla 6. Descripción de los tratamientos para la evaluación del efecto antagónico.**

Tratamiento	Descripción
T	Testigo
Q	Quitosano
Th	<i>T. harzianum</i>
Th+Q	<i>T. harzianum</i> + Quitosano

### **8.3.5. Efecto antagónico de los bioinoculantes en plántulas**

#### 8.3.5.1. Preparación del inóculo

Esta técnica se basó en la metodología de Gabrekiristos *et al.* (2020) con algunas modificaciones para ajustarla a nuestro estudio, por ello, después de la caracterización e identificación del hongo fitopatógeno aislado, se continuó su reproducción masiva en medio PDA (pH =  $5.6 \pm 0.20$ ), y después de 10 días de maduración a 28 °C, se probó la patogenicidad de los inóculos. Por esta razón, cuando el micelio cubrió toda la superficie de la caja Petri (90 x 15 mm), con una espátula se raspó suavemente la superficie del micelio y se le agregaron 10 mL de agua destilada estéril para retirar y suspender la mayor cantidad de conidios, este proceso se repitió 5 veces. La solución de conidios de cada caja Petri, se recolectó en un vaso de precipitados estéril de 250 ml. Posteriormente con una gasa de 3 capas de algodón estéril (Gasa Protec<sup>MR</sup> 7.5 cm x 5 cm) se filtró la solución para separar los conidios de los fragmentos de micelio inmerso. A partir del cultivo filtrado, los conidios se resuspendieron en 100 mL de agua destilada estéril y la densidad conidial final se ajustó mediante diluciones seriadas a  $1 \times 10^6$  esporas/mL con ayuda de una cámara de Neubauer (Modelo MARIENFELD, profundidad 0.100 mm, 0.0025 mm<sup>2</sup>).

#### 8.3.5.2. Inoculación de *Fusarium oxysporum* Schldl.

La inoculación del patógeno se realizó el 03 de julio de 2023, y para la inoculación

---

de cada plántula se usó el método de inyección en la corona de la raíz (Cardona-Piedrahíta y Castaño-Zapata, 2019), de la cual se adicionó 10 mL de la suspensión de esporas con ayuda de una jeringa (marca BD 10 mL) a 2 cm por debajo del tallo (Vásquez-López *et al.*, 2004) de cada unidad experimental de chile soledad.

#### 8.3.5.3. Evaluación de la Severidad

Una vez que se realizó la inoculación de *F. oxysporum*, se evaluó la patogenicidad del aislamiento en función de la severidad de los síntomas manifestados individualmente en las plántulas de chile soledad de cada uno de los tratamientos, para ello, la severidad de la enfermedad se calificó de acuerdo a la escala propuesta por Velarde-Félix *et al.* (2018), como se describe en la Tabla 7 respectivamente.

**Tabla 7. Escala de severidad para evaluar el daño en plantas de chile soledad.**

<b>Escala</b>	<b>Severidad</b>
1	Plantas sin síntomas (baja susceptibilidad).
3	Plantas sin síntomas foliares y ligera necrosis en el xilema o en la base de las plantas (susceptibilidad intermedia).
5	Amarillo claro en las hojas y necrosis oscura en el xilema o en la base de las plantas (alta susceptibilidad).
7	Planta atrofiada con fuerte coloración amarillenta en las hojas con necrosis oscura en el xilema o en la base de las plantas (susceptible intermedia).
9	Plantas muertas (muy alta susceptibilidad).

**Fuente:** Velarde-Félix *et al.* (2018).

Aunado a ello, se realizó el registro cada 5 días después de la inoculación (DDI), de modo que inició el día 03 de julio de 2023 (día 0 DDI) y finalizó el 16 de agosto de 2023 (día 45 DDI). En la Tabla 8 se describen los días de evaluación respectivamente.

**Tabla 8. Días de evaluación de la severidad presente en plantas de Chile Soledad.**

Tratamientos	Días de evaluación DDI										
T											
Q	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	
Th											
Th+Q	*03/07/23	*07/07/23	*12/07/23	*17/07/23	*22/07/23	*27/07/23	*01/08/23	*06/08/23	*11/08/23	*16/08/23	

\*Fecha del día de evaluación.

#### 8.3.5.4. Porcentaje de incidencia de la enfermedad

Esto se realizó en el día 45 DDI, observando los síntomas presentes de marchitamiento, amarillamiento y muerte en las plántulas de cada tratamiento, con relación a la escala Velarde-Félix *et al.* (2018). Para ello, la incidencia de la enfermedad (IE) se estimó utilizando la fórmula (7) (Tilahun *et al.* (2020):

$$\text{Incidencia de la enfermedad (\%)} = \frac{\text{Número de plantas infectadas}}{\text{Número total de plantas observadas}} \times 100 \dots \dots \dots (7)$$

#### 8.3.5.5. Porcentaje de severidad de la enfermedad

Con los valores de la escala de severidad de la enfermedad, se calculó el porcentaje de severidad de la enfermedad (PSE) con la siguiente fórmula (8) (Ojira y Berta, 2020):

$$\text{PSE} = \frac{\sum(\text{Número de plantas enfermas} \times \text{cada grado de la escala})}{(\text{Número total de plantas observadas})(\text{grado mayor de la escala})} \times 100 \dots \dots \dots (8)$$

#### 8.3.5.6. Re-aislamiento de la cepa

Tras finalizar la prueba de patogenicidad y antagonismo se seleccionaron las plántulas con mayor daño y siguiendo la metodología descrita anteriormente en el apartado 8.1.6.3. Aislamiento de *F. oxysporum* Schltl. a partir de tejido vegetal, donde se realizaron re-aislamientos para la verificación de los postulados de Koch (Huarhua *et al.*, 2020).

---

### **8.3.6. Procesamiento estadístico**

Los datos obtenidos se analizaron con el paquete estadístico InfoStat-Statistical Software, versión 2020 para Windows, y se empleó un análisis de varianza de clasificación simple y una prueba de comparación múltiple de medias de Tukey ( $P \leq 0,05$ ). Las gráficas se procesaron con el programa SigmaPlot, versión 12.00 para Windows.

---

## 9. RESULTADOS

### 9.1. Caracterización de quitosano

#### 9.1.1. Caracterización fisicoquímica

En la Tabla 9, se muestran los resultados de la caracterización de quitosano obtenido por hidrólisis química. El exoesqueleto de camarón se tomó como el blanco para la comparación de quitosano UNPA y quitosano Sigma Aldrich®. El contenido de minerales para el exoesqueleto de camarón fue de 24.6%, para el quitosano UNPA de 2.71% y para el quitosano Sigma Aldrich® de 4.5%, donde se aprecia que el quitosano Sigma Aldrich® presentó un mayor porcentaje de minerales respecto al quitosano UNPA. Así mismo, para el porcentaje de desmineralización, el quitosano UNPA alcanzó un valor de desmineralización del 97.28% y el Quitosano Sigma Aldrich® fue de 95.46%. En las determinaciones del contenido de proteínas, el exoesqueleto de camarón mostró un valor del 44.62 %, el quitosano UNPA fue de 2.97% y el quitosano Sigma Aldrich® de 8.92%; donde el contenido proteico más bajo corresponde a la muestra de quitosano UNPA. Para el porcentaje de desproteínización las muestras mostraron un 93.33% y 80% del quitosano UNPA y el quitosano Sigma Aldrich® respectivamente. En cuanto al contenido de humedad el porcentaje fue de 6.5% para el exoesqueleto de camarón, 11.5% para quitosano UNPA y 11.3% de quitosano Sigma Aldrich®, se observó que la comparación entre ambos quitosanos tuvo un porcentaje muy similar, sin embargo, el valor más bajo fue para el quitosano Sigma Aldrich®. Finalmente, el pH de las muestras que correspondió al exoesqueleto de camarón, quitosano UNPA y quitosano Sigma Aldrich® fue de 8.88, 3.4 y 3.0 respectivamente, donde el valor más bajo, fue para el quitosano Sigma Aldrich®, seguido del quitosano UNPA y, finalmente el exoesqueleto de camarón.

#### 9.1.2. Rendimiento global de la muestra

El rendimiento global porcentual se calculó con la fórmula anteriormente descrita, donde el rendimiento teórico fue de 100g y el rendimiento real de 25.26 g, respectivamente. Por consiguiente, el rendimiento global fue del 25.26%.

### 9.1.3. Análisis colorimétrico




En la Tabla 10 se observa las coordenadas, descripción y cartilla de color, obtenidos mediante hidrólisis química. El primero presentó un color de tonalidad “naranja suave” (#E0A86C), con valores de L\*72.9, a\*13.2 y b\*38.9. Para la muestra de quitosano UNPA se presentó una escala de “naranja grisáceo claro” (#FBF6F0), con valores L\*97.1, a\*0.5 y b\*3.5. Por otra parte, el quitosano Sigma Aldrich® obtuvo un tono “medio claro de marrón” (#AC9F8B) con valores L\*66.0, a\*1.6 y b\*11.9. De esta manera, se observa que el quitosano UNPA, alcanzó una mayor blancura en comparación al quitosano Sigma Aldrich®, parámetro aceptable que indica una mayor calidad de la muestra.

**Tabla 9. Contenido de minerales, proteína, humedad y pH en las diferentes muestras analizadas.<sup>1</sup>**

Muestra	% M	% DM	% P	% Dp	% H	pH
<b>Exoesqueleto de camarón</b>	24.6	0	44.62	0	6.5	8.88
<b>Quitosano UNPA</b>	2.71	97.28	2.97	93.33	11.5	3.4
<b>Quitosano Sigma Aldrich®</b>	4.5	95.46	8.92	80	11.3	3.0

<sup>1</sup>Promedio de tres repeticiones. M=Minerales, DM=Desmineralización, P=Proteínas, Dp=Desproteínización, H=Humedad y pH=Potencial de hidrógeno.

**Tabla 10. Análisis colorimétrico en muestras biológicas de exoesqueleto de camarón, quitosano UNPA y quitosano Sigma Aldrich®.<sup>1</sup>**

Tipo de muestra	Colorimetría			# Color	Cartilla de color
	L*	a*	b*		
Exoesqueleto camarón	72.9	13.2	38.9	#E0A86C	
Quitosano UNPA	97.1	0.5	3.5	#FBF6F0	
Quitosano Sigma Aldrich®	66.0	1.6	11.9	#AC9F8B	

L\*=Luminosidad; a\*=coordenadas rojo/verde; b\*=coordenadas amarillo/azul. <sup>1</sup>Promedio de tres repeticiones.

---

#### **9.1.4. Obtención de espectros infrarrojo por transformada de Fourier (FT-IR)**

Se realizó la comparación del espectro FT-IR del quitosano UNPA y quitosano Sigma Aldrich® con la finalidad de identificar y comparar las bandas características del polímero. En la Figura 6 se observa que para el quitosano UNPA, la banda en  $3439\text{ cm}^{-1}$  perteneciente al grupo hidroxilo (O-H) (estiramiento de OH), y la banda  $3258\text{ cm}^{-1}$  característica de la vibración de tensión del grupo amida (N-H) (estiramiento asimétrico de NH), en  $3104\text{ cm}^{-1}$  existe una banda de vibración de tensión de los grupos hidroxilo (OH) del anillo de glucosa. En  $2933\text{ cm}^{-1}$  se contempla una banda característica de vibración de tensión simétrica y asimétrica de los grupos CH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>, CH. En  $1653\text{ cm}^{-1}$  aparece una banda de flexión perteneciente al grupo carbonilo (C=O) (estiramiento de CO, amida I). En  $1620\text{ cm}^{-1}$  una banda ancha de flexión perteneciente al grupo N-H, en la cual se evidencia el grupo NH<sub>2</sub> (Flexión NH<sub>2</sub>). En  $1553\text{ cm}^{-1}$  se percibe una banda ancha característica de la vibración de tensión del grupo (C-N) (Flexión de NH, amida II). En las bandas  $1378$  (estiramiento de CN, amida III), y en  $1310\text{ cm}^{-1}$  se aprecia la deformación característica de los grupos de CH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>, CH. A  $1068\text{ cm}^{-1}$  ocurre una banda característica de la vibración de tensión asimétrica del grupo Piranósico y, grupo C-O-C a  $1009\text{ cm}^{-1}$ . Como resultado, las bandas presentes confirman la identidad de los grupos funcionales que conforman la estructura del quitosano UNPA en contraste con el quitosano Sigma Aldrich®.

#### **9.2. Caracterización *Fusarium oxysporum* Schltdl.**

##### **9.2.1. Descripción macroscópica**

En la Figura 7 se observan los caracteres morfológicos del aislado de *F. oxysporum* en cajas Petri con medio PDA (pH =  $5.6 \pm 0.20$ ) a temperatura  $28\text{ }^{\circ}\text{C}$ , donde el crecimiento del micelio fue de tipo aéreo algodonoso, inicialmente de color blanquecino y conforme creció, a los 10 días de incubación, se tornó de una coloración rosácea-morada. En el reverso de la caja Petri, la colonia presentó un color morado más oscuro en el centro, con un tono blanquecino en el borde externo. La descripción fue de acuerdo a los criterios de Ferniah *et al.* (2014), Endriyas *et al.* (2020), Tilahun *et al.* (2020) y Hernández-Hernández *et al.* (2022).

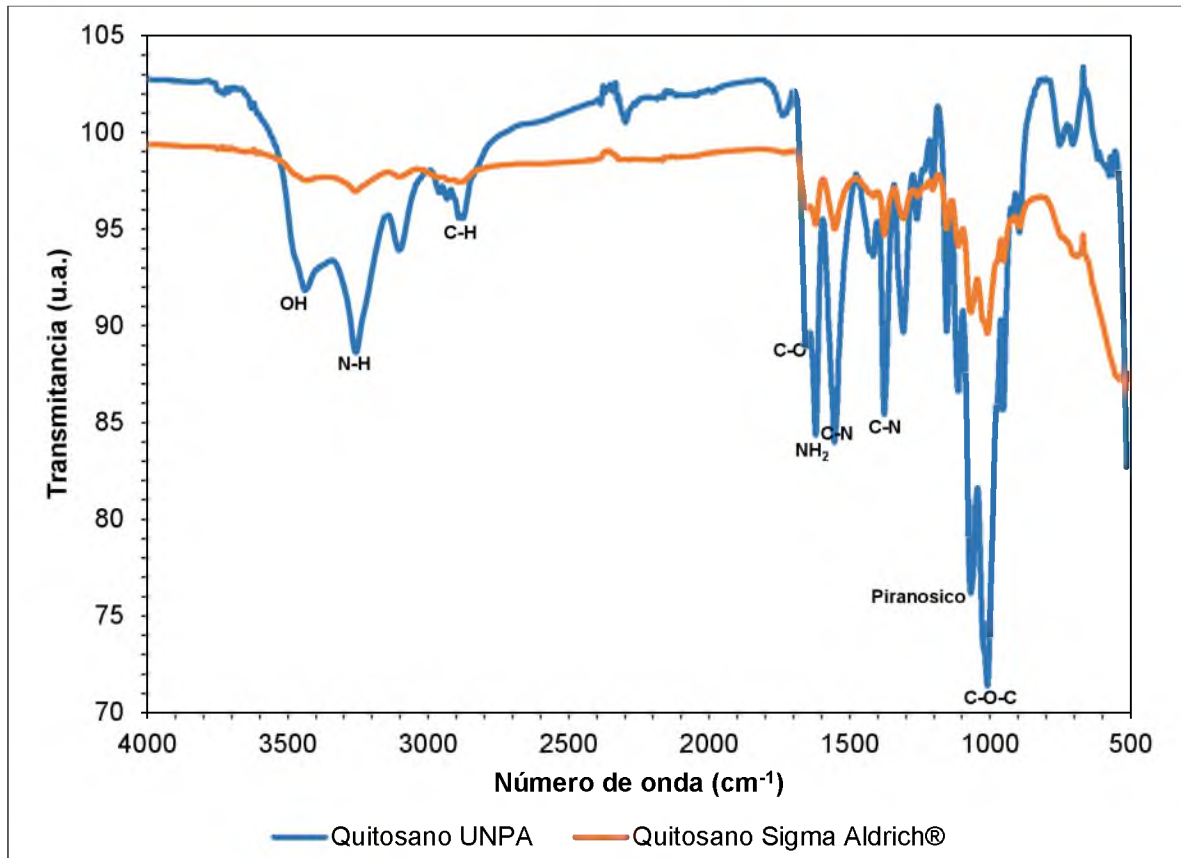


Figura 6. Espectros FTIR de quitosano UNPA (—) obtenido a partir del exoesqueleto de camarón y quitosano Sigma Aldrich® comercial (—).

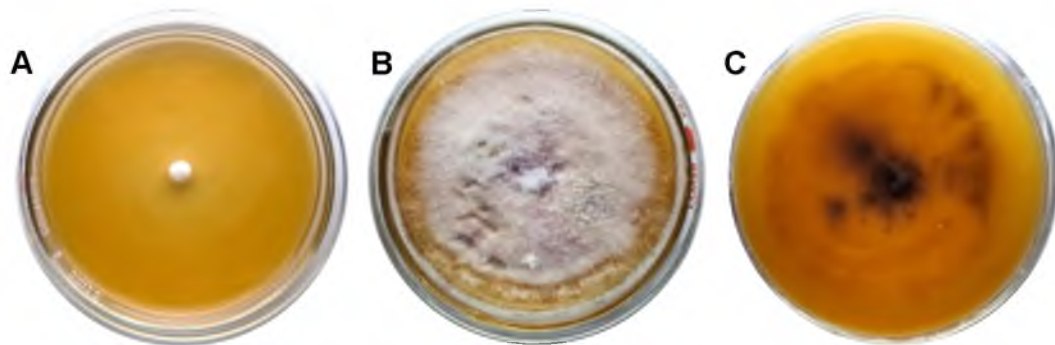


Figura 7. Aspecto macroscópico de *Fusarium oxysporum* en medio PDA. (A y B) superficie y (C) reverso de la colonia. (A) Crecimiento inicial del micelio aéreo color blanquecino algodonoso; (B) micelio con coloración rosácea-morada después de 10 días de incubación; (C) en el centro del micelio existe coloración morado oscuro y blanquecino en los bordes.

---

### 9.2.2. Descripción morfológica

Las características microscópicas de *F. oxysporum* mostraron fiálides cortas con crecimiento de conidios en cabezas falsas. Los macroconidios fueron fusiformes rectos y septados. Los microconidios eran abundantes, elipoides sin tabiques. Las clamidosporas se formaban de forma terminal o intercalar, simple o en pares, como se muestra en la Figura 8. Resultados similares fueron informados por Nelson *et al.* (1983), Leslie y Summerell (2006) y Campbell y Johnson (2013).

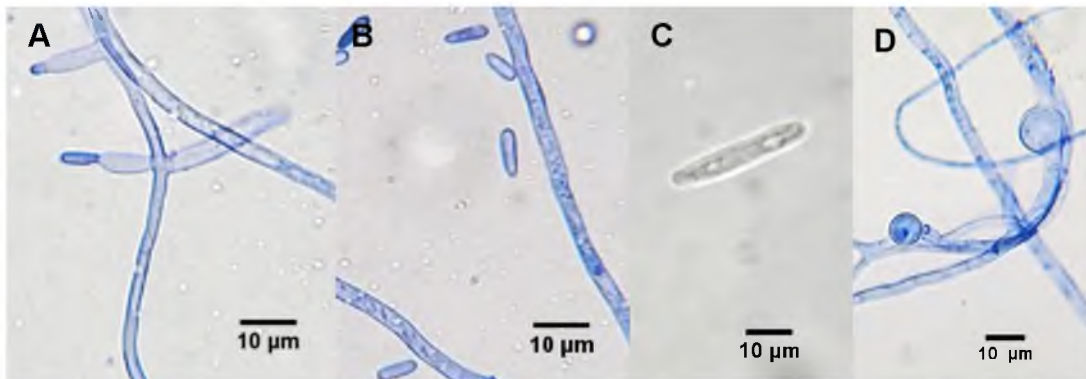


Figura 8. Características microscópicas de *Fusarium oxysporum* en medio PDA. (A) Fiálides cortas con cabezas falsas; (B) microconidios; (C) macronocidios; y (D) clamidosporas glosobas. Aumento 100X. Tinción azul de metileno 0.1% (p/v).

### 9.2.3. Identificación molecular

La identificación molecular del aislado monospórico realizada por Fertilidad de Suelos S. de R.L. (FERTILAB), refirió que el análisis de secuenciación del gen factor de elongación (EF1) dio como resultado a la especie *Fusarium oxysporum* Schltdl.

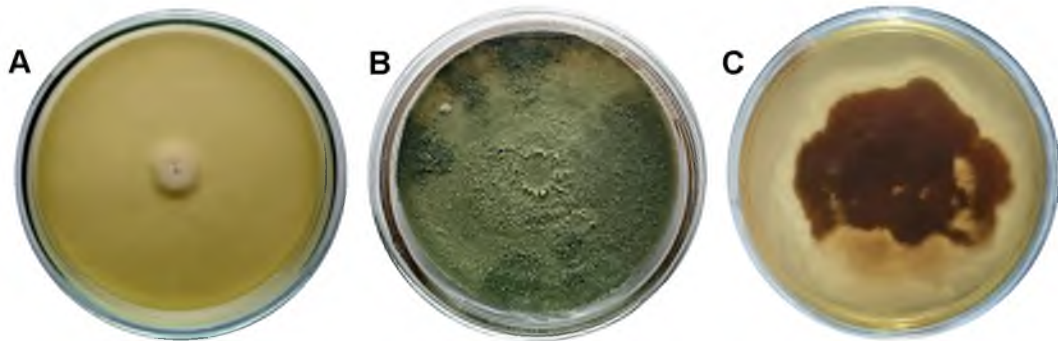
## 9.3. Caracterización *Thichoderma harzianum* Rifai

### 9.3.1. Descripción macroscópica

En la Figura 9 se observan las colonias de *T. harzianum* en cajas Petri con medio PDA (pH = 5.6 ± 0.20) a temperatura 28 °C, en sus etapas tempranas el micelio presentó una coloración blanquecina algodonosa y eventualmente a los 10 días de

---

incubación desarrolló un color verdoso con anillos concéntricos. En el reverso de la cepa se tornó de un verde más oscuro con los bordes blanquecinos. Todas las características descritas anteriormente se corroboraron con las descripciones realizadas por Jiang *et al.* (2016); Asis *et al.* (2021); Matas-Baca *et al.* (2023).



**Figura 9.** Aspecto macroscópico de *Trichoderma harzianum* en medio PDA. (A y B) Superficie y (C) reverso de la colonia. (A) micelio blanquecino en sus primeros estadios; (B) eventualmente después de la esporulación se tornó a un color verde oscuro después de 10 días de incubación; y (C) en el centro se torna de color verde oscuro con bordes blanquecinos.

### 9.3.2. Descripción morfológica

En las estructuras microscópicas observables de *T. harzianum*, se muestra la presencia de conidióforos color verde con diversas ramificaciones en forma piramidal, donde las ramas más cercanas al eje principal son más largas. Es visible la presencia de fiálides con formas alargadas y delgadas, solitarias a lo largo del eje, en forma asimétrica. Así mismo, hay verticilos terminales con conidios color verde globosos y sus clamidosporas marrones subglobosas, como se aprecia en la Figura 10. Datos corroborados en Bissett (1984, 1991a, b); Hoog *et al.* (2000); Wantanabe (2002); Romero-Arenas *et al.* (2009); Chaverri *et al.* (2015).

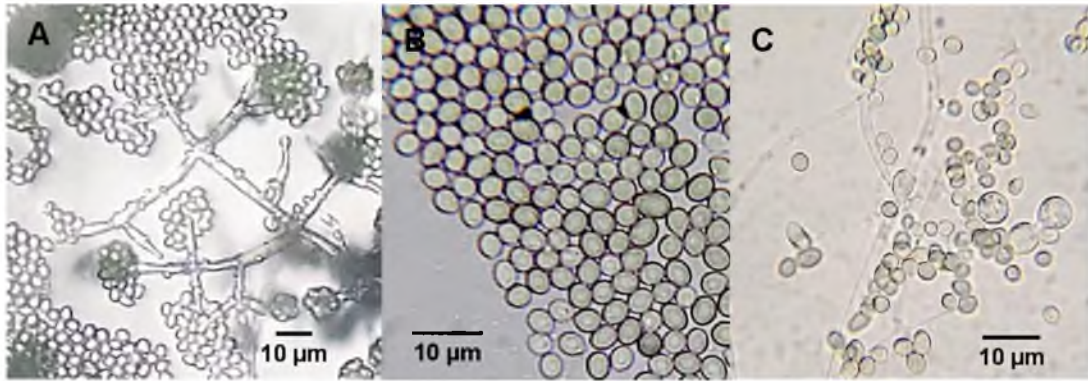


Figura 10. Características microscópicas de *Trichoderma harzianum*. (A) Conidióforos y presencia de fiálides alargadas y delgadas; (B) conidios globosos; y (C) clamidosporas marrones subglobosas. Aumento 40X (A); 100X (B, C).

### 9.3.3. Tasa de desarrollo de *Trichoderma harzianum*

De acuerdo a los datos obtenidos, la tasa de desarrollo de la cepa *T. harzianum* (Th), no presentó diferencias significativas entre repeticiones después de 5 días de incubación a 28 °C, las cuales mostraron valores en (Th1)  $14.38 \pm 0.02$  mm/día, (Th2)  $14.39 \pm 0.01$  mm/día, (Th3)  $14.37 \pm 0.01$  mm/día y, (Th4)  $14.36 \pm 0.00$  mm/día. En la Figura 11 se muestran las repeticiones del ensayo realizado.

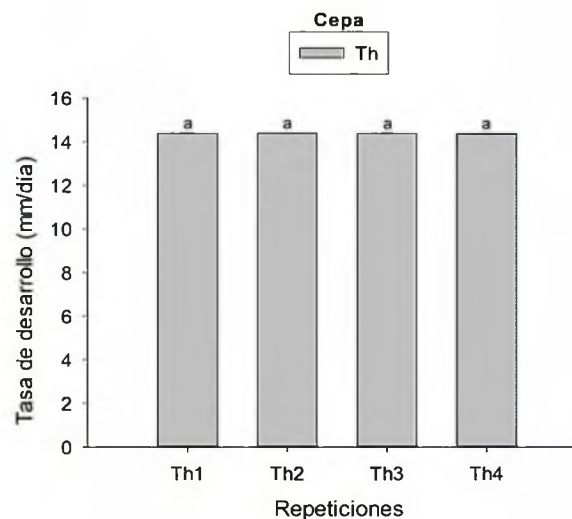
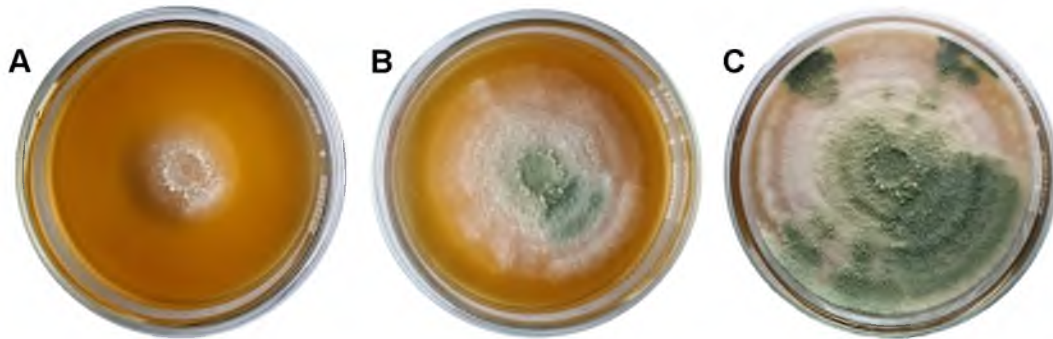


Figura 11. Tasa de desarrollo de la cepa *Trichoderma harzianum* (Th) en agar PDA (pH =  $5.6 \pm 0.20$ ) incubadas a 28 °C, con 5 días de incubación. Columnas con una letra en común no son significativamente diferentes (Tukey,  $P < 0.05$ ).

---

Así mismo, la evaluación de la tasa global de desarrollo presentó un valor promedio de  $14.37 \pm 0.01$  mm/día, que representa un 15.96% de la longitud de crecimiento diario. Por ello, la cepa colonizó toda el área de la caja Petri (90 X 15 mm) con agar PDA (pH =  $5.6 \pm 0.20$ ) en un lapso de 5 a 6 días, como se exhibe en la Figura 12.



**Figura 12.** Longitud de crecimiento de *Trichoderma harzianum* en el día 1 (A), día 3 (B) y día 5 (C) en caja Petri con medio PDA, donde ocurrió la colonización de toda el área de la misma.

#### **9.3.4. Reproducción en medio líquido**

En la Figura 13 se muestra la reproducción de la cepa fúngica de *T. harzianum* en caldo selectivo E de *Trichoderma* (TME), la cual mostró un crecimiento activo, manteniendo la misma tasa de crecimiento observada en colonias sembradas en cajas Petri, donde la colonización de cada medio líquido se atestó de micelio característico ya descrito, en cada contenedor inoculado. Por otro lado, se observó la formación de una bifase en el medio de crecimiento V8, donde la parte superior se encontró el micelio fúngico con crecimiento rápido y, en la parte inferior el contenido de esporas con coloración verde marrón.

#### **9.3.5. Cuantificación de esporas**

Una vez completado el periodo de incubación de 30 días de la cepa de *T. harzianum* en medio V8, la cuantificación por triplicado de esporas a través de la cámara de Neubauer (Modelo: MARIENFELD, profundidad 0.100 mm,  $0.0025$  mm<sup>2</sup>), mostró una concentración de  $1 \times 10^{10}$  esporas/mL.

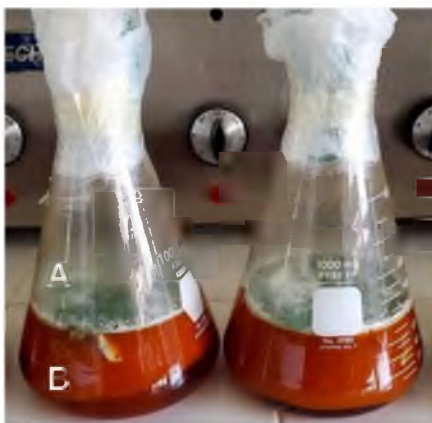


Figura 13. Medio V8 con crecimiento activo de *Trichoderma harzianum*. Bifase del medio, (A) parte superior, micelio activo; y (B) parte inferior, el contenido de esporas.

### 9.3.6. Prueba de confrontación de cultivo dual *in vitro* de *Trichoderma harzianum* Rifai contra *Fusarium oxysporum* Schltdl.

Los resultados en la prueba de confrontación *in vitro* entre la cepa de *T. harzianum* (Th) y *F. oxysporum* (Fo), mostró en cada ensayo diferencias significativas en el crecimiento micelial de los aislados de (Th), así como una reducción significativa ( $P < 0.05$ ) en el crecimiento micelial de (Fo) después de 10 días de incubación a 28 °C, con valores promedio de (Th)  $82.56 \pm 0.08$  mm y (Fo)  $14.78 \pm 0.02$  mm como se aprecia en la Figura 14. Además, la confrontación formó una zona de inhibición en el punto de contacto como se distingue en la Figura 15. De esta manera, alcanzó un tipo de antagonismo en la escala de Bell *et al.* (1982) de clase 2, donde el micelio de *T. harzianum* sobrecreció las dos terceras partes de la superficie del medio.

Además, el efecto de micoparasitismo de *T. harzianum* sobre *F. oxysporum* en la escala de Karličić *et al.*, (2021) y Admasu *et al.*, (2023), alcanzó un porcentaje de inhibición total del 75.93%, con un valor calculado de 4 dentro de la clasificación, el cual indica que presenta una actividad antagónica muy alta. En la Tabla 11 se muestra el tipo de antagonismo, y micoparasitismo que presentó cada uno de los ensayos realizados.

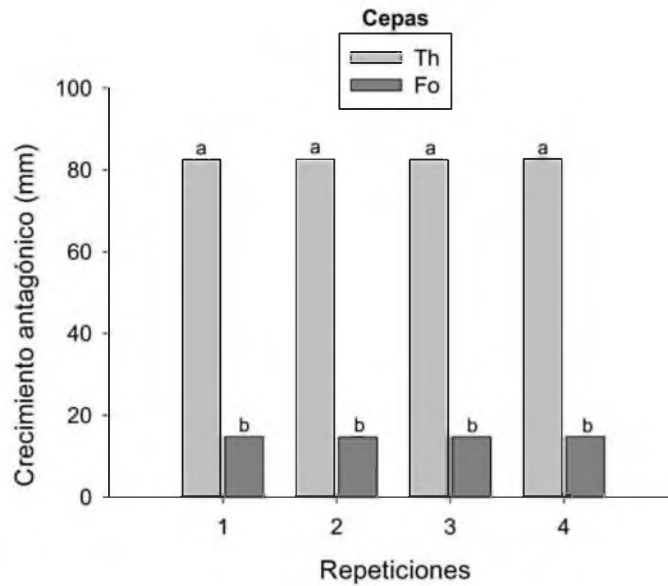


Figura 14. Crecimiento micelial (mm) en la prueba dual *in vitro* de *Trichoderma harzianum* (Th) y *Fusarium oxysporum* (Fo) en agar PDA (pH = 5.6 ± 0.20) a 28 °C, con 10 días de incubación. Columnas con una letra en común no son significativamente diferentes (Tukey, P<0.05).

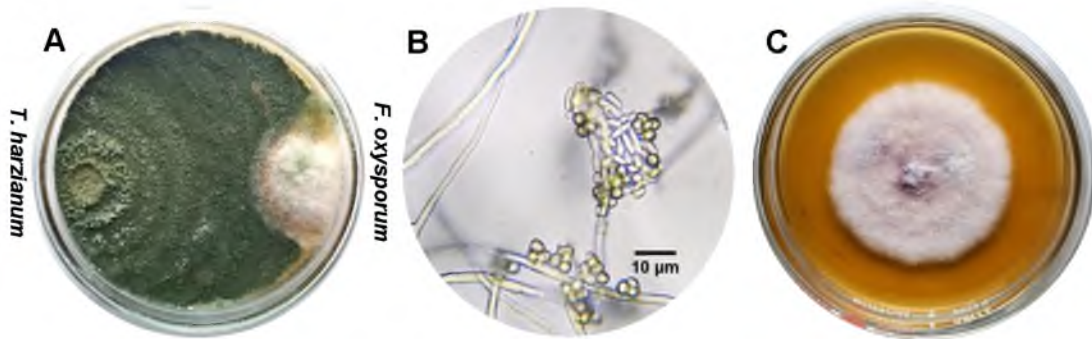


Figura 15. Confrontación de cultivo dual *in vitro* de *Trichoderma harzianum* frente a *Fusarium oxysporum* en medio PDA con 10 días de incubación. (A) Se observa una clase 2 en la escala de Bell *et al.* (1982); (B) micoparasitismo de *Trichoderma harzianum* sobre las hifas y conidios de *Fusarium oxysporum*, aumento de 100X; (C) cepa control de *Fusarium oxysporum*.

**Tabla 11. Capacidad antagonística de *Trichoderma harzianum* (Th) sobre *Fusarium oxysporum* (Fo) en medio PDA.**

Ensayo	Confrontación	DPC	TA	PI	MP
1	Th - Fo	7	2	76.16%	4
2	Th - Fo	8	2	75.66%	4
3	Th - Fo	8	2	75.70%	4
4	Th - Fo	7	2	76.21%	4

DPC=Día del primer contacto entre hifas. TA=Tipo de antagonismo. PI= Porcentaje de inhibición. MP=Micoparasitismo. Fuente: elaboración propia.

## 9.4. Variables de crecimiento

### 9.4.1. Diámetro del tallo

En la Figura 16 se muestra los resultados del diámetro del tallo en plántulas, muestreadas a los 15, 22, 29, 36 y 43 días después de la siembra (DDS). Por consiguiente, a los 15 días después de la siembra (DDS), no se presentaron diferencias significativas entre tratamientos, donde Testigo (T) presentó un valor de  $0.74 \pm 0.01$  mm, Quitosano (Q)  $0.69 \pm 0.01$  mm, *T. harzianum* (Th)  $0.73 \pm 0.01$  mm y, la combinación de *T. harzianum*+Quitosano (Th+Q)  $0.73 \pm 0.02$  mm ( $P < 0.05$ ). Hacia el día 22 DDS, existió diferencias significativas entre tratamientos, donde (T) con  $0.93 \pm 0.03$  mm y (Q)  $0.97 \pm 0.04$  mm no presentaron diferencias entre ambos tratamientos; sin embargo, (T) sí hubo diferencias respecto a (Th), el cual alcanzó un valor de  $1.06 \pm 0.03$  mm. Así mismo, la combinación de (Th+Q)  $1.22 \pm 0.02$  mm, sí presentó diferencias significativas respecto a los demás tratamientos, el cual alcanzó el mayor diámetro de todos ( $P < 0.05$ ). Para el día 29 DDS, entre los tratamientos (T)  $1.49 \pm 0.03$  mm y (Th+Q)  $1.48 \pm 0.04$  mm no presentaron diferencias significativas, no obstante, los tratamientos (Q)  $1.33 \pm 0.03$  mm y (Th)  $1.31 \pm 0.02$  mm si presentaron diferencias respecto a los dos anteriores, siendo el (T) el que presentó el mayor diámetro ( $P < 0.05$ ). Al día 36 DDS, las diferencias significativas fueron observables entre los tratamientos (Th)  $1.49 \pm 0.03$  mm y (Th+Q)  $1.70 \pm 0.03$  mm, donde el efecto de la aplicación de ambos biofertilizantes tuvo el mayor valor para el diámetro en las plántulas de Chile soledad. Referente a (Q)  $1.58 \pm 0.03$  mm y (T)  $1.65 \pm 0.03$  mm, no

---

presentaron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ). Así mismo, se observaron diferencias significativas entre los tratamientos (Th)  $1.49 \pm 0.03$  mm y (Th+Q)  $1.70 \pm 0.03$  mm, donde el mayor valor de diámetro fue para la combinación de ambos bioinoculantes. Respecto a (Q)  $1.58 \pm 0.03$  mm y (T)  $1.65 \pm 0.03$  mm, no presentaron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ). Finalmente, en el día 43 DDS, el tratamiento (T)  $1.85 \pm 0.04$  mm y (Th)  $1.82 \pm 0.03$  mm, no existió diferencias significativas, aunado a ello, estos dos tratamientos (T y Th) presentaron diferencias en relación al tratamiento con (Q), cuyo valor fue de  $2.18 \pm 0.04$  mm. En contraste con los demás tratamientos, el combinado (Th+Q)  $2.41 \pm 0.04$  mm presentó diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) y, fue el mejor valor para el tamaño de diámetro en plántulas de chile soledad. Por lo tanto, cabe señalar que el efecto de la aplicación de bioinoculantes como Th y Q, afectó significativamente el diámetro en plántulas de chile soledad.

#### **9.4.2. Altura de plántulas**

En la Figura 16 se observan los resultados obtenidos de la altura de las plántulas a los 15, 22, 29, 36 y 43 DDS. Y a los 15 DDS, existió diferencias significativas entre tratamientos, donde (T) alcanzó el menor valor  $2.95 \pm 0.08$  cm; seguido de (Th)  $3.43 \pm 0.10$  cm; (Th+Q)  $3.52 \pm 0.13$  cm; y (Q)  $3.88 \pm 0.13$  cm, siendo el que alcanzó el mayor valor ( $P < 0.05$ ). En el día 22 DDS, el tratamiento (Th+Q) tuvo el menor valor  $4.63 \pm 0.12$  cm, en comparación a los otros tratamientos, cuyos valores para (T)  $5.06 \pm 0.15$  cm y, (Th)  $5.27 \pm 0.13$  cm fueron mayores, los cuales no presentaron diferencias significativas. En el caso de (Q), fue el tratamiento que obtuvo el mejor valor  $6.36 \pm 0.15$  cm, presentando diferencias significativas entre los demás tratamientos ( $P < 0.05$ ). Para el día 29 DDS, el tratamiento (T) presentó el menor valor  $6.30 \pm 0.13$  cm. Para el caso de (Th) valores de  $7.25 \pm 0.18$  cm y (Th+Q)  $7.32 \pm 0.16$  cm, los cuales no presentaron diferencias significativas. El tratamiento con (Q), fue el que presentó el valor más alto  $8.88 \pm 0.18$  cm, siendo el que presentó diferencias significativas entre tratamientos ( $P < 0.05$ ). En cuanto al día 36 DDS, (T) obtuvo el menor valor  $10.81 \pm 0.28$  cm; consecutivo (Th)  $11.53 \pm 0.46$  cm; (Th+Q)  $12.42 \pm 0.32$  cm; y (Q)  $14.50 \pm 0.35$  cm, siendo este el

tratamiento con el valor más alto, presentando diferencias significativas ( $P < 0.05$ ), respecto a los otros tratamientos. Por último, en el día 43 DDS, se presentó la misma tasa de crecimiento inicial respecto a la altura, en el que se presentó diferencias significativas entre tratamientos ( $P < 0.05$ ), donde (T) alcanzó el menor valor  $15.34 \pm 0.54$  cm; seguido de (Th)  $16.50 \pm 0.64$  cm; (Th+Q)  $18.04 \pm 0.51$  cm; y (Q)  $19.94 \pm 0.45$  cm, siendo el que alcanzó el mayor valor en comparabilidad a los demás tratamientos.

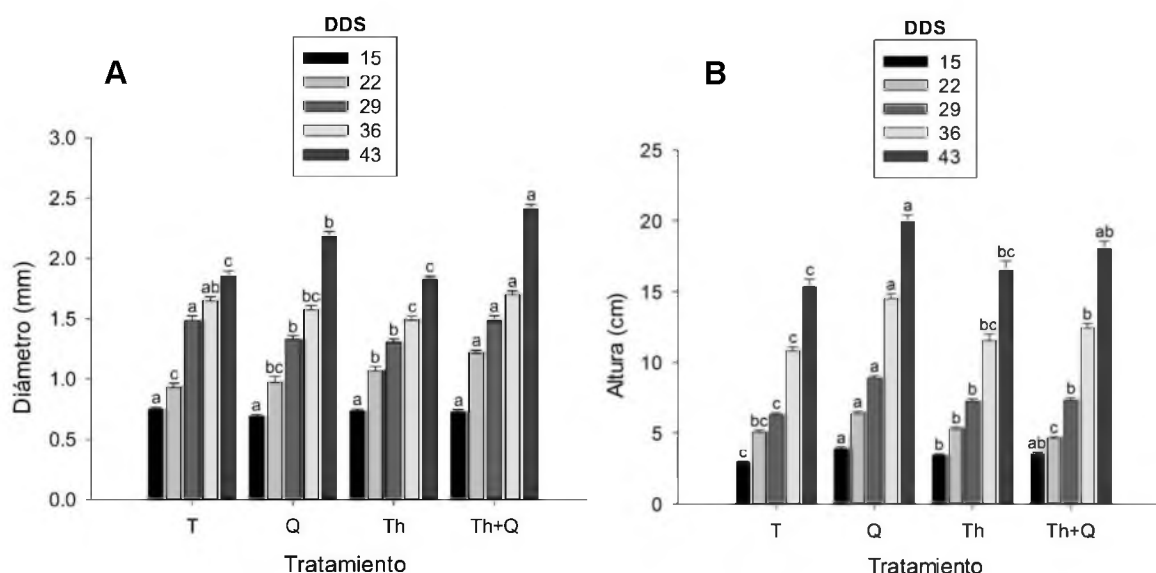


Figura 16. Diámetro del tallo (A) y altura de plántulas (B), en chile soledad (*Capsicum annuum*). Evaluadas a los 15, 22, 29, 36 y 43 días después de la siembra (DDS), con cuatro tratamientos, donde: T=Testigo, Q=Quitosano, Th=*Trichoderma harzianum* y Th+Q=*Trichoderma harzianum* + Quitosano. Columnas con una letra en común no son significativamente diferentes (Tukey,  $P < 0.05$ ).

#### 9.4.3. Número de hojas

En la Figura 17 se presenta el efecto de la aplicación de bioinoculantes en plántulas de chile soledad respecto al número de hojas desarrolladas a los 15, 22, 29, 36 y 43 DDS. Por tanto, para el día 15 DDS, el tratamiento (Th) con  $0.33 \pm 0.09$ , presentó diferencias significativas ( $P < 0.05$ ), con el valor más bajo respecto a los otros tratamientos como (Th+Q)  $0.90 \pm 0.11$ ; (T)  $1.13 \pm 0.12$ ; y (Q) con la cifra más alta de  $1.26 \pm 0.13$ , los cuales no presentaron diferencias significativas. En el

---

día, 22 DDS, las diferencias significativas entre tratamientos fueron entre (Th) con el valor más bajo  $0.7 \pm 0.10$  y, (Q) con el valor más alto  $1.2 \pm 0.12$ . Entre los tratamientos (T)  $0.9 \pm 0.10$ , juntamente con (Th+Q)  $1.03 \pm 0.11$ , no se halló diferencia significativa. A los 29 DDS, los tratamientos (Th)  $0.83 \pm 0.08$ ; (Q)  $1.07 \pm 0.10$ ; (Th+Q)  $1.07 \pm 0.10$ ; y (T)  $1.10 \pm 0.10$ , presentaron valores muy semejantes y no se encontraron diferencias significativas, sin embargo, (T) numéricamente tuvo el valor más alto. En el día 36 DDS, no hubo diferencias significativas entre tratamientos, cuyos valores numéricos son menores en (Q)  $1.27 \pm 0.10$ ; seguido de (Th)  $1.30 \pm 0.10$ ; (Th+Q)  $1.50 \pm 0.12$ ; y finalmente (T)  $1.70 \pm 0.16$ , el cual obtuvo el valor más alto. Por último, al día 43 DDS, el tratamiento con el menor número de hojas fue para (Th+Q)  $1.63 \pm 0.08$ . Por consiguiente, el tratamiento (T), junto con (Th), presentaron valores similares  $1.83 \pm 0.06$  y  $1.83 \pm 0.08$ , respectivamente. El tratamiento (Q)  $1.90 \pm 0.06$ , fue el que tuvo el mejor valor numérico de todos. No se encontró diferencia significativa entre tratamientos ( $P < 0.05$ ).

#### **9.4.4. Área foliar**

Para la toma de datos de esta variable (área foliar), se realizó a los 22 DDS, debido al desarrollo de las hojas verdaderas de cada plántula de chile soledad. Por ello, en la Figura 17 se observa que el área foliar a los 22 DDS, no existió diferencias significativas entre tratamientos (T) y (Th) con valores de  $2.15 \pm 0.09$  cm y  $2.01 \pm 0.12$  cm, respectivamente. Al igual que los tratamientos (Q)  $2.90 \pm 0.14$  cm y (Th+Q)  $3.14 \pm 0.10$  cm. Sin embargo, la mayor área foliar obtenida fue para la combinación de (Th+Q). Para el día 29 DDS, las diferencias significativas presentes fueron para (Th+Q) con  $4.08 \pm 0.25$  cm, el cual alcanzó el valor más alto y, (Th)  $3.20 \pm 0.17$  cm con el valor más bajo entre tratamientos. Respecto a los tratamientos (T)  $3.74 \pm 0.17$  cm, y (Q)  $3.76 \pm 0.16$  cm, no presentaron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ). Al día 36 DDS, se presentó diferencias significativas entre el tratamiento (Th)  $5.67 \pm 0.18$  cm y, (Q)  $7.02 \pm 0.27$  cm, donde se observa que este tratamiento tuvo el mayor valor. Sin embargo, para los tratamientos (Th+Q)  $6.16 \pm 0.24$  cm y, (T)  $6.41 \pm 0.34$  cm, no existió diferencias significativas,

observándose que la aplicación de la combinación de biofertilizantes inhibió el crecimiento foliar. Ahora, para el día 43 DDS, las diferencias significativas entre tratamientos fueron muy marcadas, puesto que el tratamiento (Th) presento el menor valor con  $5.64 \pm 0.24$  cm; enseguida (T)  $6.32 \pm 0.25$ ; posterior (Th+Q)  $7.5 \pm 0.23$ ; y finalmente el mejor valor correspondió a (Q)  $8.61 \pm 0.26$ , observándose claramente que quitosano tiene un efecto positivo en el desarrollo foliar en plántulas de chile soledad.

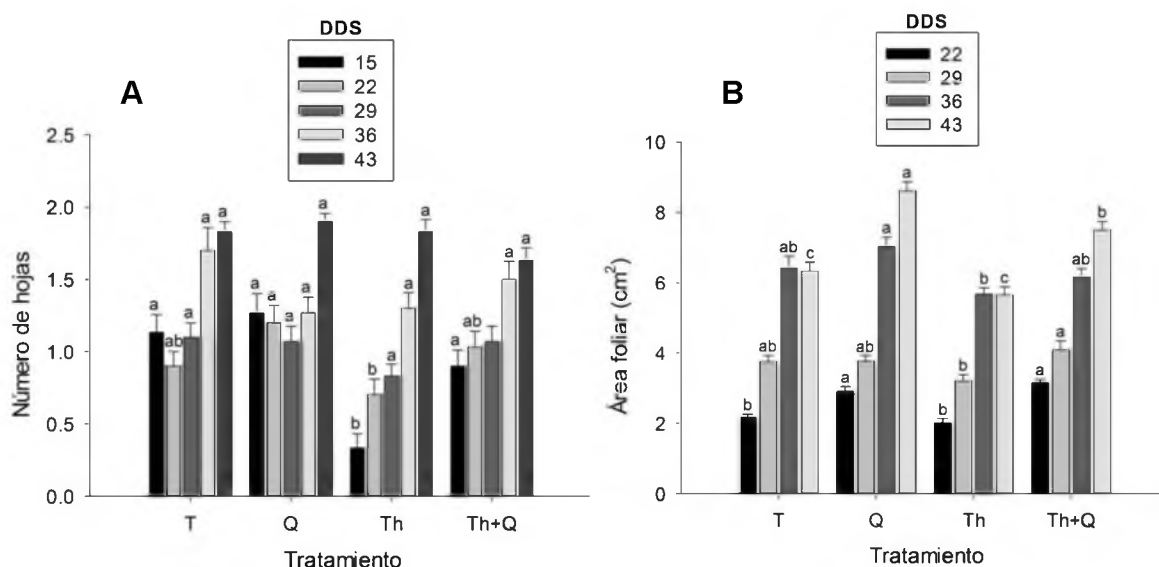
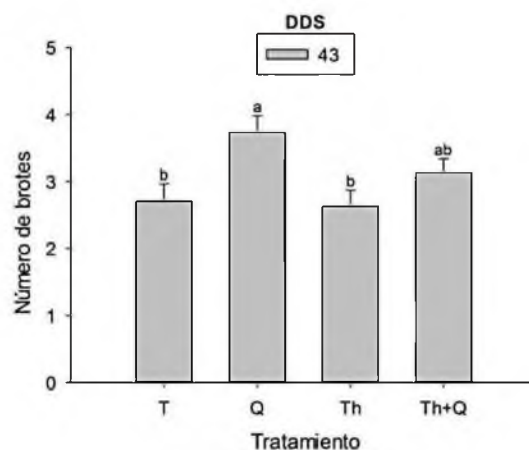


Figura 17. Número de hojas (A) y área foliar (B), en plántulas de chile soledad (*Capsicum annuum*). Evaluadas a los 15, 22, 29, 36 y 43 días después de la siembra (DDS), con cuatro tratamientos, donde: T=Testigo, Q=Quitosano, Th=*Trichoderma harzianum* y Th+Q=*Trichoderma harzianum* + Quitosano. Columnas con una letra en común no son significativamente diferentes (Tukey,  $P < 0.05$ ).

#### 9.4.5. Número de brotes axilares

El desarrollo de brotes axilares en plántulas de chile soledad, se inició a los 36 DDS, por lo tanto, la toma de datos de esta variable se inició a los 43 DDS, y en la Figura 18 se aprecia que los tratamientos (Th)  $2.63 \pm 0.24$  cm, en conjunto con (T)  $2.70 \pm 0.26$  cm y, (Th+Q)  $3.13 \pm 0.2$  cm, presentaron diferencias significativas en contraste con el tratamiento (Q)  $3.73 \pm 0.25$  cm, siendo este último el que mejoró el desarrollo de brotes axilares en plántulas de chile soledad.



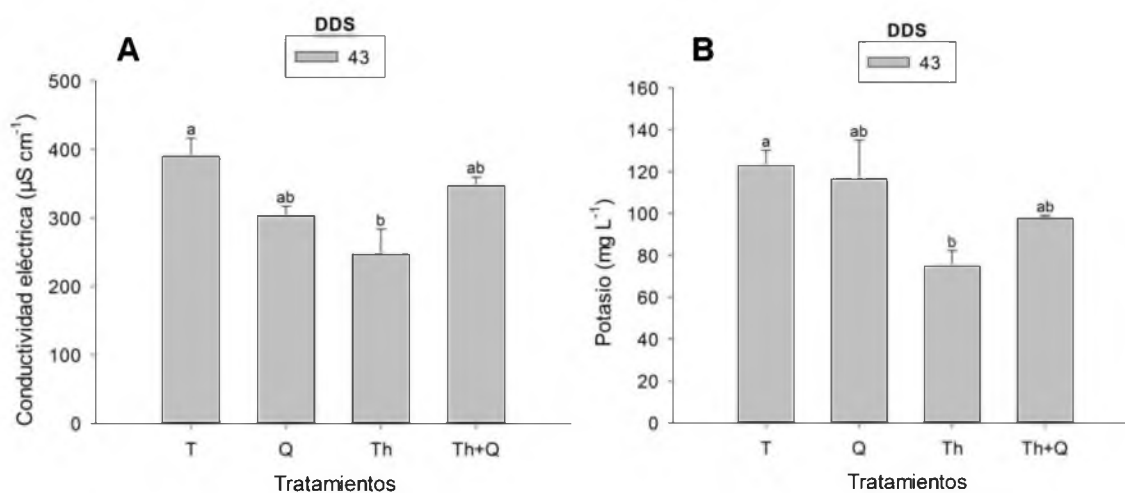
**Figura 18.** Número de brotes axilares en plántulas de chile soledad (*Capsicum annuum*). Evaluadas a los 43 días después de la siembra (DDS), con cuatro tratamientos, donde: T=Testigo, Q=Quitosano, Th=*Trichoderma harzianum* y Th+Q=*Trichoderma harzianum* + Quitosano. Columnas con una letra en común no son significativamente diferentes (Tukey,  $P<0.05$ ).

### 9.5. Cuantificación de nutrientes

La cuantificación de nutrientes presentes en la savia de peciolo y tallos, permitió observar la situación nutricional que se encontró en cada plántula en cada tratamiento. Además, nos propició establecer la relación existente de la aplicación de Quitosano (Q), *T. harzianum* (Th) y la combinación de *T. harzianum*+Quitosano (Th+Q) sobre las variables de conductividad eléctrica ( $\mu\text{s cm}^{-1}$ ), Potasio ( $\text{mg L}^{-1}$ ), Nitrato ( $\text{mg L}^{-1}$ ), Fosfato ( $\text{mg L}^{-1}$ ) y potencial de hidrógeno (pH), a los 43 días después de la siembra (DDS).

Por lo tanto, como se muestra en la Figura 19, la conductividad eléctrica ( $\mu\text{s cm}^{-1}$ ), existió diferencias significativas entre tratamientos, donde (Th)  $246.8 \pm 36.97 \mu\text{s cm}^{-1}$  fue el tratamiento que alcanzó el menor valor, con respecto a los demás tratamientos como (Q)  $303.2 \pm 13.98 \mu\text{s cm}^{-1}$ , (Th+Q)  $346.6 \pm 13.28 \mu\text{s cm}^{-1}$  y (T)  $389.6 \pm 26.88 \mu\text{s cm}^{-1}$ , que no presentaron diferencias significativas respectivamente ( $P<0.05$ ). En relación a los valores de Potasio ( $\text{mg L}^{-1}$ ), de manera similar se encontraron diferencias significativas, y se determinó que el valor más bajo fue para (Th)  $74.8 \pm 7.54 (\text{mg L}^{-1})$ , sin embargo para los demás

tratamientos (Q)  $116.6 \pm 18.42 \text{ mg L}^{-1}$ , (Th+Q)  $97.6 \pm 1.50 \text{ mg L}^{-1}$ , (T)  $122.8 \pm 7.47 \text{ mg L}^{-1}$  no se encontraron diferencias significativas. Respecto al contenido de nitratos como se señala en la Figura 20, se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos, donde (Q)  $53.4 \pm 2.69 \text{ mg L}^{-1}$  y (Th+Q)  $70.8 \pm 5.00 \text{ mg L}^{-1}$ , presentaron los valores más bajos, en contraste con (Th)  $95.8 \pm 5.00 \text{ mg L}^{-1}$  y (T)  $102 \pm 7.2 \text{ mg L}^{-1}$  que presentaron valores más altos.



**Figura 19. Conductividad eléctrica (A) y potasio (B), presente en savia de peciolo y tallos en plántulas de chile soledad (*Capsicum annuum*). Evaluadas a los 44 días después de la siembra (DDS), con cuatro tratamientos, donde: T=Testigo, Q=Quitosano, Th=*Trichoderma harzianum* y Th+Q=*Trichoderma harzianum* + Quitosano. Columnas con una letra en común no son significativamente diferentes (Tukey,  $P < 0.05$ ).**

A lo que respecta la concentración de Fósforo ( $\text{mg L}^{-1}$ ), nuevamente se encontraron diferencias significativas donde los tratamientos (T)  $1016 \pm 28.56 \text{ mg L}^{-1}$  y (Th)  $892 \pm 24.16 \text{ mg L}^{-1}$  exhibieron los valores más bajos, respecto (Q)  $1460 \pm 37.41 \text{ mg L}^{-1}$  y (Th+Q)  $1348 \pm 33.22 \text{ mg L}^{-1}$  que fueron valores más altos. Finalmente, los valores de pH, no mostraron diferencias significativas entre tratamientos (T)  $5.5 \pm 0.07$ , (Q)  $5.94 \pm 0.25$ , (Th)  $5.66 \pm 0.06$ , (Th+Q)  $5.34 \pm 0.14$ .

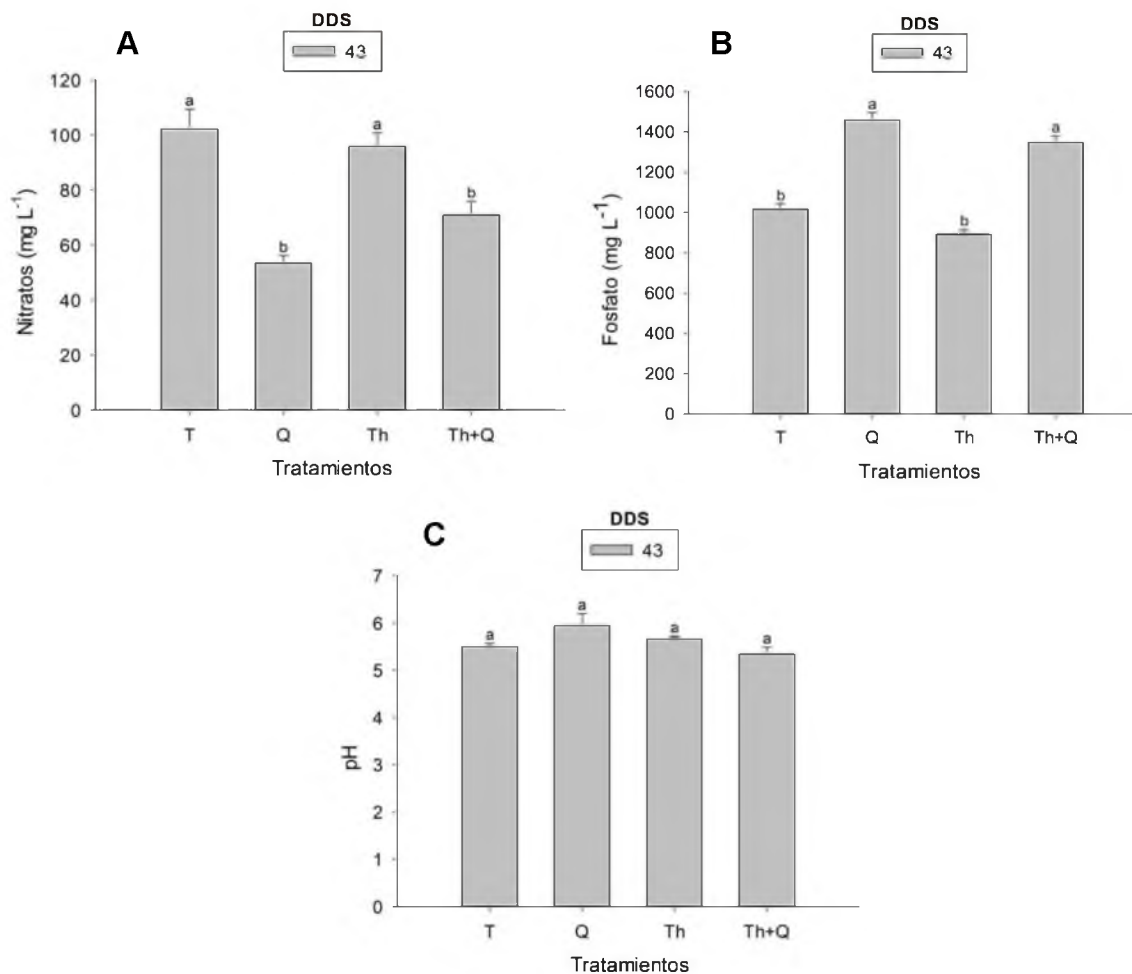


Figura 20. Nitratos (A), fosfato (B) y pH (C), presente en savia de peciolos y tallos en plántulas de chile soledad (*Capsicum annuum*). Evaluadas a los 44 días después de la siembra (DDS), con cuatro tratamientos, donde: T=Testigo, Q=Quitosano, Th=*Trichoderma harzianum* y Th+Q=*Trichoderma harzianum* + Quitosano. Columnas con una letra en común no son significativamente diferentes (Tukey,  $P < 0.05$ ).

## 9.6. Efecto antagónico de los bioinoculantes en plántulas

### 9.6.1. Incidencia y severidad

La cepa de *F. oxysporum* inoculada en la base de las plántulas de chile soledad (*C. annuum*) de cada tratamiento, mostró que la concentración de  $1 \times 10^6$  esporas/mL causó síntomas de marchitez. Como se muestra en la Figura 21, los síntomas se presentaron a partir de los 15 días después de la inoculación (DDI), donde las plántulas del tratamiento (T) manifestaron una ligera necrosis en la base

---

de los tallos (severidad nivel 3 en la escala de Velarde-Félix et al., 2018), con un porcentaje de incidencia de la enfermedad (IE) y severidad (PSE) de 13.33% y 4.44%. Para el caso del tratamiento (Th) presentó una ligera necrosis en la base de los tallos, sin embargo, el IE y PSE fue más baja con el 3.33% y 1.11%. Respecto a (Q), y (Th+Q) no presentaron ningún síntoma, donde el IE junto al PSE fue del 0% respectivamente. Para el día 20 DDI, los síntomas como ligera necrosis en la base del tallo y amarillamiento en las hojas más viejas en plántulas susceptibles e infectadas, ya eran visibles en todos los tratamientos, sin embargo, existieron diferencias puesto que (T) tuvo un valor de IE 40 % - PSE 13.33, (Q) IE 6.6 % - PSE 2.22%, (Th) IE 6.66% - PSE 2.22%, y (Th+Q) IE 0% - PSE 0%, siendo evidente que este último tratamiento no presentó síntomas de enfermedad. Respecto al día 30 DDI, los síntomas de la enfermedad fueron más visibles, para el caso de (T) presentó mayor susceptibilidad (escala 5 Velarde-Félix et al., 2018), con amarillo claro en las hojas y necrosis oscura en la base de las plantas con un IE 86.6 % - PSE 47.40%, para (Q) IE 23.33% - PSE 9.25%, (Th) IE 26.66% - PSE 11.1%, y (Th+Q) IE 10% - PSE 3.33% siendo el tratamiento con el valor más bajo. Para el día 45 DDI como se observa en la Figura 22, los síntomas fueron más severos para el tratamiento (T) pues alcanzó un valor de IE 93.33% - PSE 90.37%, que se reflejó en marchitez más severa (escala 9 Velarde-Félix et al., 2018), provocando la muerte y secadera de las plántulas. Con relación a los demás tratamientos, (Q) alcanzó un valor de IE 26.66% - PSE 20%, en (Th) IE 33.33%- PSE 25.92, y (Th+Q) IE 13.33% - PSE 8.14%. Lo cual expresa que el tratamiento (Q) presentó mejor protección en comparación a (Th), además, el uso de bioinoculantes combinados (Th+Q) demostró mayor sinergia y antagonismo para el combate de la enfermedad del marchitamiento del chile provocado por *F. oxysporum*, en comparación al uso individual de los mismos, reduciendo notablemente el PSE. Aunado a ello, es importante destacar que las plantas severamente afectadas inhibieron su crecimiento. También cabe mencionar que los factores ambientales como: el alto porcentaje de humedad relativa, precipitación, y temperatura, fueron importantes para propiciar la invasión y

desarrollo de la enfermedad en las plántulas infectadas de cada tratamiento durante los días de evaluación.

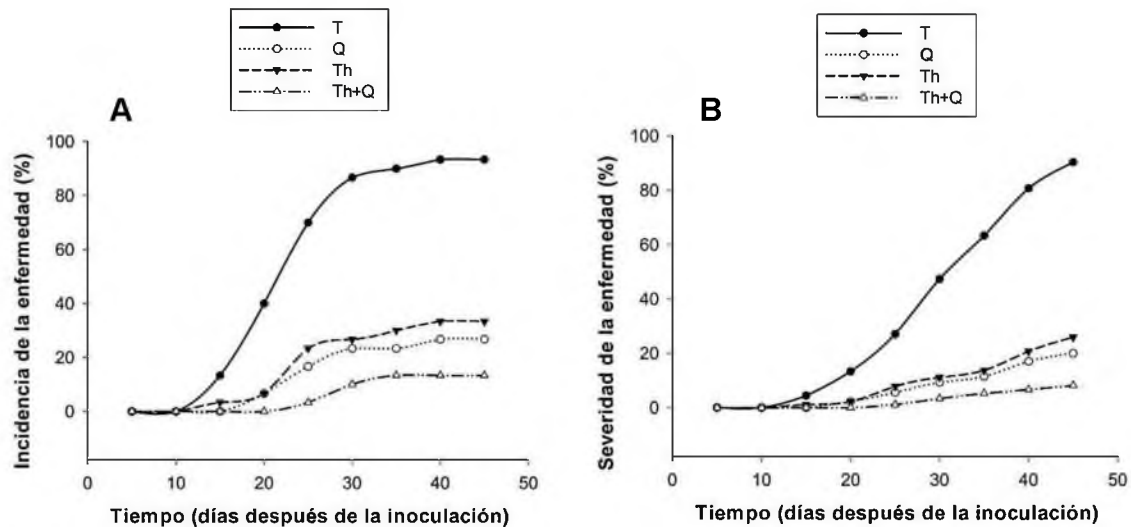


Figura 21. Porcentaje de incidencia y severidad de la enfermedad causada por *Fusarium oxysporum*, en plántulas de chile soledad (*Capsicum annuum*) a los 10, 20, 30 y 45 días después de la inoculación DDI, con cuatro tratamientos, donde: T=Testigo, Q=Quitosano, Th=*Trichoderma harzianum* y Th+Q=*Trichoderma harzianum* + Quitosano.

### 9.6.2. Re-aislamiento de la cepa

En la Figura 23 se muestra el re-aislamiento de la cepa de *F. oxysporum* en medio de cultivo Agar Papa Dextrosa (PDA) ( $\text{pH} = 5.6 \pm 0.20$ ) a  $28^\circ\text{C}$  durante 5 días de incubación, a partir de raíces y tallos de plántulas de chile soledad enfermas con síntomas de marchitez, una vez culminado el tiempo de evaluación, se corroboró a través de la identificación morfológica que se trataba de la misma cepa inoculada, lo que demostró la relación del aislamiento y la enfermedad, cumpliéndose así los postulados de Koch.



Figura 22. Severidad presentada en plántulas de chile soledad (*Capsicum annuum*) a los 15 (A), 20 (B), 30 (C) y 45 (D) días después de la inoculación (DDI) de *Fusarium oxysporum* en una concentración  $1 \times 10^6$  esporas/mL. El tratamiento (D) más resistente fue (Th+Q), seguido de (Q), luego (Th) y finalmente (T). Dónde: T=Testigo, Q=Quitosano, Th=*Trichoderma harzianum* y Th+Q=*Trichoderma harzianum* + Quitosano.

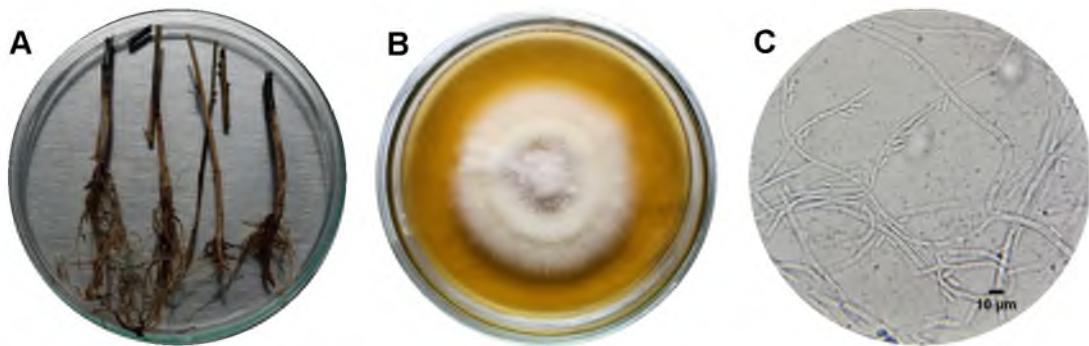


Figura 23. Re-aislamiento de *Fusarium oxysporum* en plántulas infectadas de chile soledad (*Capsicum annuum*). (A) Raíces y tallos infectados; (B) crecimiento del micelio color blanquecino algodonoso a los 5 días de incubación; (C) hifas y microconidios característicos, aumento 100X.

---

## 10. DISCUSIÓN

### 10.1. Caracterización de quitosano

#### 10.1.1. Caracterización fisicoquímica

El resultado obtenido en la caracterización fisicoquímica de las muestras de Exoesqueleto de camarón, quitosano UNPA y quitosano Sigma Aldrich<sup>®</sup>, mostró que el contenido de minerales para el exoesqueleto de camarón obtuvo un 24.6%, siendo mayor al reportado por Mittal *et al.* (2021) y Liyanage *et al.* (2022) que obtuvieron un 18.1% y 20.39%. Aunado a ello Hahn *et al.* (2024) reportaron un valor más alto de 32.5%, respectivamente. Respecto al contenido de minerales para quitosano UNPA tuvo 2.71%, siendo mayor que el reportado por Luo *et al.* (2019), Tong *et al.* (2021) y Liyanage *et al.* (2022) quienes obtuvieron 0.95%, 1.25% y 1.08% respectivamente. Por otro lado, el porcentaje de minerales en este estudio fue menor a lo reportado por Ibrahim *et al.* (2019) y Leksono *et al.* (2019) quienes indicaron un 4.09% y 4.13% respectivamente. Así mismo, Torres *et al.* (2023) refirieron resultados mayores de 18.86% y 29.19% de minerales provenientes de diferentes muestras de exoesqueleto de camarón de granjas acuícolas del estado de Sinaloa. Las diferencias fisicoquímicas del porcentaje de minerales presente en el exoesqueleto de camarón y el quitosano obtenido de cada autor, Mittal *et al.* (2021) afirman que es a consecuencia de la diferente composición del exoesqueleto de camarón que se rige por la diferencia de especies, la etapa de muda, así como la práctica de cultivo que dependen principalmente de la topografía, el clima, la calidad del agua y la composición del alimento. Respecto al quitosano Sigma Aldrich<sup>®</sup> exhibió un porcentaje de minerales de 4.5%, equiparando una menor calidad al quitosano UNPA, pues Lukum *et al.* (2020) mencionan que cuanto menor sea el contenido de minerales, mayor será la calidad del quitosano. Así mismo, No y Meyers (1995) aseguran que el quitosano de alta calidad debe tener menos del 1% de minerales. Con relación al porcentaje de desmineralización se obtuvo un 97.28% en Quitosano UNPA y 95.46 Sigma Aldrich<sup>®</sup> respectivamente, los cuales mantienen valores >90% similares a Liyanage *et al.* (2022) que obtuvieron un 94.70% y Hahn *et al.* (2024)

---

con 95.9%. La diferencia de estos valores involucra la concentración de ácido, la temperatura de extracción y el tiempo, como los principales parámetros que afectan la eficiencia de la desmineralización. Además, el carbonato de calcio y el fosfato de calcio son los principales minerales en los caparazones, que deben descartarse para desmineralizar eficazmente los caparazones de camarón (Hosney *et al.*, 2022). El porcentaje de proteína del exoesqueleto de camarón fue de 44.62%, inferior al reportado por Amador-Mendoza *et al.* (2022) y Mittal *et al.* (2021) que afirman un 49.72% y 51.29%, y superior a lo que Hahn *et al.* (2024) alcanzaron con 40.3%. Con respecto al quitosano UNPA, este presentó un 2.97% de proteína, cuyo valor es menor al reportado por Bahri *et al.* (2024) quienes obtuvieron 3.79%, así mismo, Hahn *et al.* (2024) reportó que bajo condiciones de NaOH 2M, 90°C, 2.5 h se obtiene un 0.7%, y NaOH 2M, 70°C, 4 h el 2.4%, donde se observa que las condiciones de temperatura, concentración del reactivo y tiempo de exposición, es determinante para obtener una variación en la cantidad de proteína residual. Es importante indicar que Sigma Aldrich® obtuvo un mayor porcentaje de proteína con un 8.92%, lo que nos indica una menor calidad, pues Rasweefali *et al.* (2022) mencionan que la eliminación incompleta de la proteína afecta la calidad del quitosano y restringe sus aplicaciones. Cabe enfatizar que en comparación al porcentaje de proteínas obtenido en el exoesqueleto de camarón del 44.62% en este estudio, se logró alcanzar una desproteínización del 93.33% para el quitosano UNPA, y un 80% para el quitosano Sigma Aldrich®, es pertinente resaltar que la mayoría de los autores no mencionan el porcentaje de desproteínización de quitosano alcanzado en sus estudios, sin embargo, la concentración de álcali, la temperatura de reacción y el tiempo de recuperación de la muestra, son los principales impulsores del proceso y el grado de desproteínización (Aldila *et al.*, 2020; Hosney *et al.*, 2022). Respecto al porcentaje de humedad el exoesqueleto de camarón, quitosano UNPA y Sigma Aldrich®, obtuvieron 6.5%, 11.5% y 11.3% respectivamente. Donde Peralta *et al.* (2024) reportó un valor mayor de 13.63%, y difiere en mayor medida a lo reportado por Luo *et al.* (2019), Liyanage *et al.* (2022), Öğretmen *et al.* (2022) y Hahn *et al.* (2024) con valores de 2.7%, 8.22%, 3.65% y 7.1%-7.3%. El porcentaje de

---

humedad estaba dentro de los rangos aceptables del quitosano comercial del 11% (Torres *et al.*, 2023). El porcentaje de contenido de humedad puede variar, dependiendo del manejo de los organismos en la acuicultura, ya sea en interiores o exteriores (luz solar), la estación climática y la humedad relativa. Además la variación del contenido de humedad, la heterogeneidad y el período de almacenamiento de las muestras de desechos de camarones pueden generar discrepancias en las características y la calidad del quitosano (Hosney *et al.*, 2022). Finalmente el pH encontrado en las muestras del exoesqueleto de camarón, quitosano UNPA y quitosano Sigma Aldrich® fueron de 8.88, 3.4 y 3.0 respectivamente, siendo Öğretmen *et al.* (2022) los que exhiben un valor de 6.99, que se encuentra muy arriba de los valores comparados con este estudio. De manera similar, Paul *et al.* (2014) determinaron que el valor de pH del quitosano del camarón marino (*Fenneropenaeus indicus* H. Milne Edwards) era de 6.7. Los investigadores informaron que el valor de pH del quitosano del caparazón de *Panaeus monodon* Fabricius era de 8.5 (Puvvada *et al.* 2012) y 8.0 (Divya *et al.* 2014). Esto puede explicarse por las diferencias en los métodos experimentales y las características del quitosano. Además, un quitosano con un pH<4, tiene una mejor interacción (Pacheco-Aguilar *et al.*, 2019), y esto puede explicarse en función del efecto del pH sobre la protonación del quitosano, entre menor sea el valor del pH, mayor será el porcentaje de protonación de los grupos aminos del quitosano (Pastor de Abram e Higuera, 2004).

### **10.1.2. Rendimiento global de la muestra**

El rendimiento determinado de quitosano en este estudio fue del 25.26%, el cual es mayor al reportado por Varun *et al.* (2017) quienes obtuvieron un rendimiento de 12.03%, así mismo, Al Hoqani *et al.* (2020) 4.71-4.94 % y Öğretmen *et al.* (2022) que extrajeron quitosano de *Parapeneus longirostris* Lucas, alcanzaron un 18.82%. Por otro lado, es menor que lo informado por Ibrahim *et al.* (2019) quienes encontraron que el rendimiento del quitosano purificado fue de 29.4-31.8%, y Liyanage *et al.* (2022) que obtuvieron quitosano de *Litopenaeus vannamei* Boone, cuyo rendimiento fue de 33.53%. Sin embargo existen muchos

---

autores que reportan rendimientos más altos que este estudio como Abirami *et al.* (2021) que afirmaron obtener un 45.2%, y Mittal *et al.* (2021) que extrajeron quitosano del camarón blanco del Pacífico (*Litopenaeus vannamei* Boone) teniendo un rendimiento de 73.11%. Estas diferencias en el rendimiento se deben generalmente a las diferentes especies de camarones utilizados y diferentes métodos de extracción (como diferentes proporciones de hidróxido de sodio y temperatura de desacetilación) utilizados en el proceso de desproteización, desmineralización y desacetilación. Al mismo tiempo, esta desigualdad de rendimientos de quitosano, pueden estar asociadas con la efectividad en el proceso de eliminación de minerales y proteínas adheridas a ellos (Ibrahim *et al.* 2019; Öğretmen *et al.*, 2022).

### **10.1.3. Análisis colorimétrico**

Los parámetros colorimétricos el espacio de color CIE 1976 L\*a\*b\* (CIELAB), en este estudio mostraron para el exoesqueleto de camarón de L\*72.9, a\*13.2 y b\*38.9, que indica un naranja suave. Para la muestra de quitosano UNPA, valores L\*97.1, a\*0.5 y b\*3.5, que muestra un naranja grisáceo claro. Por otra parte, el quitosano Sigma Aldrich® obtuvo valores L\*66.0, a\*1.6 y b\*11.9 con un tono medio claro de marrón. De esta manera, los valores de las muestras son comparables con el quitosano obtenido por Öğretmen *et al.* (2022) cuyos datos fueron de L\* 77.45, a\* 0.29 y b\* 8.55 que indica un tono blanco a amarillo blanco. El color del quitosano está asociado con el pigmento carotenoide astaxantina (Sánchez-Camargo *et al.*, 2011), cuyos pigmentos se elimina con el uso de hipoclorito de sodio o peróxido de hidrógeno como agentes blanqueadores (Yeul y Sadhana, 2013). Es destacable mencionar que la caracterización colorimétrica de los quitosanos obtenidos por diferentes autores no es reportada, lo que es imposible contrastar con otros estudios, sin embargo, para fines comerciales, se requiere que el color del quitosano sea lo más blanco posible. Por lo tanto, se utiliza un paso adicional de blanqueo para eliminar los pigmentos residuales y mejorar el color del quitosano (Hanh *et al.*, 2020). Por lo cual, Romero-Serrano y Pereira (2020), señalan que el quitosano con mayor valor comercial es el de color beige,

---

extraído de hongos como *Arpegillus niger* P. E. L. van Tieghem, seguido del quitosano de color blanco, obtenido del camarón. En este sentido, el grado desproteinización, desmineralización, porcentaje de humedad, pH y color, establecen su valor en el mercado.

#### **10.1.4. Obtención de espectros infrarrojo por transformada de Fourier (FT-IR)**

Los espectros FT-IR de la muestra de quitosano UNPA extraída mostró picos de la vibración de estiramiento en la banda  $3439\text{ cm}^{-1}$  perteneciente al grupo hidroxilo (O-H) y  $3258\text{ cm}^{-1}$  del grupo amida (N-H), los cuales se asemejan a lo reportado por Öğretmen *et al.* (2022) en el rango de  $3422$  a  $3256\text{ cm}^{-1}$ . Así mismo, Aldila *et al.* (2020) obtuvo un valor muy similar a nuestro estudio con bandas en  $3450$  a  $3260\text{ cm}^{-1}$ . También Mittal *et al.* (2021) encontraron estas bandas en  $3350$  a  $3280\text{ cm}^{-1}$ . Respecto a la banda de flexión del estiramiento de C-O, amida I en  $1653\text{ cm}^{-1}$  de quitosano UNPA, Öğretmen *et al.* (2022) reportaron en  $1661\text{ cm}^{-1}$ , la cual es cercana a nuestro análisis. De igual forma, Luo *et al.* (2019) reportaron en  $1637\text{ cm}^{-1}$ , Abirami *et al.* (2021) en  $1655\text{ cm}^{-1}$ , y Mittal *et al.* (2021) con  $1650\text{ cm}^{-1}$ . En relación a la banda  $1553\text{ cm}^{-1}$  flexión de NH, amida II en quitosano UNPA, se comparó con Aldila *et al.* (2020), donde sus análisis mostró esta banda en el rango  $1556\text{ cm}^{-1}$ , aunado a ello, Hisham *et al.* (2021) manifestaron en  $1578\text{ cm}^{-1}$ , Mittal *et al.* (2021) con  $1560$ , Liyanage *et al.* (2022) a  $1553\text{ cm}^{-1}$ , y finalmente Öğretmen *et al.* (2022) con un valor superior a  $1619\text{ cm}^{-1}$ . Es pertinente resaltar que la amida I y la amida II se conocen como las bandas características del quitosano (Öğretmen *et al.*, 2022). Respecto a la banda de estiramiento de C-N, amida III de quitosano UNPA se consiguió en  $1378\text{ cm}^{-1}$ , en un rango similar a Luo *et al.* (2019) con  $1400\text{ cm}^{-1}$  y superior a lo reportado por Öğretmen *et al.* (2022) en  $1153\text{ cm}^{-1}$  junto a Mittal *et al.* (2021) con  $1320\text{ cm}^{-1}$ . Finalmente, el grupo Piranósico en quitosano UNPA se localizó en la banda  $1068\text{ cm}^{-1}$ , donde Mittal *et al.* (2021) lo reportaron en  $1150\text{ cm}^{-1}$ , y Öğretmen *et al.* (2022) en un rango menor a  $895\text{ cm}^{-1}$  respectivamente.

---

## 10.2. Caracterización *Fusarium oxysporum* Schltdl.

Con base en las características de la colonia en medio PDA ( $\text{pH} = 5.6 \pm 0.20$ ) de la muestra colectada, su identificación correspondió a *F. oxysporum*, el agente causal del marchitamiento de chile soledad (*C. annuum*). Para esta caracterización los parámetros considerados fueron la forma del crecimiento micelial y color, a los 10 días de incubación. El crecimiento del micelio fue de tipo aéreo algodonoso blanco en sus primeros días de crecimiento, lo que concuerda con el trabajo de Ferniah *et al.* (2014), quienes informaron esta coloración en las colonias de los aislados de *F. oxysporum* en chile (*C. annuum*) en Indonesia. Posteriormente a los 10 días de incubación, el micelio se tornó de una coloración rosácea-morada, con morado oscuro y blanquecino al reverso de la colonia, que es comparable con lo obtenido con Tilahun *et al.* (2020) donde los aislados del chile mostraron colores de rosa claro, rosa y blanco cremoso. También a lo reportado por Endriyas *et al.* (2020) quienes describen el crecimiento de micelio de color rosado y blanco en aislados provenientes de chile en Etiopía. Además que Leslie y Summerell (2006) reportan colonias con crecimiento de color morado, rosado, marrón y blancas en medio PDA en la superficie y reverso de la misma. Aunado a ello, el color diferencial presente en *F. oxysporum* se atribuye a la presencia de un pigmentos derivados de moléculas de carotenoides y policétidos que se producen como subproducto durante el crecimiento micelial y las actividades enzimáticas (Demissie *et al.*, 2020). Además, el color del micelio es una característica que depende de las especies (Leslie y Summerell, 2006). Respecto a la caracterización morfológica, se verificó con ayuda de un microscopio óptico, donde se observó las estructuras vegetativas y reproductivas. Donde la cepa de *F. oxysporum* mostró hifas ramificadas hialinas, septadas, junto a fiálides cortas con crecimiento de conidios en cabezas falsas, características microscópicas similares a las reportadas por Leslie y Summerell (2006) y Nelson *et al.* (1983). Se reveló que el aislamiento produjo dos tipos de conidios: microconidios y macroconidios, siendo los microconios de forma ovalada con forma arriñonada o elipsoide que corresponde lo mencionado por Tilahun *et al.* (2024), con relación a los macroconidios, estos eran fusiformes rectos y septados, semejante a lo hallado

---

por Campbell y Johnson (2013). Además, el aislado formó clamidosporas en formas simples y en pares en posiciones terminales o intercalares, lo que coincide con Tilahun *et al.* (2024), quienes encontraron que en aislados de plantas de pimiento (*C. annuum*) enfermas por *F. oxysporum*, las clamidosporas presentaban las mismas características. Finalmente, la identificación molecular se realizó a través del análisis de secuenciación del gen factor de elongación (EF1), lo que dio como resultado a la especie *F. oxysporum*. La implementación de este tipo de análisis para la identificación de esta especie, se ha realizado por Leyva-Mir *et al.* (2018), Retana *et al.* (2018) y López-Bautista *et al.* (2020).

### **10.3. Caracterización *Thichoderma harzianum* Rifai**

Las características consideradas para la caracterización macroscópica de *T. harzianum* en medio PDA (pH = 5.6 ± 0.20), fueron la textura del micelio, el color, la presencia de anillos concéntricos, así como la tinción al reverso de la colonia, a los 10 días de incubación. El crecimiento del micelio fue de tipo algodonoso, con color blanquecino en sus primeros estadios, que conforme la ocurrió la maduración de la cepa, formó anillos concéntricos y micelio color verdoso, características que concuerdan con lo reportado por Jahan *et al.* (2013) y Acurio-Vásconez y España-Imbaquingo (2017). También características similares fueron reportadas por Mazrou *et al.* (2020) y Savín-Molina *et al.* (2021) quienes afirman que la especie de *T. harzianum* presenta un micelio algodonoso que varía entre blanco y verde, con 1 o 2 anillos concéntricos. En el reverso de la colonia presentó una coloración verde oscura con bordes blaquesinos o amarillentos, que se asemeja a lo reportado por Mazrou *et al.* (2020). La colonia presenta una coloración verde intenso, debido al aumento de la esporulación de conidios color verde que se distribuyen en todo el cultivo (Jahan *et al.*, 2013; Mazrou *et al.*, 2020). En la descripción morfológica de la cepa de *T. harzianum*, se observó los patrones de ramificación de los conidióforos, presencia de fiálides, la forma y color de los conidios, como las clamidosporas. Es así que el asilado presentó conidióforos con diversas ramificaciones en forma piramidal, con ramificaciones largas en comparación al eje principal, que es comparable con lo reportado por

---

Bissett (1984, 1991a, b). También existió la presencia de fiálides alargadas, solitarias en forma asimétrica, junto con verticilos terminales con conidios color verde en forma globosa, y clamidosporas marrones subglobosas, siendo una descripción que coincide con lo reportado por De Hoog *et al.* (2000) y Wantanabe (2002). En referencia a la tasa de desarrollo en los ensayos realizados después de 5 días de incubación a 28 °C, mostraron un valor promedio de  $14.37 \pm 0.01$  mm/día, cuyo valor es menor a lo reportado por Miguel-Ferrer *et al.* (2021) que afirman que *T. harzianum* tuvo una tasa de 23.32 mm/día a 28 °C, así mismo, Morales-Mora *et al.* (2020) reportan una tasa de 40.08 mm/día a 27 °C. Esto es explicado por Fernández-Gamarra *et al.* (2017) que mencionan que el efecto de la temperatura sobre el crecimiento y desarrollo de cepas de *Trichoderma* depende de la especie y las características del aislamiento dentro de la misma especie, además, las especies de *Trichoderma* nativas de regiones geográficas frías poseían una temperatura de crecimiento óptima menor, en comparación con las especies de las regiones climáticas cálidas cuya temperatura óptima era mayor. Respecto a la reproducción de *T. harzianum* en caldo selectivo E de *Trichoderma* (TME), la cepa presentó crecimiento activo durante 30 días de incubación, mostrando una concentración final de  $1 \times 10^{10}$  esporas/mL, sin embargo, con relación la concentración de esporas resulta improbable realizar comparaciones con otros autores debido a la inexistencia de estudios similares, sin embargo, Siordia-Grave *et al.* (2007) mencionan que la producción de conidios de *T. harzianum* está relacionada con la cantidad de carbohidratos presente en el medio de cultivo. También cabe recalcar que los bioinoculantes comerciales formulados con *T. harzianum*, se encuentran en concentraciones de  $1 \times 10^9$  esporas/mL (BIOJAL<sup>®</sup>),  $1 \times 10^8$  esporas/mL (Spectrum Trico-Bio<sup>®</sup>) y  $1 \times 10^9$  esporas/mL (Trichopower Max<sup>®</sup> de la Cuenca del Papaloapan), lo que demuestra que nuestro bioinóculo obtenido se encuentra dentro de los parámetros comerciales para inocular cultivos con importancia económica.

---

#### 10.4. Prueba de confrontación de cultivo dual *in vitro*

En cuanto a la prueba de confrontación *in vitro* entre la cepa de *T. harzianum* (Th) y *F. oxysporum* (Fo), se encontró que (Th) mostró un tipo de antagonismo de clase 2 en la escala de Bell *et al.* (1982), que en comparación a lo expuesto por Martínez-Martínez *et al.* (2021) el nivel de antagonismo de *T. harzianum* frente a las cepas de *Fusarium* spp. fue de clase 1, indicando que encontraron un mejor efecto inhibitorio, comparado a nuestro estudio. Sin embargo, los estudios realizados por Martínez-Martínez *et al.* (2020) son comparables a los nuestros resultados, pues exponen que en cepas de *F. oxysporum* tuvo un nivel de antagonismo de clase 2. Con relación al día del primer contacto entre hifas (DPC), ocurrió en los días 7 y 8, que es semejante a los reportado por Rodríguez-García y Wang-Wong (2020), donde la cepa de *T. harzianum* y *F. oxysporum* tuvieron su DCP a los 5 y 8 días. En lo que respecta al porcentaje de inhibición (PI), se obtuvo un valor promedio de 75.93%, cuyos datos son mayores a lo reportado por Sahi y Khalid (2007), quienes informaron que *T. harzianum* tuvo en efecto inhibitorio del 36% sobre *F. oxysporum* en pimiento dulce (*C. annuum*), también Rodríguez-García y Wang-Wong (2020) realizaron pruebas de inhibición de varias cepas de *Trichoderma* spp., donde la mayoría de los tratamientos lograron obtener un porcentaje de inhibición del crecimiento de *F. oxysporum* superior al 50%. Sin embargo, nuestro resultado se ubicó en un rango similar a lo mostrado por Endriyas *et al.* (2020) obtuvieron un PI del 77.3%. Finalmente, el micoparasitismo presentado en la cepa de nuestro estudio, ocurre a través de la colonización/penetración de conidios e hifas sobre las estructuras reproductivas del hongo fitopatógeno, cuya información es similar a lo reportado por Martínez-Martínez *et al.* (2020). Este proceso es explicado por Cheng *et al.* (2012) que reportaron que la eficacia de la mayoría de las especies de *Trichoderma* spp. (incluida *T. harzianum*) consiste en inhibir el crecimiento de las hifas de los hongos fitopatógenos al provocar vacuolización citosólica y lisis en las hifas, mientras que Kashyap *et al.* (2020) lo asocia a la inhibición de la esporulación de los hongos. Igualmente, es importante mencionar que la inhibición presentada en un estudio de cultivos duales es un indicador de la capacidad antagónica que

---

presenta *Trichoderma* y puede visualizarse en una reducción del diámetro de la colonia del patógeno (Guigón-López *et al.*, 2010).

### **10.5. Respuesta de crecimiento**

Los resultados obtenidos mostraron que la aplicación de bioinoculantes en plántulas de chile soledad (*C. annuum*) de forma individual y combinada, como quitosano (Q) y *T. harzianum*+Quitosano (Th+Q), mostraron un aumento del diámetro del tallo a los 22, 29, 36 y 43 días después de la siembra (DDS). Respecto a la altura, número de hojas, área foliar y número de brotes axilares en plántulas bioinoculadas con quitosano (Q) presentaron los valores más altos a los 15, 22, 29, 36 y 43 DDS. Con relación a ello, Dery *et al.* (2023) quienes evaluaron la aplicación de diferentes concentraciones de quitosano (2, 50 y 100 mg L<sup>-1</sup>) en chile pimiento (*C. annuum*), con aplicación foliar y basal, encontraron que mejoró el diámetro del tallo, la altura y número de hojas, a las 6 semanas después de la siembra. Así mismo, Alvarez-Pinedo *et al.* (2018), evaluaron la aplicación de quitosano (QuitoMax<sup>®</sup>) en plántulas de pimiento (*C. annuum*), donde se apreció una mayor altura en comparación al testigo, exhibiendo el efecto bioestimulante del quitosano. Aunado a ello, Peña-Tovar *et al.* (2020), evaluaron 3 cepas de *Trichoderma* spp., y encontraron que la inoculación en plántulas de *C. annuum* de 5 semanas después de la siembra, mostraron un incremento en la altura de la planta. Esto se explica debido a las propiedades del quitosano, que juega un papel como bioestimulante y promotor de crecimiento (Reyes-Perez *et al.*, 2023). Así mismo aumenta la capacidad fotosintética de las plantas (Shahrajabian *et al.*, 2021) y la absorción de agua y nutrientes esenciales al mejorar la producción de antioxidantes para eliminar las especies reactivas de oxígeno (ROS) (Guan, 2009). También cabe mencionar que *T. harzianum* tiene la capacidad de promover el crecimiento de las plantas ajustando el equilibrio de hormonas y actuando como biofertilizante para promover la absorción de iones minerales y dióxido de carbono (Stewart y Hill, 2014 ; Marra *et al.*, 2021) y que con el uso conjunto de quitosano mejora el metabolismo de frutos o plantas, propiciando la germinación y productividad de los cultivos (Schisler *et al.*, 2004).

---

## 10.6. Cuantificación de nutrientes

La presencia de nutrientes cuantificados a los 44 días después de la siembra (DDS) en savia de peciolo y tallos de chile soledad (*C. annuum*) refirió que la conductividad eléctrica ( $\mu\text{s cm}^{-1}$ ), el contenido de Potasio ( $\text{mg L}^{-1}$ ) y nitratos ( $\text{mg L}^{-1}$ ) en Testigo (T) fue mayor con  $389.6 \pm 26.88 \mu\text{s cm}^{-1}$ ,  $122.8 \pm 7.47 \text{ mg L}^{-1}$  y  $102 \pm 7.2 \text{ mg L}^{-1}$  en comparación a los demás tratamientos. En relación al contenido de Fosfato ( $\text{mg L}^{-1}$ ) los valores más altos fueron en el tratamiento con Quitosano (Q)  $1460 \pm 37.41 \text{ mg L}^{-1}$  y *T. harzianum* + Quitosano (Th+Q)  $1348 \pm 33.22 \text{ mg L}^{-1}$ . No obstante, es difícil realizar comparaciones con otros autores debido a la inexistencia de estudios similares. Sin embargo, para el caso de (T), los valores más altos de conductividad eléctrica ( $\mu\text{s cm}^{-1}$ ), Potasio ( $\text{mg L}^{-1}$ ) y nitratos ( $\text{mg L}^{-1}$ ), se explican porque ocurren notables interacciones entre el suelo, el agua y los fertilizantes, que propician que existan grandes diferencias en la concentración de nutrientes en savia, y dentro de estas interacciones, el volumen de riego es uno de los factores que más influyen en estas interacciones, ya que está más relacionado con la movilización de elementos, que con un aporte externo de fertilizantes (Frutos *et al.*, 2009). Respecto a la conductividad eléctrica ( $\mu\text{s cm}^{-1}$ ) en savia, es un parámetro que mide la cantidad de sales disueltas, por ello, cuanto mayor es la concentración de sales disueltas, mayor es la conductividad eléctrica (González-Vargas, 2024). Además, el rango normal para la totalidad de las especies agrícolas y forestales, fluctúa entre 2,5 a 5 sS/cm, que se traduce en una correcta composición mineral nutricional (Rodas-Pinochet, 2020). En cuanto a la disponibilidad de potasio en savia, AGRAN (2024), menciona que el Potasio ( $\text{K}^+$ ) compite directamente con la concentración de calcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ), Sodio ( $\text{Na}^+$ ) o Magnesio ( $\text{Mg}^{2+}$ ), por lo que un exceso de esta nutriente afecta negativamente a la asimilación del resto. Con relación al contenido de nitratos ( $\text{mg L}^{-1}$ ) en savia, este representa aquella parte que todavía no ha sido transformada en compuestos orgánicos de la planta y en términos generales un bajo contenido de Nitrógeno (N) en el peciolo es un indicador de una baja disponibilidad de (N) en el suelo. Aunque el contenido de nitratos en savia es un indicador muy sensible que está influenciado por una serie de factores que incluyen la edad de la planta, la

---

posición de la hoja, las condiciones climáticas previas al muestreo, las interferencias iónicas, las prácticas de abonado y la forma en la que el (N) se encuentra en la zona radicular (Rodrigo-Hernández, 2005). En lo que respecta al contenido de Fosfato ( $\text{mg L}^{-1}$ ), en el tratamiento (Th+Q) y (Q) fue mayor, y esto puede explicarse por la capacidad de *Trichoderma* para solubilizar y aumentar la disponibilidad de nutrientes y micronutrientes entre ellos los fosfatos, y otros como el hierro, el manganeso y el magnesio (Guzmán-Guzmán *et al.*, 2019). Por otro lado, el quitosano presenta propiedades de quelación, intercambio iónico y adsorción de iones (Cartaya *et al.*, 2009) que pudieran también explicar la mayor acumulación de minerales cuando se dispone de mayor cantidad cerca del área radicular. Finalmente, los valores de pH fueron muy similares en todos los tratamientos en un rango de 5.34-5.50, que es comparable a lo referido por González-Vargas (2024) donde cita que la existencia de un pH muy bajo, provoca un desequilibrio de cationes, por lo que un pH óptimo en plantas cultivadas se encuentra en un rango de 5.5-6.

### **10.7. Efecto antagónico de los bioinoculantes en plántulas**

En este estudio se encontró que *F. oxysporum* es un agente causal del marchitamiento de chile soledad (*C. annuum*), el cual ocasionó síntomas como necrosis en la base de los tallos, amarillamiento de hojas y marchitamiento de las mismas, cuyos síntomas son comparables con lo reportado por Gabrekiristos y Demiyo (2020). De la misma forma Tilahun *et al.* (2024), afirmaron que las plantas de chile infectadas con *F. oxysporum* presentaban marchitez, decoloración vascular y plantas muertas. En relación con el porcentaje de incidencia de la enfermedad (IE) y severidad (PSE), a los 45 días después de la inoculación (DDI) se encontró diferencias entre tratamientos, siendo Testigo (T) el que presentó la marchitez más severa, ya que alcanzó un valor de IE 93.33% - PSE 90.37%, en cuanto Quitosano (Q) alcanzó un valor de IE 26.66% - PSE 20%, *T. harzianum* (Th) IE 33.33%-PSE 25.92, y la combinación de *T. harzianum* y Quitosano (Th+Q) IE 13.33% - PSE 8.14%, siendo este último el que demostró mayor antagonismo. El resultado obtenido en el tratamiento (T), es parecido a lo reportado por Sánchez

---

*et al.* (2004), donde evaluaron el IE y PSE, en varias cepas de *F. oxysporum* aisladas de Chile (*C. annuum*), encontrando valores IE en un rango de 34-100%, y un PSE de 8-100% en condiciones de invernadero. Es importante mencionar que hacer comparaciones con otros autores puede diferir, pues como mencionan Assefa *et al.* (2015) que la incidencia y la gravedad de la enfermedad varían de una ubicación a otra. Así mismo, Joshi *et al.* (2012), atribuyen que la enfermedad del marchitamiento está influenciada por condiciones ambientales como la temperatura, la humedad y el tipo de suelo que influyen en el crecimiento y desarrollo de las poblaciones microbianas del mismo. En relación a la capacidad antagónica de la combinación de (Th+Q), está influenciada por la capacidad que tienen las especies de *Trichoderma* en colonizar la superficie de la raíz (corteza de la raíz y la epidermis), siendo esta relación simbiótica la que protege eficazmente a la planta de los fitopatógenos (Mukherjee *et al.*, 2018 ; Galletti *et al.*, 2020 ). También utiliza otros mecanismos como el micoparasitismo, la competencia por nutrientes y la antibiosis, que son los principales modos de acción de la actividad de biocontrol de *Trichoderma* (Zhang *et al.*, 2021). Aunado a ello, las plantas tratadas con quitosano pueden inducir respuestas de defensa, incluido el ensamblaje de fitoalexinas, proteínas relacionadas con la patogénesis (quitinasa y  $\beta$ -glucanasa) e inhibidores de proteinasas (Pichyangkura y Chadchawan, 2015).

---

## 11. CONCLUSIONES

El quitosano UNPA proveniente del exoesqueleto de camarón (*Penaeus* sp.) y obtenido por hidrólisis química, mostró parámetros de calidad aceptables que incluyen porcentaje de desproteínización, porcentaje de desmineralización, porcentaje de humedad, pH y color, comparado con el quitosano Sigma Aldrich®.

La competencia dual *in vitro* de *T. harzianum* sobre *F. oxysporum* mostró un amplio control de inhibición a través del micoparasitismo del hongo fitopatógeno causante de la marchitez en chile soledad.

La inoculación combinada de *Trichoderma harzianum* + Quitosano UNPA mejoró los parámetros de crecimiento como: altura, diámetro, área foliar y número de hojas en plántulas de chile soledad (*C. annuum*).

La evaluación del antagonismo de los bioinoculantes aplicados en plántulas de chile soledad (*C. annuum*) en condiciones de campo, mostró que la combinación de *T. harzianum* + Quitosano UNPA, presentó la mayor protección en las plántulas disminuyendo la incidencia y severidad del cultivo. Por lo cual, la combinación de ambos ejerce un control positivo que favorece el combate de esta enfermedad causante de la marchitez.

---

## 12. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abd El-Hack, M. E., El-Saadony, M. T., Shafi, M. E., Zabermawi, N. M., Arif, M., Batiha, G. E., ... y Al-Sagheer, A. A. (2020). Antimicrobial and antioxidant properties of chitosan and its derivatives and their applications: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 164, 2726-2744.
- Abirami, S., Nagarajan, D., Samrot, A. V., Varsini, A. M., Sugasini, A., y Anand, D. A. (2021). Extraction, characterization, and utilization of shrimp waste chitin derived chitosan in antimicrobial activity, seed germination, preservative, and microparticle formulation. *Biointerface Res. Appl. Chem*, 11(2), 8725-39.
- Acurio-Vásquez, R. D., y España-Imbaquingo, C. K. (2017). Aislamiento, caracterización y evaluación de *Trichoderma* spp. como promotor de crecimiento vegetal en pasturas de raygrass (*Lolium perenne*) y trébol blanco (*Trifolium repens*). *LA GRANJA. Revista de Ciencias de la Vida*, 25(1), 53-61.
- Admasu, W., Sintayehu, A., Gezahgne, A., y Terefework, Z. (2023). *In vitro* bioefficacy of *Trichoderma* species against two Botryosphaeriaceae fungi causing Eucalyptus stem canker disease in Ethiopia. *Journal of Natural Pesticide Research*, 4, 100037.
- Admasu, W., Sintayehu, A., y Gezahgne, A. (2022). *In vitro* assessment of fungicides efficacy against fungal isolates causing Eucalyptus stem canker diseases in Ethiopia. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 55(18), 2098-2110.
- AGRAN. (2024). *¿Por qué el análisis de savia ayuda en los cultivos?*. (Consultado el 20 de agosto de 2024). <https://agran.es/por-que-el-analisis-de-savia-ayuda-en-los-cultivos/>
- Aguilar-Rincón, V. H. (2012). Cultivo del chile en México. *Revista fitotecnia mexicana*, 35(4), 264-264.
- Aguilar-Rincón, V. H., Corona, T. T., López, L. P., Latournerie, M. L., Ramírez, M. M., Villalón, M. H., y Aguilar, C. J. A. (2010). *Los chiles de México y su*

- 
- distribución*. SINAREFI. Colegio de Postgraduados, INIFAP, IT-Conkal, UANL, UAN. Montecillo, Texcoco, Estado de México.
- Aguirre, H. E., y Muñoz, O. V. (2015). El chile como alimento. *Ciencia*, 66(3), 16-23.
- Akbar, A., Hussain, S., Ullah, K., Fahim, M., y Ali, G. S. (2018). Detection, virulence and genetic diversity of *Fusarium* species infecting tomato in Northern Pakistan. *PloS one*, 13(9), e0203613.
- Al Hoqani, H. A. S., Noura, A. S., Hossain, M. A., y Al Sibani, M. A. (2020). Isolation and optimization of the method for industrial production of chitin and chitosan from Omani shrimp shell. *Carbohydrate research*, 492, 108001.
- Aldila, H., Fabiani, V. A., Dalimunthe, D. Y., y Irwanto, R. (2020). The effect of deproteinization temperature and NaOH concentration on deacetylation step in optimizing extraction of chitosan from shrimp shells waste. *In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 599(1), 012003.
- Alvarez Pinedo, A., Calderón Puig, A. A., Fundora Sánchez, L. R., y Rodríguez Fajardo, A. (2018). Manejo de bioproductos en el cultivo del pimiento (*Capsicum annuum* L.) en condiciones de organopónico. *Agroecosistemas*, 6(2), 121-127.
- Álvarez-Herrera, J. G., Vélez, J. E., y Jaime-Guerrero, M. (2022). Characterization of cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) fruits from plants irrigated with different regimens and calcium doses. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 16(1).
- Amador-Mendoza, A., Huerta-Ochoa, S., Herman-Lara, E., Membrillo-Venegas, I., Aguirre-Cruz, A., Vivar-Vera, M. A., y Ramírez-Coutiño, L. (2016). Efecto de la purificación química, biológica y física en la recuperación de quitina de exoesqueletos de camarón (*Penaeus* sp) y chapulín (*Sphenarium purpurascens*). *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 15(3), 711-725.
- Amador-Mendoza, A., Huerta-Ochoa, S., Herman-Lara, E., Membrillo-Venegas, I., Aguirre-Cruz, A., Vivar-Vera, M. A., y Ramírez-Coutiño, L. (2016). Efecto de la purificación química, biológica y física en la recuperación de quitina
-

- 
- de exoesqueletos de camarón (*Penaeus* sp) y chapulín (*Sphenarium purpurascens*). *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 15(3), 711-725.
- Amador-Mendoza, A., Juárez-Barrientos, J. M., Hernández-Hernández, H., Ramírez-Coutiño, L. P., Huerta-Ochoa, S., Herman-Lara, E., y Rodríguez-Miranda, J. (2022). Evaluación de procesos combinados: purificación de quitina a partir de exoesqueletos de camarón (*Penaeus* sp) y chapulín (*Sphenarium purpurascens*). *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 25, 102.
- Anaya-Esparza, L. M., Mora, Z. V. D. L., Vázquez-Paulino, O., Ascencio, F., y Villarruel-López, A. (2021). Bell peppers (*Capsicum annuum* L.) losses and wastes: Source for food and pharmaceutical applications. *Molecules*, 26(17), 5341.
- Anjum, N., Shahid, A. A., Iftikhar, S., Mubeen, M., Ahmad, M. H., Jamil, Y., Rehan, M.K.N., Aziz, A., Iqbal, S. y Abbas, Q. (2020). Evaluations of *Trichoderma* isolates for biological control of *Fusarium* wilt of chili. *Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology*, 21(42), 59-60.
- Association of Official Analytical Chemist (AOAC). (2005). *Methods of Analysis* (15th ed.). Washington, D.C. AOAC 43, 689, 2005, Microchemical Determination of Nitrogen. AOAC 33, 749, 2005, Moisture in Flour. AOAC 7,132, 2005, Ash of Flour.
- Araujo, J., Yegres, F., Barreto, G., Antequera, A. A., Depool, B., y Rojas, Y. (2016). Biocatalizadores fúngicos hidrocarbonoclasticos del género *Aspergillus* para la descontaminación de agua con Hidrocarburos Policíclicos Aromáticos (HPAs). *Revista Cubana de Química*, 28(2), 703-735.
- Arrazola, K. (2022). *Preparan siembra productores de chile soledad. Noticias, voz e imagen de la Cuenca*. (Consultado el 20 de mayo de 2023). <https://cuenca.nvinoticias.com/cuenca/general/preparan-siembra-productores-de-chile-soledad/7240>
- Asis, A., Shahriar, S. A., Naher, L., Saallah, S., Fatihah, H. N. N., Kumar, V., y Siddiquee, S. (2021). Identification patterns of *Trichoderma* strains using
-

- 
- morphological characteristics, phylogenetic analyses and lignocellulolytic activities. *Molecular biology reports*, 48, 3285-3301.
- Asman, A., y Rosmana, A. (2021). The response of different fungicides against *Lasiodiplodia pseudotheobromae* causing dieback disease of cocoa through *in vitro* test. *In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 807 (2), 022091.
- Assefa, M., Dawit, W., Lencho, A., y Hunduma, T. (2015). Assessment of wilt intensity and identification of causal fungal and bacterial pathogens on hot pepper (*Capsicum annum* L.) in Bako Tibbe and Nonno districts of West Shewa zone, Ethiopia. *International Journal of Phytopathology*, 4(1), 21-28.
- Astier, S., Albouy, J., Maury, Y., Robaglia, C., y Lecoq, H. (2007). *Principles of plant virology: genome, pathogenicity, virus ecology*. Science Publishers. Enfield, NH, USA.
- Azmana, M., Mahmood, S., Hilles, A. R., Rahman, A., Arifin, M. A. B., y Ahmed, S. (2021). A review on chitosan and chitosan-based bionanocomposites: promising material for combatting global issues and its applications. *International journal of biological macromolecules*, 185, 832-848.
- Bader, A.N., Graciela, L.S., Fernanda, C., y Verónica, F.C. (2020). Bioformulación de *Trichoderma harzianum* en sustrato sólido y efectos de su aplicación en plantas de pimiento. *Revista de la Facultad de Agronomía*, 119 (1), 1-9.
- Bahri, S., Fadilah, N., y Hanafi, M. (2024). Characterization of Chitosan Isolated from Shrimp Shell Waste and Its Ability to Preserve White Tofu. *Jurnal Biologi Tropis*, 24(2), 769-777.
- Barboza, G. E., García, C. C., de Bem Bianchetti, L., Romero, M. V., y Scaldaferrro, M. (2022). Monograph of wild and cultivated chili peppers (*Capsicum* L., Solanaceae). *PhytoKeys*, 200, 1.
- Bell, D. K., Wells, H. D., y Markham, C. R. (1982). *In vitro* antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. *Phytopathology*, 72, 379-382.
-

- 
- Bertoldo, C., Gilardi, G., Spadaro, D., Gullino, M. L., y Garibaldi, A. (2015). Genetic diversity and virulence of Italian strains of *Fusarium oxysporum* isolated from *Eustoma grandiflorum*. *European Journal of Plant Pathology*, 141, 83-97.
- Biri, B., y Gomathinayagam, P. (2021). Response of hot pepper (*Capsicum annuum* L.) to major fungal diseases under field and greenhouse conditions in Horo Guduru Wollega, Oromia, Ethiopia. *African Journal of Agricultural Research*, 17(6), 923-932.
- Bishop, C. D., y Cooper, R. M. (1983). An ultrastructural study of root invasion in three vascular wilt diseases. *Physiological Plant Pathology*, 22(1), 15-13.
- Bissett, J. (1984). A revision of the genus *Trichoderma*. I. Section Longibrachiatum sect. nov. *Can. J. Bot.* 62, 924-931.
- Bissett, J. (1991a). A revision of the genus *Trichoderma*. II. Infrageneric classification. *Can. J. Bot.* 69, 2357-2372.
- Bissett, J. (1991b). A revision of the genus *Trichoderma*. III. Section Pachybasium. *Can. J. Bot.* 69, 2373-2417.
- Bosland, P. W., y Votava, E. J. (2012). *Peppers: vegetable and spice capsicums* (2a Ed.). CABI Publishing. London UK. [https://books.google.com.mx/books?id=ESCNZMvMAYAC&pg=PA1&hl=es&source=gbs\\_toc\\_r&cad=2#v=onepage&q&f=false](https://books.google.com.mx/books?id=ESCNZMvMAYAC&pg=PA1&hl=es&source=gbs_toc_r&cad=2#v=onepage&q&f=false)
- Cabanzo-Atilano, I., Rodríguez-Mendoza, M. N., García-Cué, J. L., Almaraz-Suárez, J. J., y Gutiérrez-Castorena, M. D. C. (2020). La biofertilización y nutrición en el desarrollo de plántulas de chile serrano. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 11(4), 699-712.
- Cabrera, R., Palafox-Félix, S., y Valenzuela-Quintanar, A.I. (2019). Estrategias para el control del hongo fitopatógeno *Fusarium* en el sector agrícola: del control químico al control biológico. *Frontera Biotecnológica*. 2448-8461.
- Campbell, C. K., y Johnson, E. M. (2013). *Identification of pathogenic fungi*. John Wiley y Sons. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/book/10.1002/9781118520055?src=getftr>
-

- 
- Cardona-Piedrahíta, L. F., y Castaño-Zapata, J. (2019). Comparación de métodos de inoculación de *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici (Sacc.) Snyder y Hansen, causante del marchitamiento vascular del tomate. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 43(167), 227-233.
- Carmona, M., y Sautua, F. (2017). La problemática de la resistencia de hongos a fungicidas. Causas y efectos en cultivos extensivos. *Agronomía y Ambiente*, 37(1).
- Carrizo-García, C., Barfuss, M. H., Sehr, E. M., Barboza, G. E., Samuel, R., Moscone, E. A., y Ehrendorfer, F. (2016). Phylogenetic relationships, diversification and expansion of chili peppers (*Capsicum*, Solanaceae). *Annals of botany*, 118(1), 35-51.
- Cartaya, O., Peniche, C., y Reynaldo, I. (2009). Polímeros naturales recolectores de iones metálicos. *Iberoamericana de polímeros*, 10(2), 81-94.
- Castillo-Aguilar, C., Coh-Méndez, D., Carrillo-Ávila, E., y Monsalvo-Espinosa, A. (2015). Producción de planta de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.). *Agro Productividad*, 8(4).
- Chaverri, P., Branco-Rocha, F., Jaklitsch, W., Gazis, R., Degenkolb, T., y Samuels, G. J. (2015). Systematics of the *Trichoderma harzianum* species complex and the re-identification of commercial biocontrol strains. *Mycologia*, 107(3), 558-590.
- Cheng, C. H., Yang, C. A., y Peng, K. C. (2012). Antagonism of *Trichoderma harzianum* ETS 323 on *Botrytis cinerea* mycelium in culture conditions. *Phytopathology*, 102(11), 1054-1063.
- Chew, M. Y. I., Vega, P. A., Palomo, R. M., y Jiménez, D. F. (2008). *Principales enfermedades del chile (Capsicum annum L.)*. INIFAP-Centro de Investigación Regional Norte Centro. Campo Experimental, La Laguna. México, DF Folleto Técnico, (153), 2.
- Cira, L. A., Huerta, S., y Shirai, K. (2002). Fermentación láctica de cabezas de camarón (*Penaeus* sp.) en un reactor de fermentación sólida. *Revista mexicana de ingeniería química*, 1(1-2), 45-48.

- 
- Correll, J. C. (1991). The relationship between formae speciales, races, and vegetative compatibility groups in *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology*, 81, 1061-1064.
- De Hoog, G. S., Guarro, J., Gene, J. F. M. J., y Figueras, M. J. (2000). *Atlas of clinical fungi* (No. Ed. 2). Centraalbureau voor Schimmelcultures (CBS). <https://www.atlasclinicalfungi.org/art/book/>
- De Lamo, F. J., Šimkovicová, M., Fresno, D. H., de Groot, T., Tintor, N., Rep, M., y Takken, F. L. (2021). Pattern-triggered immunity restricts host colonization by endophytic fusaria, but does not affect endophyte-mediated resistance. *Molecular Plant Pathology*, 22(2), 204-215.
- Demissie, S., Megersa, G., Meressa, B. H., y Muleta, D. (2021). Resistance levels of Ethiopian hot pepper (*Capsicum* spp.) varieties to a pathogenic *Fusarium* spp. and *in vitro* antagonistic effect of *Trichoderma* spp. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 54(11-12), 647-663.
- Dery, A. N., Asekabta, K. A., y Aduguba, O. W. (2023). Effects of different concentrations of Chitosan and application methods on growth and yield characteristics of chilli pepper (*Capsicum annum*). *Agro-Science*, 22(2), 1-6.
- Dewi, E., Rosmana, A., y Kuswinanti, T. (2021). The use of endophyte fungal isolates in controlling *Fusarium oxysporum*, the causal agent of wilt disease on chilli (*Capsicum annum*). In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 807(2), 022104.
- Dhanasekaran, D., Thajuddin, N., y Panneerselvam, A. (2012). Applications of actinobacterial fungicides in agriculture and medicine. *Fungicides for Plant and Animal Diseases. Intech. Croatia*, 298, 29-54.
- Divya, K., Rebello, S., y Jisha, M. S. (2014). A simple and effective method for extraction of high purity chitosan from shrimp shell waste. In *Proceedings of the international conference on advances in applied science and environmental engineering-ASEE*, 141-145.
- Dubin, A., Likhanov, A., Klyachenko, O., Subin, A., y Kluvadenko, A. (2020). Effect of chitosan formulations of different biological origin on tobacco (*Nicotiana*

- 
- tabacum* L.) PR-genes expression. *Journal of microbiology, biotechnology and food sciences*, 9(6), 1141-1144.
- Dutta, J., Tripathi, S., y Dutta, P. K. (2012). Progress in antimicrobial activities of chitin, chitosan and its oligosaccharides: a systematic study needs for food applications. *Food Science and Technology International*, 18(1), 3-34.
- Dutta, P. K., Tripathi, S., Mehrotra, G. K., y Dutta, J. (2009). Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications. *Food chemistry*, 114(4), 1173-1182.
- El-Debaiky, S. A. (2017). Antagonistic studies and hyphal interactions of the new antagonist *Aspergillus piperis* against some phytopathogenic fungi *in vitro* in comparison with *Trichoderma harzianum*. *Microbial pathogenesis*, 113, 135-143.
- El-Knidri, H., Laajeb, A., y Lahsini, A. (2020). Chitin and chitosan: chemistry, solubility, fiber formation, and their potential applications. *In Handbook of Chitin and Chitosan*, 35-57.
- Endriyas, G., Daniel, T., y Getachew, A. (2020). Cultural, morphological and pathogenic variability among isolates of *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici* causing wilt of Hot Pepper in Central Rift Valley. Ethiopia. *Journal of Plant Pathology and Microbiology*, 11(6), 1-12.
- Ezziyyani, M., Sánchez, C. P., Ahmed, A. S., Requena, M. E., y Castillo, M. E. C. (2004). *Trichoderma harzianum* como biofungicida para el biocontrol de *Phytophthora capsici* en plantas de pimiento (*Capsicum annum* L.). *Anales de biología*, 26, 35-45.
- Fan, W., Yan, W., Xu, Z., y Ni, H. (2012). Formation mechanism of monodisperse, low molecular weight chitosan nanoparticles by ionic gelation technique. *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*, 90, 21-27.
- Fernández, O., y Vega, L. (2001). Microorganismos antagonistas para el control fitosanitario. *Manejo Integrado de Plagas*, 62, 96-100.
- Fernández-Gamarra, M. A., Maidana Ojeda, M., y Enciso Maldonado, G. A. (2017). Molecular identification and growth rate of native strains of *Trichoderma*
-

- 
- spp. isolated from the Northern Region of Paraguay. *Investigación Agraria*, 19(2), 127-132.
- Ferniah, R. S., Daryono, B. S., Kasiamdari, R. S., y Priyatmojo, A. (2014). Characterization and pathogenicity of *Fusarium oxysporum* as the Causal Agent of *Fusarium* wilt in chili (*Capsicum annuum* L.). *Microbiology Indonesia*, 8(3), 5.
- Fravel, D. R., Deahl, K. L., y Stommel, J. R. (2005). Compatibility of the biocontrol fungus *Fusarium oxysporum* strain CS-20 with selected fungicides. *Biological Control*, 34(2), 165-169.
- Frutos, I., Cadahía, C., y Eymar, E. (2009). El análisis de savia como método de diagnóstico nutricional. *Agricultura Revista Agropecuaria*, 922(5), 724-728.
- Gabrekiristos, E., Teshome, D., y Ayana, G. (2020). Cultural, morphological and pathogenic variability among isolates of *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici* causing wilt of hot pepper in Central Rift Valley, Ethiopia. *Plant Pathol Microbiol*, 11, 499.
- Gabrekiristos, E., y Demiyo, T. (2020). Hot pepper *Fusarium* wilt (*Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici*): Epidemics, characteristic features and management options. *J. Agric. Sci*, 12(10), 347-360.
- Gai, Q. Y., Jiao, J., Wang, X., Liu, J., Wang, Z. Y., y Fu, Y. J. (2019). Chitosan promoting formononetin and calycosin accumulation in *Astragalus membranaceus* hairy root cultures via mitogen-activated protein kinase signaling cascades. *Scientific Reports*, 9(1), 10367.
- Gallego-Albiach, V., y Pérez-Igualada, L. M. (2021). *Estimación de la densidad celular mediante el uso de cámaras de recuento. Instituto de Ciencia y Tecnología Animal*. (Consultado el 23 de noviembre de 2023). <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/169378/GallegoPerez%20-%20Estimacion%20de%20la%20Densidad%20Celular.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Galletti, S., Paris, R., y Cianchetta, S. (2020). Selected isolates of *Trichoderma gamsii* induce different pathways of systemic resistance in maize upon *Fusarium verticillioides* challenge. *Microbiological Research*, 233, 126406.
-

- 
- García, L. G. S., De Melo Guedes, G. M., Da Silva, M. L. Q., Castelo-Branco, D. S. C. M., Sidrim, J. J. C., De Aguiar Cordeiro, R.,... y Brilhante, R. S. N. (2018). Effect of the molecular weight of chitosan on its antifungal activity against *Candida* spp. in planktonic cells and biofilm. *Carbohydrate polymers*, 195, 662-669.
- González-Vargas, J. (2024). *El análisis de Savia como ayuda a la fertilización*. (Consultado el 20 de agosto de 2024). <https://www.haifa-group.com/es/haifa-blog/el-analisis-de-savia-como-ayuda-la-fertilizaci%C3%B3n>
- Gordon, T. R. (2017). *Fusarium oxysporum* and the *Fusarium* wilt syndrome. *Annual review of phytopathology*, 55(1), 23-39.
- Guan, Y. J., Hu, J., Wang, X. J., y Shao, C. X. (2009). Seed priming with chitosan improves maize germination and seedling growth in relation to physiological changes under low temperature stress. *Journal of Zhejiang University Science B*, 10, 427-433.
- Güçlü, T., y Özer, N. (2022). *Trichoderma harzianum* antagonistic activity and competition for seed colonization against seedborne pathogenic fungi of sunflower. *Letters in Applied Microbiology*, 74(6), 1027-1035.
- Guédez, C., Castillo, C., Cañizales, L., y Olivar, R. (2008). Control biológico: una herramienta para el desarrollo sustentable y sostenible. *Academia*, 7(13), 50-74.
- Guigón-López, C., Guerrero-Prieto, V., Vargas-Albores, F., Carvajal-Millán, E., Ávila-Quezada, G. D., Bravo-Luna, L.,... y Lorito, M. (2010). Identificación molecular de cepas nativas de *Trichoderma* spp. su tasa de crecimiento *in vitro* y antagonismo contra hongos fitopatógenos. *Revista mexicana de fitopatología*, 28(2), 87-96.
- Guzmán-Guzmán, P., Porrás-Troncoso, M. D., Olmedo-Monfil, V., y Herrera-Estrella, A. (2019). *Trichoderma* species: versatile plant symbionts. *Phytopathology*, 109(1), 6-16.
- Hahn, T., Egger, J., Krake, S., Dyballa, M., Stegbauer, L., von Seggern, N.,... y Zibek, S. (2024). Comprehensive characterization and evaluation of the

- 
- process chain and products from *Euphausia superba* exocuticles to chitosan. *Journal of Applied Polymer Science*, 141(2), e54789.
- Hahn, T., Tafi, E., Paul, A., Salvia, R., Falabella, P., y Zibek, S. (2020). Current state of chitin purification and chitosan production from insects. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 95(11), 2775-2795.
- Hahn, T., Tafi, E., Paul, A., Salvia, R., Falabella, P., y Zibek, S. (2020). Current state of chitin purification and chitosan production from insects. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 95(11), 2775-2795.
- Hami, A., Rasool, R. S., Khan, N. A., Mansoor, S., Mir, M. A., Ahmed, N., y Masoodi, K. Z. (2021). Morphomolecular identification and first report of *Fusarium equiseti* in causing chilli wilt from Kashmir (Northern Himalayas). *Scientific Reports*, 11(1), 3610.
- Harman, G. E., Howell, C. R., Viterbo, A., Chet, I., y Lorito, M. (2004). *Trichoderma* species opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature reviews microbiology*, 2(1), 43-56.
- Herbario Nacional de México (MEXU). (2019). *Capsicum annum* L., Plantas Vasculares. En Portal de Datos Abiertos UNAM (en línea), México, Universidad Nacional Autónoma de México. (Consultado el 20 de mayo de 2024). <https://datosabiertos.unam.mx/IBUNAM:MEXU:635840>
- Hernández-Amasifuen, A. D., Pineda Lázaro, A. J., y Noriega-Córdova, H. W. (2019). Aislamiento e identificación de *Fusarium oxysporum* obtenidos de zonas productoras de ají paprika *Capsicum annum* L. (Solanaceae) en el distrito de Barranca, Perú. *Arnaldoa*, 26(2), 689-698.
- Hernández-Hernández, I., Medina-Miranda, E., Pérez-Pérez, R., Chávez-Avilés, M. N., y Sánchez-Calderón, L. (2022). Etiología de la marchitez del chile (*Capsicum annum* L.) de una zona productora de Zacatecas, México. *Ciencia Transdisciplinar en la Nueva Era*, 84.
- Hewedy, O. A., Abdel-Lateif, K. S., y Bakr, R. A. (2020). Genetic diversity and biocontrol efficacy of indigenous *Trichoderma* isolates against *Fusarium* wilt of pepper. *Journal of basic microbiology*, 60(2), 126-135.
-

- 
- Hosney, A., Ullah, S., y Barčauskaitė, K. (2022). A review of the chemical extraction of chitosan from shrimp wastes and prediction of factors affecting chitosan yield by using an artificial neural network. *Marine Drugs*, 20(11), 675.
- Howell, C. R. (2003). Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. *Plant disease*, 87(1), 4-10.
- Hu, Z. (2020). What socio-economic and political factors lead to global pesticide dependence? a critical review from a social science perspective. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(21), 8119.
- Huang, X., Chen, L., Ran, W., Shen, Q., y Yang, X. (2011). *Trichoderma harzianum* strain SQR-T37 and its bio-organic fertilizer could control *Rhizoctonia solani* damping-off disease in cucumber seedlings mainly by the mycoparasitism. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 91, 741-755.
- Huarhua, M., Aragón, L., Flores, J., Tsuzuki, R., y Arie, T. (2020). Primer reporte de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* raza 1 aislada de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) proveniente de la Costa central del Perú. *Scientia fungorum*, 50.
- Hussain, M. R., Iman, M., Maji, T. K. (2013). Determination of degree of deacetylation of chitosan and their effect on the release behavior of essential oil from chitosan and chitosan-gelatin complex microcapsules. *Int. J. Adv. Eng. Appl*, 6(4), 4-12.
- Ibrahim, M.A., Mostafa, S.M. y Ibrahim, S.M. (2019). Effect of some extraction techniques on properties and economic of chitosan obtained from shrimp shells waste. *Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries*, 23(2), 123-131.
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). (2010). *Compendio de información geográfica municipal, Loma Bonita, Oaxaca*. (Consultado el 20 de enero de 2024).
-

---

[https://www.inegi.org.mx/contenidos/app/mexicocifras/datos\\_geograficos/20/20044.pdf](https://www.inegi.org.mx/contenidos/app/mexicocifras/datos_geograficos/20/20044.pdf)

- Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). (2020). *Espacio y datos de México*. (Consultado el 20 de enero de 2024). <https://www.inegi.org.mx/app/mapa/espacioydatos/>
- Instituto para la Innovación Tecnológica en Agricultura (INTAGRI). (2020). *Cultivo de Chile en México*. Serie Hortalizas, 21. Artículos Técnicos de INTAGRI. (Consultado el 28 de abril de 2023). <https://www.intagri.com/articulos/hortalizas/cultivo-de-chile-en-mexico>
- Jahan, N., Sultana, S., Adhikary, SK, Rahman, S., y Yasmin, S. (2013). Evaluación del rendimiento de crecimiento de *Trichoderma harzianum* (Rifai.) en diferentes medios de cultivo. *J. Agri. Vet. Sci*, 3, 44-50.
- Jang, H. H., Lee, J., Lee, S. H., y Lee, Y. M. (2020). Effects of *Capsicum annum* supplementation on the components of metabolic syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Scientific reports*, 10(1), 20912.
- Jangir, P., Mehra, N., Sharma, K., Singh, N., Rani, M., y Kapoor, R. (2021). Secreted in xylem genes: drivers of host adaptation in *Fusarium oxysporum*. *Frontiers in plant science*, 12, 628611.
- Jiang, Y., Wang, J. L., Chen, J., Mao, L. J., Feng, X. X., Zhang, C. L., y Lin, F. C. (2016). *Trichoderma* biodiversity of agricultural fields in east China reveals a gradient distribution of species. *PLoS One*, 11(8), e0160613.
- Jiménez-Gómez, C. P., y Cecilia, J. A. (2020). Chitosan: a natural biopolymer with a wide and varied range of applications. *Molecules*, 25(17), 3981.
- Joshi, M., Srivastava, R., Sharma, A. K., y Prakash, A. (2012). Screening of resistant varieties and antagonistic *Fusarium oxysporum* for biocontrol of *Fusarium* wilt of chilli. *Journal of Plant Pathology and Microbiology*, 03(05), 1-6.
- Joshi, R. (2018). A review of *Fusarium oxysporum* on its plant interaction and industrial use. *J. Med. Plants Stud*, 6(3), 112-115.

- 
- Kang, Z., Huang, L., y Buchenauer, H. (2001). Ultrastructural and cytochemical studies of effects of the fungicide metconazole on *Fusarium culmorum* *in vitro*. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 108, 419-432.
- Karličić, V., Jovičić-Petrović, J., Marojević, V., Zlatković, M., Orlović, S., y Raičević, V. (2020). Potential of *Trichoderma* spp. and *Pinus sylvestris* bark extracts as biocontrol agents against fungal pathogens residing in the Botryosphaerales. *Environmental Sciences Proceedings*, 3(1), 99.
- Kashyap, P. L., Solanki, M. K., Kushwaha, P., Kumar, S., y Srivastava, A. K. (2020). Biocontrol potential of salt-tolerant *Trichoderma* and *Hypocrea* isolates for the management of tomato root rot under saline environment. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 20, 160-176.
- Ke, C. L., Liao, Y. T., y Lin, C. H. (2021). MSS2 maintains mitochondrial function and is required for chitosan resistance, invasive growth, biofilm formation and virulence in *Candida albicans*. *Virulence*, 12(1), 281-297.
- Klinger, C., Żółtowska-Aksamitowska, S., Wysokowski, M., Tsurkan, M. V., Galli, R., Petrenko, I.,... y Ehrlich, H. (2019). Express method for isolation of ready-to-use 3D chitin scaffolds from *Aplysina archeri* (Aplysineidae: *Verongiida*) Demosponge. *Marine drugs*, 17(2), 131.
- Köhl, J., Kolnaar, R., y Ravensberg, W. J. (2019). Mode of action of microbial biological control agents against plant diseases: relevance beyond efficacy. *Frontiers in plant science*, 10, 845.
- Kole, R. K., Roy, K., Panja, B. N., Sankarganesh, E., Mandal, T., y Worede, R. E. (2019). Use of pesticides in agriculture and emergence of resistant pests. *Indian J. Anim. Hlth*, 58(2), 53-70.
- Kopacki, M., y Wagner, A. (2006). Effect of some fungicides on mycelium growth of *Fusarium avenaceum* (Fr.) Sacc. pathogenic to chrysanthemum (*Dendranthema grandiflora* Tzvelev). *Agronomy Research*, 4, 237-240.
- Kraft, K. H., Brown, C. H., Nabhan, G. P., Luedeling, E., Luna Ruiz, J. D. J., Coppens d'Eeckenbrugge, G.,... y Gepts, P. (2014). Multiple lines of evidence for the origin of domesticated chili pepper, *Capsicum annuum*, in

- 
- Mexico. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(17), 6165-6170.
- Kumar, A., Chaturvedi, A. K., Yadav, K., Arunkumar, K. P., Malyan, S. K., Raja, P.,... y Yadav, A. N. (2019). Fungal phytoremediation of heavy metal-contaminated resources: current scenario and future prospects. *Recent advancement in white biotechnology through fungi: Volume 3: Perspective for sustainable environments*, 437-461.
- Kumariya, R., Sood, S. K., Rajput, Y. S., Saini, N., y Garsa, A. K. (2015). Increased membrane surface positive charge and altered membrane fluidity leads to cationic antimicrobial peptide resistance in *Enterococcus faecalis*. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1848(6), 1367-1375.
- Laatikainen, T., y Heinonen-Tanski, H. (2002). Mycorrhizal growth in pure cultures in the presence of pesticides. *Microbiol. Res.*, 157(2), 127-137.
- Leksono, T., Mus, S., y Annisa, Z. (2019). Antibacterial Potential of Chitosan Extracted from Rama Shrimp (*Thalassina Anomala*) Carapace. *In Journal of Physics: Conference Series*, 1351 (1), 012088.
- Leslie, J. F., y Summerell, B. A. (2006). *The Fusarium laboratory manual*. Blackwell Publishing.  
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/book/10.1002/9780470278376>
- Leyva-Mir, S. G., Gutiérrez-Salazar, J. D., Camacho-Tapia, M., Aguilar-Pérez, L. A., García-López, E., y Tovar-Pedraza, J. M. (2018). *Fusarium oxysporum*, agente causal de la marchitez de estevia en Veracruz, México. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 9(1), 245-250.
- Li, C. (2022) Ecology and Disease Cycle of *Fusarium oxysporum*. *J Plant Pathol Microbiol.* 13, 647
- Lichtfouse, E., Morin-Crini, N., Fourmentin, M., Zemmouri, H., Oliveira do Carmo Nascimento, I., Queiroz, L. M.,... y Crini, G. (2019). Chitosan for direct bioflocculation processes. *Sustainable Agriculture Reviews 36: Chitin and Chitosan: Applications in Food, Agriculture, Pharmacy, Medicine and Wastewater Treatment*, 335-380.
-

- 
- Liu, F., Zhao, J., Sun, H., Xiong, C., Sun, X., Wang, X.,... y Zou, X. (2023). Los genomas de especies de *Capsicum* cultivadas y silvestres brindan información sobre la domesticación del pimiento y la diferenciación de poblaciones. *Nature Communications*, 14 (1), 5487.
- Liu, R., Chen, M., Gao, J., Luo, M., y Wang, G. (2023a). Identification of antagonistic fungi and their antifungal activities against aconite root rot pathogens. *Plant Signaling and Behavior*, 18(1), 2211852.
- Liyanage, C. S., Gonapinuwala, S. T., Fernando, C. A. N., y De Croos, M. D. S. T. (2022). Physico-chemical properties of chitosan extracted from Whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) processing shell waste in Sri Lanka. *Sri Lanka J Aquat Sci*, 27(2), 23-36.
- López-Bautista, V., Mora-Aguilera, G., Gutiérrez-Espinosa, M. A., Mendoza-Ramos, C., Martínez-Bustamante, V. I., Coria-Contreras, J. J.,... y Santana-Peñaloza, B. (2020). Caracterización morfológica y molecular de *Fusarium* spp. asociados a la ocurrencia regional de marchitez y pudrición seca del cogollo en *Agave tequilana*. *Revista mexicana de fitopatología*, 38(1), 79-106.
- Lopez-Moya, F., Suarez-Fernandez, M., y Lopez-Llorca, L. V. (2019). Molecular mechanisms of chitosan interactions with fungi and plants. *International journal of molecular sciences*, 20(2), 332.
- López-Orona, C. A., Hernández-Verdugo, S., Velarde-Félix, S., Garzón-Tiznado, J. A., Sy, O., y Retes-Manjarrez, J. E. (2019). Cross pathogenicity of *Fusarium oxysporum* isolated from peppers. *European Journal of Plant Pathology*, 154, 1111-1123.
- Lukum, A., Paramata, Y., Botutihe, D. N., Akume, J., Sukanto, K., y Paramata, A. R. (2020, November). Development of Bioadsorbent Chitosan from Shrimp Shell Waste to Mercury Absorption Efficiency. *In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 589 (1), 012018.
- Luo, Q., Wang, Y., Han, Q., Ji, L., Zhang, H., Fei, Z., y Wang, Y. (2019). Comparison of the physicochemical, rheological, and morphologic

- 
- properties of chitosan from four insects. *Carbohydrate Polymers*, 209, 266-275.
- Malerba, M., y Cerana, R. (2016). Chitosan effects on plant systems. *International journal of molecular sciences*, 17(7), 996.
- Mao, X., Guo, N., Sun, J., y Xue, C. (2017). Comprehensive utilization of shrimp waste based on biotechnological methods: A review. *Journal of Cleaner Production*, 143, 814-823.
- Marra, R., Lombardi, N., Piccolo, A., Bazghaleh, N., Prashar, P., Vandenberg, A., y Woo, S. (2021). Mineral biofortification and growth stimulation of lentil plants inoculated with *Trichoderma* strains and metabolites. *Microorganisms*, 10(1), 87.
- Martínez, T. D. L. Á. L., Aguilera, L. A. P., y Silva, H. D. D. (2022). Reproducción masiva de hongos trichodermas previamente identificados de suelos Nicaragüenses en diferentes sustratos orgánicos. *Nexo Revista Científica*, 35(03), 700-712.
- Martínez-Álvarez, P., Alves Santos, F. M., y Díez Casero, J. J. (2012). *In vitro* and *in vivo* interactions between *Trichoderma viride* and *Fusarium circinatum*. *Silva Fennica*, 46(3), 303-316.
- Martínez-Martínez, T. O., Guerrero-Aguilar, B. Z., Pecina-Quintero, V., Rivas-Valencia, P., González-Pérez, E., y Angeles-Núñez, J. G. (2020). Antagonismo de *Trichoderma harzianum* contra la fusariosis del garbanzo y su efecto biofertilizante. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 11(5), 1135-1147.
- Matas Baca, M. Á., Flores-Córdova, M. A., Pérez Álvarez, S., Rodríguez Roque, M. J., Salas Salazar, N. A., Soto Caballero, M. C., y Sánchez Chávez, E. (2023). *Trichoderma* fungi as an agricultural biological control in Mexico. *Revista Chapingo. Serie horticultura*, 29(3), 79-114.
- Matas-Baca, M. Á., Flores-Córdova, M. A., Pérez Álvarez, S., Rodríguez Roque, M. J., Salas Salazar, N. A., Soto Caballero, M. C., y Sánchez Chávez, E. (2023). *Trichoderma* fungi as an agricultural biological control in Mexico. *Revista Chapingo. Serie horticultura*, 29(3), 79-114.
-

- 
- Mate, D., Ramlunalanaglu, K., Pimple, B., Vadge, S., Kuchekar, M., Nipate, S.,... y Baheti, D. (2023). Comparative evaluation of lipsticks developed using isolated pigments of *Capsicum annuum* and *Lycopersicon esculentum* fruits and various natural bases. *Int. J. Exp. Res. Rev*, 30, 352-358.
- Mauch-Mani, B., Baccelli, I., Luna, E., y Flors, V. (2017). Defense priming: an adaptive part of induced resistance. *Annual review of plant biology*, 68(1), 485-512.
- Mawale, K. S., y Giridhar, P. (2024). Chitosan nanoparticles modulate plant growth, and yield, as well as thrips infestation in *Capsicum* spp. *International Journal of Biological Macromolecules*, 254, 127682.
- Mazrou, Y. S., Makhlof, A. H., Elseehy, M. M., Awad, M. F., y Hassan, M. M. (2020). Antagonistic activity and molecular characterization of biological control agent *Trichoderma harzianum* from Saudi Arabia. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 30, 1-8.
- Meena, M., Swapnil, P., Zehra, A., Dubey, M. K., y Upadhyay, R. S. (2017). Antagonistic assessment of *Trichoderma* spp. by producing volatile and non-volatile compounds against different fungal pathogens. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 50(13-14), 629-648.
- Meena, R. S., Kumar, S., Datta, R., Lal, R., Vijayakumar, V., Brtnicky, M.,... y Marfo, T. D. (2020). Impact of agrochemicals on soil microbiota and management: A review. *Land*, 9(2), 34.
- Meher, J., Rajput, R. S., Bajpai, R., Teli, B., y Sarma, B. K. (2020). *Trichoderma*: A globally dominant commercial biofungicide. *Trichoderma: Agricultural applications and beyond*, 195-208.
- Mejdoub-Trabelsi, B., Touihri, S., Ammar, N., Riahi, A., y Daami-Remadi, M. (2020). Effect of chitosan for the control of potato diseases caused by *Fusarium* species. *Journal of Phytopathology*, 168(1), 18-27.
- Menge, Y. S., Patil, P. D., Gadhave, A. D., Giri, V. V., y Phondekar, U. R. (2020). Integrated disease management for chili wilt caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici*, in wilt sick pots. *Int. J. Crop Sci*, 8, 2114-2117.

- 
- Merck KgaA. (2024). *Quitosano*. (Consultado el 12 de agosto de 2024). [https://www.sigmaaldrich.com/MX/es/product/aldrich/448869?utm\\_source=google&utm\\_medium=cpc&utm\\_campaign=10640609502&utm\\_content=106176341998&gclid=Cj0KCQjw5ea1BhC6ARIsAEOG5pxpVyu8F7Mudmla yGGVaHM67NZAadtKgZl1ZgCv\\_\\_T\\_648mz9yApBlaAiEbEALw\\_wcB](https://www.sigmaaldrich.com/MX/es/product/aldrich/448869?utm_source=google&utm_medium=cpc&utm_campaign=10640609502&utm_content=106176341998&gclid=Cj0KCQjw5ea1BhC6ARIsAEOG5pxpVyu8F7Mudmla yGGVaHM67NZAadtKgZl1ZgCv__T_648mz9yApBlaAiEbEALw_wcB)
- Miguel-Ferrer, L., Romero-Arenas, O., Andrade-Hoyos, P., Sánchez-Morales, P., Rivera-Tapia, J. A., y Fernández-Pavía, S. P. (2021). Actividad antifúngica de *Trichoderma harzianum* y *T. koningiopsis* contra *Fusarium solani* asociado en la germinación y vigor de plántulas de chile Mihuateco. *Revista mexicana de fitopatología*, 39(2), 228-247.
- Mironenka, J., Różalska, S., Soboń, A., y Bernat, P. (2021). *Trichoderma harzianum* metabolites disturb *Fusarium culmorum* metabolism: Metabolomic and proteomic studies. *Microbiological Research*, 249, 126770.
- Mitra, B., Chowdhury, A. R., Dey, P., Hazra, K. K., Sinha, A. K., Hossain, A., y Meena, R. S. (2021). Use of agrochemicals in agriculture: alarming issues and solutions. *Input use efficiency for food and environmental security*, 85-122.
- Mittal, A., Singh, A., Aluko, R. E., y Benjakul, S. (2021). Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) shell chitosan and the conjugate with epigallocatechin gallate: Antioxidative and antimicrobial activities. *Journal of food biochemistry*, 45(1), e13569.
- Molina, V. H. S., Méndez, J. L. A., y Canché, J. M. P. (2019). Un año de observaciones meteorológicas en Loma Bonita, Oax., México; una referencia climatológica para su industria agropecuaria. *Revista Biológico Agropecuaria Tuxpan*, 7(2), 206-221.
- Morales-Mora, L. A., Andrade-Hoyos, P., Valencia-de Ita, M., Romero-Arenas, O., Silva-Rojas, H. V., y Contreras-Paredes, C. A. (2020). Characterization of strawberry associated fungi and in vitro antagonistic effect of *Trichoderma harzianum*. *Revista mexicana de fitopatología*, 38(3), 434-449.
-

- 
- Morales-Rodríguez, I., de Yañz-Morales, M. J., Silva-Rojas, H. V., García-de-Los-Santos, G., y Guzman de Pena, D. A. (2007). Biodiversity of *Fusarium* species in México associated with ear rot in maize, and their identification using a phylogenetic approach. *Mycopathologia*, 163, 31-39.
- Moreno, J. A. S., Mendes, A. C., Stephansen, K., Engwer, C., Goycoolea, F. M., Boisen, A.,... y Chronakis, I. S. (2018). Development of electro sprayed mucoadhesive chitosan microparticles. *Carbohydrate polymers*, 190, 240-247.
- Mukherjee, P. K., Hurley, J. F., Taylor, J. T., Puckhaber, L., Lehner, S., Druzhinina, I.,... y Kenerley, C. M. (2018). Ferricrocin, the intracellular siderophore of *Trichoderma virens*, is involved in growth, conidiation, gliotoxin biosynthesis and induction of systemic resistance in maize. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 505(2), 606-611.
- Mukherjee, P. K., Mendoza-Mendoza, A., Zeilinger, S., y Horwitz, B. A. (2022). Mycoparasitism as a mechanism of *Trichoderma*-mediated suppression of plant diseases. *Fungal Biology Reviews*, 39, 15-33.
- Naher, L., Yusuf, U. K., Ismail, A., y Hossain, K. (2014). *Trichoderma* spp.: a biocontrol agent for sustainable management of plant diseases. *Pak. J. Bot*, 46(4), 1489-1493.
- Nelson, P. E., Toussoun, T. A., y Marasas, W. (1983). *Fusarium species: an illustrated manual for identification*. Pennsylvania State University Press.
- No, H. K., y Meyers, S. P. (1995). Preparation and characterization of chitin and chitosan-a review. *Journal of aquatic food product technology*, 4(2), 27-52.
- Öğretmen, Ö. Y., Karsli, B., y Çağlak, E. (2022). Extraction and physicochemical characterization of chitosan from pink shrimp (*Parapenaeus longirostris*) shell wastes. *Journal of Agricultural Sciences*, 27-27.
- Oljira, T., y Berta, S. (2020). Isolation and Characterization of Wilt-Causing Pathogens of Local Growing Pepper (*Capsicum annum* L.) in Gurage Zone, Ethiopia. *International Journal of Agronomy*, 2020(1), 6638683.
- Orellana-Benavides, F.E., Escobar-Betancourt, J.C., Morales de Borja, A.J., Méndez de Salazar, I.E., Cruz-Valencia, R.A., y Castellón-Hernández,

- 
- M.E. (2012). *Cultivo de chile dulce*. Guía Técnica. Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal. El Salvador.
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). (2022). *Cultivos y productos de ganadería*. (Consultado el 30 de junio del 2024). <https://www.fao.org/faostat/es/#data/QV>
- Pacheco-Aguilar, R., Leyva-Soto, P., Carvallo-Ruiz, G., García-Carreño, L. F., y Márquez-Ríos, E. (2009). Efecto de la concentración de quitosano y pH sobre la remoción de sólidos en agua de cola de la industria sardinera. *Interciencia*, 34(4), 274-279.
- Palma-Guerrero, J., Lopez-Jimenez, J. A., Pérez-Berná, A. J., Huang, I. C., Jansson, H. B., Salinas, J.,... y Lopez-Llorca, L. V. (2010). Membrane fluidity determines sensitivity of filamentous fungi to chitosan. *Molecular microbiology*, 75(4), 1021-1032.
- Palma-Guerrero, J., Jansson, H. B., Salinas, J., y Lopez-Llorca, L. V. (2008). Effect of chitosan on hyphal growth and spore germination of plant pathogenic and biocontrol fungi. *Journal of applied Microbiology*, 104(2), 541-553.
- Palma-Martínez, E., Aguilar-Rincón, V. H., Corona-Torres, T., y Gomez-Rodriguez, O. (2017). Resistance to *Phytophthora capsici* Leo. in Huacle pepper (*Capsicum annuum* L.) lines. *Rev. Fitotec. Mex*, 40 (3), 359-363.
- Park, B. K., y Kim, M. M. (2010). Applications of chitin and its derivatives in biological medicine. *International journal of molecular sciences*, 11(12), 5152-5164.
- Pastor de Abram, A., e Higuera, I. G. (2004). *Quitina y Quitosano: Obtención, caracterización y aplicaciones*. Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (CYTED). Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD). Resultados del proyecto CYTED IV, 14.
- Paul, S., Jayan, A., Sasikumar, C. S., y Cherian, S. M. (2014). Extraction and purification of chitosan from chitin isolated from sea prawn *Fenneropenaeus indicus*. *Extraction*, 7(4), 201-204.
- Peña-Tovar, E., y Pavone-Maniscalco, D. (2020). Efecto de *Trichoderma* spp. sobre el desarrollo de plántulas de *Capsicum annuum* L. (pimentón) y el
-

- 
- biocontrol del hongo fitopatógeno *Sclerotium* sp. *Agrobiología: Una visión general y sus aplicaciones*, 45-55.
- Peralta, Y. V., Tineo, P. A. G., Duarte, R. G. S., y Ruiz, A. A. A. (2024). Obtención de papel de quitosano a partir de cáscara de camarón. *Revista Ing-Nova*, 3(1), 34-47.
- Pérez, C. L. M., Castañón-Nájera, G., Ramírez-Meraz, M., y Mayek-Pérez, N. (2015). Avances y perspectivas sobre el estudio del origen y la diversidad genética de *Capsicum* spp. *Ecosistemas y recursos agropecuarios*, 2(4), 117-128.
- Pérez, W. y G. Forbes. (2008). *El Tizón tardío de la papa*. Centro Internacional de la Papa (CIP), Lima Perú.
- Pérez-Torres, E. J., Bernal Cabrera, A., Milanés Virelles, P., Leiva Mora, M., Sierra Reyes, Y., y Cupull Santana, R. (2017). Actividad antagónica de *Trichoderma harzianum* Rifai sobre el agente causal del tizón del arroz (*Pyricularia grisea* Sacc.). *Centro Agrícola*, 44(3), 13-19.
- Pichyangkura, R., y Chadchawan, S. (2015). Biostimulant activity of chitosan in horticulture. *Scientia Horticulturae*, 196, 49-65.
- Pineda-Insuasti, J. A., Benavides-Sotelo, E. N., Duarte-Trujillo, A. S., Burgos-Rada, C. A., Soto-Arroyave, C. P., Pineda-Soto, C. A.,... y Álvarez-Ramos, S. E. (2017). Producción de biopreparados de *Trichoderma* spp: una revisión. *ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*, 51(1), 47-52.
- Pirbalouti, A. G., Malekpoor, F., Salimi, A., y Golparvar, A. (2017). Exogenous application of chitosan on biochemical and physiological characteristics, phenolic content and antioxidant activity of two species of basil (*Ocimum ciliatum* and *Ocimum basilicum*) under reduced irrigation. *Scientia horticulturae*, 217, 114-122.
- Proain. (2020a). *Factores importantes en la producción de pimiento*. (Consultado el 20 de enero de 2024). <https://proain.com/blogs/notas-tecnicas/factores-importantes-en-la-produccion-de-pimiento>
-

- 
- Proain. (2020b). *Principales plagas y enfermedades del chile serrano*. (Consultado el 25 de enero de 2024). <https://proain.com/blogs/notas-tecnicas/principales-plagas-y-enfermedades-del-chile-serrano>
- Puvvada, Y. S., Vankayalapati, S., y Sukhavasi, S. (2012). Extraction of chitin from chitosan from exoskeleton of shrimp for application in the pharmaceutical industry. *International Current Pharmaceutical Journal*, 1(9), 258-263.
- Qin, Y., Li, P., y Guo, Z. (2020). Cationic chitosan derivatives as potential antifungals: A review of structural optimization and applications. *Carbohydrate polymers*, 236, 116002.
- Rasweefali, M. K., Sabu, S., Azad, K. M., Rahman, M. R., Sunooj, K. V., Sasidharan, A., y Anoop, K. K. (2022). Influence of deproteinization and demineralization process sequences on the physicochemical and structural characteristics of chitin isolated from Deep-sea mud shrimp (*Solenocera hextii*). *Advances in Biomarker Sciences and Technology*, 4, 12-27.
- Rendina, N., Nuzzaci, M., Scopa, A., Cuypers, A., y Sofo, A. (2019). Chitosan-elicited defense responses in Cucumber mosaic virus (CMV)-infected tomato plants. *Journal of plant physiology*, 234, 9-17.
- Retana, K., Ramírez-Coché, J.A., Castro, O., y Blanco-Meneses, M. (2018). Caracterización morfológica y molecular de *Fusarium oxysporum* F. SP. *Apii* asociado a la marchitez del apio en Costa Rica. *Agronomía Costarricense*, 42.
- Reyes-Pérez, J. J., Enríquez-Acosta, E. A., Ramírez-Arrebato, M. Á., Zúñiga Valenzuela, E., Lara-Capistrán, L., y Hernández-Montiel, L. G. (2020). Efecto del quitosano sobre variables del crecimiento, rendimiento y contenido nutricional del tomate. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 11(3), 457-465.
- Reyes-Perez, J., Murillo-Amador, B., Pettao, R. K. M., Almea, M. A. M., Sánchez, E. A., y Palacios-Espinosa, A. (2023). Effect of chitosan on growth and productive parameters in broccoli plants (*Brassica oleracea* L. var. *Calabrese*).
-

- 
- Rodas-Pinochet, A. (2020). *La savia da la orden de cuando regar*. (Consultado el 20 de agosto de 2024). [https://www.engormix.com/agricultura/gestion-agua-agricultura/savia-orden-cuando-regar\\_a45389/](https://www.engormix.com/agricultura/gestion-agua-agricultura/savia-orden-cuando-regar_a45389/)
- Rodrigo-Hernández, M. C. (2005). *El análisis rápido de nitrato en savia como herramienta para el manejo de la fertilización nitrogenada en los cultivos hortícolas*. In I Jornadas del Grupo de fertilización de la SECH. Sistemas de recomendación de abonado. 48-55. SECH.
- Rodríguez-García, D., y Wang-Wong, A. (2020). Efectividad a nivel *in vitro* de *Trichoderma* spp. Nativos e importados contra *Fusarium oxysporum*. *Agronomía Costarricense*, 44(2), 109-125.
- Romero, O., Tello I. Damián MA, Villareal O., Aragón A. y Parraguirre C. (2013). Identification and Evaluation of soils in Tetela de Ocampo, Puebla. *International Research Journal of Biological Sciences*, 2(4), 1-7.
- Romero-Arenas, O., Huerta Lara, M., Damián Huato, M. A., Domínguez Hernández, F., y Arellano Victoria, D. A. (2009). Características de *Trichoderma harzianum*, como agente limitante en el cultivo de hongos comestibles. *Revista colombiana de Biotecnología*, 11(2), 143-151.
- Romero-Serrano, A., y Pereira, J. (2020). Chitosan, a versatil biomaterial. State of the art from its obtaining to its multiple applications. *INGENIERÍA UC*, 118-135.
- Rush, T. A., Shrestha, H. K., Gopalakrishnan Meena, M., Spangler, M. K., Ellis, J. C., Labbé, J. L., y Abraham, P. E. (2021). Bioprospecting *Trichoderma*: A systematic roadmap to screen genomes and natural products for biocontrol applications. *Frontiers in Fungal Biology*, 2, 716511.
- Sahi, I. Y., y Khalid, A. N. (2007). *In vitro* biological control of *Fusarium oxysporum* causing wilt in *Capsicum annuum*. *Mycopath*, 5(2).
- Saldaña-Mendoza, SA, Pacios-Michelena, S., Palacios-Ponce, AS, Chávez-González, ML, y Aguilar, CN (2023). *Trichoderma* como agente de control biológico: mecanismos de acción, beneficios para los cultivos y desarrollo de formulaciones. *Revista Mundial de Microbiología y Biotecnología*, 39(10), 269.
-

- 
- Samaniego-Fernández, L. M., Harouna, M., Corbea, O., Rondón-Castillo, A. J., y Placeres-Espinosa, I. (2018). Aislamiento, identificación y evaluación de cepas autóctonas de *Trichoderma* spp. antagonistas de patógenos del suelo. *Revista de Protección Vegetal*, 33(3).
- Sánchez, M. Á. A., Mejía, E. Z., Kawasoe, S. O., Espinosa, R. G., y Ureta, J. G. V. (2004). Pudrición de la corona del chile (*Capsicum annuum* L.) en Sinaloa, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 22(1), 22-29.
- Sánchez-Camargo, A. P., Meireles, M. Á. A., Lopes, B. L. F., y Cabral, F. A. (2011). Proximate composition and extraction of carotenoids and lipids from Brazilian redspotted shrimp waste (*Farfantepenaeus paulensis*). *Journal of Food Engineering*, 102(1), 87-93.
- Sánchez-López, V., Martínez Bolaños, L., Zavala González, E. A., y Ramírez Lepe, M. (2012). Nuevos registros de *Trichoderma crassum* para México y su variación morfológica en diferentes ecosistemas. *Revista mexicana de micología*, 36, 17-26.
- Savín-Molina, J., Hernández-Montiel, L. G., Ceiro-Catasú, W., Ávila-Quezada, G. D., Palacios-Espinosa, A., Ruiz-Espinoza, F. H., y Romero-Bastidas, M. (2021). Morphological characterization and biocontrol potential of *Trichoderma* species isolated from semi-arid soils. *Revista mexicana de fitopatología*, 39(3), 435-451.
- Schisler, D. A., Slininger, P. J., Behle, R. W., y Jackson, M. A. (2004). Formulation of *Bacillus* spp. for biological control of plant diseases. *Phytopathology*, 94(11), 1267-1271.
- Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER). (2021). *Creció 2.7 por ciento la producción de chile verde en México en 2020 y registra mayor demanda en los mercados internacionales*. (Consultado el 28 de abril de 2023). <https://www.gob.mx/agricultura/prensa/crecio-2-7-por-ciento-la-produccion-de-chile-verde-en-mexico-en-2020-y-registra-mayor-demanda-en-los-mercados-internacionales?idiom=es>
- Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER). (2023). *México, cuna del chile*. (Consultado el 20 de mayo de 2024).
-

---

<https://www.gob.mx/agricultura/es/articulos/mexico-cuna-del-chile?idiom=es/>

Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER, 2022). *Cultivemos chile, pero de cuál va a querer... ¿del que pica o del que no pica?*. (Consultado el 20 de mayo de 2023).

<https://www.gob.mx/agricultura/articulos/cultivemos-chile-pero-de-cual-va-a-querer-del-que-pica-o-del-que-no-pica>

Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). (2023). *Anuario Estadístico de la Producción Agrícola*. (Consultado el 30 de junio de 2024).

<https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>

Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). (2023). *Monografías de productos agroalimentarios mexicanos (Chile verde)*. (Consultado el 20 de enero de 2024). <https://www.gob.mx/siap/documentos/monografias>

Shahrajabian, M. H., Chaski, C., Polyzos, N., Tzortzakis, N., y Petropoulos, S. A. (2021). Sustainable agriculture systems in vegetable production using chitin and chitosan as plant biostimulants. *Biomolecules*, 11(6), 819.

Sharma, B. L., Singh, S. P., y Sharma, M. L. (2012). Bio-degradation of crop residues by *Trichoderma* species vis-à-vis nutrient quality of the prepared compost. *Sugar Tech*, 14(2), 174-180.

Siordia-Grave, M.A., Figueroa-Espinoza, A., y Cárdenas-Cota, H.M. (2007). *Efecto de los componentes de seis medios de cultivo sólido sobre la velocidad de crecimiento de Trichoderma harzianum y su producción*. XII Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería. (Consultado el 05 de abril de 2024).

[https://smbb.mx/congresos%20smbb/morelia07/TRABAJOS/Area\\_II/Cartel es/CII-23.pdf](https://smbb.mx/congresos%20smbb/morelia07/TRABAJOS/Area_II/Cartel%20es/CII-23.pdf)

Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). (2010). *Un panorama del cultivo de chile*. (Consultado el 20 de marzo de 2022).

<http://infosiap.siap.gob.mx/images/stories/infogramas/100705-monografia-chile.pdf>

- 
- Steiner, A. A. (1961). A universal method for preparing nutrient solutions of a certain desired composition. *Plant and Soil*, 15, 134-154.
- Stewart, A., y Hill, R. (2014). Applications of *Trichoderma* in plant growth promotion. In *Biotechnology and biology of Trichoderma*, 415-428.
- Suty-Heinze, A., y Dutzmann, S. (2004). *Fusarium* head blight: an additional strength of prothioconazole. *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer*, 57, 265-283.
- Swart, E. D., Groenwold, R., Kanne, H. J., Stam, P., Marcelis, L. F. y Voorrips, R. E. (2004). Non-destructive estimation of leaf area for plants of different ages and accessions of *Capsicum annuum* L. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 79 (5), 764-770.
- Tian, B., y Liu, Y. (2020). Chitosan-based biomaterials: From discovery to food application. *Polymers for Advanced Technologies*, 31(11), 2408-2421.
- Tilahun, T., Abate, S., Tilahun, T., y Taye, M. (2024). Morphological variability of *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici* (FOC) isolates infecting pepper (*Capsicum annuum* L.) landraces in West Gojjam Zone, Ethiopia. *Cogent Food and Agriculture*, 10(1), 2322782.
- Tong, S. O. C. H. E. A. T. H., Buntong, B. O. R. A. R. I. N., Sophal, L. A. I. K. O. N. G., Vann, S., y Acedo Jr, A. (2021). Effects of Chemical Extraction Methods on Physicochemical Properties of Shrimp Chitosan. *Int. J. Environ. Rural Dev*, 12, 170-175.
- Torres, B. S. O., Torres, O. B., López, J. A. H., y Esteban, P. P. (2023). Obtención de quitosano a partir de residuos pesqueros y su valoración potenciométrica. *Brazilian Journal of Science*, 2(2), 32-38.
- Tripodi, P., Rabanus-Wallace, M. T., Barchi, L., Kale, S., Esposito, S., Acquadro, A.,... y Stein, N. (2021). Global range expansion history of pepper (*Capsicum* spp.) revealed by over 10,000 genebank accessions. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 118(34), e2104315118.
- Utami, D., Meale, S. J., y Young, A. J. (2022). A Pan-Global Study of Bacterial Leaf Spot of Chilli Caused by *Xanthomonas* spp. *Plants*, 11(17), 2291.
-

- 
- Vásquez-López, A., Tlapal Bolaños, B., Yáñez Morales, M., Pérez Pacheco, R., y Quintos Escalante, M. (2009). Etiología de la marchitez del 'chile de agua' (*Capsicum annuum* L.) en Oaxaca, México. *Revista fitotecnia mexicana*, 32(2), 127-134.
- Velarde-Félix, S., Garzón-Tiznado, J. A., Hernández-Verdugo, S., López-Orona, C. A., y Retes-Manjarrez, J. E. (2018). Occurrence of *Fusarium oxysporum* causing wilt on pepper in Mexico. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 40(2), 238-247.
- Velásquez-Valle, R., Reveles-Torres, L. R., y Reveles-Hernández, M. (2013). *Manejo de las principales enfermedades del chile para secado en el norte centro de México* (1ra. Ed.). Folleto Técnico. Núm 50. Campo Experimental Zacatecas. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). México.
- Vijay, A., Kumar, A., Islam, K., Momo, J., y Ramchiary, N. (2023). Functional genomics to understand the tolerance mechanism against biotic and abiotic stresses in *Capsicum* species. *In Transcriptome Profiling*, 305-332.
- Villalón-Mendoza, H., Manzanares-Miranda, N., Ramírez-Meráz, M., Mejorado-Martínez, Y. M., y Soto-Ramos, J. M. (2023). Origin and cultural impact of wild Chilli pepper (*Capsicum annuum* L. var. *glabriusculum*) in northeastern Mexico. *In Sustainable management of natural resources: diversity, ecology, taxonomy and sociology*, 143-159.
- Vysali, P., Subramanyam, K. y Kasi, IK (2021). Un estudio sobre la gestión de amenazas bióticas y abióticas en el cultivo de chile. *Pharma Innovation Journal*, 10 (12), 1741-1748.
- Watanabe, T. (2002). Pictorial atlas of soil and seed fungi: morphologies of cultured fungi and key to species. CRC press.
- Woo, S. L., Hermosa, R., Lorito, M., y Monte, E. (2023). *Trichoderma*: a multipurpose, plant-beneficial microorganism for eco-sustainable agriculture. *Nature Reviews Microbiology*, 21(5), 312-326.

- 
- Xiao, Z., Zhao, Q., Li, W., Gao, L., y Liu, G. (2023). Strain improvement of *Trichoderma harzianum* for enhanced biocontrol capacity: Strategies and prospects. *Frontiers in microbiology*, 14, 1146210.
- Yang, Q., y Fukamizo, T. (2019). Targeting chitin-containing organisms. Germany: Springer.
- Yassin, MT, Mostafa, AAF, Al-Askar, AA, Sayed, SR y Rady, AM (2021). Actividad antagónica de cepas de *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma viride* contra algunos patógenos fusarios que causan la enfermedad de pudrición del tallo del maíz, in vitro. *Journal of King Saud University-Science*, 33 (3), 101363.
- Yeul, Vijay S., y Sadhana S. R. (2013). Unprecedented chitin and chitosan: A chemical overview. *Journal of Polymers and the Environment*, 21, 606-614.
- Younes, I., Sellimi, S., Rinaudo, M., Jellouli, K., y Nasri, M. (2014). Influence of acetylation degree and molecular weight of homogeneous chitosans on antibacterial and antifungal activities. *International journal of food microbiology*, 185, 57-63.
- Zavaleta, M. E. (1994). Control biológico de fitopatógenos con origen en el suelo y perspectivas. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 12(1), 107-111.
- Zhang, J. L., Tang, W. L., Huang, Q. R., Li, Y. Z., Wei, M. L., Jiang, L. L.,... y Zhang, X. X. (2021). *Trichoderma*: A treasure house of structurally diverse secondary metabolites with medicinal importance. *Frontiers in microbiology*, 12, 723828.

## 13. ANEXOS

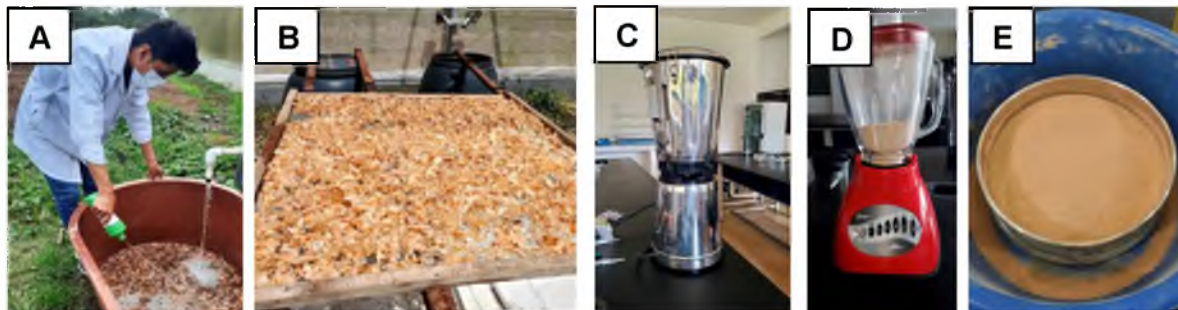


Figura 24. Tratamiento de la muestra. (A) Lavado de exoesqueleto de camarón; (B) secado; (C) triturado; (D) doble molienda; y (E) tamizado a tamaño de partícula de  $250 \mu\text{m}$ .

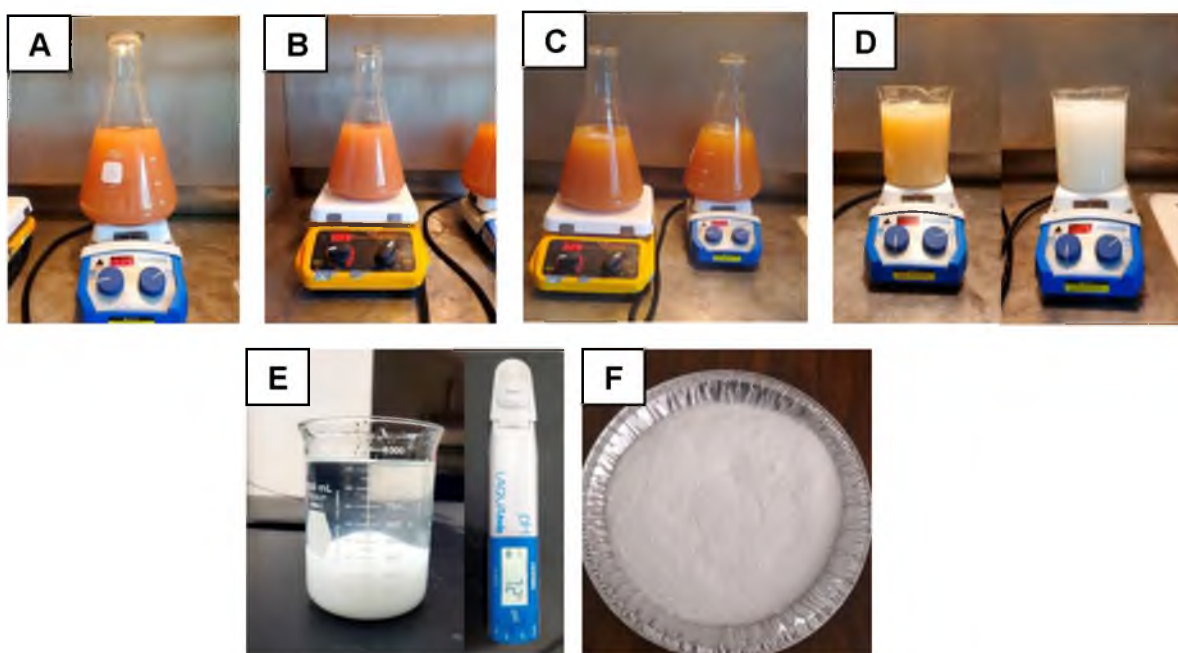


Figura 25. Obtención de quitosano UNPA. (A) Desproteinización ( $\text{NaOH } 0.4\text{M}/1\text{h}/25^\circ\text{C}$ ); (B) desmineralización ( $\text{HCl } 0.6\text{N}/3\text{h}/25^\circ\text{C}$ ); (C) desacetilación ( $\text{NaOH } 0.4\text{M}/1\text{h}/25^\circ\text{C}$ ); (D) despigmentación (doble blanqueado con  $\text{NaClO}$  al 38%/20 min/ $T^\circ\text{amb.}$ ); (E) lavado hasta la neutralidad; y (F) muestra final obtenida de quitosano.

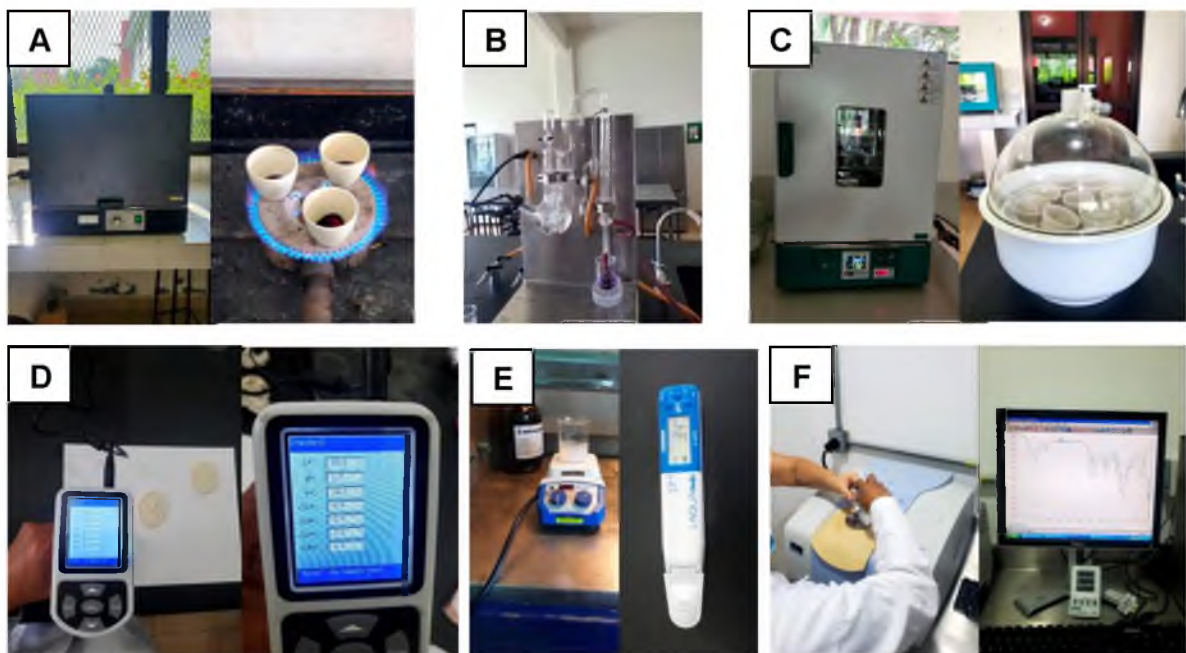


Figura 26. Caracterización fisicoquímica del quitosano UNPA. (A) Determinación de % minerales; (B) % proteínas; (C) % de humedad; (D) análisis de color; (E) pH; y (F) obtención de espectros infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR).



Figura 27. Aislamiento y caracterización de *Fusarium Oxysporum*.

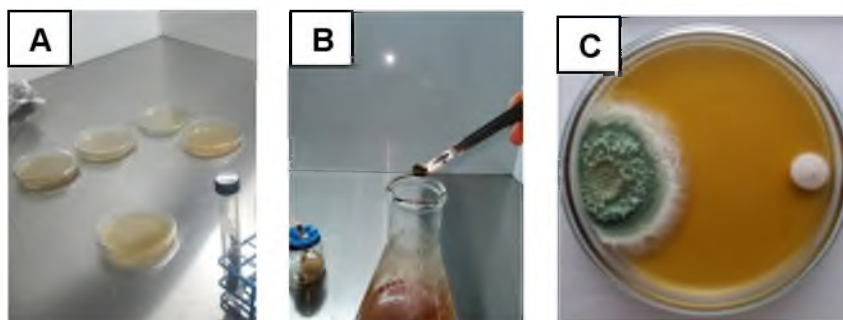


Figura 28. Reproducción y caracterización de *Trichoderma harzianum*. (A) Medio sólido; y (B) medio líquido. (C) Confrontación dual *in vitro* de Th con Fo.

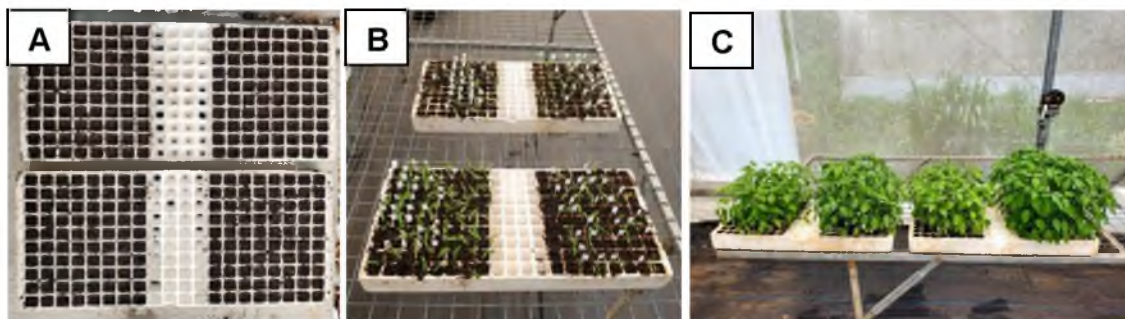


Figura 29. Obtención de plántulas de chile soledad (*Capsicum annuum*). (A) Siembra de semillas; (B) medición de parámetros morfológicos; (C) plántulas a los 42 días después de la siembra (DDS).

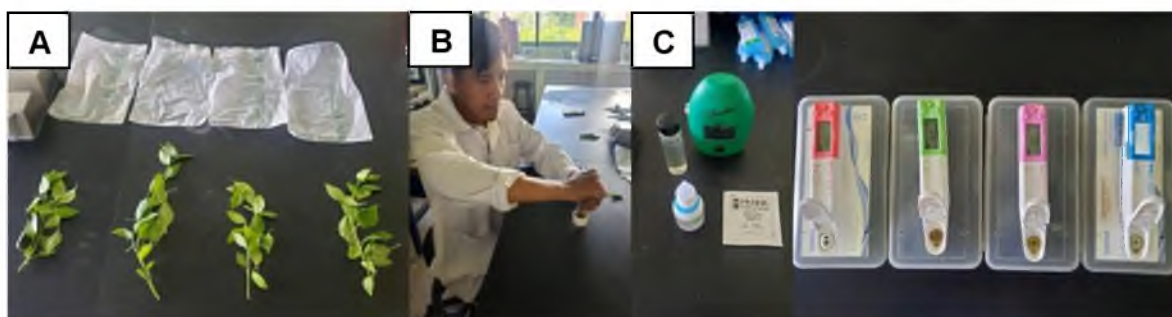


Figura 30. Cuantificación de nutrientes en plántulas de chile soledad (*Capsicum annuum*). (A) Colecta de la muestra; (B) extracción de savia en peciolo y tallos; y (C) medición en instrumentos HANNA Checker® y ionómetros LAQUATwin.

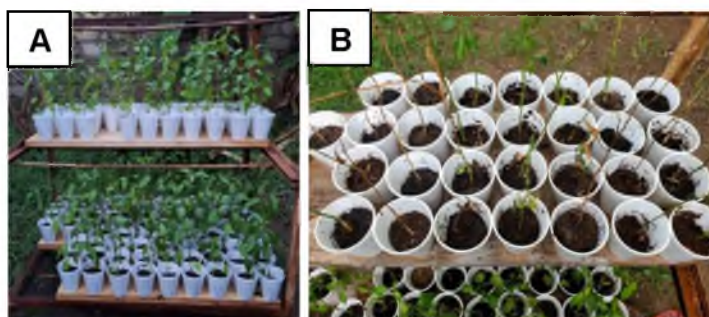


Figura 31. Efecto antagónico de los bioinoculantes en plántulas (*Capsicum annuum*). (A) Plántulas en contenedores de poliuretano de 8 oz.; (B) incidencia y severidad presente en plántulas.



FERTILIDAD DE SUELOS S. DE RL.  
Poniente 6 No. 200, Ciudad Industrial, Celaya, Gto. C.P 38010  
www.fertilab.com.mx

Laboratorio de Diagnóstico Fitosanitario

FOR-FP-21  
Rev. 03  
Emisión: 2023-10-25



INFORME DE RESULTADOS DE ENSAYOS

Folio: SE-1594

FECHAS DE INGRESO Y LIBERACIÓN

Fecha de muestreo: 2024-07-09      Fecha de ejecución: 2024-07-10      Fecha de entrega: 2024-07-30  
Fecha de recepción: 2024-07-10      Fecha de emisión: 2024-07-30

INFORMACIÓN DEL CLIENTE

Cliente/productor: JONAS MANUEL JIMENEZ RODRIGUEZ  
Direccion: No proporcionó  
Teléfono: No proporcionó  
Rancho o Empresa: San Benito El Encinal  
Municipio: Loma Bonita  
Estado: Oaxaca  
Condiciones de recepción:

INFORMACION DE LA MUESTRA

Tipo de muestra: Cepa pura  
Cultivo: Ninguna  
Variedad: Na  
Cantidad recibida: 2 cepas  
Predio / Lote: No proporcionó  
Identificación: Cepa fusar1

RESULTADOS

Micología      Detección e identificación de hongos de importancia agrícola en productos y subproductos de origen vegetal y cepas fungicas mediante técnicas moleculares (PCR y sus variantes). ME1-FP-12

Nombre

*Fusarium oxysporum*

Diagnóstico

Positivo

Comentario: Para la amplificación (PCR punto final) se emplearon los oligos universales para hongos EF1-728F y EF1-986R. La identificación molecular se realizó mediante el análisis de la secuenciación\*\* del gen factor de elongación (EF1).

Aprobó:  
  
M.E. María Elvira Vera Castro  
Jefe de Laboratorio

\* Parametro no acreditado.  
\*\* La secuenciación es tercerizada. Este servicio está fuera del alcance de acreditación de Fertilidad de Suelos S. de RL.  
Fertilidad de Suelos S. de RL. (S.L. LABORATORIO) es responsable de los resultados emitidos sobre la cantidad de muestra recibida en muestras instalaciones bajo las condiciones enviadas por el cliente y de acuerdo con la información en su solicitud de análisis de Diagnóstico Fitosanitario.  
Una vez que el informe de resultados se encuentra disponible en nuestro sistema, el tiempo máximo para cualquier duda o aclaración es de 72 horas.  
No se autoriza la reproducción parcial o total del presente informe sin autorización por escrito del laboratorio FERTILAB.  
Los resultados del presente informe se reflejan exclusivamente a la (s) muestra (s) analizada (s).  
Los envíos son realizados únicamente en la dirección de correo en parte inferior del presente documento.  
Este documento no tendrá validez en caso de presentarse fecha dura o contrafotografía.  
Poniente 6 No. 200, Av. Tercera 3 CD. Industrial, Celaya, Guanajuato CP 38010 Tel: (+52)6147955 y (+52)6145338

Figura 32. Resultado del análisis molecular de la cepa (*Fusarium oxysporum*).