

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

LA MOLINA

FACULTAD DE AGRONOMÍA



**EFICIENCIA DE *Trichoderma viride* COMO UN BIOCONTROLADOR
PARA *Phytophthora capsici* EN EL CULTIVO DE PIMIENTO
(*Capsicum annum* L.)**

Presentada por:

VIRGINIA GRACIELA ROMERO UGAZ

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE:

INGENIERO AGRÓNOMO

Lima – Perú

2018

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA

FACULTAD DE AGRONOMIA

**“EFICIENCIA DE *Trichoderma viride* COMO UN
BIOCONTROLADOR PARA *Phytophthora capsici* EN EL CULTIVO
DE PIMIENTO (*Capsicum annuum* L.)**

Presentada por:

VIRGINIA GRACIELA ROMERO UGAZ

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE:
INGENIERO AGRONOMO**

Sustentada y Aprobada ante el siguiente jurado:

**Ing. M. S. Andrés Casas Díaz
PRESIDENTE**

**Ing. Mg. Sc. Liliana Aragón Caballero
ASESORA**

**Ing. Mg. Sc. Walter Apaza Tapia
MIEMBRO**

**Ing. Ángel Alfonso Palomo Herrera
MIEMBRO**

Lima – Perú

2018

DEDICATORIA

A mis padres María del Pilar y Román Rómulo quienes son mi motivación de vida, gracias por su apoyo incondicional en el transcurso de mi vida.

AGRADECIMIENTO

A la Mg. Sc. Liliana Aragón Caballero, asesora del presente trabajo.

A mis profesores Andrés Casas, Walter Apaza y Alfonso Palomo por su apoyo y asesoría en el desarrollo de esta tesis.

A todo el equipo de la Clínica de Diagnóstico de Fitopatología de la Universidad Nacional Agraria La Molina.

A Javier por su apoyo en el invernadero.

Muchas Gracias

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN

I.	INTRODUCCIÓN	1
II.	REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1.	GENERALIDADES DEL CULTIVO	3
2.1.1.	ORIGEN.....	3
2.1.2.	CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA.....	3
2.1.3.	DESCRIPCIÓN DE LA PLANTA.....	3
2.1.4.	ASPECTOS AGRONÓMICOS	5
2.1.5.	PLAGAS Y ENFERMEDADES.....	7
2.2.	GENERALIDADES DE <i>Phytophthora capsici</i>	8
2.2.1.	NOMBRE DE LA ENFERMEDAD	8
2.2.2.	CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA.....	8
2.2.3.	SÍNTOMAS	8
2.2.4.	CICLO DE LA ENFERMEDAD	9
2.2.5.	ESTRATEGIAS DE CONTROL DE LA ENFERMEDAD.....	10
2.3.	GENERALIDADES DE <i>Trichoderma viride</i>	10
2.3.1.	MORFOLOGÍA DE <i>Trichoderma viride</i>	11
2.3.2.	CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA.....	11
2.3.3.	MECANISMOS DE ACCIÓN.....	12
III.	MATERIALES Y METODOS	15
3.1.	UBICACIÓN DEL CAMPO EXPERIMENTAL.....	15
3.2.	INSUMOS, MATERIALES Y METODOS.....	15
3.2.1.	LABORATORIO.....	15
3.2.2.	INVERNADERO	16
3.3.	METODOLOGÍA Y PROCEDIMIENTO	17
3.3.1.	AISLAMIENTO DEL PATÓGENO.....	17
3.3.2.	MULTIPLICACIÓN DEL MICELIO	17
3.3.3.	PRODUCCIÓN DEL INÓCULO	17
3.3.4.	AISLAMIENTO DEL INÓCULO CONTROLADOR.....	18
3.3.5.	MULTIPLICACIÓN DEL MICELIO.....	18
3.3.6.	PREPARACIÓN DEL INÓCULO CONTROLADOR.....	18

3.3.7.	DENSIDAD DE INÓCULO DEL CONTROLADOR.....	18
3.3.8.	PRODUCCIÓN DE PLANTAS.....	18
3.3.9.	INOCULACIÓN DEL CONTROLADOR (<i>Trichoderma viride</i>)	19
3.3.10.	INOCULACIÓN DEL PATÓGENO (<i>Phytophthora capsici</i>)	19
3.4.	PARÁMETROS EVALUADOS	20
3.4.1.	LONGITUD DE RAÍCES	20
3.4.2.	PESO SECO DE RAÍCES	20
3.4.3.	ALTURA DE LA PLANTA	20
3.4.4.	PESO SECO DEL FOLLAJE	20
3.4.5.	GRADOS DE ENFERMEDAD	21
3.5.	DISEÑO EXPERIMENTAL.....	21
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	24
4.1.	LONGITUD DE RAÍCES / PESO SECO DE RAÍZ / PESO SECO DE FOLLAJE	24
4.2.	ALTURA DE PLANTA.....	32
4.2.1.	GRADO DE ENFERMEDAD	35
V.	CONCLUSIONES	39
VI.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40
VII.	ANEXOS	45

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Descripción de los tratamientos de control de <i>Phytophthora capsici</i> con el biocontrolador <i>Trichoderma viride</i> en Páprika bajo condiciones de invernadero.	22
Tabla 2: Distribución de los tratamientos de control de <i>Phytophthora capsici</i> con el biocontrolador <i>Trichoderma viride</i> en Páprika bajo condiciones de invernadero.	23
Tabla 3: Promedio de la longitud de raíces por tratamiento de control de <i>P. capsici</i> con el biocontrolador <i>T. viride</i> bajo condiciones de invernadero	27
Tabla 4: Promedio del peso seco de raíces por tratamiento de control de <i>P. capsici</i> con el biocontrolador <i>T. viride</i> bajo condiciones de invernadero	28
Tabla 5: Promedio del peso seco de follaje por tratamiento de control de <i>P. capsici</i> con el biocontrolador <i>T. viride</i> bajo condiciones de invernadero	28
Tabla 6: Promedio de la altura de planta por tratamiento de control de <i>P. capsici</i> con el biocontrolador <i>T. viride</i> bajo condiciones de invernadero	34
Tabla 7: Promedio del grado de severidad por tratamiento de control de <i>P. capsici</i> con el biocontrolador <i>T. viride</i> bajo condiciones de invernadero	36

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Estados fenológicos del ají Paprika (<i>Capsicum annuum</i> L.) en los cuales afecta <i>P. capsici</i> y estados de desarrollo en el cual es más susceptible.	4
Figura 2: Ciclo de vida de <i>Phytophthora capsici</i>	9
Figura 3: Micoparasitismo de <i>Trichoderma harzianun</i> contra <i>Phytophthora capsici</i>	14
Figura 4: Longitud de raíces (mm), según tratamientos de control de <i>P. capsici</i> sobre <i>T. viride</i> bajo tres métodos de siembra.....	29
Figura 5: Peso seco de raíces (g.), según tratamientos de control de <i>P. capsici</i> sobre <i>T. viride</i> bajo tres métodos de siembra.....	29
Figura 6: Peso seco de follaje (g.), según tratamientos de control de <i>P. capsici</i> sobre <i>T. viride</i> bajo tres métodos de siembra.....	30
Figura 7: Plantas de paprika a los 76 días posterior de la siembra: A. Siembra directa (T1, T2, T3, T4); B. Plantín (T5, T6, T7, T8) y C. Siembra a raíz desnuda (T9, T10, T11, T12).	31
Figura 8: Altura de planta (g.), según tratamientos de control de <i>P. capsici</i> sobre <i>T. viride</i> bajo tres métodos de siembra.....	34
Figura 9: Severidad en plantas (grados) para las nueve evaluaciones según tratamiento en la prueba de eficiencia de <i>T. viride</i> como un biocontrolador para <i>P. capsici</i> bajo tres modalidades de siembra en el cultivo de pimiento (<i>Capsicum annuum</i>).....	36

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Longitud de Raíces (mm).....	45
Anexo 2: Peso seco de raíces (g.)	45
Anexo 3: Peso seco de follaje (g.)	45
Anexo 4: Altura de planta (cm)	46
Anexo 5: Promedio severidad (grados) de nueve evaluaciones	46
Anexo 6: Resumen de parámetros evaluados.....	46
Anexo 7: ANVA para la variable longitud de raíces (mm)	47
Anexo 8: ANVA para la variable peso seco de raíces (g.).....	47
Anexo 9: ANVA para la variable peso seco de follaje (g.).....	48
Anexo 10: ANVA para la variable altura de planta (cm).....	48
Anexo 11: ANVA para severidad de la enfermedad (grados).....	49

RESUMEN

Trichoderma viride es un hongo antagonista de suma importancia como biocontrolador de los fitopatógenos. En el presente trabajo se evaluó: a). la eficiencia de *Trichoderma viride* como un biocontrolador para *Phytophthora capsici* bajo tres modalidades de siembra (directa, plantín y raíz desnuda) en el cultivo de pimiento (*Capsicum annuum* L.), b). la relación del método de siembra con la pudrición radicular por *P. capsici* y c). la interacción de *Trichoderma viride* con los distintos métodos de siembra. Se instaló en el invernadero de la Universidad Nacional Agraria La Molina cuatro tratamientos bajo tres modalidades de siembra (12 tratamientos). Los resultados evaluados por método de siembra mostraron una mayor eficacia de *Trichoderma viride* como biocontrolador para *P. capsici* en el método de siembra plantín siguiéndole el método de siembra a raíz desnuda. En ambos casos el contacto de las raíces con el inóculo controlador fue mayor en comparación al método de siembra directa, en donde por contar con una superficie de suelo más compacta se dan pérdidas por percolación y/o lixiviación. La mejor interacción entre el método de siembra y la pudrición radicular se obtuvo en el método de siembra a raíz desnuda (74% severidad), los otros dos métodos de siembra (directa y plantín) se obtuvo el 100% de plantas muertas, es decir, no hubo ninguna relación favorable. Finalmente, en la interacción establecida entre el método de siembra y *Trichoderma viride* el mejor resultado en los parámetros evaluados se dio en el método de siembra directa. Con respecto al ABCPE, el método de siembra directa mostró mayor incidencia, en efecto a que al momento de la inoculación de *P. capsici* contaba con mayor población de raíces en comparación a los métodos de siembra plantín y raíz desnuda. Asimismo, si bien el tratamiento inoculado solo con *P. capsici* superó en valor al tratamiento inoculado con *P. capsici* y *T. viride*, no hubo mayor variación numérica entre ambos tratamientos.

Palabras claves: *Trichoderma viride*, Biocontrolador, *Phytophthora capsici*, *Capsicum annuum* L.

ABSTRACT

Trichoderma viride is an antagonist fungus quite important as a bio controller over phytopathogens. This work was evaluated: a). the efficiency of *Trichoderma viride* as a bio controller of *Phytophthora capsici* in three methods of growing crop (direct seeding, plantlet and bare root) in pepper (*Capsicum annuum* L), b). the interaction between the method of growing crop and the root rot by *P. capsici*, and c). the interaction of *T. viride* with the method of growing crop. Four treatments under three types (12 treatments) of planting were installed in the greenhouse of the Universidad Nacional Agraria La Molina. The results evaluated by method growing crop showed a higher efficiency of *T. viride* as a bio controller of *P. capsici* in the method of grow plantlet, and then bare root. The contact between the inoculum and their root was better than direct seeding, because this method has a compact soil and it could cause percolation and/or lixiviation. The best interaction between the method of growing crop and the root rot was obtained by the method of bare root (74% severity), and the others two methods of growing (direct seeding and plantlet) had 100% dead plants; therefore, there was not any positive relation. Regarding the interaction established between the method of growing crop and *T. viride*, the best result in the evaluated parameters was obtained by the method of growing direct seeding. Concerning ABCPE, the method of growing direct seeding showed the major incidence, given that at the inoculating's moment, the method of growing direct seeding had more mass of root than the other two methods of growing crop. Likewise, although the inoculated treatment only with *P. capsici* exceeded in value the inoculated treatments with *P. capsici* and *T. viride*, there was no greater numerical variation between both treatments.

Key words: *Trichoderma viride*, Bio controller, *Phytophthora capsici*, *Capsicum annuum* L.

I. INTRODUCCIÓN

El Perú hasta hace 7 años fue tradicionalmente uno de los principales exportadores de Páprika, perdiéndose con la entrada de nuevos mercados con menores precios (China), de este modo, si bien antes se tenía como principal mercado destino a España en donde se transformaba en polvo la páprika seca, en la actualidad nuestro principal destino es EEUU y México destinándose principalmente a centrales de abasto, cuyo precio es significativamente menor a percibido por España, lo cual, ha repercutido finalmente en la reducción de área sembrada en el país. Así mismo, factores como residuos de ocratoxinas y pesticidas además del incremento de los costos de producción sumaron a la consolidación de China como el principal exportador de páprika.

El cultivo páprika se desarrolla favorablemente a lo largo de toda la costa peruana, por el norte hasta Piura y por el sur hasta Tacna, siendo los departamentos de Arequipa, Lima, Ica y la Libertad los principales productores.

La siembra de páprika puede realizarse bajo tres métodos de siembra: siembra directa, almácigo en bandeja (plantín) y trasplante a raíz desnuda. La siembra por plantín es la que predomina en la mayoría de los fundos. Sin embargo, se observa que con la siembra directa se obtiene mejores resultados, ya que si se obtiene una buena germinación se consigue un cultivo más uniforme y vigoroso que con el trasplante; al no darse el estrés causado por el mismo, se obtiene plantas mejor enraizadas, por ende, resisten mejor a los problemas que se puedan presentar en el campo.

Este cultivo se ve afectado por numerosas plagas y enfermedades; las cuales son responsables de numerosas pérdidas en la producción. Uno de los problemas de mayor importancia es el ocasionado por *Phytophthora capsici*, patógeno responsable de las pudriciones radiculares que se pueden presentar en el campo definitivo, ocasionado a su vez muerte regresiva y muchas veces pérdida general de la planta. Para su manejo existen

diversos métodos de control, siendo el más efectivo además del control químico, el control cultural, dándose en nuestro entorno la combinación de ambos generalmente en la mayoría de los fundos, sin embargo, existe otra alternativa muy poco usada debido a su poco conocimiento, que es el control biológico, el cual se basa en el uso de organismos antagonicos los cuales pueden disminuir considerablemente la población del patógeno. La mayoría de estos organismos se pueden encontrar en suelo de la rizósfera, sin embargo, resulta ser un producto caro al momento de preparar el sustrato inóculo, Por otro lado, existen otros factores que predisponen al cultivo al ataque de esta enfermedad, como el estrés causado en el momento de la siembra indirecta.

El presente trabajo de investigación plantea los siguientes objetivos:

- a. Evaluar la eficiencia de *Trichoderma viride* como un biocontrolador para *Phytophthora capsici* bajo tres modalidades de siembra en el cultivo de pimiento (*Capsicum annuum L.*).
- b. Establecer la relación del método de siembra con la pudrición radicular por *P. capsici*.
- c. Establecer la interacción de *Trichoderma viride* y los distintos métodos de siembra.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. GENERALIDADES DEL CULTIVO

2.1.1. ORIGEN

El pimiento páprika (*Capsicum annuum* L.) es de origen mexicano y centro americano (Vavilov, 1951). Los cultivares son sin duda de origen americano, específicamente corresponden al trópico y subtropico de América del Sur (Thompson y Kelly, 1957).

2.1.2. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

División	:	Magnoliophyta
Clase	:	Magnoliopsida
Subclase	:	Asteridae
Orden	:	Scrophulariales
Familia	:	Solanaceae
Especie	:	<i>Capsicum annuum</i> L.

FUENTE: Takhtajan (1980).

2.1.3. DESCRIPCIÓN DE LA PLANTA

Planta anual, en zonas templadas, y perenne en las regiones tropicales; con tallos erectos, herbáceos y ramificados de color verde oscuro. Sistema de raíces llega a profundidades de 0.70 a 1.20 m., lateralmente hasta 1.20 m. pero la mayoría de las raíces están a una profundidad de 5 a 40 cm.

La altura promedio de la planta es de 60 cm la cuál varía según la variedad de que se trate. Las hojas son planas, simples y de forma ovoide alargada. Las flores son perfectas, se forman en las axilas de las ramas, son de color blanco y a veces púrpura (Valadez, 1994).

El fruto es una baya de forma alargada y, en algunas variedades, al acercarse la madurez adquiere una forma curvada. En los frutos inmaduros se presenta una alta concentración de clorofila acumulada en las capas de pericarpio mientras que los maduros toman un color rojo o amarillo debido a los pigmentos licoperisina, xantofila y caroteno (Valadez, 1994).

Los frutos poseen un alto contenido vitamínico, principalmente de vitamina C (Maroto, 1989). La picosidad o pungencia es debida al pigmento capsaicina (Valadez, 1994). Las semillas son redondeadas ligeramente reniformes, suelen tener de 3 a 5 mm de longitud y son de color amarillo pálido. Un gramo puede contener entre 150 y 200 semillas y su variabilidad es de 3 a 4 años (Maroto, 1989).

2.1.3.1. FENOLOGÍA DEL CULTIVO

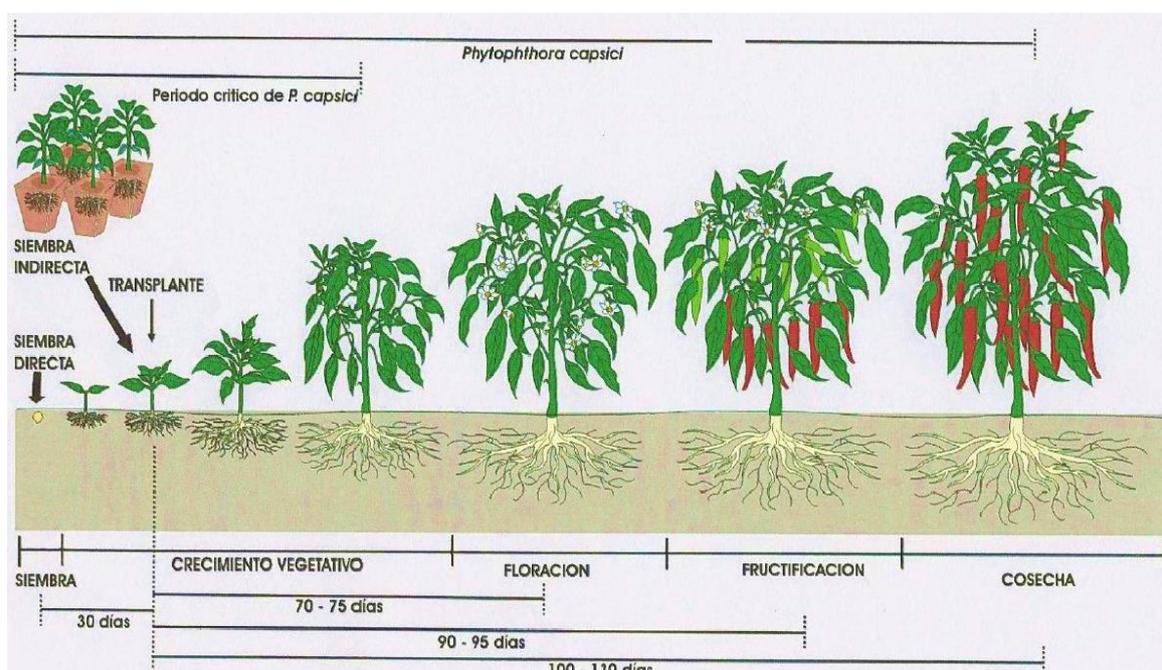


Figura 1: Estados fenológicos del ají Paprika (*Capsicum annuum* L.) en los cuales afecta *P. capsici* y estados de desarrollo en el cual es más susceptible.

FUENTE: Huamaní (2007)

2.1.4. ASPECTOS AGRONÓMICOS

2.1.4.1. MÉTODOS DE SIEMBRA

En nuestro medio se usa el trasplante y la siembra directa, predominando actualmente el primero a través de siembra mecánica (Enriquez, 2015), sin embargo, la mayoría que ha probado ambos tipos de siembra mencionan que se obtienen mejores resultados con la siembra directa, los cuales se ven reflejados en el campo, con plantas mejor enraizadas, por tanto, resisten mejor las adversidades de la falta de agua y los ataques de enfermedades; aunque los rendimientos todavía no han sido comparados (Armas, 2001).

En el Valle costero la fecha apropiada para la siembra debe estar comprendida entre el 15 de setiembre y el 15 de diciembre (Armas, 2001).

- a. **Siembra directa:** consiste en colocar la semilla en el campo definitivo, donde la planta completará su período de crecimiento (Ugás, 2005). En siembra directa, si la germinación es buena se consigue un cultivo más uniforme y más vigoroso que con el trasplante. Al no sufrir las plantas los efectos del mismo, éstas quedan mejor enraizadas, por tanto, resisten mejor las adversidades de la falta de agua y los ataques de enfermedades (Velásquez, 2001).
 - b. **Siembra Indirecta:** consiste en hacer almácigos en campo abierto o en bandejas y trasplantar plántulas, que puede ser a raíz desnuda o acompañada de sustrato (Ugás, 2005).
- Almácigos: son lugares especiales donde se siembran las semillas y se mantienen las plántulas hasta que tengan el tamaño y/o edad apropiados para ser trasplantadas. En los últimos años productores y viveristas han empezado a producir almácigos en bandejas, produciendo plántulas de mayor calidad. En este sistema se usan sustratos desinfectados y riego por micro aspersion (Ugás, 2005).

- Trasplante: se realiza cuando las plántulas han alcanzado un tamaño tal que les permite recuperarse rápidamente y ser manipuladas con cierta facilidad. El momento del trasplante se determina normalmente de acuerdo con el tamaño de plántula (altura de planta, número de hojas, diámetro del cuello, etc.) y al tiempo de almácigo, variando según la especie (Ugás, 2005).

- c. **Almacigado en Bandeja:** consiste en sembrar las semillas en una bandeja que está dividida en celdas de igual volumen. Antes de la siembra la bandeja es llenada con un sustrato artificial pasteurizado, en algunos almácigos artesanales se utiliza tierra vegetal, humus, tierra de chacra, cascarilla de arroz y cualquier otro tipo de medio que le dé soporte a la planta. En este medio se lleva a cabo la siembra. Posteriormente, las bandejas son llevadas a una zona donde se mantienen durante su estancia en el vivero, donde se les fertiliza empleando aspersores y se les cuida de las plagas y enfermedades. Cuando las plántulas ya están alcanzando un tamaño ideal, se exponen a la radiación solar directa, a las temperaturas y vientos que se presentan en el campo definitivo. A esta actividad se le denomina el “endurecimiento” de las plántulas (Fumagalli, 2003). En el almácigo, las plántulas para el trasplante se obtienen en función de la época de siembra, de 30 – 35 días en verano y de 40 – 45 días en otoño. (Velásquez, 2001).

- d. **Almacigado en campo abierto:** En el Perú los almácigos de hortalizas se realizan generalmente a campo abierto, ya sea en melgas o en surcos distanciados 50-60 cm, con siembras al voleo o en líneas, haciéndose el trasplante a raíz desnuda. (Fumagalli, 2003). Cuando se realiza el trasplante a raíz desnuda, inicialmente, dichos efectos son negativos, debido a la pérdida de una parte del mecanismo de absorción de agua; sin embargo, el desarrollo de raíces nuevas más fibrosas, una vez reanudado el crecimiento, incrementará su capacidad de absorción (Bacon, Hawkins, 1977; Duryea, McClain, 1984). Durante el proceso de extracción de las plantas, para su posterior trasplante o almacenado y plantación en campo, su manejo es continuo, lo que puede aumentar el estrés hídrico si no se toman las suficientes precauciones (Mena *et al.*, 1997a; Mena *et al.*, 1997b).

2.1.5. PLAGAS Y ENFERMEDADES

El componente sanitario es muy importante en el proceso de producción de los capsicums, en muchos casos llegan al 30% del costo del cultivo, lo que muestra la importancia del manejo de plagas y enfermedades para lograr el éxito del cultivo (Apaza, 2006).

Como plagas claves en el cultivo tenemos: *Heliothis virescens* (Perforador de fruto); *Symmetrichema sp.* (Polilla); *Lyneodes integra* (Zancudo); *Prodiplosis longifila* (Mosquilla de los brotes); *Ceratitis capitata* (Mosca de la fruta); *Leivilula taurica* (Oidium); *Meloidogyne incognita* (Nematodo del nudo). Y como plagas ocasionales: *Agrotis sp.*, *Feltia sp.* (Gusanos de tierra); *Bemisia sp.* (Mosca Blanca); *Thrips tabaci* (Trips); *Tetranychus sp.* (Acaro hialino); *Anomala sp.* (Gallina ciega); *Rhizoctonia solani* (Chupadera fungosa); *Phytophthora capsici* (Muerte regresiva); *Botrytis cinérea* (polvillo gris); *Alternaria sp.* (Alternaria) (Enriquez, 2015).

Con relación a las principales enfermedades para el ají páprika causada por hongos, tenemos: **chupaderas fungosas** ocasionadas por varios patógenos del suelo como *Rhizoctonia solani*, *Pythium spp*, *Phytophthora spp*, *Fusarium spp.*; **la pudrición radicular** causada por *Phytophthora capsici* siendo una de las enfermedades más importantes que afectan a los capsicums en el Perú, **la oidiosis** causada por el hongo *Leveillula taurica*, el **moho gris** teniendo como agente causal a *Botrytis cinerea*, **pudrición interna de los frutos** producida por *Alternaria alternata*; entre las enfermedades bacterianas se indican: **la marchitez bacteriana** causada por *Ralstonia solanacearum* raza 3 reportada eventualmente en los valles como Barranca, Chao y Virú, **manchas bacterianas** ocasionada por *Xanthomonas sp*; el nematodo del nódulo teniendo como agente causal a *Meloidogyne incognita* (Apaza, 2006); entre las enfermedades virales si bien se conocen más de treinta virus, solo unos pocos de estos pueden producir daños importantes , bien reduciendo o anulando la producción, bien mermando la calidad de la cosecha (Nuez, Gil Ortega, Costa, 2003).

2.2. GENERALIDADES DE *Phytophthora capsici*

2.2.1. NOMBRE DE LA ENFERMEDAD

Pudrición Radicular del Ají y Pimiento. El oomiceto *Phytophthora capsici* es el agente causal de la enfermedad universalmente conocida del pimiento (Gil Ortega, 1990).

2.2.2. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

Reino: Chromista
Phyllum: Oomycota
Clase: Oomycetos
Orden: Peronosporales
Familia: Peronosporaceae
Género: *Phytophthora*
Especie: *Capsici Leonian*

FUENTE: Agrios (2002)

2.2.3. SÍNTOMAS

Phytophthora capsici puede provocar daños en cualquier parte de la planta y en cualquier estado de desarrollo. La podredumbre del cuello y la subsiguiente marchitez brusca son los síntomas más característicos. En el cuello de la planta enferma puede observarse una zona anular deprimida de color negruzco, que afecta primero a los tejidos corticales y posteriormente a los vasculares. Esta lesión se desarrolla tanto en sentido ascendente como descendente, a partir del punto de infección, y termina produciendo la asfixia de la planta. Este fenómeno se produce de una forma tan rápida que las hojas se muestran colgantes, pero conservando inicialmente su color verde. Infecciones a partir de puntos más altos en la planta, también han sido señaladas, pero suelen ser menos corrientes. En estos casos se suelen producir por salpicaduras de gotas de agua portadoras de las típicas zoosporas (esporas ciliadas) que pueden germinar sobre tallos, hojas y frutos, en éstos a través de la inserción peduncular o de heridas (Nuez *et al.*, 2003).

2.2.4. CICLO DE LA ENFERMEDAD

Phytophthora capsici produce esporangios de forma elipsoidal en cuyo interior se diferencian varias esporas biflageladas o zoosporas. Las oosporas o esporas de origen sexual son esféricas o subesféricas. *P. capsici* también forma clamidosporas o esporas de resistencia a las condiciones adversas, también de forma esféricas (Nuez *et al.*, 2003). El patógeno inverna en forma de oosporas, clamidosporas o micelio en el suelo o en las raíces que ha infectado. En la primavera, las oosporas y clamidosporas germinan en forma de zoosporas; mientras que el micelio prosigue su desarrollo y/o produce zoosporangios que liberan zoosporas. Estas últimas nadan en torno al agua del suelo e infectan las raíces de las plantas susceptibles al entrar en contacto con ellas. El patógeno forma más micelio y zoosporas durante los climas húmedos y moderadamente fríos y lleva la enfermedad a otras plantas (Agrios, 2002).

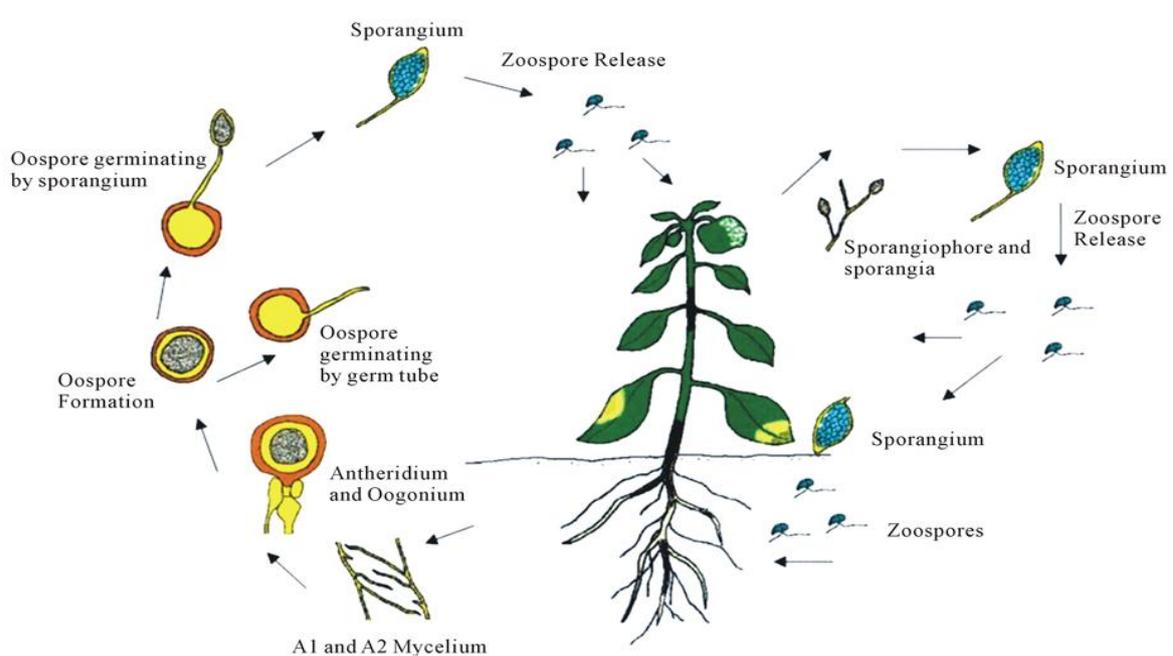


Figura 2: Ciclo de vida de *Phytophthora capsici*

FUENTE: Ristaino and Johnston (1999)

En la figura 2 se parte de las zoosporas biflageladas del suelo, las cuales se enquistan en las raíces ocasionando las lesiones, de esta lesión se produce micelio, el cual puede dar lugar a la vía de reproducción sexual a través de la unión de los dos micelios (grupo de apareamiento A1 y A2), esta unión da lugar a la formación de oosporas (estructura de reproducción sexual)

la cual tiene dos vías, la germinación directa y consecuente infección o la formación de esporangios los cuales germinan y dan lugar a la liberación de las zoosporas que pueden infectar la parte aérea. El esporangio puede caer al suelo y por efecto de las condiciones de humedad germina y se liberan las zoosporas las cuales infectan la raíz y se repite el ciclo.

2.2.5. ESTRATEGIAS DE CONTROL DE LA ENFERMEDAD

Phytophthora capsici es un patógeno que se presenta cuando se tiene exceso de humedad tanto a nivel de cuello de la planta como en las raíces, por ello como medida preventiva se recomienda todas aquellas que eviten humedades altas en las proximidades del cuello de la planta (Nuez *et al.*, 2003).

El control biológico puede dar respuesta a muchos de los problemas que enfrenta la agricultura moderna, es además uno de los elementos claves para la implementación de los sistemas agrícolas sostenibles (Pérez, 2002). El control de la marchitez se ha intentado mediante diversas alternativas culturales, genéticas, químicas y más recientemente empleando agentes biológicos (Guigón y Gonzáles, 2003). El control biológico mediante organismos antagónicos representa una valiosa herramienta no química para la protección de los cultivos contra hongos fitopatógenos (Ait-Lahsen *et al.*, 2001). Destacando diversas especies del hongo micoparásito *Trichoderma spp.*

2.3. GENERALIDADES DE *Trichoderma viride*

El género *Trichoderma* constituye un número de especies de hongos saprofitos, comúnmente establecidos en el suelo, sobre madera en descomposición y restos de plantas (Jensen y Wolffhechel, 1995, Smith, 1995). En la década de los 80 se da inicio a numerosos ensayos con la finalidad de desarrollar agentes de control biológico. Tal como sucedió en la mayor parte de la comunidad científica que se ocupa de este tema, las investigaciones con hongos antagonistas se concentraron en *Trichoderma spp.* (Pérez, 2002) y fueron dirigidas en lo fundamental a la regulación de los patógenos que habitan en el suelo. Dentro de las cuatro especies que más posibilidades tienen en el control biológico destacan las especies

pertenecientes al género de *Trichoderma* entre las más promisorias, pues estas poseen todos los mecanismos de acción antagónica hasta ahora estudiados (Baker, 1991).

Persoon en 1974 propuso el género *Trichoderma* con cuatro especies, de las cuales solo una, *Trichoderma viride*, pertenece ahora al género. Anteriormente, en el año 1926, Abbott consideró que había cuatro especies en el género, lo cual fue aceptado por Gilman en 1957. Rifai en 1969 revisó el género *Trichoderma* para incluir nueve especies más, y esto ha sido ahora aceptado (Cook y Baker, 1989). Sin embargo, muchos aislados encontrados en el suelo no se ajustan exactamente a alguna de las nueve especies (Chet, 1987).

2.3.1. MORFOLOGÍA DE *Trichoderma viride*

Pertenece a la subdivisión Deuteromycotina, clase Hyphomycetes, la familia posee conidióforos erectos o arrastrados, altamente ramificados, más o menos cónicos, poco o fuertemente verticilados. Las fiálides tienen apariencia de un juego de bolos en racimos o separadas, desde las cuales son sostenidas las conidias no septadas, subglobosas a elipsoidales y viscosas, a menudo reunidas en forma de pelota a la entrada de éstas. Comúnmente forma clamidosporas, intercaladas o raramente terminales, las cuales son globosas a elipsoidales, hialinas y la pared suave. Las colonias en cultivo usualmente son de rápido crecimiento, flocosas, suaves, blancas a verdes (Rifai, 1969, citado por Cook y Baker, 1989).

2.3.2. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

Reino: Fungi
División: Mycota
Subdivisión: Eumycota
Clase: Hyphomycetes
Orden: Moniliales
Familia: Moniliaceae
Género: *Trichoderma* (Villegas, 2005)
Especie: *Trichoderma viride*

2.3.3. MECANISMOS DE ACCIÓN

Las especies del género *Trichoderma* son los antagonistas más utilizados para el control de enfermedades de plantas producidas por hongos, debido a su ubicuidad, a su facilidad para ser aisladas y cultivadas, a su crecimiento rápido en un gran número de sustratos y a que no atacan a plantas superiores (Papavizas *et al.* 1982). Los mecanismos por los que las cepas del género *Trichoderma* desplazan al fitopatógeno son fundamentalmente de tres tipos. Competición directa por el espacio o por los nutrientes (Elad & Baker 1985, Elad & Chet 1987, Chet & Ibar 1994, Belanger *et al.* 1995), producción de metabolitos antibióticos, ya sean de naturaleza volátil o no volátil (Chet *et al.* 1997, Sid Ahmed *et al.* 2000, Sid Ahmed *et al.* 2003) y parasitismo directo de determinadas especies de *Trichoderma* sobre los hongos fitopatógenos (Yedidia *et al.* 1999, Ezziyyani *et al.* 2003).

Los principales mecanismos por los cuales *Trichoderma spp.* lleva a cabo su antagonismo contra los patógenos de las plantas incluyen la degradación y posterior asimilación de los hongos (De La Cruz, *et al.*, 1995a). Esta actividad antifúngica involucra la producción de antibióticos incluyendo compuestos que afectan la integridad de las membranas fungosas, competencia por nutrientes claves y la producción de enzimas que degradan la pared celular de los hongos (Ait-Lahsen *et al.*, 2001). Se ha descrito que el proceso de infección se lleva a cabo mediante la excreción de enzimas líticas que incluyen β – 1.3 – glucanasas, proteinasas y quitinasas, que le permiten degradar la pared celular del hospedero (Ait-Lahsen *et al.*, 2001; De La Cruz *et al.*, 1995b; Haran *et al.*, 1996). A nivel celular causan vacuolación, granulación, coagulación, desintegración y lisis (Bell *et al.*, 1982; Chet y Baker, 1981; Hadar *et al.*, 1979). En el caso de los Oomycetes, cuya pared celular contiene β – 1.3 – glucano y celulosa, se sugiere la β – 1.3 – glucanasas como la enzima principal en la lisis de la pared celular durante la acción micoparasítica (De La Cruz *et al.*, 1995a).

Entre otros mecanismos, se puede mencionar los que elicitán o inducen mecanismos de defensa fisiológicos y bioquímicos como es la activación en la planta de compuestos relacionados con la resistencia (inducción de resistencia) (Harman, 2004), con la detoxificación de toxinas excretadas por patógenos y la desactivación de enzimas de éstos durante el proceso de infección; la solubilización de elementos nutritivos, que en su forma original no son accesibles para las plantas. Tienen la capacidad, además, de crear un

ambiente favorable al desarrollo radical lo que aumenta la tolerancia de la planta al estrés (Harman, 2003). La respuesta defensiva por parte de la planta es una reacción de hipersensibilidad con resultado de necrosis y se desarrolla en células vivas de la planta localizadas en el frente del avance patogénico, que se resuelve con la producción de proteínas-PR con actividad peroxidasa, lo cual forma parte del mecanismo de defensa hipersensible de la planta y es el responsable de la inducción de resistencia desarrollado por la planta (Candela *et. al* 1995). Por otro lado, Anke *et al.*, reportaron la producción de sideróforos por *Trichoderma spp*; estos autores, registraron la producción de hidroxamato como un tipo de sideróforo producido por este hongo, convirtiéndolo en un fuerte competidor por el hierro del suelo, el cual es necesario para la sobrevivencia de otros organismos. Los sideróforos actúan como agentes quelatantes específicos de Fe⁺³.

2.3.4. CONTROL DE *Phytophthora capsici* con *Trichoderma spp*.

Uno de los organismos biocontroladores más exitosos para el control de enfermedades por patógenos del suelo ha sido el hongo micoparásito *Trichoderma spp*. Hace 72 años Weindling (1932), vislumbró el potencial para el uso de *Trichoderma* como agente de control biológico. Este investigador, el primero en demostrar que había actividad micoparasítica de hongos de este género hacia patógenos como *Rhizoctonia solani*. Varias especies de *Trichoderma spp* han sido probadas como agentes de biocontrol. Entre ellas *T. harzianum* *Trichoderma viride* y *T. virens*, han sido las más efectivas en controlar diversas especies de hongos fitopatógenos de suelo que son de importancia agrícola y económica (Humeres, 2004).

Diversas especies de *Trichoderma* se han asociado con un antagonismo de la fase vegetativa de *Phytophthora* (Harman *et al.* 2000, citado por Guijón y Gonzáles, 2004). El proceso se lleva a cabo mediante metabolitos volátiles o solubles, los cuales reducen el crecimiento del patógeno, seguido por una vacuolación del contenido celular que eventualmente resulta en lisis de las hifas. *Trichoderma* eventualmente sobrecrece a *Phytophthora* y parasita sus hifas, la producción de antibióticos puede influir fuertemente en el proceso de antagonismo (Malajczuck, 1983).

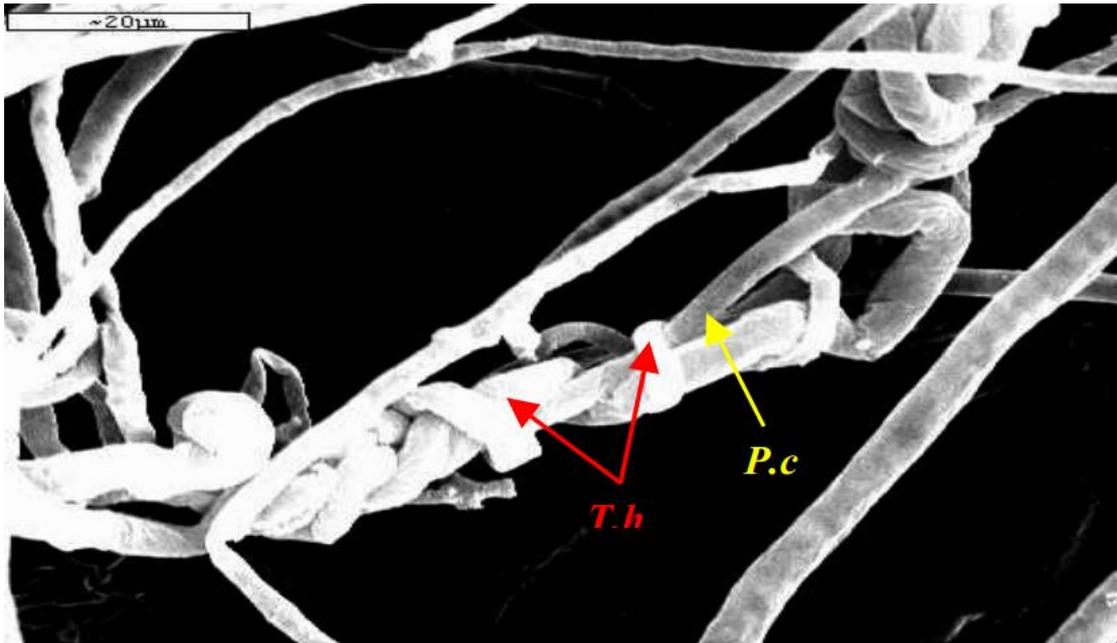


Figura 3: Micoparasitismo de *Trichoderma harzianun* contra *Phytophthora capsici*

FUENTE: Mohammed (2004)

III. MATERIALES Y METODOS

3.1. UBICACIÓN DEL CAMPO EXPERIMENTAL

El presente trabajo experimental se realizó en las instalaciones del Laboratorio de Fitopatología y posteriormente en el invernadero de Fitopatología de la Universidad Nacional Agraria La Molina, provincia y departamento de Lima.

3.2. INSUMOS, MATERIALES Y METODOS

3.2.1. LABORATORIO

Insumos

- Placas petri
- Medio PARB (Pimaricina, Ampicilina, Rifampicina, Benomyl)
- Medio PDAO
- Medio V8
- Agua destilada
- Natural oil
- Agua desionizada
- Hipoclorito de sodio
- Trigo entero

Materiales

- Pinzas, bisturí, mechero.
- Alcohol, algodón, ligas, colador.
- Bolsas de polipropileno(5x10x2)
- Sacabocado

- Triángulo esparcidor de varilla de vidrio
- Cinta pegante
- Pipeta

Equipos

- Cámara de flujo
- Hematócmetro de Spencer rayado Neubauer
- Autoclave
- Olla común
- Cocina
- Balanza

3.2.2. INVERNADERO

Insumos

- Semilla de páprika, cultivar: Papri king
- Plantines de páprika, cultivar Papri king
- Sustrato estéril
- Sustrato para almácigos

Materiales

- Bandejas de almácigos
- Lampas
- Bolsas de 1 Kg.

Equipos

- Baldes, regaderas
- Mesa de trabajo
- Balanza

3.3. METODOLOGÍA Y PROCEDIMIENTO

LABORATORIO:

3.3.1. AISLAMIENTO DEL PATÓGENO

Se utilizó la cepa de *P. capsici* proveniente de la colección de *P. capsici* del proyecto UNALM – U. TENNESSEE y se escogió el más virulento; posteriormente se procedió a sembrarla en el medio PARB, el cual se incubó por siete días para que se dé el crecimiento de la colonia (Ocampo, 2003). El aislamiento de la cepa provino de raíces de plantas de páprika mostrando síntoma de pudrición radicular procedente de la zona de Virú.

3.3.2. MULTIPLICACIÓN DEL MICELIO

A partir de placas petri conteniendo micelio crecido en medio PARB, el patógeno se repicó a placas petri conteniendo Medio de cultivo Agar V8.

3.3.3. PRODUCCIÓN DEL INÓCULO

El trigo se pasó por una cocción (1 Kg. x cada 1.5 litros de agua) a fuego lento, aproximadamente durante diez minutos, cuidando que los granos no revienten, luego se dejó reposar, escurrir y orear. Posteriormente se llenó bolsas con este trigo dejando vacío el tercio superior, se tapó provisionalmente con algodón y se ató con una liga sin dejar aire en el interior para ser esterilizadas en la autoclave. Tras su esterilización se sembró en ellos el cultivo puro obtenido en el medio V8, luego se llevó a incubar a una temperatura de 24°C., finalmente cuando el trigo fue invadido por el micelio se procedió a usarla como inóculo.

3.3.4. AISLAMIENTO DEL INÓCULO CONTROLADOR

Se utilizó la cepa de *Trichoderma viride* procedente de la Micoteca del departamento de Fitopatología de la Universidad Nacional Agraria La Molina, conservada en un tubo de ensayo conteniendo el micelio del hongo en medio PDA.

3.3.5. MULTIPLICACIÓN DEL MICELIO

A partir de los tubos de ensayo conteniendo el micelio crecido en PDA el controlador se multiplicó en placas petri conteniendo medio papa-dextrosa-agar con oxitetraciclina para luego ser incubadas a una temperatura de 24 °C hasta que el crecimiento de la colonia cubrió toda la superficie del medio.

3.3.6. PREPARACIÓN DEL INÓCULO CONTROLADOR

Se seleccionó las placas más densas, se agregó 25 ml de agua desionizada y frotando con el triángulo previamente esterilizado, se homogenizó cada una de las suspensiones.

3.3.7. DENSIDAD DE INÓCULO DEL CONTROLADOR

Se diluyeron las suspensiones hasta obtener una concentración de 10^6 conidias /ml. El conteo de conidias se realizó con ayuda del hematocimetro de Spencer rayado Neubauer. (French y Hebert, 1982).

INVERNADERO:

3.3.8. PRODUCCIÓN DE PLANTAS

Se realizó la siembra del cultivo en tres métodos diferentes (directa, plantín y trasplante a raíz desnuda) en el invernadero del departamento de fitopatología de la Universidad Nacional Agraria La Molina.

- Siembra directa: se emplearon bolsas de polipropileno de 1 kg, conteniendo 1000 g. de suelo estéril.
- Producción de plantines: se emplearon bandejas conteniendo turba importada “sunshine”.
- Almacigo en terrinas: se sembró en fila corrida a una densidad de 50 semillas/0.16 m² (maceta de 5 Kg.).

3.3.9. INOCULACIÓN DEL CONTROLADOR (*Trichoderma viride*)

Se realizó a los 40 días en los tres métodos de siembra después del día cero (siembra), a una concentración de 10⁶ conidias/ml.

- a. Siembra Directa: se aplicó 10 ml en forma de drench en la base de la planta.
- b. Plantín: se aplicó 1 ml de solución de controlador por planta vía drench, cinco días después de la inoculación se procedió al trasplante a bolsas negras de polietileno conteniendo 1 kg. de suelo estéril.
- c. Raíz desnuda: se realizó la inmersión de la plántula en la solución del inóculo controlador por 5 minutos, luego se trasplantó a bolsas conteniendo 1kg. de suelo estéril.

3.3.10. INOCULACIÓN DEL PATÓGENO (*Phytophthora capsici*)

Previamente se probó la inoculación con cinco granos de trigo colonizados por planta, sin embargo, dado que la sintomatología de enfermedad mostrada por la planta fue muy agresiva, se redujo la dosis a tres granos por planta. De esta manera, la inoculación de *P. capsici* se realizó a los 50 días posterior a la siembra en los tres métodos, inoculándose tres granos de trigo colonizados por planta (Modificación del método de inoculación realizada en la Tesis de Milagros Ocampo, 2003).

3.4. PARÁMETROS EVALUADOS

El parámetro de severidad de la enfermedad se evaluó a los siete días de inoculado el patógeno y finalizó con la muerte del testigo inoculado; con lo cual se inició la evaluación de los parámetros de altura, peso seco de raíces, peso seco de follaje y longitud de raíces.

3.4.1. LONGITUD DE RAÍCES

Se evaluó la longitud de las raíces en todos los tratamientos mediante el programa ASSESS al momento de la muerte del testigo inoculado sólo con *P. capsici*; programa que cuantifica la longitud de las raíces a través de la fotografía (Manual ASSES).

3.4.2. PESO SECO DE RAÍCES

Se evaluó al momento de la muerte del testigo inoculado sólo con *P. capsici*.; se secaron las raíces en una estufa a una temperatura de 70°C, y luego se las pesó en una balanza analítica.

3.4.3. ALTURA DE LA PLANTA

Se evaluó al momento de la muerte del testigo inoculado sólo con *P. capsici*.; se utilizó una regla para medir la altura de cada una de las plantas desde el cuello hasta el ápice.

3.4.4. PESO SECO DEL FOLLAJE

Se evaluó al momento de la muerte del testigo inoculado sólo con *P. capsici*; se secó el follaje en una estufa a una temperatura de 70°C y luego se las pesó en una balanza analítica.

3.4.5. DESARROLLO DE LA ENFERMEDAD

SEVERIDAD DE LA ENFERMEDAD

Se realizaron 9 evaluaciones con una frecuencia de 4 días, las cuales finalizaron en el momento de la muerte del testigo inoculado con *Phytophthora capsici*. Se empleó la escala de evaluación para *P. capsici* citada por Ocampo (2003).

Grado 0: Planta sana

Grado 1: Epinastias de una hoja

Grado 2: Epinastias pronunciadas

Grado 3: Epinastias más inicio de caída de hojas.

Grado 4: Pérdida severa de hojas.

Grado 5: Planta muerta.

ABCPE

El cálculo del área bajo la curva del progreso de la enfermedad se realizó mediante la siguiente fórmula:

$$\text{ABCPE} = \sum_i^{n-1} \left[\frac{y_i + y_{i+1}}{2} \right] (t_{i+1} - t_i)$$

3.5. DISEÑO EXPERIMENTAL

El diseño experimental que se utilizó fue el completamente al azar con arreglo factorial, en el cual se trabajó con el factor M (métodos de siembra) y el factor P (*P. capsici*)

Factor M	Factor P
M1 (S.D.)	P1 (sin <i>P. capsici</i>)
M2 (P)	P2 (con <i>P. capsici</i>)
M3 (R.D.)	P3 (<i>P. capsici</i> + <i>T. viride</i>)
	P4 (<i>T. viride</i>)

S.D.: siembra directa

P: plantín

R.D.: raíz desnuda

Se obtuvo de la factorial 3M x 4P = 12 tratamientos, los cuales contaron con 10 repeticiones.

Tabla 1: Descripción de los tratamientos de control de *Phytophthora capsici* con el biocontrolador *Trichoderma viride* en Páprika bajo condiciones de invernadero

TRATAMIENTO	CLAVE	DESCRIPCIÓN
1	SD (T)	Siembra directa (Testigo)
2	SD (Pc)	Siembra directa + <i>Phytophthora capsici</i>
3	SD (Pc + Tv)	Siembra directa + <i>Phytophthora capsici</i> + <i>Trichoderma viride</i>
4	SD (tv)	Siembra directa + <i>Trichoderma viride</i>
5	P (T)	Plantín (Testigo)
6	P (Pc)	Plantín + <i>Phytophthora capsici</i>
7	P (Pc + Tv)	Plantín + <i>Phytophthora capsici</i> + <i>Trichoderma viride</i>
8	P (Tv)	Plantín + <i>Trichoderma viride</i>
9	RD (T)	Raíz desnuda (Testigo)
10	RD (Pc)	Raíz desnuda + <i>Phytophthora capsici</i>
11	RD (Pc + Tv)	Raíz desnuda + <i>Phytophthora capsici</i> + <i>Trichoderma viride</i>
12	RD (Tv)	Raíz desnuda + <i>Trichoderma viride</i>

Tabla 2: Distribución de los tratamientos de control de *Phytophthora capsici* con el biocontrolador *Trichoderma viride* en Páprika bajo condiciones de invernadero

*T1 (M1P1)	T2 (M1P2)	T3 (M1P3)	T4 (M1P4)	T5 (M2P1)	T6 (M2P2)	T7 (M2P3)	T8 (M2P4)	T9 (M3P1)	T10 (M3P2)	T11 (M3P3)	T12 (M3P4)
**52	105	46	107	61	40	11	111	117	57	97	26
114	15	27	73	7	101	13	4	80	79	69	34
31	67	48	37	53	16	54	94	62	39	47	100
6	20	109	21	88	112	87	102	70	12	76	10
9	68	51	113	81	86	120	66	75	30	32	63
45	38	119	14	25	90	83	41	108	49	56	92
84	74	18	71	5	22	28	8	110	77	55	82
103	3	115	116	89	17	64	99	118	36	1	91
93	33	35	104	24	49	72	96	65	95	43	59
50	106	78	2	98	58	85	23	60	29	19	42

*: Tratamiento

** : Planta enumerada

Todos los resultados obtenidos en las evaluaciones fueron analizados estadísticamente con el programa SAS v8.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. LONGITUD DE RAÍCES / PESO SECO DE RAÍZ / PESO SECO DE FOLLAJE

Interacción método de siembra, *P. capsici* y *T. viride*

Comparación por método de siembra

Comparando en cada método siembra la interacción *P. capsici* y *T. viride* (T3, T7, T11) con sus respectivos testigos (T2, T6, T10 / inoculado sólo con *P. capsici*), la tabla 3, 4 y 5 muestran que la mayor diferencia de valores en los parámetros longitud de raíces y peso seco de follaje se obtuvo en el método de siembra plantín y la mayor diferencia de valor en el peso seco de raíces se obtuvo en el método de siembra raíz desnuda. Cabe señalar que no hubo significativa diferencia numérica entre ambos métodos de siembra. Asimismo, todos mostraron diferencias estadísticas significativas a favor del efecto de *T. viride* ($\alpha = 0.05$) (Fig.4,5,6). El mayor valor alcanzado en los métodos de siembra plantín y raíz desnuda responden a su mayor capacidad de absorción del inoculo controlador, influenciado directamente por el método de inoculación. En ambos casos el contacto de las raíces con el inóculo controlador es mayor en comparación al método de siembra directa, en donde por contar con una superficie de suelo más compacta, no toda la solución es absorbida por las raíces, debido a pérdidas que se pueden dar por percolación y/o lixiviación.

Por otro lado, el método de siembra plantín se ve favorecido por la interacción positiva que se da entre *T. viride* y el sustrato del plantín, sustentado en la alta capacidad enzimática que posee *T. viride* para degradar sustratos y de este modo incrementa la eficiencia de asimilación de nutrientes por parte de la planta (Rodríguez, 1990). Con respecto al método de siembra raíz desnuda, el resultado alcanzado también se ve favorecido por incremento de la capacidad de absorción por parte de la raíz por efecto de la rotura de raíces al momento del trasplante (Harman, 2004).

Comparación por tratamiento

Con relación a la interacción entre el método de siembra, *P. capsici* y *T. viride* (T3, T7, T11 / inoculado con *P. capsici* y *T. viride*), la tabla 3, 4 y 5 muestra que el mayor valor en los parámetros longitud de raíces, peso seco de raíz y peso seco follaje lo alcanzó el método de siembra trasplante a raíz desnuda (T11: 250.4 mm, 0.45 g., 1.83 g., respectivamente), el cual mostró diferencias estadísticas significativas con los otros dos métodos de siembra ($\alpha = 0.05$). El mayor valor alcanzado por el tratamiento sembrado a raíz desnuda concuerda con lo reportado para este método de siembra, el cual indica que cuando se realiza el trasplante a raíz desnuda, inicialmente, dichos efectos son negativos, debido a la pérdida de una parte del mecanismo de absorción de agua; sin embargo, el desarrollo de raíces nuevas más fibrosas, una vez reanudado el crecimiento, incrementará su capacidad de absorción (Bacon, Hawkins, 1977; Duryea, McClain, 1984).

Interacción método de siembra y la pudrición radicular

Comparación por método de siembra

Comparando en cada método siembra la interacción con *P. capsici* (T2, T6, T10 / inoculados sólo con *P. capsici*) con sus respectivos testigos (T1, T5, T9 / sin inóculo), la tabla 3, 4 y 5 muestran que la mayor diferencia de valores en los parámetros longitud de raíces, peso seco de raíces y peso seco de follaje se obtuvo en el método de siembra raíz desnuda, lo cual indicaría que fueron las plantas más afectadas, sin embargo, las plantas más afectadas con respecto a su testigo se dieron en el método de siembra directa como se observa en la figura 7, y por lo contrario las plantas menos afectadas con respecto a su testigo se dieron en el método de siembra raíz desnuda. Asimismo, todos mostraron diferencias estadísticas significativas a favor del testigo sin inóculo ($\alpha = 0.05$) (Fig.4,5,6). Este resultado respondería al volumen de masa radical desarrollado por la planta al momento de la inoculación de patógeno, si bien se inoculó al día 50 posterior a la siembra en los tres métodos de siembra, el método de siembra que desarrolla menor masa radical es la siembra a raíz desnuda producto de la alta densidad en la que es sembrada en el almácigo, a diferencia del método de siembra plantín y directa; bajo este mismo criterio, el resultado observado en la siembra directa responde a una mayor masa radicular al momento de la inoculación del patógeno. Este efecto, se sustenta en lo comprobado por (Hickman, 1970) sobre la acumulación de

zoosporas de *P. capsici* alrededor de los ápices de las raíces de pimiento, emitiendo la teoría de una atracción de las mismas por mecanismos de quimiotaxis a partir de exudados radiculares tras conseguir reproducir el fenómeno utilizando capilares a los que incorporaba exudados o extractos de raíces. Asimismo, se señala la existencia de quimiorreceptores específicos en la superficie de las zoosporas que incluso motivan la orientación del tubo germinativo durante la germinación de éstas (Carlile, 1966).

Comparación por tratamiento

Con relación a la interacción entre los métodos de siembra y la pudrición radicular (T2, T6, T10 / inoculados sólo con *P. capsici*), en la tabla 3, 4 y 5 se observa que el mayor valor en los parámetros longitud de raíces, peso seco de raíz y peso seco follaje, lo alcanzó el método de siembra trasplante a raíz desnuda (T10: 122 mm, 0.22 g., 1.55 g., respectivamente); el cual mostró diferencias estadísticas significativas con los demás tratamientos ($\alpha = 0.05$). Los resultados obtenidos en el método de siembra trasplante a raíz desnuda podría estar respaldada en que después del proceso de arranque de las plantas de una zona de alta densidad a otra de densidad mucho menor, influye positivamente en el desarrollo morfológico de la planta (Hermann, Lavender, 1976).

Interacción método de siembra y *T. viride*

Comparación por método de siembra

Comparando en cada método siembra la interacción con *T. viride* (T4, T8, T12 / inoculados sólo con *T. viride*) con sus respectivos testigos (T1, T5, T9 / sin inóculo), la tabla 3, 4 y 5 muestran que la mayor diferencia de valores en los parámetros longitud de raíces, peso seco de raíces y peso seco de follaje se obtuvo en el método de siembra directa. Asimismo, todos mostraron diferencias estadísticas significativas a favor del testigo sin inóculo ($\alpha = 0.05$) (Fig.4,5,6). El resultado evidenciaría que no se observó el efecto inductor radical de *T. viride*, y el mayor valor obtenido en la siembra directa recaería más a un efecto dado por el método de siembra en el cual no se interrumpe del desarrollo de la raíz y cuenta con mayor espacio para su desarrollo.

Comparación por tratamiento

Con respecto a la interacción de *T. viride* y los distintos métodos de siembra (T4, T8, T12 / inoculados sólo con *T. viride*), como se observa en la tabla 3, 4 y 5 el mayor valor para los parámetros longitud de raíces, peso seco de raíz y peso seco de follaje lo alcanzó el método de siembra plantín (T8: 371.2 mm, 0.66 g., 2.14 g., respectivamente), pese a ello, la estadística no mostró diferencias significativas entre el método de siembra plantín y directa, mientras que en el método de siembra trasplante a raíz desnuda si mostró diferencias estadísticas significativas. Ninguno de los tres métodos mostró diferencias significativas con su testigo ($\alpha = 0.05$) (Fig. 4, 5, 6). La mayor interacción dada entre *T. viride* y el método de siembra plantín estaría influenciada por el sustrato que sostiene al plantín, lo cual se sustenta en el mecanismo de *Trichoderma* para solubilizar elementos nutritivos, que en su forma original no son disponibles para las plantas (Harman, 2003). Asimismo, también se le atribuye a la alta capacidad enzimática que posee *T. viride* para degradar sustratos (Rodríguez, 1990). De esta manera incrementa la eficiencia de asimilación de nutrientes por parte de la planta.

Tabla 3: Promedio de la longitud de raíces por tratamiento de control de *P. capsici* con el biocontrolador *T. viride* bajo condiciones de invernadero

TRATAMIENTO	CLAVE	LONGITUD RAIZ (mm)	
1	SD (T)	* 242,8	a b
2	SD (Pc)	95,20	b c
3	SD (Pc + Tv)	117,30	b
4	SD (tv)	347,40	a b
5	P (T)	285,30	a b
6	P (Pc)	23,40	b c
7	P (Pc + Tv)	177,20	b
8	P (Tv)	371,20	a b
9	RD (T)	497,10	a
10	RD (Pc)	122,00	a c
11	RD (Pc + Tv)	250,40	a b
12	RD (Tv)	360,80	a

Cv. 36.27449 %

*: Promedio de diez repeticiones, las letras iguales junto a estos valores indican que no hay diferencia estadística significativa ($\alpha = 0.05$).

S.D.: siembra directa, P: plantín, R.D.: raíz desnuda

Tabla 4: Promedio del peso seco de raíces por tratamiento de control de *P. capsici* con el biocontrolador *T. viride* bajo condiciones de invernadero

TRATAMIENTO	CLAVE	PESO SECO RAÍZ (g.)	
1	SD (T)	* 0,43	a b
2	SD (Pc)	0,16	b c
3	SD (Pc + Tv)	0,19	b
4	SD (tv)	0,62	a b
5	P (T)	0,52	a b
6	P (Pc)	0,10	b c
7	P (Pc + Tv)	0,32	b
8	P (Tv)	0,67	a b
9	RD (T)	0,90	a
10	RD (Pc)	0,22	a c
11	RD (Pc + Tv)	0,45	a b
12	RD (Tv)	0,65	a

Cv: 37.13506 %

*: Promedio de diez repeticiones, las letras iguales junto a estos valores indican que no hay diferencia estadística significativa ($\alpha = 0.05$).

S.D.: siembra directa, P: plantín, R.D.: raíz desnuda

Tabla 5: Promedio del peso seco de follaje por tratamiento de control de *P. capsici* con el biocontrolador *T. viride* bajo condiciones de invernadero

TRATAMIENTO	CLAVE	PESO SECO FOLLAJE (g.)	
1	SD (T)	* 0,95	b
2	SD (Pc)	1,04	b c
3	SD (Pc + Tv)	1,12	b
4	SD (tv)	1,93	a b
5	P (T)	1,16	b
6	P (Pc)	0,37	b c
7	P (Pc + Tv)	1,07	b
8	P (Tv)	2,14	a b
9	RD (T)	2,05	a b
10	RD (Pc)	1,15	a c
11	RD (Pc + Tv)	1,83	a b
12	RD (Tv)	2,03	a

Cv: 44.48483 %

*: Promedio de diez repeticiones, las letras iguales junto a estos valores indican que no hay diferencia estadística significativa ($\alpha = 0.05$).

S.D.: siembra directa, P: plantín, R.D.: raíz desnuda

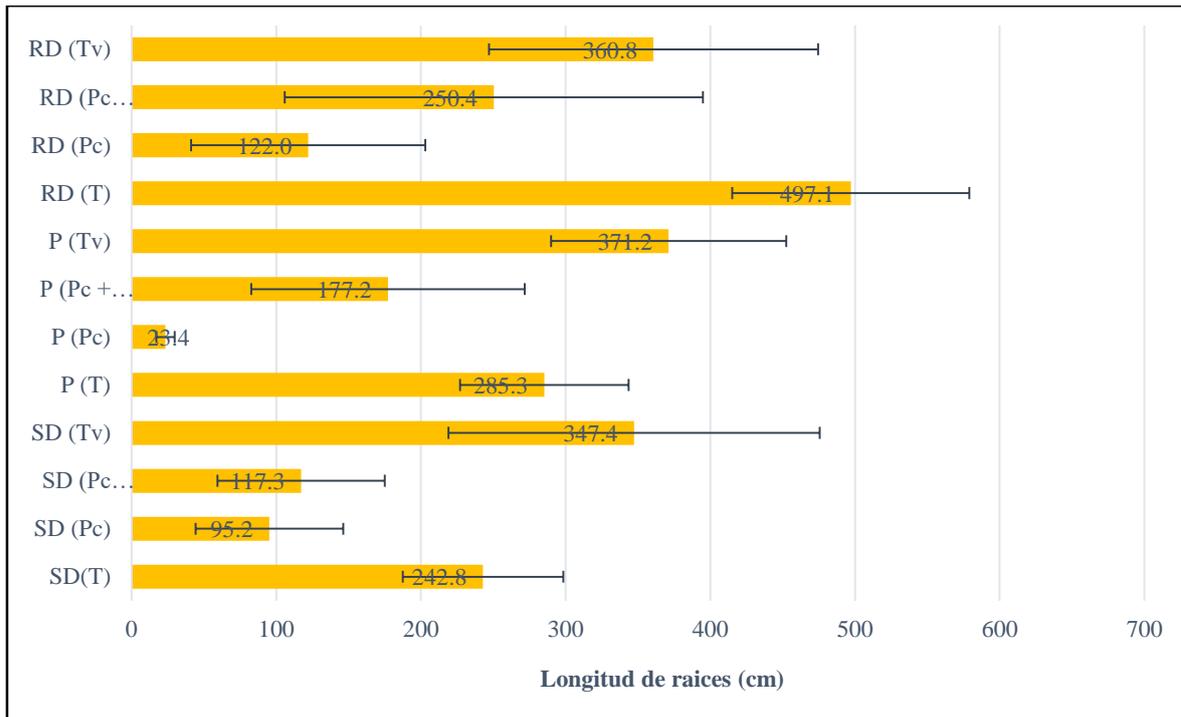


Figura 4: Longitud de raíces (mm), según tratamientos de control de *P. capsici* sobre *T. viride* bajo tres métodos de siembra.

En la Figura 4, la línea en cada uno de los valores nos indica la desviación estándar de cada tratamiento.

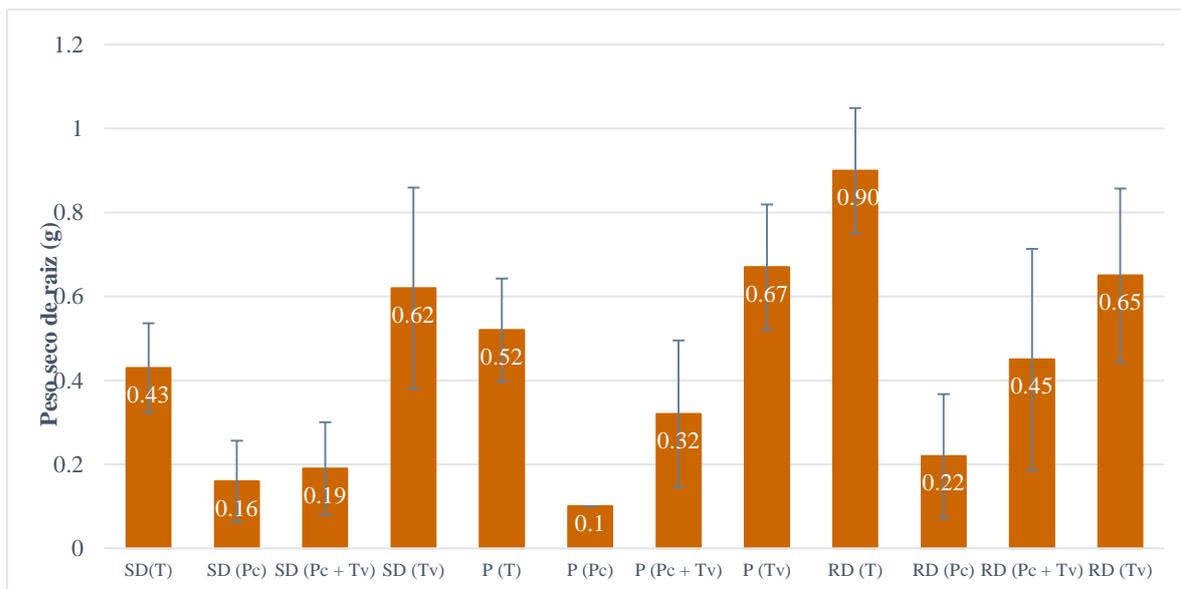


Figura 5: Peso seco de raíces (g.), según tratamientos de control de *P. capsici* sobre *T. viride* bajo tres métodos de siembra.

En la Figura 5, la línea en cada uno de los valores nos indica la desviación estándar de cada tratamiento.

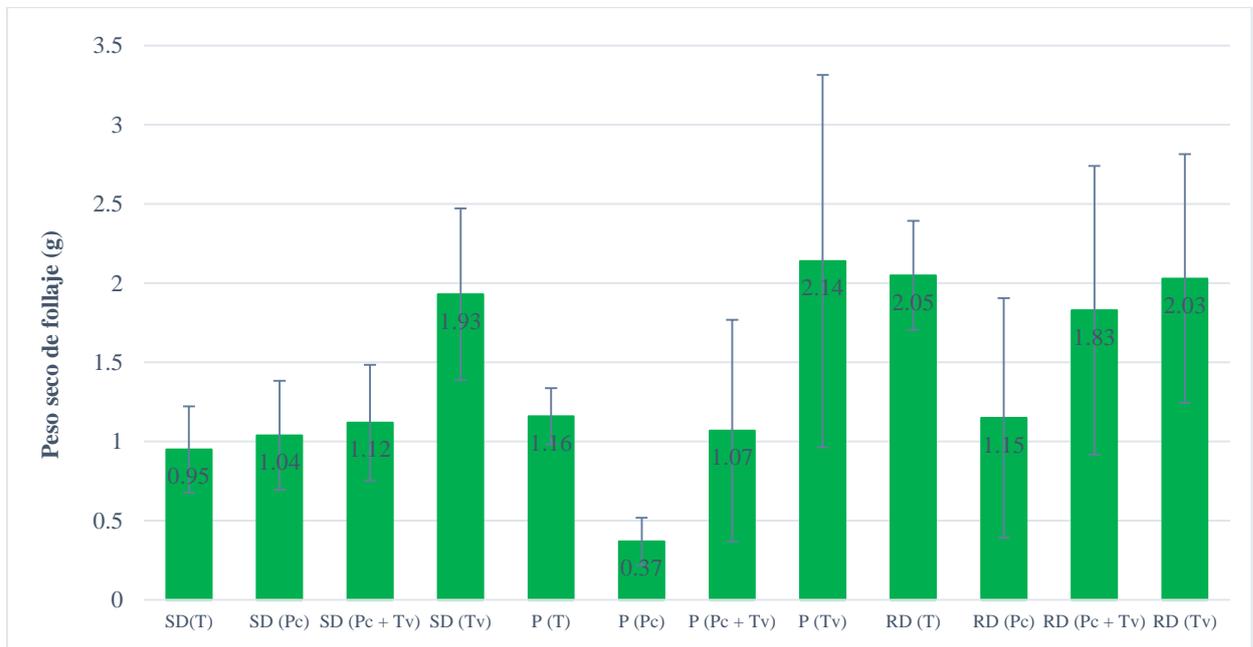


Figura 6: Peso seco de follaje (g.), según tratamientos de control de *P. capsici* sobre *T. viride* bajo tres métodos de siembra.

En la Figura 6, la línea en cada uno de los valores nos indica la desviación estándar de cada tratamiento.



Figura 7: Plantas de paprika a los 76 días posterior de la siembra: A. Siembra directa (T1, T2, T3, T4); B. Plantín (T5, T6, T7, T8) y C. Siembra a raíz desnuda (T9, T10, T11, T12).

4.2. ALTURA DE PLANTA

Interacción método de siembra, *P. capsici* y *T. viride*

Comparación por método de siembra

Comparando en cada método siembra la interacción con *P. capsici* y *T. viride* (T3, T7, T11) con sus respectivos testigos (T2, T6, T10 / inoculado sólo con *P. capsici*), la tabla 6 muestra que la mayor diferencia de valores en el parámetro altura de planta se obtuvo en el método de siembra raíz desnuda. Asimismo, los tratamientos en comparación a sus testigos tampoco se tuvo diferencias significativas ($\alpha = 0.05$) (Fig. 8).

Comparación por tratamiento

La interacción entre método de siembra, *P. capsici* y *T. viride* (T3, T7, T11) en la altura de planta, se muestra en la tabla 6; se observa que el mayor valor lo alcanzó el método siembra directa (T3: 30.17 mm), no mostrando diferencias estadísticas significativas con los otros tratamientos ($\alpha = 0.05$) (Fig. 8). Este resultado se respaldaría en que, en la siembra directa, si la germinación es buena se consigue un cultivo más uniforme y más vigoroso que con el trasplante (Velásquez, 2001).

Interacción método de siembra y la pudrición radicular

Comparación por método de siembra

Comparando en cada método siembra la interacción con *P. capsici* (T2, T6, T10) con sus respectivos testigos (T1, T5, T9 / sin inóculo), la tabla 6 muestra que la mayor diferencia de valores en el parámetro altura de planta se obtuvo en el método de siembra raíz desnuda. Asimismo, todos mostraron diferencias estadísticas significativas a favor del testigo sin inóculo ($\alpha = 0.05$) (Fig.8).

Comparación por tratamiento

En la interacción métodos de siembra y la pudrición radicular (T2, T6, T10 / inoculado sólo con *P. capsici*), la tabla 6 muestra que el mayor valor se alcanzó en el método de siembra directa (T2: 28.89 mm), no mostrando diferencias estadísticas significativas con los otros tratamientos. Al comparar estos tratamientos con sus respectivos testigos (T1, T5, T9), si existió diferencia significativa en todos los tratamientos ($\alpha = 0.05$) (Fig. 8). este resultado podría concordar con lo redactado para este método de siembra, en donde se señala que al no sufrir las plantas los efectos del trasplante, éstas quedan mejor enraizadas, por tanto, resisten mejor las adversidades de la falta de agua y los ataques de enfermedades (Velásquez, 2001).

Interacción método de siembra y *T. viride*

Comparación por método de siembra

Comparando en cada método siembra la interacción con *T. viride* (T4, T8, T12) con sus respectivos testigos (T1, T5, T9 / sin inóculo), la tabla 6 muestra que la mayor diferencia de valores en el parámetro altura de planta se obtuvo en el método de siembra directa. Asimismo, todos mostraron diferencias estadísticas significativas a favor del testigo sin inóculo ($\alpha = 0.05$) (Fig.8). El resultado muestra que no se existió el efecto inductor radical de *T. viride* en ninguno de los métodos de siembra, y el mayor valor obtenido en la siembra directa recaería se debería a que durante su crecimiento no se interrumpe el desarrollo de la raíz y cuenta con mayor espacio para su desarrollo.

Comparación por tratamiento

Y en la interacción de los métodos de siembra y *Trichoderma viride* (T4, T8, T12), la tabla 6 muestra que el mayor valor también se alcanzó en el método de siembra directa (T4: 37.8 mm), sin embargo, no se tuvo diferencias estadísticas significativas con los otros tratamientos; en comparación con sus respectivos testigos (T1, T5, T9) si se dieron diferencias significativas, pero no necesariamente a favor de *Trichoderma viride* ($\alpha = 0.05$)

(Fig. 8). Este resultado no muestra ningún efecto de *Trichoderma viride* sobre el método de siembra.

Tabla 6: Promedio de la altura de planta por tratamiento de control de *P. capsici* con el biocontrolador *T. viride* bajo condiciones de invernadero

TRATAMIENTO	CLAVE	ALTURA PLANTA (cm.)	
1	SD (T)	* 22,6	a b
2	SD (Pc)	28,89	a c
3	SD (Pc + Tv)	30,17	a c
4	SD (tv)	37,80	a
5	P (T)	34,10	a b
6	P (Pc)	24,80	a c
7	P (Pc + Tv)	24,70	a c
8	P (Tv)	31,80	a
9	RD (T)	33,90	a b
10	RD (Pc)	21,70	a c
11	RD (Pc + Tv)	26,50	a c
12	RD (Tv)	31,80	a

Cv: 17.90622 %

*: Promedio de diez repeticiones, las letras iguales junto a estos valores indican que no hay diferencia estadística significativa ($\alpha = 0.05$).

S.D.: siembra directa, P: plantín, R.D.: raíz desnuda

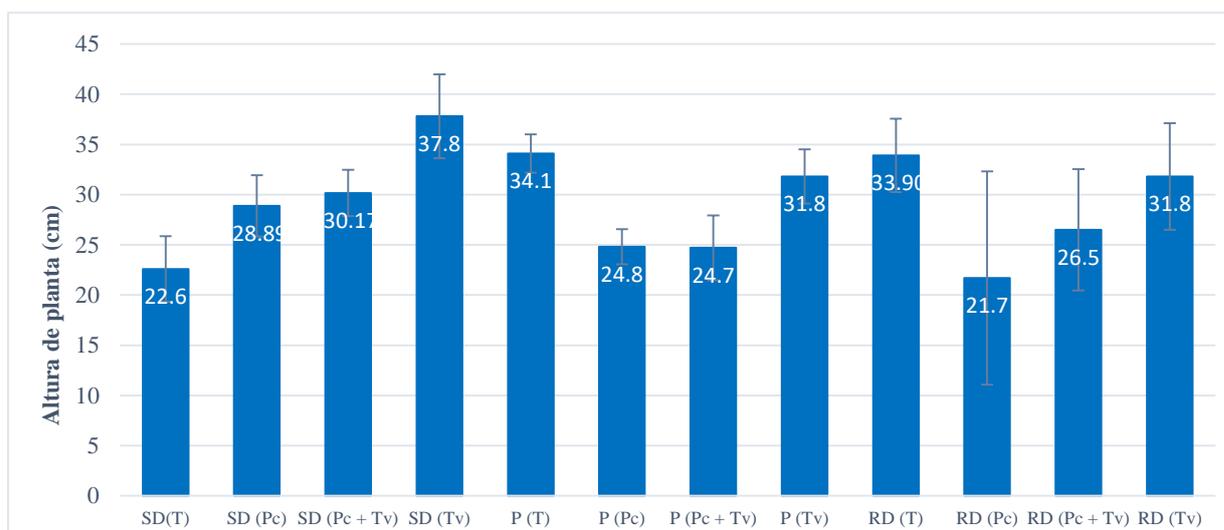


Figura 8: Altura de planta (g.), según tratamientos de control de *P. capsici* sobre *T. viride* bajo tres métodos de siembra.

En la Figura 8, la línea en cada uno de los valores indica la desviación estándar de cada tratamiento.

4.2.1. DESARROLLO DE LA ENFERMEDAD

GRADO DE SEVERIDAD DE LA ENFERMEDAD

Con relación a la severidad de la enfermedad (T2, T6, T10 / método de siembra + *P. capsici*), la tabla 6 muestra que la menor severidad se observó en el método de siembra trasplante a raíz desnuda (T10: grado 3.7), el cual mostró diferencias estadísticas significativas con los otros métodos de siembra ($\alpha= 0.05$) (Fig. 8). La severidad observada en el método de siembra directa y plantín fue de grado 5 (100% plantas muertas). Este resultado podría responder a los cambios positivos ya comentados que se dan en la morfología de la raíz producto de la arranque y trasplante dados en este método de siembra.

La tabla 7 muestra que la mayor efectividad de *T. viride* en el control de *P. capsici* se obtuvo en el método de siembra trasplante a raíz desnuda (T11: grado 2.5), el cual mostró diferencias estadísticas significativas con los otros métodos de siembra ($\alpha= 0.05$) (Fig. 8). Este resultado se ve influenciado tanto por el método de siembra como el de inoculación de *T. viride*, de tal forma, la rotura de raíces dada en la extracción incrementa la capacidad de absorción por parte de la raíz y la inmersión dada corresponde a un método de inoculación más eficiente con relación al drench empleado para inocular en el método de siembra plantín y directa. Bajo esta perspectiva, el resultado se sustenta el mecanismo de *T. viride* de inducir mecanismos de defensa fisiológicos y bioquímicos en la planta como es la activación de compuestos relacionados con la resistencia (inducción de resistencia) (Harman, 2004).

Tabla 7: Promedio del grado de severidad por tratamiento de control de *P. capsici* con el biocontrolador *T. viride* bajo condiciones de invernadero

TRATAMIENTO	CLAVE	SEVERIDAD (grados)
1	SD (T)	* 0
2	SD (Pc)	5
3	SD (Pc + Tv)	5
4	SD (tv)	0
5	P (T)	0
6	P (Pc)	5
7	P (Pc + Tv)	5
8	P (Tv)	0
9	RD (T)	0
10	RD (Pc)	4
11	RD (Pc + Tv)	3
12	RD (Tv)	0

*: Promedio de diez repeticiones

S.D.: siembra directa, P: plantín, R.D.: raíz desnuda

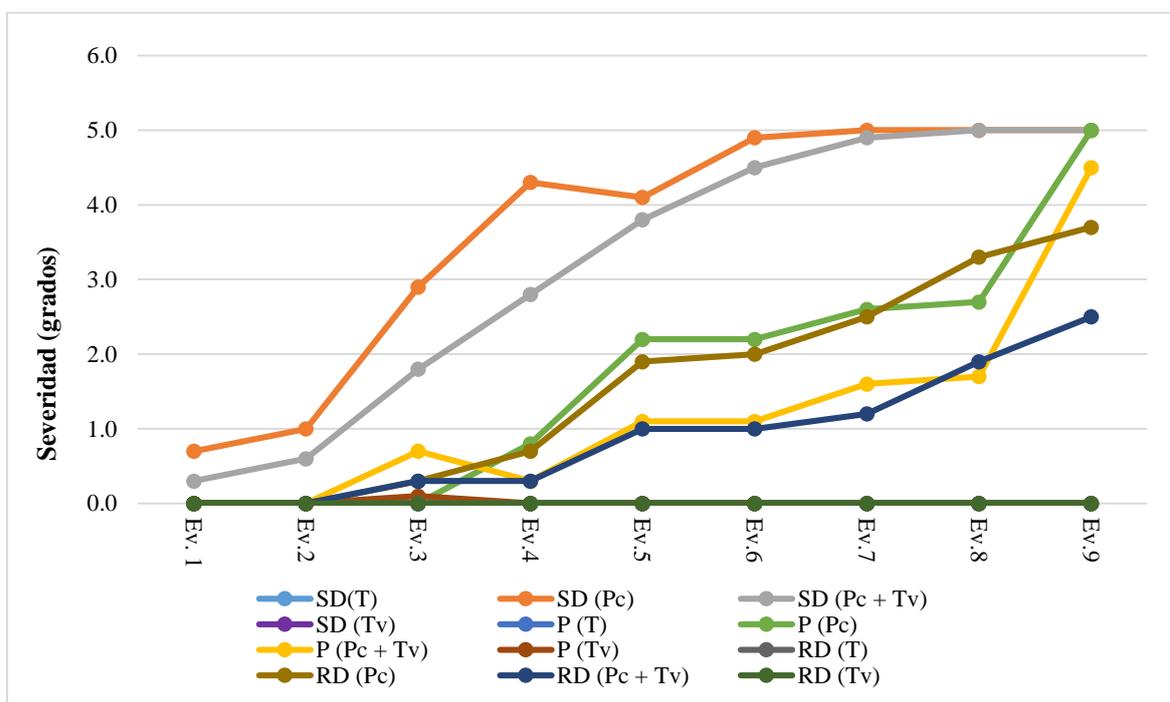


Figura 9: Severidad en plantas (grados) para las nueve evaluaciones según tratamiento en la prueba de eficiencia de *T. viride* como un biocontrolador para *P. capsici* bajo tres modalidades de siembra en el cultivo de pimiento (*Capsicum annuum*).

ABCPE

En la tabla 8 y Fig. 10 se muestran los valores de ABCPE para los distintos tratamientos evaluados, en donde se observa que, en el método de siembra directa, el tratamiento inoculado tanto con *P. capsici* y *T. viride* (T3: 29) y el tratamiento inoculado solo con *P. capsici* (T2: 30.55) muestran valores similares. En el método de siembra plantín el menor valor se observó en el tratamiento inoculado solo con *P. capsici* (T6: 12) con respecto al tratamiento inoculado tanto con *P. capsici* y *T. viride* (T7: 18.15), este resultado se vería influenciado a que, si bien se tuvo un mayor valor en el tratamiento T7, este mostró menor grado de severidad que el tratamiento T6. En el método de siembra raíz desnuda el mayor valor lo alcanzó el tratamiento inoculado solo con *P. capsici* (T10: 14.4) con respecto al tratamiento inoculado tanto con *P. capsici* y *T. viride* (T11: 9.75), asimismo, se observó menor grado de severidad en el tratamiento T11.

Tabla 8: Promedio de área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE) por tratamiento de control de *P. capsici* con el biocontrolador *T. viride* bajo condiciones de invernadero

TRATAMIENTOS	CLAVE	ABCPE
1	SD(T)	*0.00
2	SD (Pc)	30.55
3	SD (Pc + Tv)	29.00
4	SD (Tv)	0.00
5	P (T)	0.00
6	P (Pc)	12.00
7	P (Pc + Tv)	18.15
8	P (Tv)	0.45
9	RD (T)	0.00
10	RD (Pc)	14.40
11	RD (Pc + Tv)	9.75
12	RD (Tv)	0.00

*: Promedio de diez repeticiones

S.D.: siembra directa, P: plantín, R.D.: raíz desnuda

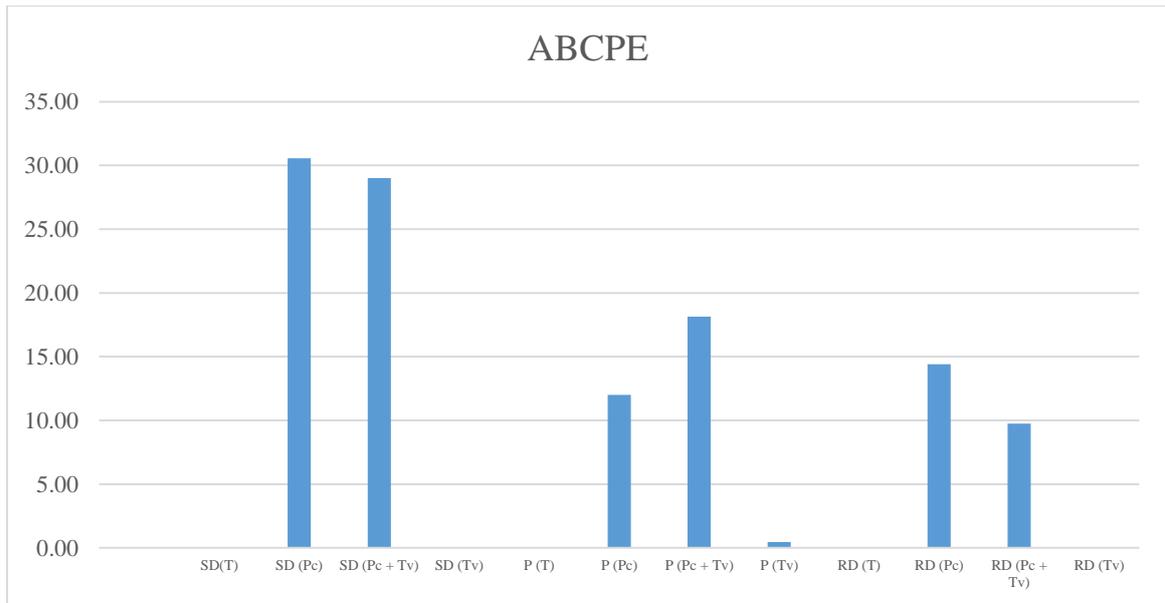


Figura 10. Promedios de área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE) para las nueve evaluaciones según tratamiento en la prueba de eficiencia de *T. viride* como un biocontrolador para *P. capsici* bajo tres modalidades de siembra en el cultivo de pimiento (*Capsicum annuum*).

V. CONCLUSIONES

- La mayor eficiencia de *Trichoderma viride* como biocontrolador de *P. capsici* se obtuvo en el método de siembra trasplante a raíz desnuda (32% Efectividad), le siguió plantín (10% Efectividad) y en siembra directa se tuvo el 100% de plantas muertas.
- La mejor relación dada entre el método de siembra y *P. capsici* se obtuvo en el método de siembra trasplante a raíz desnuda (74% severidad). Los otros dos métodos de siembra mostraron 100% de severidad (100% plantas muertas).
- La mejor interacción dada entre el método de siembra y *Trichoderma viride* se obtuvo en el método de siembra plantín.
- Los parámetros evaluados que mejor muestra el efecto de *Trichoderma viride* son: longitud de raíz, peso seco de raíz, peso seco de follaje y severidad de la enfermedad.

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agrios, M.G. 2002. Fitopatología. Séptima reimpresión de la segunda edición. Editorial Limusa. Balderas, México, D.F. p. 313.
- Ait-Lahsen, H., Soler, A., Rey, M.J., de la Cruz, J., Monte, E., and Llobell, A. 2001. An antifungal Exo- α -1,3-gluconase (AGN 13.1) from the biocontrol fungus *Trichoderma harzianum*. Applied and Environmental Microbiology 67:5833-5839.
- Anke H.; Kinn J.; Bergquist K.E.; Sterner O. (1991). Production of siderophores by strains of the genus *Trichoderma*. Isolation and characterisation of the new lipophilic coprogen derivative palmitoyl coprogen. Biometals 4 (3): 157-165.
- Apaza, W. 2006. Principales enfermedades de los capsicums en la irrigación Chavimochic. Revista Arenagro, año 2 nro. 4. 32, 33, p.
- Armas, G. 2001. estrategias para el manejo integrado de plagas en el cultivo de pimiento páprika (*Capsicum annuum* L) en el fundo “los laureles” Villacuri – Ica. Tesis para optar el título de magíster agricultura. UNALM.
- Bacon G.J., Hawkins P.J., 1977. Studies on the establishment of open root caribbean pine planting stock in southern Queensland. Australian Forestry, 40: 173-191.
- Baker, R. 1991. Four Horses of Biological Control Proceeding of Symposium Biological Control of Plant Disease: “War in the Rhizosphere”. March 20, 1991. Colorado State University Miscellaneous Publication 72: 1 – 12, Minnesota Agricultural Experiment Station, Minnesota.
- Belanger R, Dufuor N, Caron J & Benhamou N. 1995. Chronological events associated with the antagonistic properties of *Trichoderma harzianum* against *Botrytis cinérea*: Indirect evidence for sequential role of antibiotics and parasitism. Biocontrol Science Technology 5: 41-54.
- Bell, D.K., Wells, H.D., and Markham, C.R. 1982. In vitro antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. Phytopathology 72:379-382.
- Candela ME, Alcázar MD, Espín A, Egea-Gilabert C & Almela L. 1995. Soluble phenolic acids in *Capsicum annuum* stems infected with *Phytophthora capsici*. Plant Pathology 44: 116-123.

- Carlili, M. J. (1966): The orientation of zoospores and germ tubes, 175-187. En Madelin, N. F., The Fungus Spore. Butterworths, London.
- Chet I & Ibar J. 1994. Biological control of fungal pathogens. Applied Biochemistry & Biotechnology 48: 37-43.
- Chet I, Ibar J & Hadar I. 1997. Fungal antagonists and mycoparasities. In the Mycota IV: Environmental and Microbial Relationships (Wicklowsky DT & Soderstrom B, eds.) New York: Springer Verlag, p. 165-192.
- Chet, I., and Baker, R. 1981. Isolation and biocontrol potential of *Trichoderma hamatum* from soil naturally suppressive to *Rhizoctonia solani*. Phytopathology 71:286-290.
- Cook R. J and K.F. Baker. 1989. The nature and Practice of Biological Control of Plant Pathogens. Am. Phytopathol. Soc. St. Paul, Minn. 539p.
- Corporación Miski. Ficha técnica del cultivo de Páprika. Instituto Peruano del Espárrago y Hortalizas. Seminario Capsicum mayo 2005.
- De La Cruz, J., Pintor, J.A., Benítez, T., and Llobel, A. 1995a. Purification and characterization of an endo- β -1,6-glucanase from *Trichoderma harzianum* that is related to its mycoparasitism. Journal of Bacteriology 177: 1864-1871.
- De La Cruz, J., Pintor, J.A., Benítez, T., Llobel, A., and Romero, L.C. 1995b. A novel endo β -1,3-glucanase, BGN13.1, involved in the mycoparasitism of *Trichoderma harzianum*. Journal of Bacteriology 177:6937-6945.
- Duryea M.L., McClain K.M., 1984. Altering seedling physiology to improve reforestation success. En: Seedling Physiology and Reforestation Success. Duryea M. L., Brown G. N., eds. Dordrecht, Martinus Nijhoff/Dr. W. Junk Publishers, The Hague, p. 77-114.
- Elad Y & Baker R. 1985. The role of competition for iron and carbon in suppression of chlamidospore germination of *Fusarium spp.* by *Pseudomonas spp.* Phytopathology 75: 1053.
- Elad Y & Chet I. 1987. Possible role of competition for nutrients in biocontrol of Pythium damping-off by bacteria. Phytopathology 77: 190-195.
- Enriquez, L. 2015. Curso Manejo integrado de los principales cultivos de Lambayeque. Manejo integrado del cultivo de capsicum.
- Ezziyiani M, Requena ME, Pérez Sánchez C, Egea Gilabert C & Candela ME. 2003. Mecanismos de biocontrol de la “tristeza” del pimiento (*Capsicum annuum* L.) por

- microorganismos antagonistas. Actas de la XV <reunión de la Sociedad Española & VIII Congreso Hispano Luso de Fisiología Vegetal.
- Fernandez-Northcote, E.; Mont, R.; Fribourg, C. 1973. Fitopatología agrícola. UNALM.
 - French, E.R Y T.T. Hebert. 1980. Métodos de investigación fitopatológica. Instituto Interamericano de ciencias agrícolas. San José. Costa Rica. p. 289.
 - Fumagalli, S. 2003. Efecto del volumen de celda y profundidad de transplante en el cultivo de pimiento (*Capsicum annuum*) cv. Páprika. Tesis para optar el título de Ingeniero agrónomo. UNALM. p.5.
 - Gil Ortega, R. 1990. Resistencia a *Phytophthora capsici* Leon. En pimiento. Colección Tesis Doctorales INIA 89. MAPA, Madrid.
 - Guigón, L.C., y Gonzáles, G.P.A. 2004. Selección de cepas nativas de *Trichoderma spp.* Con actividad antagónica sobre *Phytophthora capsici* Leonian y promotoras de crecimiento en el cultivo de Chile (*Capsicum annuum* L.). Revista Mexicana de Fitopatología 22: 117-118.
 - Hadar, Y., Chet, I., and Henis, Y. 1979. Biological control of Rhizoctonia solani damping-off with wheat bran culture of Trichoderma harzianum. Phytopathology 69:64-68.
 - Haran, S., Schickler, H., Oppenheim, A., and Chet, I. 1996. Differential expression of *Trichoderma harzianum* chitinases during mycoparasitism. Phytopathology 86:980-985.
 - Harman, G. *Trichoderma harzianum*, *T. viridis*, *T. koningii*, *T. hamatum* (Deuteromycetes: Moniliales). 2003. (Consultado: 2 feb 2007). Disponible en: <http://www.ibun.unal.edu.co/r2r7ehtml>.
 - Harman GE. Mythos and dogmas of biocontrol. Changes in perceptions derive from research on Trichoderma harzianum T22. Plant Dis. 2004; 84:377-393.
 - Hickman, C. J. (1970): Biology of Phytophthora zoospores. Phytopathology, 60: 1128 – 1135.
 - Huamaní, G. 2007. Resistencia de *Capsicum spp.* A *Phytophthora capsici* y ensayo de control con inductores químicos de resistencia. Tesis para optar el grado de Magíster Scientiae, UNALM.
 - Humeres, C. 2004. Evaluación de la capacidad biocontroladora de dos cepas nativas de Trichoderma spp. Sobre aislados de hongos. Tesis para optar el título de Ing. Agrónomo. Talca.

- Jensen, D. F., Wolffhechel, H. (1995). Biological control: Benefits and risks. 8Series: Plant and Microbial Biotechnology Research. En M.T.H., Heikki y J.M. Lynch (Eds) The use of fungi, particulary Trichoderma spp. And Gliocadium spp., to control root rot and damping off disease (pp. 177-189).
- Maroto, J. 1989. Horticultura herbácea especial. 3ra edición. Ed. Ediciones Mundi prensa. Madrid – España. 566p.
- Mena A., Hernández J., Gonzales B., Muñoz A., Lacuesta M., 1997a. Efecto de las condiciones de almacenamiento en la fotosíntesis y fluorescencia de plántulas de *Pinus radiata* reimplantadas en riego y sequía. En: Actas del II Congreso Forestal Español, p. 401-406.
- Mena, A.; Lacuesta Mena A., Lacuesta M., Duñabeitia M. K., Gonzales B., Muñoz A., 1997b. Efecto de las condiciones de almacenamiento en las relaciones hídricas de plántulas de *Pinus radiata* reimplantadas en riego y sequía. En: Actas del II Congreso Forestal Español, p. 407-412.
- Nuez, F.; Gil Ortega, R.; Costa, J. 2003. El cultivo de pimientos, chiles y ajíes. Reimpresión: 2003 de la 1.a edición: 1996. Ediciones Mundi – Prensa, Madrid. p. 251.
- Ocampo, M. 2003. Control Biológico de *Phytophthora capsici* León en Pimiento (*Capsicum annuum*). Tesis para optar el título de Ingeniero agrónomo, UNALM. 99 p.
- Pantoja, N.R. 1994. *Phytophthora capsici* Leon: características morfológicas y culturales se efecto sobre tres cultivares comerciales de *Capsicum*, control químico y con *Trichoderma viride* Pers. Tesis para optar el grado de Magíster scientiae, UNALM. 91p.
- Papavizas GC, Lewis JA & Abd-Elmoity TH. 1982. Evaluation of new biotypes of *Trichoderma harzianum* for tolerance to Benomyl and enhanced biocontrol capabilities. *Phytopathology* 72: 126-132.
- Perez, N., 2002. Control biológico de *Alternaria porri* (Ellis) Cif. En cebolla con *Trichoderma spp.* Resultados del 1º concurso latinoamericano en innovación de tecnologías ecológicas para el agro. Centro de estudios de agricultura sostenible de la universidad agraria de La Habana, Cuba. p. 89.
- Petoseed. 1986. Catálogo de cultivares. 72p. EEUU.
- Ristaino, J.B. and Johnston, S.S. (1999) Ecologically Based Approaches to Management of *Phytophthora* Blight on Bell Pepper. *Plant Disease*, 82, 1080-1089.

- Rodriguez. I. efecto antagónico de ocho aislamientos de *Trichoderma* contra *Fusarium moniliforme* (Booth) y *Fusarium subglutinans* (Booth). Trabajo de Diploma de opción al título de ingeniero agrónomo universidad agraria de la Habana, 1990).
- Sid Ahmed A, Ezziyani M, Pérez Sánchez C & Candela ME. 2003. Effect of chitin on biological control activity of *Bacillus* spp. And *Trichoderma harzianum* against root rot disease in pepper (*Capsicum annuum*) plants. *European Journal of Plant Pathology* 109: 418-426.
- Sid Ahmed A, Pérez Sánchez C & Candela ME. 2000. Evaluation of induction of systemic resistance in pepper plants (*Capsicum annuum*) to *Phytophthora capsici* using *Trichoderma harzianum* and its relation with capsidiol accumulation. *European Journal of Plant Pathology* 106: 817-824.
- Smith, W.H., 1995. Forest occurrence of *Trichoderma* species: Emphasis on potential organochlorine (Xenobiotic) degradation. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 32, 172 – 183.
- Takhtajan, A. 1980. Outline of classification of flowering plants (Magnoliophyta). *The Botanical Review*. Vol 46, p. 225-359.
- Thompson, H. y Kelly, W. 1957. *Vegetable crops*. Ed. Mc. Graw – Hill. Nueva York. EEUU: 611p.
- Ugás, R. 2005. *Curso de olericultura general*. UNALM.
- Valadez, A. 1994. *producción de hortalizas*. Editorial Limusa. 297p.
- Vavilov, N. 1951. *The origin variation immunity and breeding of cultivated plants* the Ronald press company New York. 366p.
- Velásquez, P. A. 2001. *Producción de pimiento tipo piquillo (Capsicum annuum L)*. tesis para optar el título de ingeniero agrónomo. UNALM. 9, 13 p.
- Villegas MA. *Trichoderma* Pers. Características generales y su potencial biológico en la agricultura sostenible. 2005. Orius biotecnología. Colombia. (consultado: 28 oct 2008).
- Yedidia I, Benhamou N & Chet I. 1999. Induction of defence responses in cucumber plants (*Cucumis sativus* L.) by the biocontrol agent *Trichoderma harzianum*. *Applied and Environmental Microbiology* 65: 1061-1070.

VII. ANEXOS

Anexo 1: Longitud de Raíces (mm)

Repeticion	SD(T)	SD (Pc)	SD (Pc + Tv)	SD (Tv)	P (T)	P (Pc)	P (Pc + Tv)	P (Tv)	RD (T)	RD (Pc)	RD (Pc + Tv)	RD (Tv)
1	334.1	114.7	168.4	494.8	394.9	12.4	274.3	268.8	559.6	56.0	385.1	442.7
2	223.1	111.6	224.4	275.9	246.8	30.9	274.3	334.6	385.1	55.0	54.9	168.4
3	233.7	110.1	58.2	341.8	299.4	21.3	109.7	285.3	494.8	165.1	275.4	441.1
4	186.5	65.8	56.7	388.4	314.7	20.0	54.9	433.4	549.3	56.7	57.1	224.4
5	221.1	58.7	114.7	71.3	282.5	19.7	164.6	329.2	553.4	164.6	236.4	277.0
6	168.4	57.8	87.8	276.8	265.4	27.1	109.7	493.7	496.5	222.7	220.5	442.6
7	227.7	76.8	85.6	442.7	348.4	33.4	219.4	396.6	605.1	110.3	114.1	278.0
8	223.3	55.2	59.8	283.6	225.0	23.5	65.8	280.9	387.9	57.8	275.9	495.9
9	330.8	224.4	169.0	497.6	195.8	18.8	329.2	447.1	550.8	275.5	441.2	387.1
10	279.7	76.8	148.1	400.5	279.9	27.3	170.1	442.2	389.0	56.7	442.8	450.4
Promedio	242.8	95.2	117.3	347.4	285.3	23.4	177.2	371.2	497.1	122.0	250.4	360.8
DS	55.5	51.0	57.8	128.4	58.3	6.3	94.5	81.3	82.0	81.0	144.6	113.7
Error estándar	17.54	16.13	18.27	40.59	18.44	1.99	29.89	25.70	25.93	25.60	45.72	35.95

Anexo 2: Peso seco de raíces (g.)

Repeticion	SD(T)	SD (Pc)	SD (Pc + Tv)	SD (Tv)	P (T)	P (Pc)	P (Pc + Tv)	P (Tv)	RD (T)	RD (Pc)	RD (Pc + Tv)	RD (Tv)
1	0.6	0.2	0.3	0.9	0.4	0.1	0.5	0.5	1.0	0.1	0.7	0.8
2	0.4	0.2	0.4	0.5	0.4	0.1	0.5	0.6	0.7	0.1	0.1	0.3
3	0.4	0.2	0.1	0.6	0.4	0.1	0.2	0.5	0.9	0.3	0.5	0.8
4	0.3	0.1	0.1	0.7	0.6	0.1	0.1	0.8	1.0	0.1	0.1	0.4
5	0.4	0.1	0.2	0.1	0.4	0.1	0.3	0.6	1.0	0.3	0.4	0.5
6	0.3	0.1	0.1	0.5	0.7	0.1	0.2	0.9	0.9	0.4	0.4	0.8
7	0.4	0.1	0.1	0.8	0.5	0.1	0.4	0.7	1.1	0.2	0.2	0.5
8	0.4	0.1	0.1	0.5	0.5	0.1	0.1	0.5	0.7	0.1	0.5	0.9
9	0.6	0.4	0.3	0.9	0.7	0.1	0.6	0.8	1.0	0.5	0.8	0.7
10	0.5	0.1	0.2	0.7	0.6	0.1	0.3	0.8	0.7	0.1	0.8	0.8
Promedio	0.43	0.16	0.19	0.62	0.52	0.1	0.32	0.67	0.90	0.22	0.45	0.65
DS	0.11	0.10	0.11	0.24	0.12	0.00	0.18	0.15	0.15	0.15	0.26	0.21
Error estándar	0.03	0.03	0.03	0.08	0.04	0.00	0.06	0.05	0.05	0.05	0.08	0.07

Anexo 3: Peso seco de follaje (g.)

Repeticion	SD(T)	SD (Pc)	SD (Pc + Tv)	SD (Tv)	P (T)	P (Pc)	P (Pc + Tv)	P (Tv)	RD (T)	RD (Pc)	RD (Pc + Tv)	RD (Tv)
1	1.4	1.3	1.6	2.2	1.0	0.3	1.8	0.9	1.7	0.4	2.7	3.6
2	0.9	1.2	1.6	1.5	1.1	0.3	1.3	1.2	1.6	0.6	0.4	1.0
3	0.8	1.4	0.7	2.6	1.5	0.2	0.8	0.9	1.9	1.4	2.2	1.7
4	0.9	1.0	0.8	1.9	1.4	0.3	0.3	1.4	2.2	0.7	0.3	1.2
5	0.9	0.7	1.1	0.9	1.1	0.2	1.4	1.5	2.3	2.3	3.1	1.3
6	0.7	0.8	1.0	1.4	1.3	0.3	0.4	2.4	2.4	1.5	1.7	2.3
7	1.1	0.9	0.8	2.5	1.1	0.4	2.5	2.2	2.6	1.3	1.4	2.3
8	0.6	0.4	0.8	1.8	1.0	0.5	0.6	3.1	2.1	0.4	2.2	2.7
9	1.4	1.5	1.6	2.4	1.1	0.6	1.1	4.3	2.1	2.4	2.0	1.9
10	0.8	1.2	1.2	2.1	1.0	0.6	0.5	3.5	1.6	0.5	2.3	2.3
Promedio	0.95	1.04	1.12	1.93	1.16	0.37	1.07	2.14	2.05	1.15	1.83	2.03
DS	0.27	0.34	0.36	0.54	0.18	0.15	0.70	1.17	0.34	0.76	0.91	0.78
Error estándar	0.09	0.11	0.12	0.17	0.06	0.05	0.22	0.37	0.11	0.24	0.29	0.25

Anexo 4: Altura de planta (cm)

Repetición	SD(T)	SD (Pc)	SD (Pc + Tv)	SD (Tv)	P (T)	P (Pc)	P (Pc + Tv)	P (Tv)	RD (T)	RD (Pc)	RD (Pc + Tv)	RD (Tv)
1	28	29	34	36	34	24	30	32	33.0	10.0	29	32
2	22	24	30	30	35	23	27	28	32.0	13.0	15	20
3	19	33	muerta	40	34	23	26	29	33.0	27.0	32	32
4	20	29	muerta	37	32	26	20	30	32.0	14.0	20	31
5	25	25	31	35	37	23	24	32	39.0	35.0	30	27
6	24	29	27	38	35	23	25	36	40.0	29.0	31	33
7	25	30	muerta	44	32	26	28	33	33.0	30.0	22	35
8	18	muerta	muerta	36	33	27	20	32	28.0	10.0	28	33
9	25	33	30	44	32	27	24	36	37.0	36.0	24	35
10	20	28	29	38	37	26	23	30	32.0	13.0	34	40
Promedio	22.6	28.89	30.17	37.8	34.1	24.8	24.7	31.8	33.90	21.7	26.5	31.8
DS	3.27	3.06	2.32	4.18	1.91	1.75	3.23	2.70	3.67	10.63	6.04	5.31
Error estándar	1.03	0.97	0.73	1.32	0.60	0.55	1.02	0.85	1.16	3.36	1.91	1.68

Anexo 5: Promedio severidad (grados) de nueve evaluaciones

Tratamientos	Ev. 1	Ev.2	Ev.3	Ev.4	Ev.5	Ev.6	Ev.7	Ev.8	Ev.9
SD(T)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
SD (Pc)	0.7	1.0	2.9	4.3	4.1	4.9	5.0	5.0	5.0
SD (Pc + Tv)	0.3	0.6	1.8	2.8	3.8	4.5	4.9	5.0	5.0
SD (Tv)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
P (T)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
P (Pc)	0.0	0.0	0.0	0.8	2.2	2.2	2.6	2.7	5.0
P (Pc + Tv)	0.0	0.0	0.7	0.3	1.1	1.1	1.6	1.7	4.5
P (Tv)	0.0	0.0	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
RD (T)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
RD (Pc)	0.0	0.0	0.3	0.7	1.9	2.0	2.5	3.3	3.7
RD (Pc + Tv)	0.0	0.0	0.3	0.3	1.0	1.0	1.2	1.9	2.5
RD (Tv)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

Anexo 6: Resumen de parámetros evaluados

TRATAMIENTO	CLAVE	LONGITUD RAIZ (mm)	PESO SECO RAIZ (g.)	PESO SECO FOLLAJE (g.)	ALTURA PLANTA (cm.)	SEVERIDAD (grados)
1	SD (T)	* 242.8 ba	* 0.43 ba	* 0.95 bb	* 22.6 ab	* 0 ba
2	SD (Pc)	95.2 bc	0.16 bc	1.04 bc	28.89 ac	5 bb
3	SD (Pc + Tv)	117.3 bb	0.19 bb	1.12 bb	30.17 ac	5 bb
4	SD (tv)	347.4 ba	0.62 ba	1.93 ba	37.8 aa	0 ba
5	P (T)	285.3 ba	0.52 ba	1.16 bb	34.1 ab	0 ba
6	P (Pc)	23.4 bc	0.1 bc	0.37 bc	24.8 ac	5 bb
7	P (Pc + Tv)	177.2 bb	0.32 bb	1.07 bb	24.7 ac	4.5 bb
8	P (Tv)	371.2 ba	0.67 ba	2.14 ba	31.8 aa	0 ba
9	RD (T)	497.1 aa	0.9 aa	2.05 ab	33.9 ab	0 aa
10	RD (Pc)	122 ac	0.22 ac	1.15 ac	21.7 ac	3.7 ab
11	RD (Pc + Tv)	250.4 ab	0.45 ab	1.83 ab	26.5 ac	2.5 ab
12	RD (Tv)	360.8 aa	0.65 aa	2.03 aa	31.8 aa	0 aa

Anexo 7: ANVA para la variable longitud de raíces (mm)

En la prueba de eficiencia de *Trichoderma viride* como un biocontrolador para *P. capsici* bajo tres modalidades de siembra en el cultivo de pimiento (*Capsicum annuum*). La Molina, 2008.

FV	GL	SC	CM	FC	Pr > F	SIG.
M	2	270934.325	135467.163	17.75	<. 0001	**
P	3	1608985.087	536328.362	70.27	<. 0001	**
M*P	6	243933.273	40655.545	5.33	<. 0001	**
Error	108	824268.111	7632.112			
Total	119	2948120.796				

Anexo 8: ANVA para la variable peso seco de raíces (g)

En la prueba de eficiencia de *Trichoderma viride* como un biocontrolador para *P. capsici* bajo tres modalidades de siembra en el cultivo de pimiento (*Capsicum annuum*). La Molina, 2008.

FV	GL	SC	CM	FC	Pr > F	SIG.
M	2	0.90716667	0.45358333	17.32	<. 0001	**
P	3	4.99958333	1.66652778	63.62	<. 0001	**
M*P	6	0.76016667	0.12669444	4.84	0.0002	*
Error	108	2.82900000	0.02619444			
Total	119	9.49591667				

Anexo 9: ANVA para la variable peso seco de follaje (g.)

En la prueba de eficiencia de *Trichoderma viride* como un biocontrolador para *P. capsici* bajo tres modalidades de siembra en el cultivo de pimiento (*Capsicum annuum*). La Molina, 2008.

FV	GL	SC	CM	FC	Pr > F	SIG.
M	2	7.96066667	3.98033333	10.21	<. 0001	**
P	3	21.11066667	7.03688889	18.05	<. 0001	**
M*P	6	6.25933333	1.04322222	2.68	<. 0001	NS
Error	108	42.10800000	0.38988889			
Total	119	77.43866667				

Anexo 10: ANVA para la variable altura de planta (cm)

En la prueba de eficiencia de *Trichoderma viride* como un biocontrolador para *P. capsici* bajo tres modalidades de siembra en el cultivo de pimiento (*Capsicum annuum*). La Molina, 2008.

FV	GL	SC	CM	FC	Pr > F	SIG.
M	2	11.371842	5.685921	0.21	0.8105	NS
P	3	1036.471641	345.490547	12.79	<. 0001	**
M*P	6	1154.730159	192.455026	7.12	<. 0001	**
Error	103	2782.415152	27.013739			
Total	114	5100.921739				

Anexo 11: ANVA para severidad de la enfermedad (grados)

En la prueba de eficiencia de *Trichoderma viride* como un biocontrolador para *P. capsici* bajo tres modalidades de siembra en el cultivo de pimiento (*Capsicum annuum*). La Molina, 2008.

FV	GL	SC	CM	FC	Pr > F	SIG.
M	2	26.71666667	13.35833333	42.81	<. 0001	**
P	3	29.29166667	9.76388889	31.29	<. 0001	**
M*P	6	36.28333333	6.04722222	19.38	<. 0001	**
Error	108	33.70000000	0.312037			
Total	119	125.9916667				