



MINISTERIO DE
AGRICULTURA,
GANADERÍA
Y ALIMENTACIÓN



Programa de consorcios de Investigación Agropecuaria

-CRIA REGION NORTE--
CADENA DE CHILE CAHABONERO

**Manejo de la marchitez del chile cahabonero (*Capsicum* sp.) a través de control biológico
inoculativo de diferentes cepas de *Trichoderma* spp en Santa María Cahabón, Alta
Verapaz.**

Jorge Luis Sandoval
Rodolfo Menjívar

Guatemala, diciembre 2020

Este proyecto fue ejecutado gracias al apoyo financiero del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA, por sus siglas en inglés). El contenido de esta publicación es responsabilidad de su(s) autor(es) y de la institución(es) a las que pertenecen. La mención de empresas o productos comerciales no implica la aprobación o preferencia sobre otros de naturaleza similar que no se mencionan.

Contenido

1.	Introducción.....	1
2.	Marco teórico.....	1
2.1.	Chile cahabonero (<i>Capsicum</i> sp.)	1
2.2.	Principales enfermedades que afectan al género <i>Capsicum</i> sp.....	3
2.3.	Control biológico	3
2.4.	<i>Trichoderma</i> sp.	3
3.	Objetivos.....	6
4.	Hipótesis	7
5.	Metodología.....	7
5.1.	Localidad y época	8
5.2.	Diseño experimental	8
5.3.	Tratamientos	9
5.4.	Tamaño de la unidad experimental	9
5.5.	Modelo estadístico	10
5.6.	Variables de respuesta.....	11
5.7.	Análisis de la información	12
5.8.	Manejo del experimento	12
5.9.	Metodología del Laboratorio	14
6.	Resultados.....	16
6.1.	Determinación del agente causal de la marchitez del chile cahabonero (<i>Capsicum</i> sp) en Santa María Cahabón.	16
6.1.1.	Resultados del análisis fitopatológico en tallos	16
7.	Conclusiones.....	26
8.	Recomendaciones	26
9.	Referencias Bibliográficas Consultadas	27
10.	Anexos	29

RESUMEN

Jorge Luis Sandoval¹

Rodolfo Mejivar²

La producción de chile cahabonero (*Capsicum* sp) en Santa María Cahabón, Alta Verapaz, ha sufrido una reducción en el rendimiento y en la cantidad de área sembrada, debido a la afección ocasionada por la enfermedad de la marchitez del chile. El objetivo de este proyecto fue identificar al agente causal asociado a esta enfermedad, así como determinar el efecto de diferentes tratamientos de *Trichoderma* sobre el control de la enfermedad. Los resultados del trabajo realizado en laboratorio e invernadero permitieron identificar a los patógenos *Fusarium* sp y *Rhizoctonia* sp como los agentes causales asociados a ésta enfermedad y se ha determinado que las cepas de *Trichoderma* Vista Volcanes, Proselective y MICSA han sido superiores al testigo absoluto en cuanto al rendimiento obtenido en cada tratamiento, y en la sobrevivencia de las plantas. Se recomienda continuar evaluando las cepas superiores de *Trichoderma* bajo condiciones contrastantes de concentración de inóculo en los suelos y en unidades experimentales de mayor tamaño.

¹Investigador asociado del Programa de Hortalizas de ICTA (Hasta mayo 2020)

²Investigador asociado de la disciplina de validación y transferencia de tecnología.

ABSTRACT

Jorge Luis Sandoval²
Rodolfo Mejivar²

The production of cahabonero pepper (*Capsicum* sp) in Santa María Cahabón, Alta Verapaz, has suffered a reduction in yield and in the amount of planted area, due to the disease caused by the chili wilt disease. The objective of this project was to identify the causal agent associated with this disease, as well as to determine the effect of different *Trichoderma* treatments on the control of the disease. The results of the work carried out in the laboratory and greenhouse allowed the identification of the pathogens *Fusarium* sp and *Rhizoctonia* sp as the causal agents associated with this disease and it has been determined that the strains of *Trichoderma* Vista Volcanes, Proselective and MICSA have been superior to the absolute control in terms of to the yield obtained in each treatment, and in the survival of the plants. It is recommended to continue evaluating the superior strains of *Trichoderma* under contrasting conditions of inoculum concentration in the soils, and in larger experimental units.

¹Investigador asociado del Programa de Hortalizas de ICTA (Hasta mayo 2020)

²Investigador asociado de la disciplina de validación y transferencia de tecnología.

Manejo de la marchitez del chile cahabonero (*Capsicum* sp.) a través de control biológico inoculativo de diferentes cepas de *Trichoderma* spp en Santa María Cahabón, Alta Verapaz.

1. Introducción

La falta de tecnificación del cultivo de chile cahabonero (*Capsicum* sp.) en Santa María Cahabon, limita a los agricultores y técnicos para la obtención de una producción rentable, dada las situaciones de: heterogeneidad en la calidad del producto cosechado, demeritando la oportunidad de comercializarlo en mercados diferenciados, esto añadido a la pérdida de productividad por la progresión de la enfermedad conocida localmente como “marchitez del chile”. La información generada en este proyecto será de utilidad para brindar información necesaria para implementar métodos de control biológico enfocados a mitigar o minimizar los daños en la producción por dicha enfermedad, para no incurrir en el incremento de los costos de producción; lo cual a su vez permitirá aumentar los ingresos netos por agricultor y mejorar las condiciones de vida de los agricultores de subsistencia, que se dedican a este cultivo.

El uso de microorganismos para el control de enfermedades que limitan la productividad de las plantas ha tomado auge, ya que el continuo uso de plaguicidas químicos provoca efectos negativos sobre la salud humana y el ambiente, además de contribuir a la generación de resistencia de los microorganismos, lo que conlleva al aumento del contenido de trazas de plaguicidas en el suelo (Aceves,2001).

Entre los microorganismos antagonistas de patógenos de suelo, se has evaluado y tenido éxito con: *Trichoderma*, *Gliocladium*, *Penicillium*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Pythium*, *Laetisaria*, *Sporidesmium*, *Coniothyrium*, *Verticillium*, y *Talaromyces* (Jensen & Wolffhechel, 1995).

2. Marco teórico

2.1. Chile cahabonero (*Capsicum* sp.)

El chile (*Capsicum* spp.) es uno de los cultivos hortícolas importantes en el mundo. Su utilización se remonta a los tiempos precolombinos, en donde su utilización primordial era como

condimento, pero también los diferentes tipos de chiles jugaron un papel importante como fuente de vitamina C, en las diferentes culturas americanas (Eshbaugh, 1970). Además de un sin número de usos que le daban nuestros antepasados como medicamento, castigo, moneda, material de tributo, etc. (Long, 1986).

En la actualidad es de importancia económica y social, la producción se ha incrementado en los últimos años, a un ritmo de 3.3% anual en el mundo, y de 4% a nivel nacional (FAO, 2009). México ocupa el segundo lugar de la producción mundial de chile verde, lo que representa el 8 %, de un total de 24, 822,167 TM, de las cuales China se registra como el primer productor, con el 57 % del total. Por su parte, en el chile seco México se ubica en el décimo lugar, con el 2 % del total producido en el mundo, el cual es de 2,613,124 TM, siendo la India el principal productor con el 46 % del total de la producción.

Información del IV censo nacional de Guatemala (2002-2003) reporta que el área de siembra de chile cahabonero en ese período fue de 292 hectáreas, con una producción de 454.5 TM y una media de producción por hectárea de 1.2 TM en el área de Santa María Cahabón. Este rendimiento es bajo, si se toma en cuenta que en ese mismo período sus vecinos de Cobán, en un área sembrada de 21.7 hectáreas, obtuvieron una producción de 99.0 TM y una media de rendimiento por hectárea de 4.6 TM, con una diferencia por hectárea de 3.4 TM, que es cuatro veces más de producción por hectárea entre ambas localidades.

Con esta información se puede considerar que la productividad del cultivo de chile en estos municipios puede mejorarse; los agriculturas indican que a partir del año 2014 se ha dado una disminución progresiva de la producción, por acción de la denominada “marchitez del chile cahabonero”, llegando a un 100% de pérdida de las plantas en ciertas localidades, como la aldea Sakta, lo que afecta directamente el desarrollo de la economía familiar del campesino, ya que el solamente invierte en el pago de jornales para siembra, desmalezado y cosecha durante todo el ciclo productivo, por lo que la adición de productos pesticidas incrementaría considerablemente los costos de producción, los cuales no son compensados por los bajos precios que se obtienen al comercializar el producto.

2.2. Principales enfermedades que afectan al género *Capsicum* sp.

Chew Madinaveitia, Vega Piña, Rodríguez, & Jimenez, 2008 reportan que las principales enfermedades que afectan el cultivo de especies del género *Capsicum* son:

Marchitez por *Phytophthora*

Mancha foliar por *Alternaria*

Virosis (Virus mosaico del tabaco, Virus mosaico del pepino, Virus Y de la papa entre otros)

2.3. Control biológico

Baker & Cook, 1974 definen el control biológico como “la reducción de la densidad de inóculo o de las actividades productoras de enfermedad de un patógeno o parásito, en su estado activo o durmiente, mediante uno o más organismos, lograda de manera natural o a través de la manipulación del ambiente, del huésped o del antagonista, o por la introducción masiva de uno o más antagonistas. Por su parte, el agente biocontrolador se define como el microorganismo (hongo o bacteria) con capacidad de limitar o evitar de manera más o menos selectiva el crecimiento de un hongo patógeno, sin interferir en el crecimiento de la planta, (Alvarez & Sivila, 2013).

Fajardo & Guzmán, 2017 citan que el uso de microorganismos antagonistas de fitopatógenos habitantes del suelo, es de suma importancia ya que su incorporación no genera desequilibrios biológicos, además que minimiza la incidencia de fitopatógenos en el suelo; lo que conlleva a la disminución o eliminación del uso de productos químicos que son nocivos para el entorno.

2.4. *Trichoderma* sp.

Taxonomía

Actualmente se tienen alrededor de 75 especies y cepas descritas. Determinar el número exacto de especies dependerá de la definición de la especie, si se considera que la mayoría de las especies del género *Hypocrea*, representan especies de *Trichoderma*, por lo tanto, habrá más de 100 especies según Samuels (1996). Sin embargo, según Lieckfeldt, Kuhls, & Muthumeenakshi (1998) al utilizar técnicas moleculares, la frontera morfológica que define las especies con análisis ribosomal del DNA desaparecerá muchas de ellas y quedará menor número de especies reales que formen el género.

Descripción del hongo

Trichoderma presenta micelio septado, conidióforos en segmentos cortos de manera bifurcada en la hifa, conidios redondeados.

Ciclo de vida

Trichoderma produce clamidosporas en sustratos naturales, estructuras para la sobrevivencia en el suelo bajo condiciones adversas, distintivas por su forma globosa a subglobosa, terminal o intercalar, de color verde, formadas por el micelio sumergido, de pared dentada y menores a 15 μm de diámetro, es considerado también un organismo saprófito del suelo y la madera, el crecimiento en el suelo es más rápido que en la madera (Samuels, 1996).

Los conidios son lo más viable de los propágulos empleados en programas de biocontrol. Se caracterizan por poseer pared exterior gruesa, constituida por tres capas (endospora, epispora y perispora) que protegen el interior denominado protoplasto.

Esta pared se diferencia de paredes de células vegetativas del hongo (hifas y clamidosporas), en que son mucho más delgadas y no está formada por capas constitutivas como los conidios. La ventaja del mismo con dicha pared celular es la posibilidad de aislarlo en medio natural y presentar sobrevivencia a condiciones adversas, manteniéndose en dormancia hasta que las condiciones sean propicias para la germinación.

La adaptación a diferentes condiciones ambientales facilita la amplia distribución. Algunas especies prefieren localidades secas y templadas y otras templadas y frías. Estos hongos son ampliamente conocidos por la producción de toxinas y antibióticos que dificultan o suprimen el crecimiento de otros organismos microscópicos.

Mecanismos de acción

Micoparasitismo y producción de antibióticos (toxinas)

Weindling (1932) citado por Howell (2003) indica que una de las principales características de *Trichoderma* es la capacidad de parasitar otros organismos fúngicos, tales como *Rhizoctonia solani*, descrito en su colonización de hifas, penetración y disolución del citoplasma de la célula del huésped, además de producir la toxina gliotoxina, dos años posteriores, afectando también el desarrollo de *Sclerotinia americana*, Howell & Stipanovic

(1983) citan además la producción de gliovirin, la cual obtuvo un efecto regulatorio de la incidencia de *Pythium ultimum* y *Phytophthora* spp.

Competencia

Trichoderma mantiene una competencia por la rizosfera de las plantas, ya que mantiene un crecimiento agresivo en comparación a diversos fitopatógenos, cubriendo el mayor porcentaje de área de la zona radicular, lo que provoca menor área de contacto para el ataque de patógenos de suelo.

Enzimas

Howell (2003) cita que la producción de enzimas quitinasas y glucanasas producidas por *Trichoderma* son responsables de la supresión de fitopatógenos, debido a la disolución de polisacáridos responsables de la rigidez de la pared celular en hongos.

Inducción de resistencia vegetal

Esta característica se basa en el trabajo de Yedidia, Benhamou, & Chet (1999), que demostraron que la inoculación de raíces de pepino con *Trichoderma* indujeron resistencia vegetal, ya que al ingresar las hifas miceliales en el cortex radicular, se incrementó la actividad de la peroxidasa, asociada frecuentemente a la producción de compuestos tóxicos para hongos, así como la actividad quitinasa, incremento de los depósitos de celulosa en la pared celular.

Patogenicidad

Hallman, Davies & Sikora (2009) citados por Radwan (2017) indican que los microorganismos antagónicos son utilizados como agentes biocontroladores, debido a la seguridad ambiental, durabilidad y costo alternativo efectivo en comparación a pesticidas químicos en el

manejo integrado de enfermedades, *Trichoderma* en especial la especie *T. harzianum* se ha desarrollado como agente promisorio para el control de diversidad de especies de patógenos presentes en el suelo, además de algunos nematodos fitopatógenos (Hajieghrari, Torabi-Giglou, Mohammadi & Davari , 2008).

Harrman (2006) cita que *Trichoderma* ha evolucionado en sus diferentes mecanismos de acción, como la competencia por espacio-nutrientes, inhibición del crecimiento micelial por la secreción de antibióticos, antibiosis, producción de paredes celulares fúngicas y enzimas degradadoras de la cutícula de nematodos, reducción de patógenos del suelo por acción de micoparasitismo, además de la potencialización del crecimiento radicular; sin embargo, Roberts y otros (2005) indican que agentes biocontroladores son potencializados con pesticidas químicos en programas de manejo integrado de enfermedades, de manera sinérgica; sin embargo, el agente biocontrolador no controlará de manera definitiva enfermedades en caso de incidencia severa, por lo tanto es aconsejable de forma preventiva.

Las especies de *Trichoderma* son consideradas como agentes biocontroladores contra numerosos fitopatógenos, ya que es capaz de inhibir la resistencia de los mismos y potencializar la reacción defensiva de la planta por medio de la confrontación directa al parasitismo o la competencia por la producción de antibióticos como los peptaibols, además de producir también micotoxinas y más de 100 metabolitos, incluyendo polipéptidos, pyronas, terpenos.

Trichoderma ha mostrado control eficiente sobre *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, *Pythium aphanidermatium*, *Fusarium culmorum*, *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*, *Sclerotium rolfsii*, *Phytophthora cactorum*, *Botrytis cinerea* y diversas especies de *Alternaria*.

3. Objetivos

General

- Brindar una solución biológica para el control de la marchitez de chile cahabonero *Capsicum* sp. a productores del área de Santa María Cahabón, Alta Verapaz

Específico

- Identificar el o los agentes causales de la marchitez del chile cahabonero *Capsicum* sp.
- Ratificar por medio de los postulados de Koch el asocio entre el agente causal y la enfermedad.
- Identificar la cepa de *Trichoderma* sp. que presente mayor control al agente causal de la marchitez el chile cahabonero *Capsicum* sp..

4. Hipótesis

La inoculación de *Trichoderma* sp disminuirá la incidencia y severidad de la marchitez del chile cahabonero, por mecanismo de supresión. Disminuyendo así los daños que se presentan con síntomas característicos por afecciones por *Rhizoctonia solani* y *Fusarium* spp., elevando considerablemente la producción de frutos sanos de chile cahabonero.

5. Metodología

Este proyecto constó de tres actividades: procesos:

1. Determinación de el o los agentes causales de la marchitez del chile cahabonero *Capsicum* sp. (Laboratorio de análisis fitopatológico)
2. Inoculación de los patógenos detectados como validación de postulados de KOCH (invernadero en instalaciones del ICTA-CINOR, san jerónimo, Baja Verapaz)
3. Evaluación de control de marchitez del chile cahabonero *Capsicum* sp. por incorporación de *Trichoderma* sp. (Localidades de Santa María Cahabón)

5.1. Localidad y época

Las localidades de Santa María Cahabón con la mayor variabilidad en condiciones climáticas y que presentaron incidencia de la marchitez de chile cahabonero fueron:

Aldea Chajual

Aldea Belén I

Aldea Belen II

Aldea Nuevo Agua Caliente

Aldea Agua Caliente

Aldea Chimulian

Se extrajeron muestras de suelo y planta de las áreas más afectadas durante el año 2019 en las comunidades antes mencionadas con el fin de determinar por análisis fitopatológico de laboratorio el agente causal de la enfermedad.

Se construyó un espacio protegido con malla antiáfidos en la región de San Jerónimo en Baja Verapaz, para la propagación de plantas de chile cahabonero *Capsicum* sp. en macetas con suelo proveniente de santa maría cahabón desinfectado, en la cual se inocularon con estructuras reproductivas de los agentes fitopatógenos identificados, aislados en condiciones de laboratorio con apoyo de personal de la facultad de agronomía, de la universidad de San Carlos de Guatemala, esto con el fin de dar soporte a los postulados de KOCH, replicando los síntomas de la enfermedad en condiciones controladas.

Se propuso iniciar la investigación durante el mes de marzo de 2019 al inicio de la fase crítica de verano con el fin de evitar mortandad de plántulas por excesiva temperatura.

5.2. Diseño experimental

El diseño experimental utilizado fue Bloques completos al azar, con el fin de contrarrestar el factor pendiente, característico de la región de Santa María Cahabón, replicado en seis localidades, con cuatro bloques por localidad y seis tratamientos, para un total de 24 unidades experimentales.

En el invernadero construido no se utilizó diseño experimental ya que solo fue de utilidad para replicar los síntomas de la enfermedad para corroborar los postulados de Koch.

5.3. Tratamientos

Los tratamientos evaluados corresponden a las distintas cepas de *Trichoderma* presentes en el mercado, además de cepas aisladas por instituciones privadas.

Cepa Proselective

Cepa Micsa Baja

Cepa Micsa Alta

Cepa vista volcanes

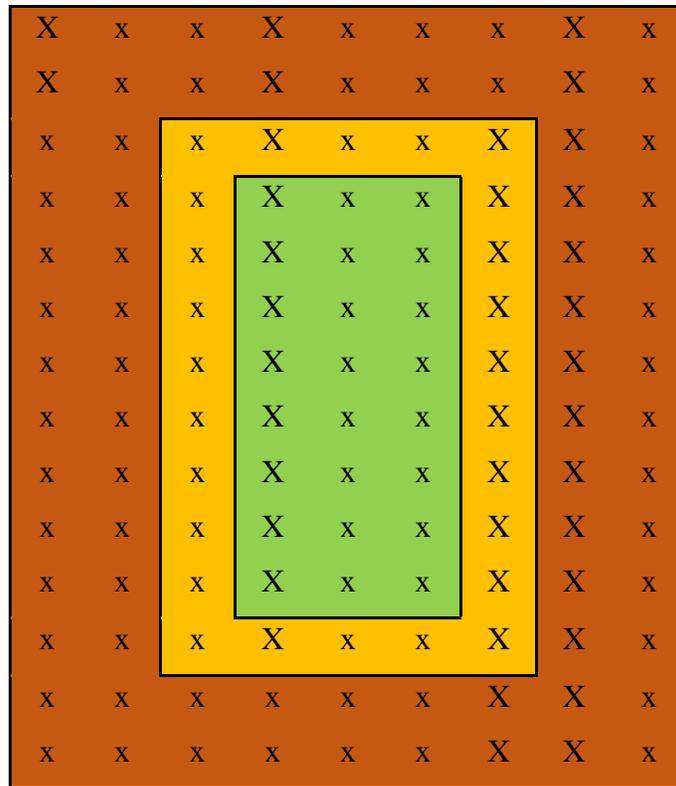
Azoxystrobyl (Fungicida)

Testigo absoluto

Todas las cepas evaluadas se utilizaron bajo la misma dosis, (1×10^6 UFC/ml), excepto el tratamiento 3 (1×10^7 UFC/ml), esto con el fin de evitar sesgos en la investigación.

5.4. Tamaño de la unidad experimental

La unidad experimental consistió en 40 plantas con el distanciamiento utilizado por el agricultor 0.50 m entre plantas y 0.50 m entre surcos, para un total de 10 m² como parcela bruta, de las cuales 24 plantas consistirán la unidad experimental neta (6 m²),



	Parcela Bruta
	Parcela Neta
	Área de inoculación

Cada parcela de evaluación conto con área de inoculación la cual funcionará como inóculo de la enfermedad de la marchitez, ya que la misma se distribuye inicialmente en el terreno en focos distribuidos sin un patrón específico, por lo que dicha parcela contribuirá a que todas las unidades experimentales conto con la misma presión de infección de la enfermedad contrarrestando así la distribución de la misma.

5.5. Modelo estadístico

El modelo estadístico a utilizar será bloques completos al azar, dicho diseño es expresado con el siguiente modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + B_j + \varepsilon_{ijk}$$

Donde:

Y_{ijk} = Rendimiento total

μ = Media General de producción

T_i = Efecto por el efecto de las cepas de *Trichoderma* sp.

B_j = Efecto de los bloques en cada localidad.

ε_{ijk} = Error experimental de la evaluación.

5.6. Variables de respuesta

- Agentes causales de la enfermedad

Se determinaron los agentes que provocan la marchitez del chile cahabonero (*Capsicum* sp.) por medio de análisis fitopatológico de laboratorio.

- Rendimiento de chile cahabonero (*Capsicum* sp.) deshidratado

Se cosecharon los frutos de chile cahabonero, se deshidrataron con luz solar y temperatura ambiente, hasta alcanzar el 33% de su peso húmedo, humedad requerida por el mercado.

- Incidencia de la marchitez del chile cahabonero (*Capsicum* sp.)

Se anotó la proporción de plantas que presentaron síntomas de marchitez del chile, durante el período de evaluación.

- Severidad de la marchitez del chile cahabonero (*Capsicum* sp.)

Se anotó la proporción de la planta afectada directamente por la marchitez del chile durante el período de evaluación, la escala de medición fue determinada por el investigador.

5.7. Análisis de la información

Rendimiento:

El rendimiento seco de chile cahabonero (*Capsicum* sp.) se analizó utilizando modelos lineales generales y mixtos, con el software estadístico INFOSTAT. Cuando se determinaron diferencias estadísticas significativas, se hizo un análisis de comparación de medias, con la prueba DGC.

Incidencia y severidad de la marchitez del chile cahabonero (*Capsicum* sp.):

Se utilizaron curvas de incidencia y severidad en el tiempo, con el fin de evaluar el desarrollo de la marchitez en el ciclo de cultivo y las condiciones ambientales que la potencializan.

Inicio de síntomas y signos de la enfermedad en plantas inoculadas

5.8. Manejo del experimento

- **Evaluación en Comunidades de Santa María Cahabón:**

Preparación de pilones

Se realizaron pilones de chile cahabonero *Capsicum* sp. del mismo cultivar con el fin de homogenizar el efecto del patógeno sobre las plantas, además de proveer plantas vigorosas y disminuir de esa manera la mortandad inicial en campo.

Fertilización

Se realizaron cuatro fertilizaciones granuladas con el fin de potencializar el desarrollo del chile cahabonero *Capsicum* sp. en sus diferentes etapas fenológicas, aplicando urea en su etapa de desarrollo vegetativo y 15-15-15 durante la fase de floración y fructificación.

Se realizaron aplicaciones constantes de fertilizante foliar con el fin de suministrar a la planta los micronutrientes necesarios para el desarrollo floral y del fruto.

Control de plagas

Se realizó rotación de productos Exalt®, Monarca® y Pegassus® para el control de mosca blanca, trips y gusanos masticadores siendo estos los más perjudiciales para el cultivo de chile cahabonero *Capsicum* sp..

Control de malezas

La remoción de plantas arvenses se realizó de forma manual para evitar daño a la zona radicular de la planta de chile cahabonero y para evitar intoxicaciones a la planta por la deriva del mismo.

Cosecha

Se realizaron cosechas de fruto de chile cahabonero *Capsicum* sp., dicha cosecha se deshidrató con secado al sol hasta llegar a un aproximado de 2/3 de pérdida de peso por agua, con lo cual se tomaron los datos de producción.

- **Evaluación bajo condiciones controladas:**

Inoculación de patógenos de interés

Se aisló un área protegida para colocar macetas conteniendo plantas de chile cahabonero con suelo desinfectado de Santa María Cahabón para erradicar cualquier patógeno presente en el mismo, posteriormente se inoculó con el patógeno identificado en el análisis fitopatológico de los suelos; se hicieron cuatro inoculaciones.

Acondicionamiento del área de trabajo

Se instaló un invernadero para el aislamiento de las plantas en maceta, en San Jerónimo, Baja Verapaz, ICTA CINOR, dicha estructura es de 15.6 metros de largo y 5 metros de ancho, también fue utilizada para el resguardo y producción de pilones para el establecimiento de las parcelas de evaluación.

Fertilización

Se realizaron tres fertilizaciones granuladas con el fin de potencializar el desarrollo del chile cahabonero *Capsicum* sp. en sus diferentes etapas fenológicas, aplicando urea en su etapa de desarrollo vegetativo y 15-15-15 durante la fase de floración y fructificación

Control de malezas

La remoción de plantas arvenses se realizó de forma manual, para evitar daño a la zona radicular de la planta de chile cahabonero.

Control de plagas

Se realizó rotación de los productos Exalt®, Monarca® y Pegassus® para el control de mosca blanca, trips y gusanos masticadores, siendo éstos los más perjudiciales para el cultivo de chile cahabonero.

5.9. Metodología del Laboratorio

Para el diagnóstico del agente etiológico asociado a las muestras ingresadas al laboratorio de Fitopatología, primero con la ayuda de estereomicroscopio binocular, se hizo observación del material enfermo ingresado para observación de síntomas de la enfermedad y signos de patógenos. Luego se procedió a incubar porciones de material enfermo (tallos, hojas, raíz) en medio de cultivo PDA a 25 °C y se realizó la determinación de los hongos presentes en ese material enfermo. Además, se procedió a colocar material enfermo en cámara húmeda para el mismo objetivo.

Para la identificación de los hongos asociados a las muestras de suelo que fueron ingresadas junto a las plantas al laboratorio, se pesó un gramo de suelo, el cual fue diluido en 9 ml de agua destilada esterilizada y después dos diluciones consecutivas. Una alícuota de las tres diluciones fue colocada en medio de cultivo PDA con antibiótico y las placas se incubaron a 25 °C. A los cinco días después de la inoculación, se hizo el conteo de las UFC y la determinación de los hongos que crecieron en el medio de cultivo. También se realizó aislamiento mediante la inoculación del suelo proveniente de Cahabón en frutos de manzana, tal como se muestra en la figura 1. Ese método es utilizado para aislamiento de hongos y Chromistas fitopatógenos a partir de suelo. Luego las manzanas se mantuvieron en cámara, a temperatura ambiente (25 °C + 2.0).

Para la determinación de poblaciones y géneros de nematodos asociados en suelo, se utilizó como metodología de extracción el método de tamizado centrifugado. La cantidad de suelo analizado fue de 300 g y los resultados se presentan como géneros encontrados en 100 g de suelo. El Laboratorio en donde se realizaron los análisis fue el laboratorio de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

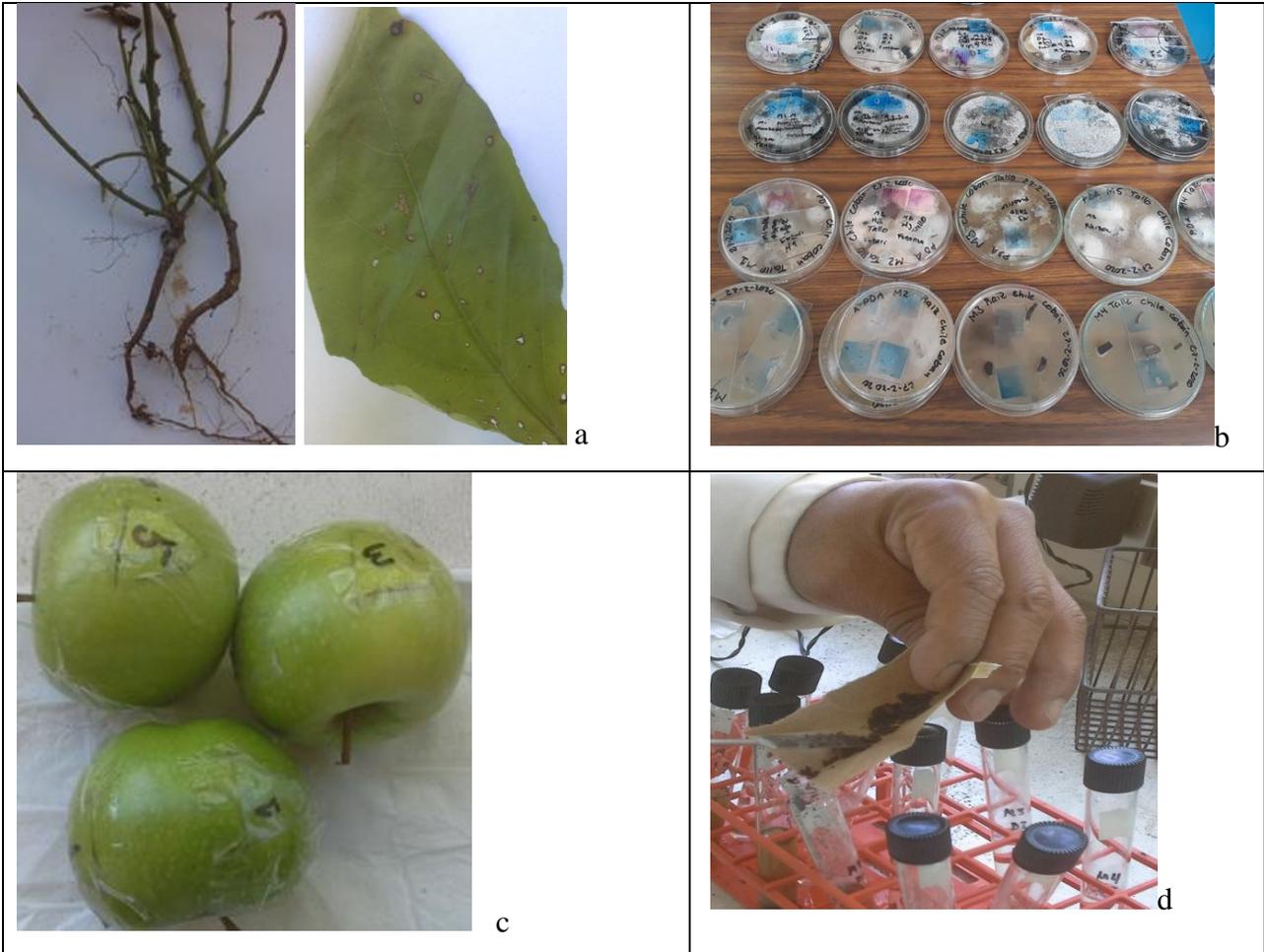


Figura 1. Metodología utilizada en el análisis de hongos Fito patógenos asociados material enfermo de chile Cahabonero y suelo. a) Plantas y hojas de chile enfermo que se analizaron en el laboratorio, b) placas de petri con medio de cultivo PDA con hongos aislados a partir de material enfermo, b) tallos de la muestra dos y cinco en cámara húmeda, c) aislamiento de hongos del suelo en frutos de manzana y d) dilución de suelo en agua destilada esterilizada en tubos de ensayo.

6. Resultados

6.1. Determinación del agente causal de la marchitez del chile cahabonero (*Capsicum sp*) en Santa María Cahabón.

6.1.1. Resultados del análisis fitopatológico en tallos

El hongo predominante en tallos de chile cahabonero fue *Fusarium spp.*, el cual fue aislado de todas las muestras analizadas, excepto en la muestra cuatro, como se observa en el Cuadro 1. El segundo género fitopatogénico determinado fue *Rhizoctonia spp.*, como se observa en la Figura 2. Ambos géneros de hongos son causantes de pudriciones de tallo y ocasionan marchitez en varias plantas de cultivos de interés.

Cuadro 1. Hongos determinados a partir de tallos de plantas de chile cahabonero, 2020.

Muestra	Órgano	Géneros de hongos
Muestra 1	Tallo	<i>Fusarium spp.</i> y <i>Rhizoctonia spp.</i>
Muestra 2	Planta seca	<i>Fusarium spp.</i>
Muestra 3	Tallo	<i>Fusarium spp.</i>
Muestra 4	Tallo	<i>Rhizoctonia spp.</i>
Muestra 5	Tallo	<i>Fusarium spp.</i> y <i>Rhizoctonia spp.</i>

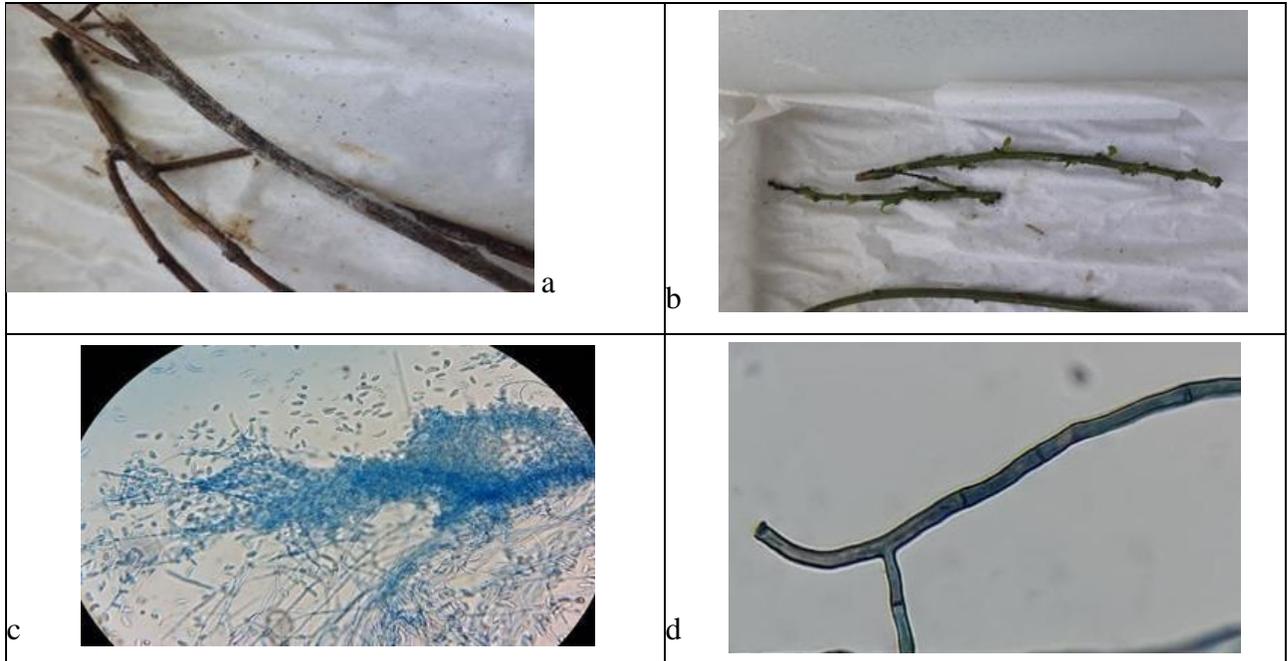


Figura 2. Análisis de hongos asociados a tallos de chile cahabonero. a-b) tallos de las muestras dos y cinco encámara húmeda, c) montaje del hongo *Fusarium* spp., se observan microconidios y micelio, d) micelio de *Rhizoctonia* spp.

Resultado del análisis fitopatológico de las hojas:

En las muestras de hojas se identificaron los géneros de hongos: *Colletotrichum* spp., *Cercospora* spp. (Figura 3) y *Fusarium* spp. Estos son causantes de síntomas de antracnosis, mancha foliar y marchitez, respectivamente. También se encontró *Cladosporium* que puede ocasionar enfermedades en algunos cultivos en invernadero y varias especies de *Cladosporium* no son fitopatógenas y son considerados contaminantes en diferentes ambientes.

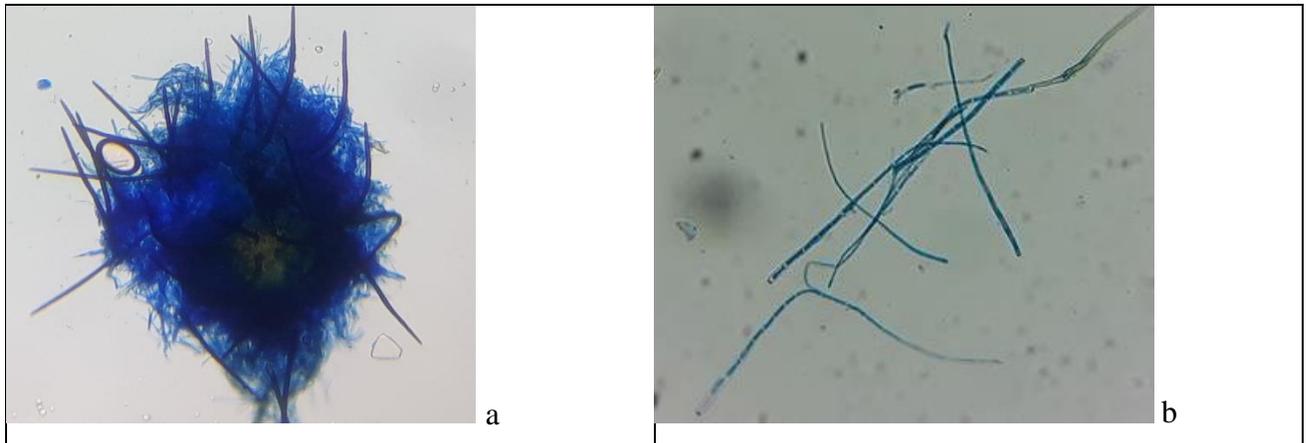


Figura 3. Hongos asociados en hojas de chile cahabonero. a) *Colleotrichum* spp. y b) *Cercospora* spp.

Análisis fitopatológico de las muestras de la raíz

En todas las muestras de raíz analizadas se identificó el género *Fusarium* (Cuadro 2), el cual causa marchitez de las plantas susceptibles en varios cultivos. Otro género aislado fue *Cladosporium*, pero se considera no importante desde el punto de vista fitopatológico (Figura 4).

Cuadro 2. Hongos determinados en raíces de plantas enfermas de chile Cahabonero.

Muestra	Géneros de hongos asociados
Muestra 1	<i>Fusarium</i> spp., <i>Rhizoctonia</i> spp. y <i>Cladosporium</i> spp.
Muestra 2	<i>Fusarium</i> spp., <i>Cladosporium</i> spp.
Muestra 3	<i>Fusarium</i> spp., <i>Cladosporium</i> spp.
Muestra 4	<i>Fusarium</i> spp.
Muestra 5	<i>Fusarium</i> spp., <i>Rhizoctonia</i> spp., <i>Cladosporium</i> spp.



Figura 4. Muestras de raíz colocadas en cámara húmeda. Inoculación de fragmentos de raíz en medio PDA.

Raíz de la muestra 2. b) raíz de la muestra 5.

Análisis fitopatológico de las muestras de suelo

De las cinco muestras de suelo que fueron analizadas, en todas se aisló el hongo fitopatógeno *Fusarium*. Este género es citado en la literatura como uno de los principales causantes de la marchitez en distintos cultivos, incluyendo las plantas del género *Capsicum*spp.

Otros de los géneros identificados asociados a las muestras de suelo analizadas, fueron *Aspergillus* spp. en las muestras 1 y 2, y *Penicillium* spp. en las muestras 3 y 4, cuadro 3, Figura 5.

Cuadro 3. Hongos asociados a las muestras de suelo provenientes de Cahabón.

Muestra	Géneros de hongos asociados
1	<i>Fusarium</i> spp. y <i>Aspergillus</i> spp.
2	<i>Fusarium</i> spp., <i>Aspergillus</i> spp., <i>Rhizoctonia</i> spp. y <i>Geotrichum</i> spp.
3	<i>Fusarium</i> spp. y <i>Penicillium</i> spp.
4	<i>Fusarium</i> spp. y <i>Penicillium</i> spp.
5	<i>Fusarium</i> spp. y <i>Cladosporium</i> spp.

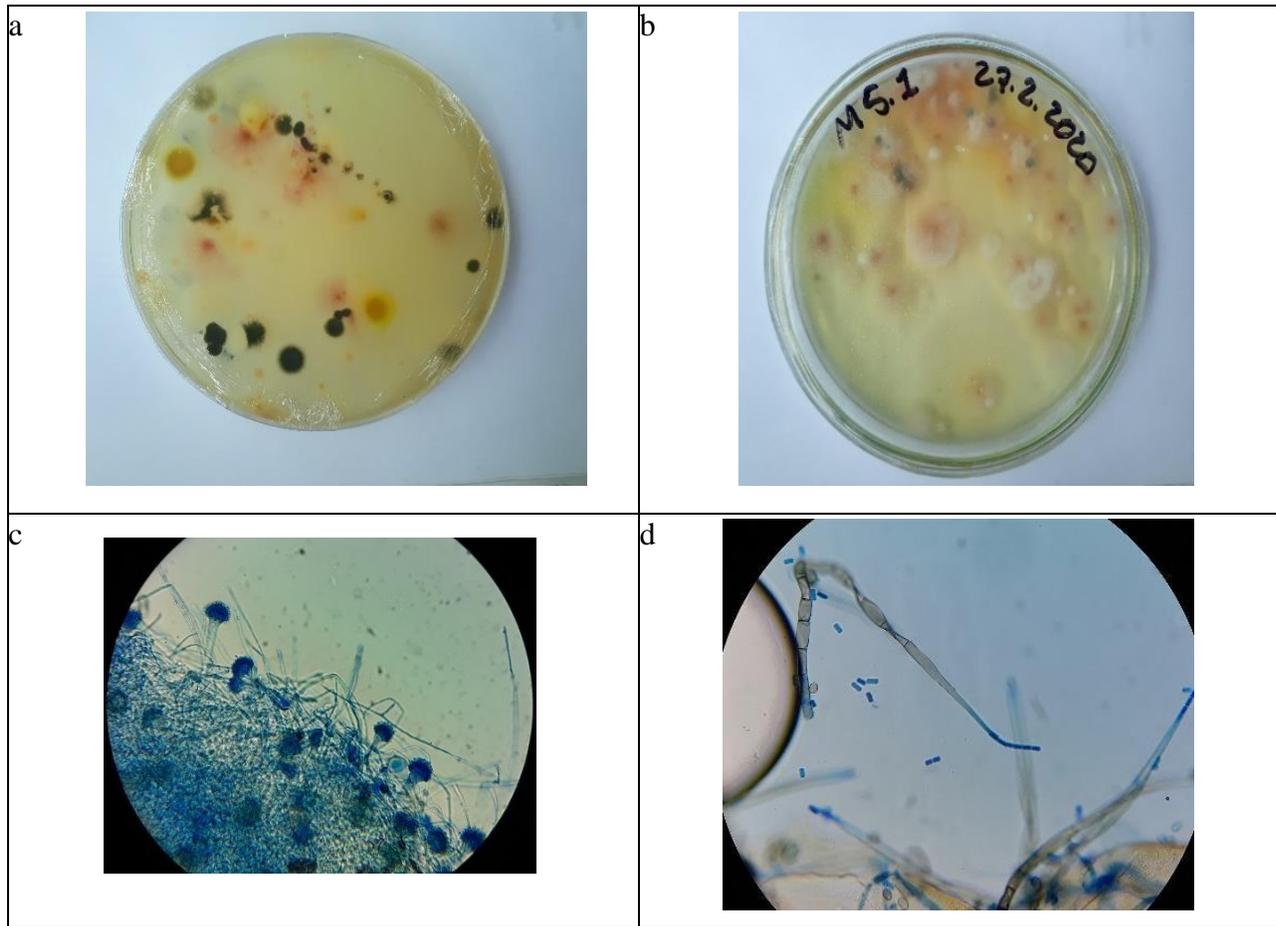


Figura 5. Inoculación de suelo en medio PDA mediante dilución de suelo en agua, muestra. a) se observó crecimiento de micelio de hongos de los géneros: *Fusarium* (a y b), *Aspergillus* (c) y *Geotrichum* (d).

En las muestras de suelo se determinaron los géneros: *Fusarium*, *Penicillium* y *Aspergillus*, los tres son fitopatógenos. En las muestras de hoja se aisló y determinaron los géneros: *Fusarium*, *Colletotrichum* y *Cercospora*, todos fitopatógenos, citados en la literatura como agentes patogénicos en *Capsicum*. El hongo predominante en tallos de chile cahabonero fue *Fusarium* spp. y el segundo género fitopatógenico determinado fue *Rhizoctonia* spp., ambos causan muerte de plántulas en fase temprana.

Diversos autores citan que los patógenos asociados a diferentes tipos de marchitez en el género *Capsicum* son *Fusarium*, *Rhizoctonia* y los oomicetos *Phytium* y *Phytophthora*. (INIFAP, 2017). En este caso al encontrarse presentes en raíces, tallos y suelo se considera que los patógenos asociados a la marchitez del chile cahabonero en Santa María Cahabón son *Fusarium* y *Rhizoctonia*. Siendo el hongo *Fusarium* el de mayor importancia con base en la frecuencia encontrada asociada en las muestras analizadas.

Validación de los postulados de Koch con el hongo *Fusarium* sp.

Como parte de la comprobación de los postulados de Koch para confirmar la presencia de síntomas de la marchitez del chile cahabonero, se inoculó el agente causal responsable, *Fusarium* sp., en plantas cultivadas en condiciones controladas.

Se colectó suelo procedente de Santa María Cahabón, el cual fue desinfectado por medio de solarización, y se establecieron macetas de control, en las cuales se colocaron tres pilones de chile cahabonero, de 30 días posterior a la emergencia de la planta.

Ya que el patógeno identificado afecta principalmente los haces vasculares por la entrada desde la raíz, en aberturas naturales o inducidas, se realizaron cortes a la raíz con el fin de facilitar la entrada del mismo a la planta.

También se inoculó el patógeno por medio de inyección directa a los haces vasculares.

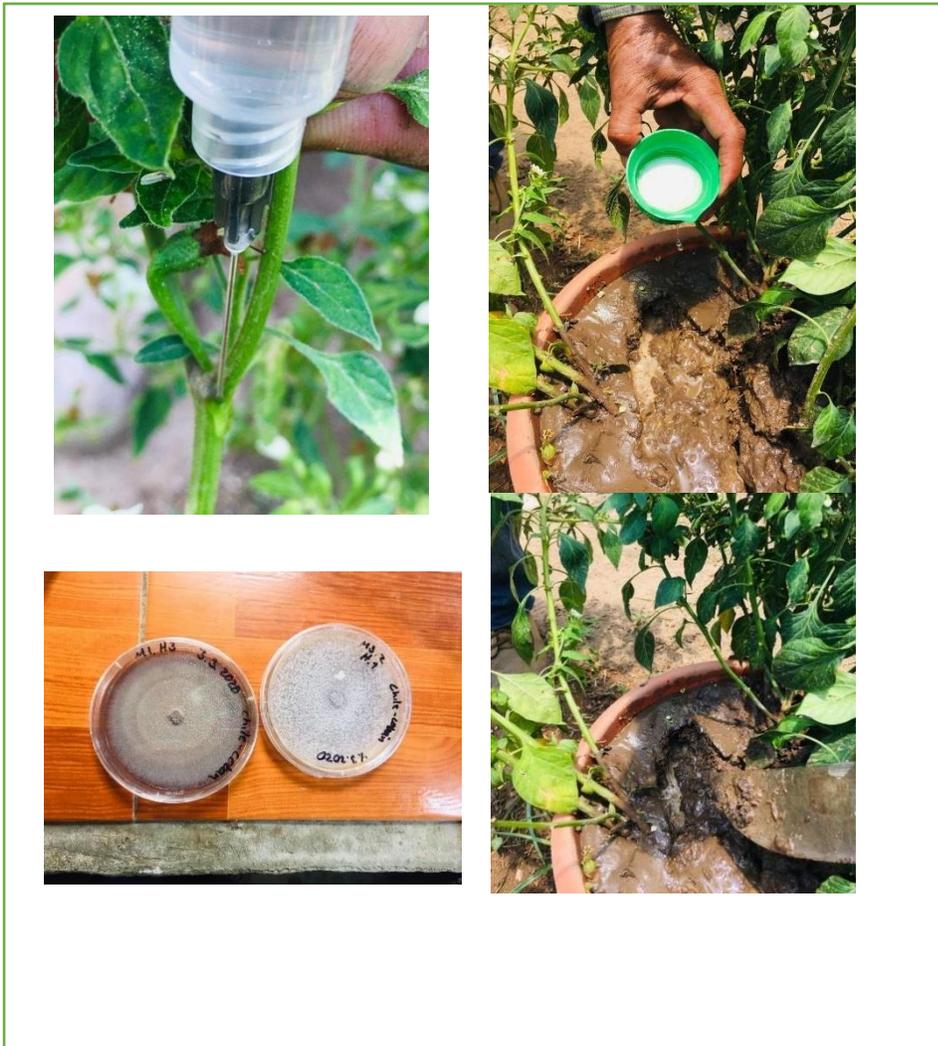


Figura 6: Proceso de inoculación de *Fusarium* sp. en planta de chile cahabonero para comprobación de postulados de Koch

Posterior a los 90 días de la inoculación del patógeno en la planta de chile cahabonero, se observó una muerte descendente de los tejidos, iniciando por los meristemas apicales, por lo que se comprobó la sintomatología de la enfermedad.



Figura 7: *Proceso de inoculación de Fusarium sp. en planta de chile cahabonero para comprobación de postulados de Koch*

Evaluación de control de la marchitez del chile cahabonero (*Capsicum* sp.) por incorporación de *Trichoderma* sp. (Localidades de Santa María Cahabón)
Rendimiento.

Se realizó un análisis de modelos lineales generales mixtos, como efecto fijo se tomaron las diferentes cepas evaluadas, la localidad de estudio y la interacción mutua y como efecto aleatorio los bloques establecidos; se encontraron diferencias estadísticas altamente significativas para los factores, por lo que se realizó un análisis múltiple de medias, DGC.

Los datos de rendimiento de fruto seco de chile cahabonero en las diferentes localidades muestran que Belen II fue la que mayor rendimiento presentó con las cepas Proselective, Micsa en concentración baja, y Vista Volcanes, con valores superiores a 2000 kg/ha, contrario al rendimiento del tratamiento cepa Micsa concentración alta, que fue menor que el testigo.

El resto de localidades y tratamientos superaron el rendimiento esperado por el agricultor, de 700 kg/ha, lo que representa una respuesta positiva al manejo agronómico de fertilización y protección fitosanitaria aplicada a la evaluación.

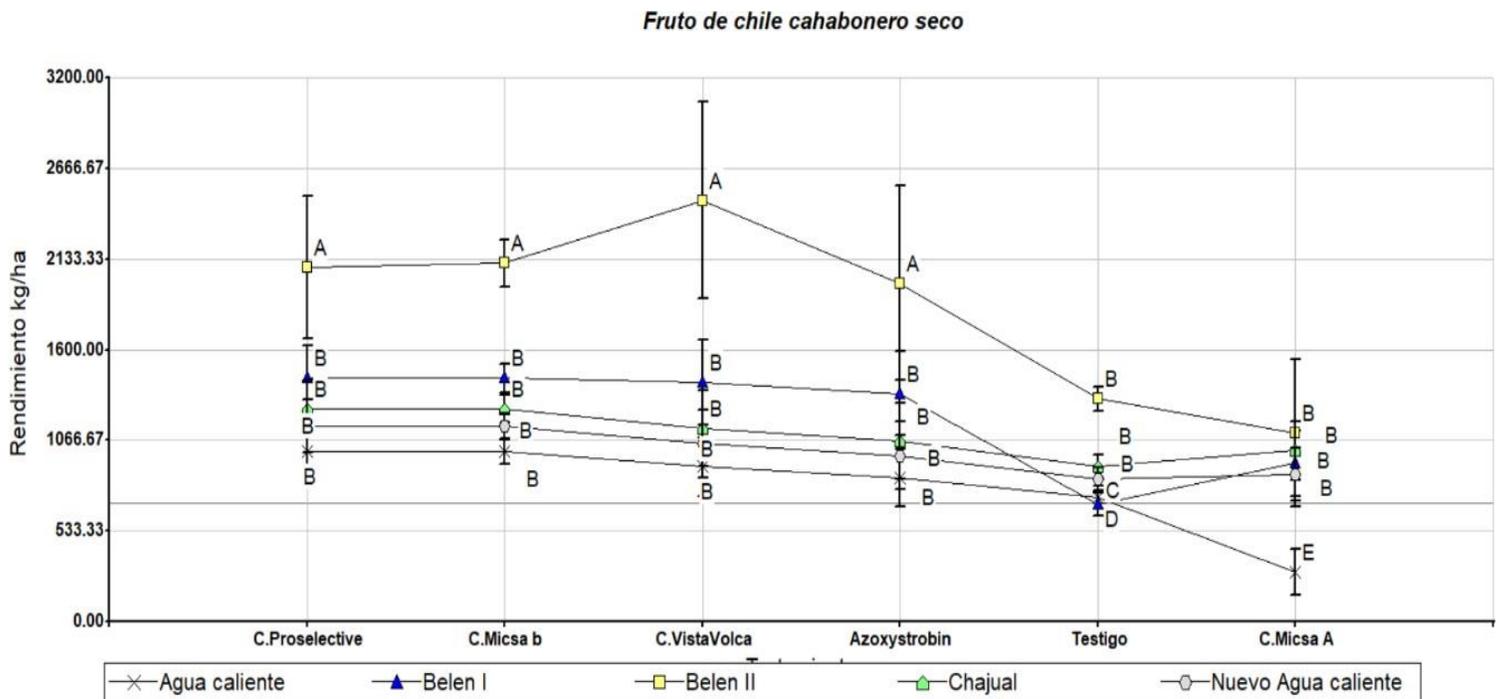


Figura 8: Rendimiento de chile Cahabonero de acuerdo a cada tratamiento de Thichoderma.

Tolerancia a la marchitez del chile cahabonero, con el uso de las diferentes cepas de *Trichoderma*.

Se analizaron los datos de área bajo la curva de la tolerancia de plantas a la marchitez del chile cahabonero, por medio de modelos lineales generales mixtos, con factores fijos: cepas evaluadas, localidad de estudio y la interacción mutua; como factores aleatorios se tomaron los bloques. Se encontraron diferencias estadísticas altamente significativas, en todos los factores de evaluación, y en la interacción de tratamiento-ambiente, por lo que se realizó un análisis múltiple de medias DGC.

Los valores de área bajo la curva, correspondientes a la tolerancia a la marchitez del chile cahabonero en los diferentes tratamientos evaluados en las localidades, muestran que las localidades Belén II y Belén I (parte alta de Cahabón) presentaron la mayor tolerancia a la enfermedad en los diferentes tratamientos, en donde los mejores resultados son los de la cepa Micsa concentración alta.

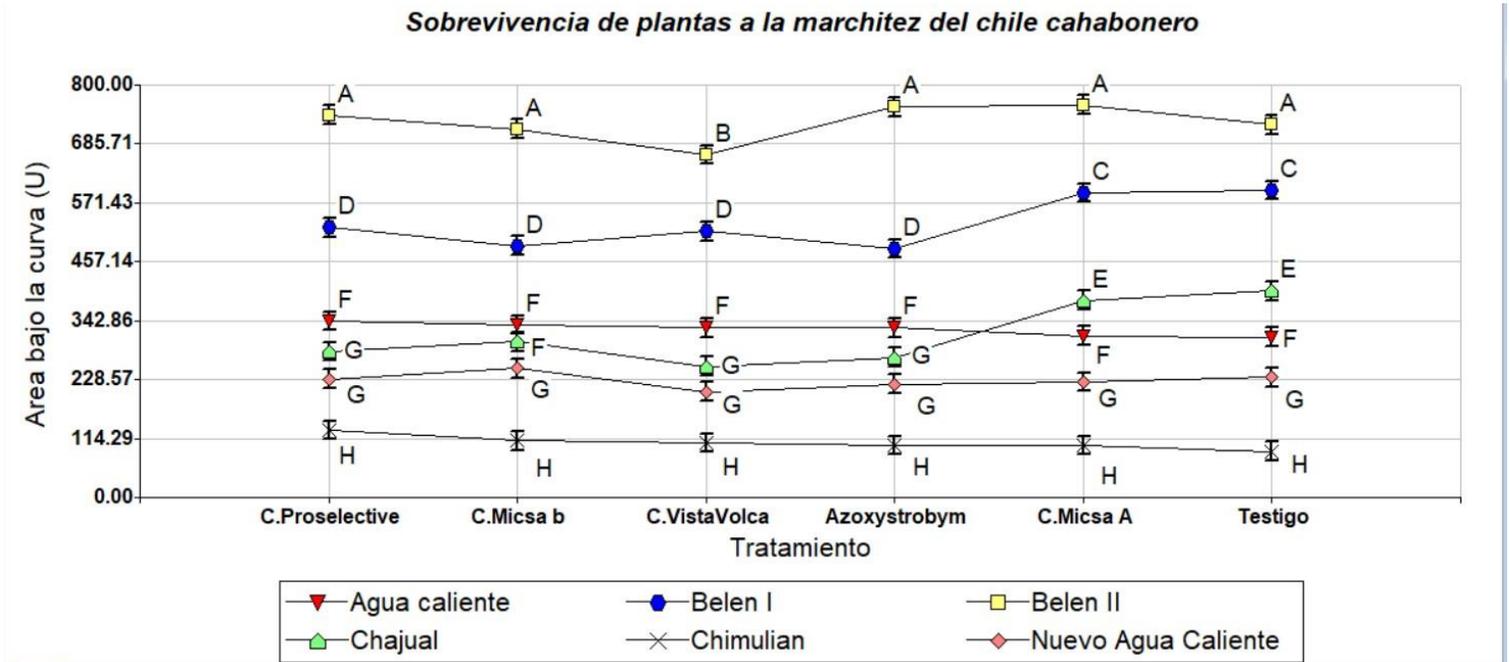


Figura 9: Sobrevivencia de plantas a la marchitez del chile Cahabonero de acuerdo a cada tratamiento de *Trichoderma*.

7. Conclusiones

- Se identificó que los agentes causales asociados a la marchitez del chile cahabonero (*Capsicum* sp.) en Santa María Cahabón, Alta Verapaz, fueron los patógenos *Fusarium* sp y *Rhizoctonia* sp.
- Se validaron los postulados de Koch con la enfermedad de la marchitez del chile cahabonero, determinando que la patógena causal es *Fusarium* sp.
- Se identificó a las cepas de *Trichoderma*: Proselective, Micsa y Vista Volcanes como los tratamientos que provocaron un rendimiento estadísticamente diferente y superior a los otros tratamientos.

8. Recomendaciones

- Evaluar en ensayos agroeconómicos la respuesta en rendimiento del chile cahabonero, a la aplicación de las cepas de *Trichoderma*: Proselective, Micsa y Vista Volcanes.

9. Referencias Bibliográficas Consultadas

- Alvarez, S. E., & Sivila, N. (2013). *Produccion artesanal de trichoderma*. Jujuy: San Salvador de Jujuy, facultad de ciencias agrarias.
- Baker, H., & Cook, R. (1974). *Biological control of plant pathogens*. San Francisco: W.H. Freeman.
- Eshbaugh, W. (1970). *A biosystematic and evolutionary study of Capsicum baccatum(solanaceae)*. (Vol. 22). Britonia.
- Fajardo, P., & Guzmán, A. (4 de Mayo de 2017). *Cultivo In Vitro de Trichoderma spp. y su antagonismo frente a hongos fitopatógenos*. Obtenido de <http://www.engormix.com/agricultura/articulos/hongotrichodermasppt29005>.
- FAO. (2009). *FAOSTAT*. Obtenido de <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>
- Hajieghrari, B., Torabi-Giglou, M., Mohammadi, M., & Davari, M. (2008). Biological potential of some Iranian Trichoderma isolates in the control of soil borne plantpathogenic fungi. *Afr. J. Biotechnol*(7), 967-972.
- Hallman, J., Davies, K. G., & Sikora, R. (2009). Biological control using microbial pathogens, endophytes and antagonists. En R. N. Perry, M. Moens, & J. L. Starr, *Root-knot Nematodes* (págs. 380-411). Reino Unido: International, Wallingford.
- Harrman, G. E. (2006). Overview of mechanisms and uses of Trichoderma spp. *Phytopathology*(96), 190-194.
- Howell, C. L. (2003). Mechanisms Employed by Trichoderma Species in the Biological Control of Plant Diseases: The History and Evolution of Current Concepts. *PlantDisease*, 87(1), 4-10.
- Howell, C. R., & Stipanovic, R. D. (1983). Gliovirin, a new antibiotic from Gliocladium virensand it's role in he biological control of Pythium ultimum. (J. Can, Ed.) *Microbiology*,29, 321-324.
- Lieckfeldt, E., Kuhls, K., & Muthumeenakshi, S. (1998). Molecular taxonomy of Trichoderma sp. and Gliocladium and their telemorphs. C. P. Kubicek, & G. E. Harman, *Trichoderma and Gliocladium; basic biology, taxonomy and genetics*, 116,1-56.
- Long, J. S. (1986). *Capsicum y cultura: la historia de chile*. México: Fondo de culturaeconómica.

- Radwan, M. A. (2017). Impact of pesticides on *Trichoderma harzianum* and on its possible antagonistic activity against *Fusarium oxysporum* under In vitro conditions. *Asian J Agri & Biol.*(5(4)), 291-302.
- Roberts , D., Lohrke, S. M., Meyer , S., Buyer , J., Bowers, J., Baker , C., . . . Chung , S. (2005). Biocontrol agents applied individually and in combination for suppression of soil borne diseases of cucumber. *Crop Protection*(24), 141-155.
- Samuels, G. (1996). *Trichoderma*: a review of biology and systematic of the genus. *Mycological Research*, 100 (8), 923-935.
- Weindling, R. (1932). *Trichoderma lignorum* as a parasite of other soil fungi. En *Phytopathology* (Vol. 22, págs. 837-845).
- Yedidia, I., Benhamou, N., & Chet, I. (1999). indication of defense responses in cucumber plants (*Cucumis sativus* L) by the biocontrol agent *Trichoderma harzianum* appl. *Enviroment. Microbiology*(65), 1061-1070.

10. Anexos

Cuadro 4: Análisis de varianza por modelos lineales generales y mixtos para el rendimiento de fruto seco de chile cahabonero en interacción con los tratamientos evaluados en las diferentes localidades y análisis de discriminación de medias.

Medidas de ajuste del modelo

N	AIC	BIC	logLik	Sigma	R2_0	R2_1
90	919.90	1005.77	-418.95	199.26	0.67	0.68

AIC y BIC menores implica mejor

Pruebas de hipótesis marginales (SC tipo III)

	numDF	denDF	F-value	p-value
(Intercept)	1	58	231.86	<0.0001
Tratamiento	5	58	57.98	<0.0001***
Localidad	4	58	13.87	<0.0001***
Trat:Localidad	20	58	5.03	<0.0001***

Rendimiento - Medias ajustadas y errores estándares para Trat*Localidad

DGC (Alfa=0.05)

Procedimiento de corrección de p-valores: No

Trat	Localidad	Medias	E.E.	
4	Belen II	2478.01	577.12	A
2	Belen II	2109.25	139.16	A
1	Belen II	2084.72	421.64	A
5	Belen II	1991.01	569.69	A
1	Belen I	1432.54	187.94	B
2	Belen I	1431.28	84.13	B
4	Belen I	1406.60	251.01	B
5	Belen I	1342.25	247.96	B
6	Belen II	1310.20	73.00	B
1	Chajual	1250.60	169.67	B

2	Chajual	1249.50	80.71	B
1	Nuevo Agua caliente	1150.55	152.94	B
2	Nuevo Agua caliente	1149.54	77.78	B
4	Chajual	1138.11	224.99	B
3	Belen II	1108.34	433.04	B
5	Chajual	1060.18	222.31	B
4	Nuevo Agua caliente	1047.06	200.97	B
3	Chajual	1004.65	173.66	B
1	Agua caliente	1000.48	132.85	B
2	Agua caliente	999.60	74.53	B
5	Nuevo Agua caliente	975.37	198.63	B
3	Belen I	933.21	192.50	B
6	Chajual	913.12	67.39	B
4	Agua caliente	910.49	171.76	B
3	Nuevo Agua caliente	863.95	156.38	B
5	Agua caliente	848.15	169.86	B
6	Nuevo Agua caliente	840.07	67.18	B
6	Agua caliente	730.50	66.95	C
6	Belen I	688.13	67.65	D
3	Agua caliente	287.98	135.62	E

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Cuadro 1: Análisis de varianza por modelos lineales generales y mixtos para el rendimiento de fruto seco de chile cahabonero en interacción con los tratamientos evaluados en las diferentes localidades

Pruebas de hipótesis marginales (SC tipo III)

	numDF	denDF	F-value	p-value
(Intercept)	1	70	12055.79	<0.0001
Trat	5	70	6.71	<0.0001***
Localidad	5	70	927.79	<0.0001***
Trat:Localidad	25	70	3.61	<0.0001***

Sobrevivencia - Medias ajustadas y errores estándares para Localidad*Trat

DGC (Alfa=0.05)

Procedimiento de corrección de p-valores: No

Localidad	Trat	MediasE.E. Grupos			
Belen II	3	761.11 18.01	A		
Belen II	5	757.48 18.01	A		
Belen II	1	741.69 18.01	A		
Belen II	6	722.48 18.01	A		
Belen II	2	714.32 18.01	A		
Belen II	4	664.70 18.01	B		
Belen I	6	595.77 18.01		C	
Belen I	3	590.37 18.01		C	
Belen I	1	523.80 18.01			D
Belen I	4	515.80 18.01			D
Belen I	2	487.96 18.01			D
Belen I	5	482.76 18.01			D
Chajual	6	400.28 18.01			E
Chajual	3	382.52 18.01			E
Agua caliente	1	341.89 18.01			F
Agua caliente	2	334.94 18.01			F
Agua caliente	4	329.13 18.01			F
Agua caliente	5	329.10 18.01			F
Agua caliente	3	313.25 18.01			F
Agua caliente	6	311.05 18.01			F
Chajual	2	302.23 18.01			F
Chajual	1	282.71 18.01			G
Chajual	5	271.83 18.01			G
Chajual	4	254.60 18.01			G
Nuevo Agua Caliente	2	249.95 18.01			G
Nuevo Agua Caliente	6	233.01 18.01			G

Nuevo Agua Caliente 1		229.57	18.01	G
Nuevo Agua Caliente 3		224.16	18.01	G
Nuevo Agua Caliente 5		220.01	18.01	G
Nuevo Agua Caliente 4		205.51	18.01	G
Chimulian	1	130.52	18.01	H
Chimulian	2	109.92	18.01	H
Chimulian	4	106.18	18.01	H
Chimulian	3	100.99	18.01	H
Chimulian	5	100.80	18.01	H
<u>Chimulian</u>	<u>6</u>	<u>89.39</u>	<u>18.01</u>	<u>H</u>

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)



MINISTERIO DE
AGRICULTURA,
GANADERÍA
Y ALIMENTACIÓN



Programa de consorcios de Investigación Agropecuaria