



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE  
MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS AGRICOLAS

Manejo de enfermedades foliares con *Trichoderma* spp.  
y *Bacillus subtilis* en  
cempasúchil (*Tagetes erecta*) del Valle de Toluca

TESIS

QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL  
TITULO DE INGENIERO AGRÓNOMO FITOTECNISTA

PRESENTA

CARMEN VÁZQUEZ MORENO

MODALIDAD: TESIS INDIVIDUAL

ASESOR:

DR. JESÚS RICARDO SÁNCHEZ PALE

CAMPUS UNIVERSITARIO “EL CERRILLO”, EL  
CERRILLO PIEDRAS BLANCAS MUNICIPIO DE  
TOLUCA, MÉXICO.

NOVIEMBRE DEL 2016



## INDICE

<b>I INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>II OBJETIVOS</b> .....	4
GENERAL .....	4
ESPECÍFICOS.....	4
<b>III HIPOTESIS</b> .....	5
<b>IV REVISIÓN DE LITERATURA</b> .....	6
4.1 Cultivo de cempasúchil.....	6
4.2 Usos del cempasúchil .....	6
4.3 Producción .....	8
4.4 Enfermedades .....	9
4.4.1 <i>Botrytis</i> sp.....	9
4.4.2 <i>Alternaria</i> sp.....	9
4.4.3 Cenicilla ( <i>Erysiphe cichoracearum</i> ) .....	9
4.4.4 Marchitez y pudrición del tallo ( <i>Phytophthora cryptogea</i> ) .....	10
4.4.5 Mancha foliar ( <i>Septoria tageticola</i> ).....	10
4.4.6 <i>Plasmopara</i> spp. (Mildiu) .....	10
4.5 Biocontrol .....	11
4.6 <i>Trichoderma</i> .....	12
4.7 <i>Bacillus subtilis</i> .....	13
4.8 Bicarbonato de potasio .....	14
4.9 Descripción de los productos .....	15
<b>V MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	17
5.1 Lugar y ciclo de establecimiento.....	17
5.2 Productos evaluados .....	17
5.3 Diseño experimental .....	19
5.4 Análisis estadístico .....	23
<b>VI RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	24
6.1 Severidad de la enfermedad ocasionada por <i>Plasmopara</i> .....	24
6.2 Severidad de la enfermedad ocasionada por <i>Septoria</i> .....	39

6.3 Severidad de la enfermedad ocasionada por <i>Alternaria</i> .....	49
<b>VII CONCLUSIONES</b> .....	59
<b>VIII BIBLIOGRAFIA CONSULTADA</b> .....	61
<b>IX ANEXOS</b> .....	69

## LISTA DE CUADROS

<b>Cuadro 1.</b> Producción de flor de cempasúchil para corte del Estado de México y de Puebla (SIAP, 2014). .....	9
<b>Cuadro 2.</b> Productos utilizados, ingrediente activo, dosis aplicada y empresa que los distribuye. ....	17
<b>Cuadro 3.</b> Fechas y programas de las aplicaciones.....	18
<b>Cuadro 4.</b> Dosis de aspersión para cada producto. ....	19
<b>Cuadro 5.</b> Resultados del análisis no paramétrico de Kruskal-Wallis para la variable severidad media ponderada ocasionada por <i>Plasmopara</i> en el cultivo de cempasúchil a los 81 días después del trasplante. ....	25
<b>Cuadro 6.</b> Resultados del análisis no paramétrico de Kruskal-Wallis para la variable severidad media ponderada ocasionada por <i>Plasmopara</i> en el cultivo de cempasúchil a los 91 días después del trasplante. ....	26
<b>Cuadro 7.</b> Resultados del análisis no paramétrico de Kruskal-Wallis para la variable severidad media ponderada ocasionada por <i>Plasmopara</i> en el cultivo de cempasúchil a los 97 días después del trasplante. ....	27
<b>Cuadro 8.</b> Resultados del análisis no paramétrico de Kruskal-Wallis para la variable severidad media ponderada ocasionada por <i>Plasmopara</i> en el cultivo de cempasúchil a los 104 días después del trasplante. ....	33
<b>Cuadro 9.</b> Resultados del análisis no paramétrico de Kruskal-Wallis para la variable severidad media ponderada ocasionada por <i>Plasmopara</i> en el cultivo de cempasúchil a los 111 días después del trasplante. ....	34
<b>Cuadro 10.</b> Separación de medias para la variable severidad media ponderada ocasionada por <i>Plasmopara</i> en cada tratamiento.....	36
<b>Cuadro 11.</b> Resultados del análisis no paramétrico de Kruskal-Wallis para la variable severidad media ponderada ocasionada por <i>Septoria</i> en el cultivo de cempasúchil a los 81 días después del trasplante. ....	39
<b>Cuadro 12.</b> Resultados del análisis no paramétrico de Kruskal-Wallis para la variable severidad media ponderada ocasionada por <i>Septoria</i> en el cultivo de cempasúchil a los 91 días después del trasplante. ....	40
<b>Cuadro 13.</b> Resultados del análisis no paramétrico de Kruskal-Wallis para la variable severidad media ponderada ocasionada por <i>Septoria</i> en el cultivo de cempasúchil a los 97 días después del trasplante. ....	41
<b>Cuadro 14.</b> Resultados del análisis no paramétrico de Kruskal-Wallis para la variable severidad media ponderada ocasionada por <i>Septoria</i> en el cultivo de cempasúchil a los 104 días después del trasplante. ....	42

<b>Cuadro 15.</b> Resultados del análisis no paramétrico de Kruskal-Wallis para la variable severidad media ponderada ocasionada por <i>Septoria</i> en el cultivo de cempasúchil a los 111 días después del trasplante. ....	43
<b>Cuadro 16.</b> Separación de medias para la variable severidad media ponderada ocasionada por <i>Septoria</i> en cada tratamiento.....	45
<b>Cuadro 17.</b> Resultados del análisis no paramétrico de Kruskal-Wallis para la variable severidad media ponderada ocasionada por <i>Alternaria</i> en el cultivo de cempasúchil a los 91 días después del trasplante. ....	49
<b>Cuadro 18.</b> Resultados del análisis no paramétrico de Kruskal-Wallis para la variable severidad media ponderada ocasionada por <i>Alternaria</i> en el cultivo de cempasúchil a los 97 días después del trasplante. ....	50
<b>Cuadro 19.</b> Resultados del análisis no paramétrico de Kruskal-Wallis para la variable severidad media ponderada ocasionada por <i>Alternaria</i> en el cultivo de cempasúchil a los 104 días después del trasplante. ....	51
<b>Cuadro 20.</b> Resultados del análisis no paramétrico de Kruskal-Wallis para la variable severidad media ponderada ocasionada por <i>Alternaria</i> en el cultivo de cempasúchil a los 111 días después del trasplante. ....	52
<b>Cuadro 21.</b> Separación de medias para la variable severidad media ponderada ocasionada por <i>Alternaria</i> en cada tratamiento.....	54

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Escala diagramática de daño en base a la cantidad de tejido de hoja afectado por <i>Alternaria</i> .....	20
<b>Figura 2.</b> Escala diagramática de daño en base a la cantidad de tejido de hoja afectado por <i>Plasmopara</i> .....	21
<b>Figura 3.</b> Escala diagramática de daño en base a la cantidad de tejido de hoja afectado por <i>Septoria</i> .....	22
<b>Figura 4.</b> Severidad media ponderada ocasionada por <i>Plasmopara</i> en el cultivo de cempasúchil a los 81 días después del trasplante.....	25
<b>Figura 5.</b> Severidad media ponderada ocasionada por <i>Plasmopara</i> en el cultivo de cempasúchil a los 91 días después del trasplante.....	27
<b>Figura 6.</b> Severidad media ponderada ocasionada por <i>Plasmopara</i> en el cultivo de cempasúchil a los 97 días después del trasplante.....	28
<b>Figura 7.</b> Severidad media ponderada ocasionada por <i>Plasmopara</i> en el cultivo de cempasúchil a los 104 días después del trasplante.....	34
<b>Figura 8.</b> Severidad media ponderada ocasionada por <i>Plasmopara</i> en el cultivo de cempasúchil a los 111 días después del trasplante.....	35
<b>Figura 9.</b> Progreso de la severidad media ponderada a través del tiempo en los diferentes programas de control contra <i>Plasmopara</i> .....	38
<b>Figura 10.</b> Severidad media ponderada ocasionada por <i>Septoria</i> en el cultivo de cempasúchil a los 81 días después del trasplante. ....	40
<b>Figura 11.</b> Severidad media ponderada ocasionada por <i>Septoria</i> en el cultivo de cempasúchil a los 91 días después del trasplante. ....	41
<b>Figura 12.</b> Severidad media ponderada ocasionada por <i>Septoria</i> en el cultivo de cempasúchil a los 97 días después del trasplante. ....	42
<b>Figura 13.</b> Severidad media ponderada ocasionada por <i>Septoria</i> en el cultivo de cempasúchil a los 104 días después del trasplante. ....	43
<b>Figura 14.</b> Severidad media ponderada ocasionada por <i>Septoria</i> en el cultivo de cempasúchil a los 111 días después del trasplante. ....	44
<b>Figura 15.</b> Progreso de la severidad media ponderada a través del tiempo en los diferentes programas de control contra <i>Septoria</i> .....	48
<b>Figura 16.</b> Severidad media ponderada ocasionada por <i>Alternaria</i> en el cultivo de cempasúchil a los 91 días después del trasplante. ....	50
<b>Figura 17.</b> Severidad media ponderada ocasionada por <i>Alternaria</i> en el cultivo de cempasúchil a los 97 días después del trasplante. ....	51

<b>Figura 18.</b> Severidad media ponderada ocasionada por <i>Alternaria</i> en el cultivo de cempasúchil a los 104 días después del trasplante. ....	52
<b>Figura 19.</b> Severidad media ponderada ocasionada por <i>Alternaria</i> en el cultivo de cempasúchil a los 111 días después del trasplante. ....	53
<b>Figura 20.</b> Progreso de la severidad media ponderada a través del tiempo en los diferentes programas de control contra <i>Alternaria</i> . ....	58

## RESUMEN

### **Manejo de enfermedades foliares con *Trichoderma* spp. y *Bacillus subtilis* en cempasúchil (*Tagetes erecta*) del Valle de Toluca**

Carmen Vázquez Moreno. Ingeniero Agrónomo Fitotecnista. Universidad Autónoma del Estado de México. Facultad de Ciencias Agrícolas.

Asesor: <sup>1</sup>Dr. Jesús Ricardo Sánchez Pale

<sup>1</sup> Universidad Autónoma del Estado de México. Facultad de Ciencias Agrícolas. Campus Universitario El Cerrillo, El Cerrillo Piedras Blancas. Mpio. de Toluca, México. Código Postal 50200. Tel. (fax) 2-96-55-29 y 2-96-55-31 [jrsanchezp@uaemex.mx](mailto:jrsanchezp@uaemex.mx)

México es centro de origen del cempasúchil (*Tagetes erecta*) y por ello también es reconocido como uno de los principales productores de esta especie a nivel mundial. A nivel nacional Puebla es el principal estado productor de cempasúchil, en el Estado de México se reportan un promedio de 98 hectáreas sembradas. El cempasúchil es una especie que es utilizada principalmente en las festividades de día de muertos, en la industria es utilizado para la elaboración de colorante, harinas, dulces, también como alimento para aves y aumentar el color de la yema del huevo, etc.; En la agricultura es una especie apreciada por su capacidad de repeler plagas (insectos, hongos, nematodos, etc.). Sin embargo a pesar de esta característica también es atacada por insectos, hongos, nematodos y fitoplasmas, capaces de reducir de manera significativa los rendimientos. Actualmente en la agricultura, se busca el control de las plagas en general, cuidando el medio ambiente, es por ello que se buscan alternativas como por ejemplo el control biológico. El presente trabajo tuvo por objeto el controlar enfermedades foliares con *Trichoderma* sp. y *Bacillus* sp. ocasionadas por *Plasmopara* sp., *Septoria* sp. y *Alternaria* sp. en cultivo cempasúchil en el Valle de Toluca, bajo condiciones de cielo abierto, se establecieron fechas de aspersión siguiendo un patrón de programas y realizando muestreos en un intervalo de diez a quince días, para evaluar la variable severidad media ponderada, basándonos en escalas diagramáticas de seis clases para cada uno de estos patógenos. Los resultados indicaron que *Bacillus* sp. y *Trichoderma* sp. tienen la capacidad de reducir la severidad ocasionada por *Plasmopara* sp. y *Alternaria* sp., *Bacillus* sp. tiene potencial para ser utilizado en el control de *Septoria* sp.

## ABSTRAC

### **Management of foliar diseases with *Trichoderma* spp . and *Bacillus subtilis* in marigolds (*Tagetes erecta*) Valley of Toluca**

Carmen Vázquez Moreno. Ingeniero Agrónomo Fitotecnista. Universidad Autónoma del Estado de México. Facultad de Ciencias Agrícolas.

Asesor: <sup>1</sup>Dr. Jesús Ricardo Sánchez Pale

<sup>1</sup>. Universidad Autónoma del Estado de México. Facultad de Ciencias Agrícolas. Campus Universitario El Cerrillo, El Cerrillo Piedras Blancas. Mpio. de Toluca, México. Código Postal 50200. Tel. (fax) 2-96-55-29 y 2-96-55-31 [jrsanchezp@uaemex.mx](mailto:jrsanchezp@uaemex.mx)

México is center of origin of marigolds (*Tagetes erecta*) and therefore is also recognized as one of the leading producers of this species worldwide. Nationally, Puebla is the main producing State of marigolds, in the State of Mexico an average of 98 hectares are reported. The marigold is a species that is used mainly in the festivities of Day of the Dead, in the industry it is used for the production of dye, flour, sweets, also as food for birds and increase the color of egg yolk, etc.; in agriculture is a species prized for its ability to repel pests (insects, fungi, nematodes, etc.). However despite this feature it is also attacked by insects, fungi, nematodes and phytoplasmas, able to significantly reduce yields. Currently in agriculture, pest control in general is sought, taking care of the environment, which is why we are seeking alternatives such as biological control. This work was aimed at controlling foliar diseases with *Trichoderma* sp. and *Bacillus* sp. caused by *Plasmopara* sp., *Septoria* sp. and *Alternaria* sp. in marigolds growing in the Valley of Toluca, under open sky, spray dates were established following a pattern of programs and by sampling at an interval of ten to fifteen days, to assess the severity weighted moving average, scales based on diagrammatic six classes for each of these pathogens. The results indicated that *Bacillus* sp. and *Trichoderma* sp. have the ability to reduce the severity and *Alternaria* sp. caused by *Plasmopara* sp., *Bacillus* sp. has potential for use in controlling *Septoria* sp.

## I INTRODUCCIÓN

La familia Asteraceae tiene distribución mundial y ocupa el segundo lugar en cuanto a su dispersión (Gómez y Zavaleta, 2001). Dentro de las especies que destacan en esta familia de platas se encuentra la especie *Tagetes erecta* Linn., comúnmente denominada flor de cempasúchil o flor de muerto en México, “clavelina” y “marigold” en Perú; “marigold” en España; en EEUU como “moanshot”, “marigold africano” o “marigold americano”; y en Venezuela como “clavelón”, “clavel dorado”, “rosa de la india”, “clavel chino”, “maravilla azteca”, “clavel africano”, “clavel japonés”, “copetes”, “cagetes” y “caléndula”. A nivel mundial, los principales productores de esta planta son China, India, México y Perú. En el continente americano existen 55 especies de este género, de éstas, 35 especies se localizan en nuestro país (Unión Puebla, 2014). A México se le considera como centro de origen de esta especie, en donde se han identificado una gran cantidad de especies silvestres (Gómez y Zavaleta, 2001).

De acuerdo con la Secretaría de Agricultura Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA) existen zonas dedicados a la producción de cempasúchil en los estados de Puebla, Oaxaca, Guerrero, Hidalgo, Guanajuato, Querétaro, San Luis Potosí, Morelos, Tlaxcala, Estado de México y el Distrito Federal. Destacando Puebla como el principal productor de la flor, de acuerdo con la Secretaría de Desarrollo Rural, Sustentabilidad y Ordenamiento Territorial (SDRSOT), en la temporada de “Todos los Santos” se esperan cosechas superiores a las 10 mil toneladas, el cual estima un valor de producción de aproximadamente 15 millones de pesos (Unión Puebla, 2015). En el Estado de México el INEGI reporto que en el ciclo productivo 2006-2007 se obtuvo una cosecha de 677.5 toneladas. Cabe mencionar que en los últimos años fuentes de

información como SIAP y SAGARPA no muestran datos cuantificables de la producción de cempasúchil, ni el número de hectáreas sembradas.

La flor de cempasúchil es demandada principalmente para su venta en las festividades de Día de Muertos; además el procesado de sus capítulos florales son fuente de colorantes, los cuales se utilizan como aditivos en la elaboración de alimentos para aves, peces y crustáceos (Del Villar *et al.*, 2007). Otros usos son la elaboración de harina y la extracción de oleorresinas; productos que poseen un alto contenido de xantófila, apreciada en la industria de alimentos concentrados balanceados para aves, por su característica de dar una coloración atractiva a la yema del huevo y a la piel de las aves (Méndez-García, 2009). Es una planta ampliamente reconocida por sus propiedades fungicidas, nematocidas e insecticidas, debidas a la presencia de compuestos tiofenos en sus tejidos (Gómez y Zavaleta, 2001).

Es escasa la información en cuanto a las enfermedades que se presentan en este cultivo, sin en cambio, Romero (1996) menciona que es una planta bastante propicia a ser atacada por hongos e insectos, los cuales pueden ser perjudiciales y por consiguiente repercutir en el rendimiento.

Dados los diversos usos de este cultivo es importante tomar en cuenta el manejo de ciertas plagas y enfermedades, uno de ellos podría ser el control biológico, que consiste en la utilización de organismos vivos para reducir y mantener la abundancia poblacional de una plaga por debajo de los niveles de daño económico (Villacide y Corley, 2012). Por otro lado, los hongos antagonistas como *Trichoderma* son una alternativa de control de hongos fitopatógenos (Reyes *et al.*, 2012). En el control de enfermedades de los

cultivos agrícolas se emplean los microorganismos benéficos como las rizobacterias, en especial a *Bacillus subtilis* que presentan amplias potencialidades para este fin (Villa *et al.*, 2007).

En el Estado de México, específicamente en el Valle de Toluca, se ha observado que las plantaciones comerciales de la flor de cempasúchil ha expresado enfermedades en las hojas que llegan a causar daños importantes al cultivo, sin embargo, hasta el momento no se reportan estrategias de control, por lo que la presente investigación tiene por objetivo:

## II OBJETIVOS

### GENERAL

Evaluar dos agentes de control biológico sobre el desarrollo de enfermedades foliares en *Tagetes erecta* en el Valle de Toluca.

### ESPECÍFICOS

- 1) Evaluar el efecto del producto T-22® formulado a base de *Trichoderma harzianum* sobre el desarrollo de enfermedades foliares en *Tagetes erecta*.
- 2) Evaluar el efecto del producto Bs® formulado a base de *Bacillus subtilis* sobre el desarrollo de enfermedades foliares en *Tagetes erecta*.
- 3) Evaluar el efecto de la combinación de los productos biológicos T-22® a base de *Trichoderma harzianum* y Bs® a base de *Bacillus subtilis* sobre el desarrollo de enfermedades foliares en *Tagetes erecta*.
- 4) Evaluar el efecto de los productos biológicos Bs® a base de *Bacillus subtilis* y T-22® a base de *Trichoderma harzianum* en combinación con el producto milstop plus® formulado a base de bicarbonato de potasio sobre el desarrollo de enfermedades foliares en *Tagetes erecta*.
- 5) Evaluar el efecto de los productos biológicos Bs® a base de *Bacillus subtilis* y T-22® a base de *Trichoderma harzianum* cada uno en combinación con el producto químico Tecto®60 a base de Thiabendazol sobre el desarrollo de enfermedades foliares en *Tagetes erecta*.

### **III HIPOTESIS**

El control de algunas enfermedades foliares en *Tagetes erecta* se obtendrá al menos con un programa de aspersión de *Trichoderma harzianum* y/o *Bacillus subtilis*.

## IV REVISIÓN DE LITERATURA

### 4.1 Cultivo de cempasúchil

La familia Asteraceae se distribuye en todo el mundo y ocupa el segundo lugar en cuanto a su dispersión (Gómez y Zavaleta, 2001).

En el continente americano existen 55 especies del género *Tagetes*, de estas; 35 se localizan en México (Unión Puebla, 2014). Considerando a México como centro de origen de la flor de cempasúchil (*Tagetes erecta*) (Gómez y Zavaleta, 2001). Comúnmente denominada como flor de cempasúchil o flor de muerto en México, “clavelina” y “marigold” en Perú; “marigold” en España; en EEUU como “moanshot”, “marigold africano” o “m. americano”; y en Venezuela como “clavelón”, “clavel dorado”, “rosa de la india”, “clavel chino”, “maravilla azteca”, “clavel africano”, “clavel japonés”, “copetes”, “cagetes” y “caléndula” (Méndez-García, 2009).

### 4.2 Usos del cempasúchil

En México se usa en festividades religiosas durante el mes de noviembre, para adornar ofrendas dedicadas a los difuntos, tanto en panteones como en altares preparados en las casas; también en forma ornamental (flor de corte, jardín y maceta) (INEGI, 2007). El cempasúchil es una planta ampliamente reconocida por sus propiedades fungicidas, nematocidas e insecticidas, debidas a la presencia de compuestos tiofenos en sus tejidos. La asociación de cultivos con cempasúchil ha resultado en reducciones significativas de varios problemas fitosanitarios en algunos cultivos (Gómez y Zavaleta, 2001).

La flor de cempasúchil es altamente demandada ya que sus capítulos florales después de ser procesados son fuente de colorantes, de la familia de los carotenoides, los cuales se utilizan como aditivos en la elaboración de alimentos para aves, peces y crustáceos, y así mejorar el aspecto de éstos para el consumo humano (Del Villar *et al.*, 2007).

Las flores son procesadas industrialmente para la elaboración de harina o para la extracción de oleorresinas, productos que poseen un alto contenido de xantofilas, apreciadas en la industria de alimentos para aves, por su característica de dar una coloración atractiva a la yema del huevo y a la piel de las aves; otro uso potencial es como cultivo de rotación para disminuir la densidad poblacional de nemátodos de los géneros *Meloidogyne* y *Pratylenchus*, que constituyen problemas serios en muchas zonas agrícolas (Méndez-García, 2009).

También se utiliza como un colorante para alimentos y suplemento de nutrientes (aditivo alimentario) en una amplia gama de productos de panadería y mezclas para hornear, bebidas, cereales para desayuno, goma de mascar, análogos de productos lácteos, grasas y aceites, postres lácteos congelados, caramelos blandos y duros, productos lácteos, frutas procesadas y zumos de frutas y mezclas para sopas y salsas (Cantrill, 2004).

En agricultura orgánica, la planta de cempasúchil se puede utilizar en diversas formas. Por ejemplo, de *Tagetes erecta* se extrae abono orgánico para la tierra de cultivo, no sólo para mejorar la calidad del suelo, también para controlar nemátodos en cultivos de piña, fresa, papa, gladiola y, en general, en áreas hortícolas y florícolas afectados por ese tipo de plagas (Serrato-Cruz, 2004). También se pueden aplicar extractos acuosos y polvos de diferentes partes de la planta (raíces, tallos y hojas, inflorescencias o toda la planta)

para repeler o matar insectos en cultivos o para granos almacenados. La planta presenta piretrinas y tiofenos, que son las sustancias vegetales responsables de los efectos contra insectos. La rotación de maíz con cempasúchil (*Tagetes erecta*) en tierras templadas con antecedentes de plagas en el suelo, como la gallina ciega, abate drásticamente las poblaciones de este insecto, lo cual es una alternativa importante para las áreas maiceras con similares condiciones ambientales (Serrato-Cruz, 2004).

### **4.3 Producción**

A nivel mundial, los principales productores de esta planta son China, India, México y Perú.

De acuerdo a la Secretaría de Agricultura Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA), a nivel nacional los estados dedicados a su producción son Puebla, Oaxaca, Guerrero, Hidalgo, Guanajuato, Querétaro, San Luis Potosí, Morelos, Tlaxcala y el Distrito Federal.

Puebla se ha destacado como el principal productor de la flor de cempasúchil, las principales zonas productoras son Atlixco, Tianguismanalco, Santa Isabel Cholula, Palmar de Bravo y Huaquechula, San Jeronimo Tecuanipan, Quecholac, Tepeaca, Acatzingo, Tehuacan y Huejotzingo, desde donde se distribuye a diversos puntos de venta en el país (Unión Puebla, 2014). Cada año, el estado registra una producción de 80 mil toneladas y ganancias de entre 50 y 60 mil pesos por hectárea, con exportaciones a países como Estados Unidos, Canadá y Europa (Unión Puebla, 2014). En el 2014, el

SIAP publicó datos de la producción de cempasúchil para corte, en el Cuadro 1 se pueden observar los datos entre el Estado de México y de Puebla.

**Cuadro 1. Producción de flor de cempasúchil para corte del Estado de México y de Puebla (SIAP, 2014).**

Estado	Superficie sembrada (hectárea)	Superficie cosechada (hectárea)	Producción (toneladas)	Rendimiento (toneladas/hectárea)
México	98.0	98.0	203.00	20.44
Puebla	455.50	455.50	4,575.22	10.04

#### 4.4 Enfermedades

Entre las enfermedades más comunes en el cultivo de cempasúchil destacan:

##### 4.4.1 *Botrytis* sp.

Los síntomas que causa en hojas son cambio de color a bronceados, con la aparición de un moho gris sobre ellas, la mancha de la hoja causa puntuaciones negras o grises de forma irregular u oval sobre el mesófilo foliar (Méndez-García, 2009).

##### 4.4.2 *Alternaria* sp.

Los síntomas que caracterizan a este hongo son que las hojas y peciolo aparecen como manchas marrones oscuras y puede llegar a secar la planta (Méndez-García, 2009).

##### 4.4.3 *Cenicilla (Erysiphe cichoracearum)*

Los síntomas característicos son manchas blanquecinas en el haz de las hojas, al crecer coalescen y cubren toda la lámina foliar, a consecuencia de las cuales las hojas se secan

y mueren prematuramente. Los tallos y cálices de las flores son susceptibles (Romero, 1996).

#### **4.4.4 Marchitez y pudrición del tallo (*Phytophthora cryptogea*)**

Los síntomas que ocasiona este hongo es marchitamiento del follaje, en los tallos aparecen áreas negras y hundidas que se extienden de la corona hasta algunos centímetros arriba de la superficie del suelo, las raíces y las semillas también pueden ser podridas, las plantas mueren en la tercera semana después de que ocurre la infección (Romero, 1996).

#### **4.4.5 Mancha foliar (*Septoria tageticola*)**

Los síntomas en las hojas se caracterizan por la aparición de manchas que, bajo condiciones de alta humedad, crecen rápidamente, muestra una coloración verde más oscura que el tejido que los rodea, posteriormente adquiere un color grisáceo casi negro; su forma es oval a irregular y en ellas se forman picnidios negros, las lesiones en los peciolo, tallos y pedúnculos forman áreas alargadas y de color café, donde posteriormente se producen picnidios. Las semillas de cabezuelas envueltas por brácteas enfermas generalmente contraen la enfermedad (Romero, 1996).

#### **4.4.6 *Plasmopara* spp. (Mildiu)**

Inicialmente, los síntomas en las hojas es la aparición de pequeñas manchas color amarillo pálido, las cuales muestran bordes indefinidos sobre el haz de las hojas, en tanto que el envés (y directamente debajo de las manchas), aparece un crecimiento algodonoso (Agrios, 2005).

Es prudente mencionar que no se encontró información específicamente de *Plasmopara* sp. afectando a *Tagetes erecta*. Pero actualmente se sabe que *Plasmopara* ataca especies como la vid, girasol, apio, zanahoria, chirivía (*Pastinaca sativa*), *Anthriscus sylvestris*, *Aegopodium podagraria*.

#### **4.5 Biocontrol**

La contaminación ambiental causada por el uso excesivo y mal uso de agroquímicos, ha provocado a considerables cambios en las actitudes de la gente hacia el uso de pesticidas en la agricultura. En consecuencia, algunos investigadores de manejo de plagas tienen centrado sus esfuerzos en el desarrollo de insumos alternativos a los productos químicos para el control de plagas y enfermedades. Entre estas alternativas son los mencionados como controles biológicos. El término "control biológico", se han utilizado en diferentes campos de la biología, especialmente la entomología y fitopatología. En fitopatología, el término se aplica a la utilización de antagonistas microbianos para suprimir enfermedades (Pal y McSpadden, 2006).

El control biológico es una práctica muy importante para el manejo de plagas, que consiste en la utilización de organismos vivos para reducir y mantener la abundancia poblacional de una plaga por debajo de los niveles de daño económico. Su valor recae en que puede resultar en un control eficiente de plagas tanto a mediano como a largo plazo, compatible con un bajo riesgo ambiental y una producción sustentable (Villacide y Corley, 2012).

En el caso de agentes biológicos para el control de enfermedades (principalmente causados por hongos), son todavía limitados y están basados principalmente en hongos de los géneros *Trichoderma*, *Gliocladium*, *Streptomyces*, *Coniothyrium* y *Candida*, y bacterias de los géneros *Pseudomonas*, *Bacillus* y *Agrobacterium* (Serrano y Galindo, 2007).

#### **4.6 *Trichoderma***

Clasificación taxonómica

Reino: Fungi

Phylum: Ascomycota

Subdivisión: Pezizomycotina

Clase: Sordariomycetes

Orden: Hypocreales

Familia: Hypocreaceae

Género: *Trichoderma*

Fuente: NCBI (2016).

Los hongos antagonistas como *Trichoderma* son una alternativa en el control de hongos fitopatógenos, ya que ha mostrado inhibir el crecimiento de fitopatógenos. Actualmente no se conoce que dicho microorganismo sea patógeno de ninguna planta (Camarena, 2012). Complementando con las ventajas que tiene este hongo, como su capacidad de rápido crecimiento y desarrollo, se desarrolla en una amplia gama de sustratos, tolerancia a condiciones ambientales extremas y a hábitats donde los hongos causan enfermedades (Chiriboga *et al.*, 2015).

Las cepas de *Trichoderma* actúan como agentes de control biológico y se basan en la activación de múltiples mecanismos, como la competencia por nutrientes y espacio, la modificación de las condiciones ambientales, el estímulo del crecimiento y la activación de mecanismos defensivos de las plantas, por antibiosis y micoparasitismo (Reyes *et al.*, 2012). Además de que *Trichoderma* reduce el estrés biótico y abiótico al que es sometido la planta (Mastouri *et al.*, 2010).

Algunos estudios muestran que es un antagonista efectivo contra hongos fitopatógenos. Por ejemplo, Se observó que la cepa de *Trichoderma harzianum* fue eficaz en el control de *Fusarium oxysporum*, agente causal de la marchitez del banano, y mostro una significativa inhibición de la severidad de la enfermedad (Pérez *et al.*, 2009). Cepas nativas y comerciales de *Trichoderma harzianum* controlaron hasta el 100% la pudrición seca en raíz de maracuyá causada por *Fusarium solani* (Cubillos *et al.*, 2011).

#### **4.7 *Bacillus subtilis***

Clasificación taxonómica

Reino: Monera

Phylum: Firmicutes

Clase: Bacilli

Orden: Bacillales

Familia: Bacillaceae

Género: *Bacillus*

Especie: *Bacillus subtilis*

Fuente: NCBI (2016).

En el control de enfermedades de los cultivos agrícolas se han empleado en los últimos años los microorganismos benéficos como las rizobacterias, en especial las del género *Bacillus subtilis* que presentan amplias potencialidades para este fin (Villa *et al.*, 2007).

Tratando las plantas de jitomate con *Bacillus subtilis* cepa No. 21 en la raíz y asperjándolo en el follaje se obtuvo, por planta, mayor número de frutos con más peso y tamaño. Con lo anterior, la aplicación de *Bacillus subtilis* en el cultivo de jitomate parece ser una opción viable para el control de enfermedades y como regulador de crecimiento (Basurto *et al.*, 2010).

#### **4.8 Bicarbonato de potasio**

Por otro lado la utilización de sales como en bicarbonato de sodio, bicarbonato de potasio, entre otros, se ha utilizado como alternativas para el control de enfermedades en las plantas. Yáñez *et al.*, (2014) realizaron investigaciones de la efectividad de bicarbonatos en el control de cenicienta (*Oidium* sp.) en pepino (*Cucumis sativus* L.) de acuerdo a los resultados que obtuvieron, mencionaron que el bicarbonato de potasio en una dosis de 4 gramos por litro de agua, es eficaz para reducir la incidencia y severidad de la cenicienta en las plantas de pepino y posteriormente que el uso de bicarbonato de potasio puede ser una alternativa de control contra este patógeno.

#### 4.9 Descripción de los productos

Los bioplaguicidas son una alternativa natural para el combate de plagas y enfermedades a un costo razonable y sin efecto negativo sobre el usuario o el ambiente. Los productos utilizados en el presente trabajo, presentan las siguientes características:

- T-22®. Es biofungicida a base de esporas de *Trichoderma harzianum* cepa T-22, para el control de enfermedades en un gran número de especies vegetales, se desarrolla rápidamente, dando protección a la raíz contra patógenos como *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Fusarium*, *Cylindrocladium*, *Thielaviopsis*, *Verticillium* y *Sclerotinia sclerotiorum* (PHC, 2016).
- Bs®. Es un fungicida de contacto a base de *Bacillus subtilis* cepa Q11, útil para el control biológico de hongos fitopatógenos como: *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Sclerotinia*, *Phytium*, *Phytophthora*, *Diplodia*, *Macrophomina*, *Phymatotrichum*, *Verticillum*, *Pyrenochaeta*, *Phoma*, *Colletotrichum*, *Alternaria* (Quimia, 2016).
- MilStop Plus®. Su ingrediente activo es Bicarbonato de potasio formulado especialmente para uso agrícola. Fungicida orgánico de contacto y amplio espectro para el control de cenicilla, *Alternaria*, antracnosis, *Botrytis* y *Phoma*,, inhibe principalmente el crecimiento de hongos patógenos del follaje alterando procesos de regulación de la presión osmótica, ocasionando la destrucción de las paredes celulares del patógeno (PHC, 2016).
- TECTO® 60. Es un fungicida de origen químico, su ingrediente activo es Thiabendazol, que se mueve en la planta de forma sistémica, de amplio espectro que puede ser utilizado para tratamientos preventivos y/o curativos. Se aplica en aspersiones foliar antes de la cosecha o en tratamientos postcosecha, utilizado para

el control de *Colletotrichum*, *Diplodia*, *Pyricularia*, *Cercospora*, *Fusarium*,  
*Botrytis*, *Penicillium*, *Rhizoctonia*, *Podosphaera*, *Venturia*, *Gloeosporium*,  
*Ceratocystis*, *Deightoniella*, *Diaporthe*, *Tilletia* y *Sclerotinia* (Syngenta, 2016).

## V MATERIALES Y MÉTODOS

### 5.1 Lugar y ciclo de establecimiento

El experimento se realizó bajo condiciones de temporal otoño-invierno 2015, con una fecha de siembra del 28/08/2015, en los terrenos (lote 13) del campo experimental de la Facultad de Ciencias Agrícolas de la UAEMéx, ubicada en el Campus Universitario “El Cerrillo”, ubicado en la comunidad del Cerrillo Piedras Blancas, Toluca México.

### 5.2 Productos evaluados

**Cuadro 2. Productos utilizados, ingrediente activo, dosis aplicada y empresa que los distribuye.**

Producto	Ingrediente Activo	Dosis	Empresa
PHC®T-22®.	<i>Trichoderma harzianum</i>	0.5 kg/Ha	PHC de México
Bs®.	<i>Bacillus subtilis</i>	2.0 – 3.0 L/ha	Quimia
PHC® MilStop Plus®.	Bicarbonato de potasio	2 a 4.5 kg/ ha.	PHC de México
TECTO® 60	Thiabendazol	100 g/100 L de agua	Syngenta

Los diferentes productos se utilizaron en base a un programa de aspersión, originado 8 tratamientos más el testigo, como se indica en el Cuadro 3.

**Cuadro 3. Fechas y programas de las aplicaciones.**

	Días Después del Trasplante				
Programa	81 DDT	91 DDT	97 DDT	104 DDT	111 DDT
1	<i>Trichoderma</i>	<i>Trichoderma</i>	<i>Bacillus</i>	<i>Bacillus</i>	<i>Bacillus</i>
2	<i>Bacillus</i>	<i>Bacillus</i>	<i>Bacillus</i>	<i>Trichoderma</i>	<i>Trichoderma</i>
3	<i>Bacillus</i>	<i>Bacillus</i>	Milstop	Milstop	Milstop
4	<i>Trichoderma</i>	<i>Trichoderma</i>	<i>Trichoderma</i>	Milstop	Milstop
5	<i>Bacillus</i>	<i>Bacillus</i>	Tecto 60	Tecto 60	Tecto 60
6	<i>Trichoderma</i>	<i>Trichoderma</i>	Tecto 60	Tecto 60	Tecto 60
7	<i>Bacillus</i>	<i>Bacillus</i>	<i>Bacillus</i>	<i>Bacillus</i>	<i>Bacillus</i>
8	<i>Trichoderma</i>	<i>Trichoderma</i>	<i>Trichoderma</i>	<i>Trichoderma</i>	<i>Trichoderma</i>
9 (testigo)	Agua	Agua	Agua	Agua	Agua

DDT: Días Después del Trasplante.

Las dosis de los productos asperjados fueron:

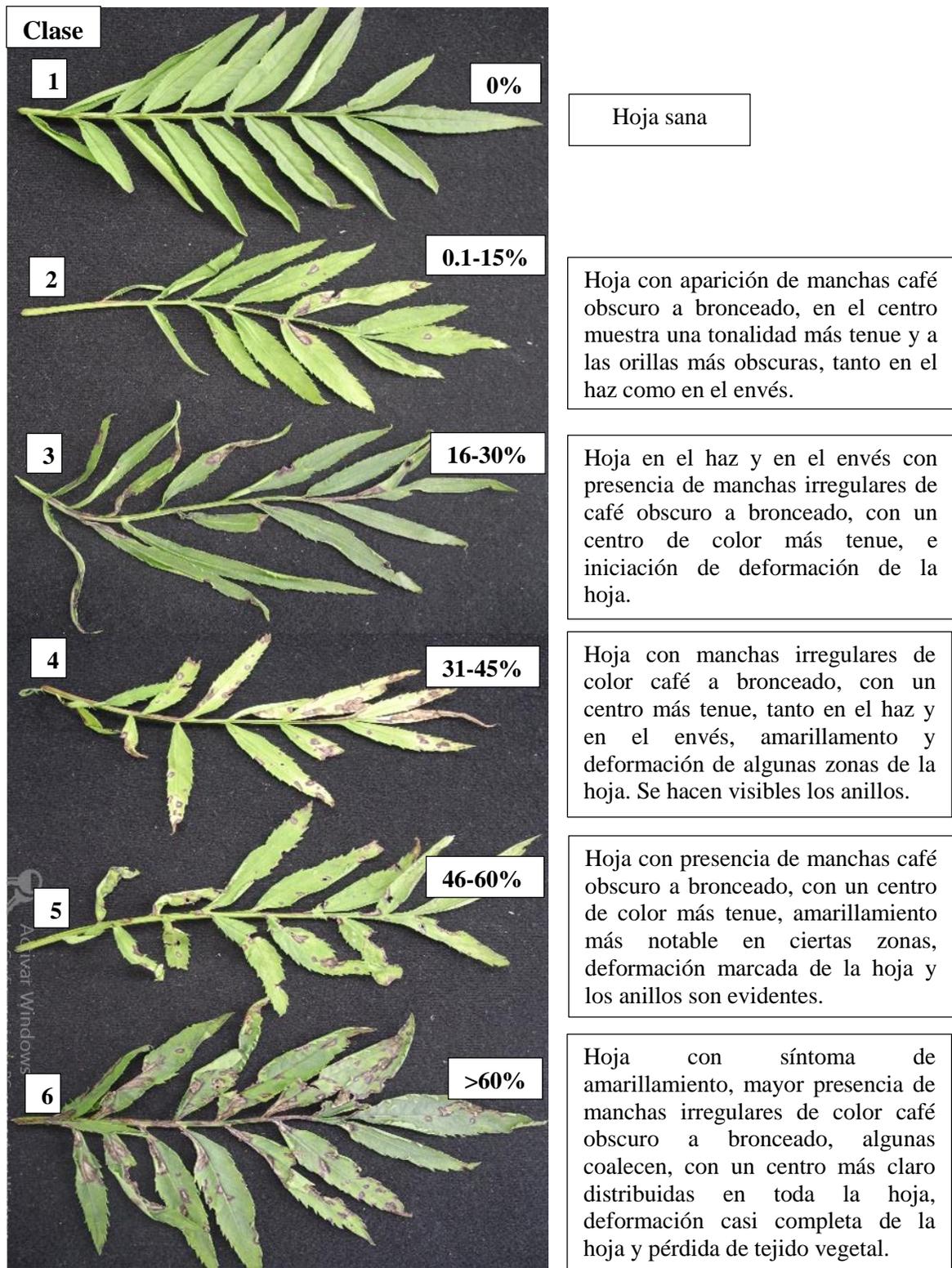
**Cuadro 4. Dosis de aspersión para cada producto.**

Producto	Dosis
T-22 ( <i>Trichoderma</i> )	0.5 kg/Ha
Bs ( <i>Bacillus</i> )	3 l/Ha
Milstop (Milstop)	4 kg/Ha
Tecto 60 (Tecto)	100 g/100 l
Agua (Testigo)	400 l/Ha

### 5.3 Diseño experimental

El experimento se realizó en un diseño de bloques completos al azar con cuatro repeticiones, cada repetición consistió de cuatro surcos de 3 metros de largo y una distancia de 0.80 cm entre ellos. La parcela útil fueron los dos surcos centrales de cada repetición. Por cada repetición, se seleccionaron cuatro plantas aleatoriamente para evaluar la severidad de cada individuo por cada hongo.

La variable que se evaluó fue la severidad media ponderada, determinada por medio de una escala diagramática de daño de 6 clases en base a la cantidad de tejido de hoja afectado por cada enfermedad evaluada (figuras 1, 2 y 3).



**Figura 1. Escala diagramática de daño en base a la cantidad de tejido de hoja afectado por *Alternaria*.**

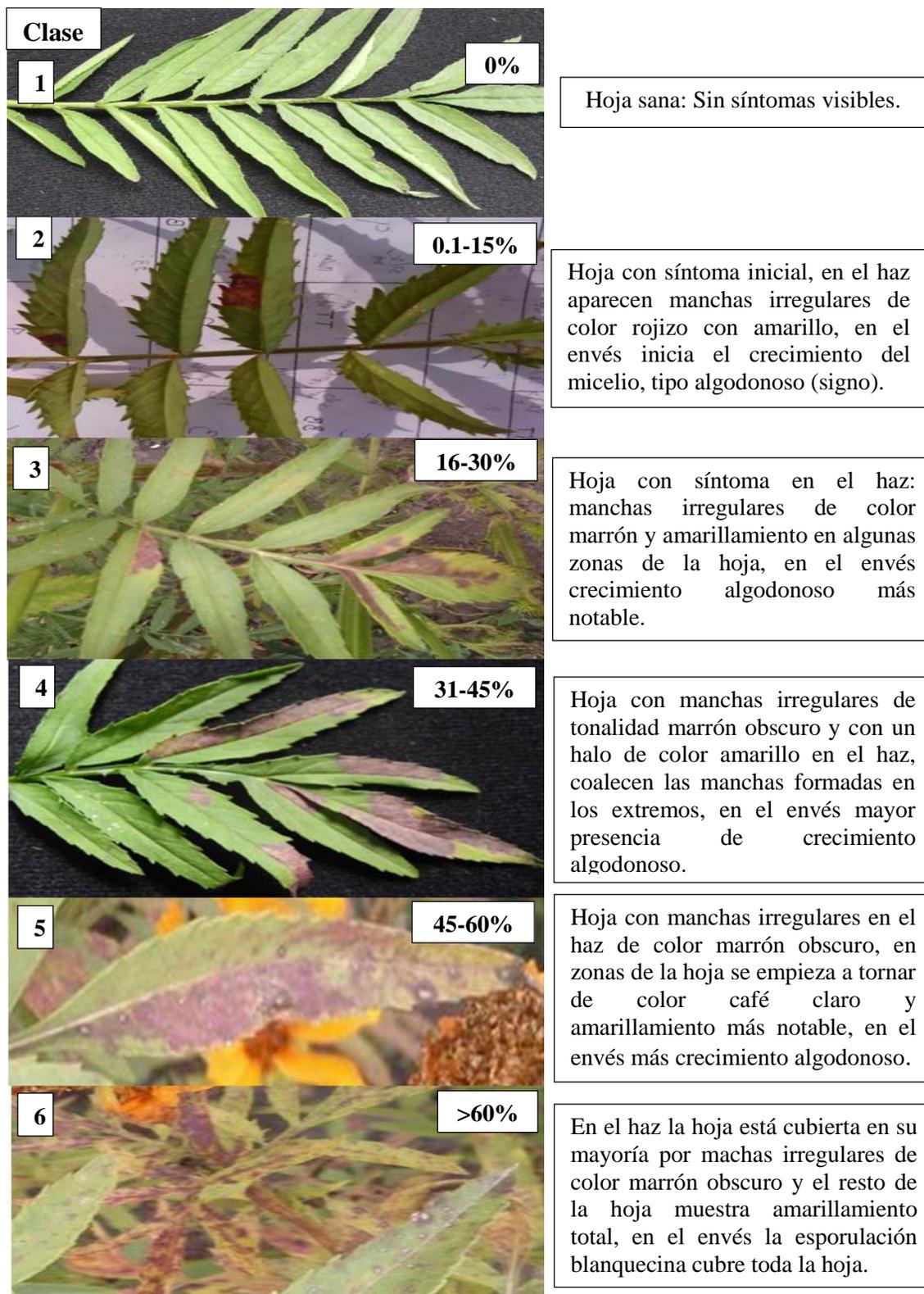
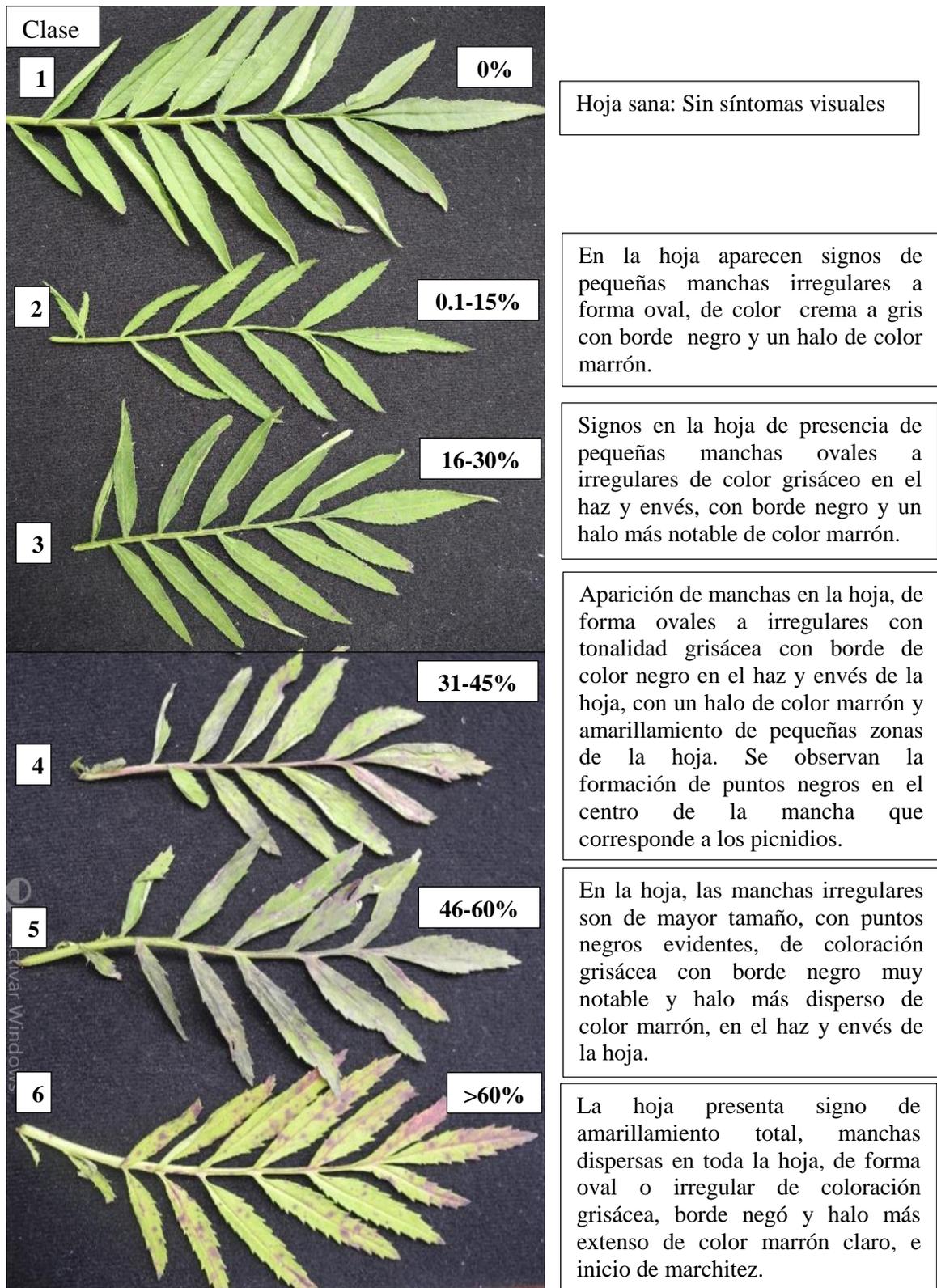


Figura 2. Escala diagramática de daño en base a la cantidad de tejido de hoja afectado por *Plasmopara*.



**Figura 3. Escala diagramática de daño en base a la cantidad de tejido de hoja afectado por *Septoria*.**

#### **5.4 Análisis estadístico**

Los datos obtenidos en cada tratamiento por variable, se analizaron en el programa estadístico SAS versión 9.0. Se realizó el análisis con la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis por tratarse de datos que no se ajustaron a la normalidad. Para cada fecha de muestreo por variable evaluada se graficaron la media ponderada con su desviación estándar para indicar las posibles diferencias estadísticas entre cada tratamiento.

## VI RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las enfermedades que se presentaron durante el crecimiento de cempasúchil fueron: mildiu por *Plasmopara*, tizón por *Septoria* y mancha foliar por *Alternaria*. A continuación se describen los resultados del control de las tres enfermedades foliares con diferentes programas de manejo.

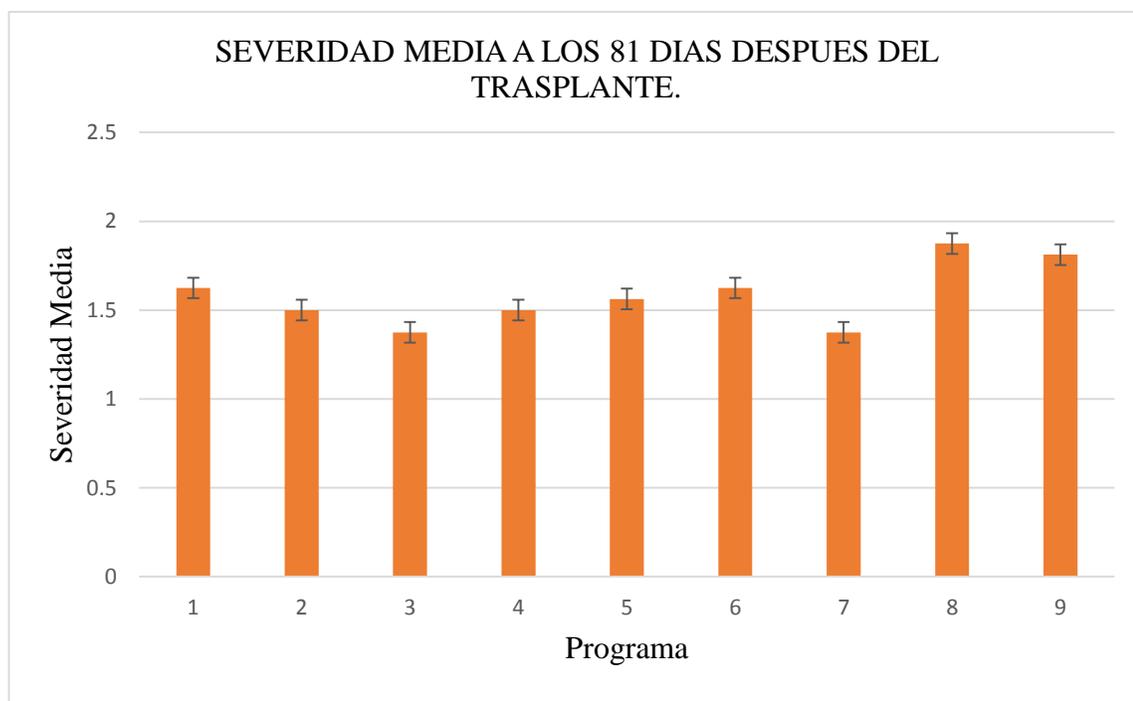
### 6.1 Severidad de la enfermedad ocasionada por *Plasmopara*

A los 81 días después del trasplante, de acuerdo a los resultados que mostró la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, no existió una diferencia estadísticamente significativa entre los programas que se llevaron a cabo ( $P > F = 0.9918$ ), sin embargo los programas a base de *Trichoderma harzianum* (uno, seis y ocho) fueron los que permitieron una mayor severidad de *Plasmopara* spp. en las hojas evaluadas, excepto el programa cuatro, que mostro menor severidad, lo cual puede ser causado por la heterogeneidad que presento la severidad, misma que se refleja en el muestreo realizado, seleccionando cuatro plantas en forma aleatoria. Las menores severidades medias ponderadas se encontraron con los programas a base de *Bacillus subtilis* (dos, tres, cinco y siete). El testigo (programa nueve) presentó mayor severidad, que la mayoría de los programas; lo mencionado anteriormente se puede observar en el Cuadro 5. Si bien, todos los tratamientos fueron estadísticamente similares, como se puede observar en la Figura 4 el comportamiento de cada uno de los programas; además es necesario recalcar que los controladores biológicos redujeron la severidad de la enfermedad con respecto al testigo.

**Cuadro 5. Resultados del análisis no paramétrico de Kruskal-Wallis para la variable severidad media ponderada ocasionada por *Plasmopara* en el cultivo de cempasúchil a los 81 días después del trasplante.**

Programa	Media	Des. estándar	Error estándar
1	1.625	0.4330127	0.21650635
2	1.5	0.20412415	0.10206207
3	1.375	1.01036297	0.50518149
4	1.5	0	0
5	1.5625	1.23110723	0.61555361
6	1.625	1.4505746	0.7252873
7	1.375	1.01036297	0.50518149
8	1.875	0.25	0.125
9 (testigo)	1.8125	0.31457643	0.15728822

<sup>1)</sup>Programa 1: *Trichoderma-Trichoderma-Bacillus-Bacillus-Bacillus.*, <sup>2)</sup> Programa 2: *Bacillus-Bacillus-Bacillus-Trichoderma-Trichoderma.*, <sup>3)</sup> Programa 3: *Bacillus-Bacillus-milstop-milstop-milstop.*, <sup>4)</sup> Programa 4: *Trichoderma-Trichoderma-Trichoderma-milstop-milstop.*, <sup>5)</sup> Programa 5: *Bacillus-Bacillus-Tecto60-Tecto60-Tecto60.*, <sup>6)</sup>Programa 6: *Trichoderma-Trichoderma-Tecto60-Tecto60-Tecto60.*, <sup>7)</sup> Programa 7: *Bacillus-Bacillus-Bacillus-Bacillus-Bacillus.*, <sup>8)</sup> Programa 8: *Trichoderma-Trichoderma-Trichoderma-Trichoderma-Trichoderma.*, <sup>9)</sup> Programa 9: agua-agua-agua-agua-agua



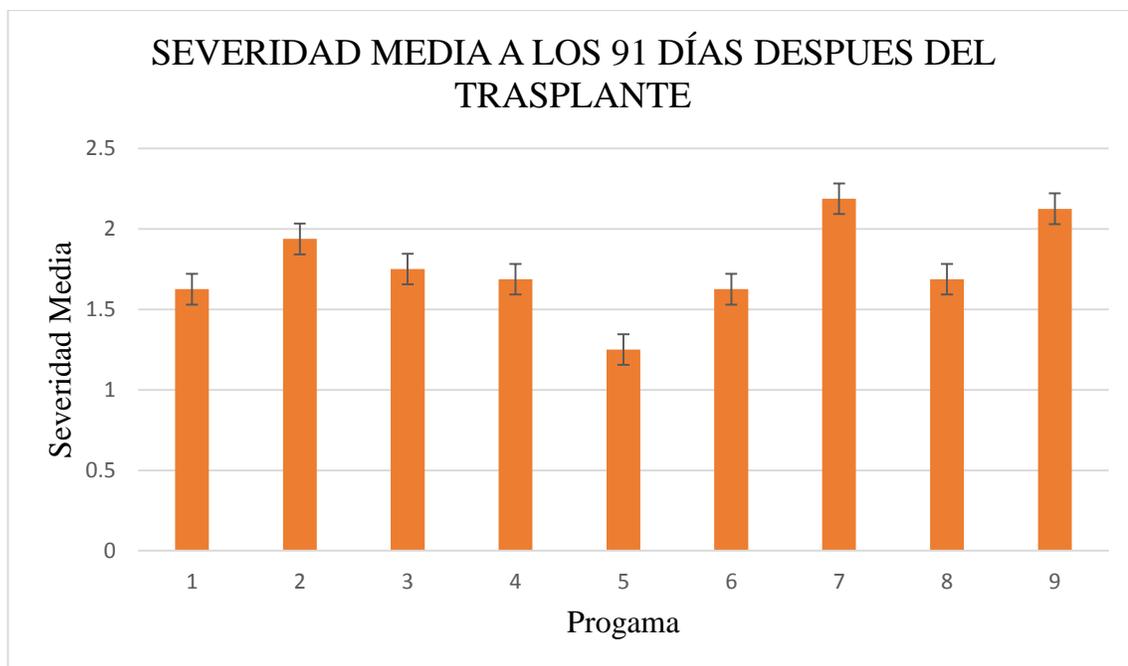
**Figura 4. Severidad media ponderada ocasionada por *Plasmopara* en el cultivo de cempasúchil a los 81 días después del trasplante.**

A los 91 días después del trasplante el análisis no mostró diferencias significativas ( $P > F = 0.9617$ ) entre los programas evaluados, como se muestra a continuación en el Cuadro 6; en la Figura 5 se puede visualizar el comportamiento de los programas evaluados.

**Cuadro 6. Resultados del análisis no paramétrico de Kruskal-Wallis para la variable severidad media ponderada ocasionada por *Plasmopara* en el cultivo de cempasúchil a los 91 días después del trasplante.**

Programa	Media	Des. estándar	Error estándar
1	1.625	1.29903811	0.64951905
2	1.9375	0.5153882	0.2576941
3	1.75	1.92570333	0.96285167
4	1.6875	1.14336856	0.57168428
5	1.25	0.88975652	0.44487826
6	1.625	1.10867789	0.55433895
7	2.1875	0.23935678	0.11967839
8	1.6875	0.59072695	0.29536348
9 (testigo)	2.125	0.77728159	0.38864079

<sup>1)</sup>Programa 1: *Trichoderma-Trichoderma-Bacillus-Bacillus-Bacillus.*, <sup>2)</sup> Programa 2: *Bacillus-Bacillus-Bacillus-Trichoderma-Trichoderma.*, <sup>3)</sup> Programa 3: *Bacillus-Bacillus-milstop-milstop-milstop.*, <sup>4)</sup> Programa 4: *Trichoderma-Trichoderma-Trichoderma-milstop-milstop.*, <sup>5)</sup> Programa 5: *Bacillus-Bacillus-Tecto60-Tecto60-Tecto60.*, <sup>6)</sup>Programa 6: *Trichoderma-Trichoderma-Tecto60-Tecto60-Tecto60.*, <sup>7)</sup> Programa 7: *Bacillus-Bacillus-Bacillus-Bacillus-Bacillus.*, <sup>8)</sup> Programa 8: *Trichoderma-Trichoderma-Trichoderma-Trichoderma-Trichoderma.*, <sup>9)</sup> Programa 9: agua-agua-agua-agua-agua

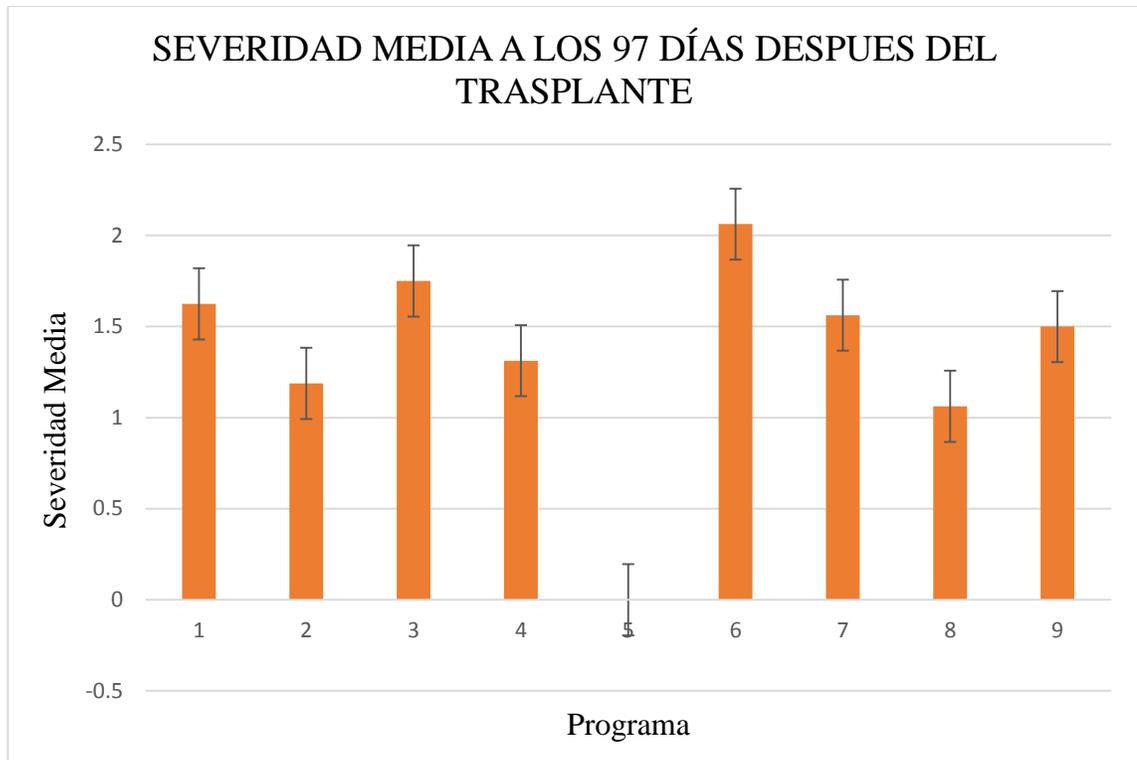


**Figura 5. Severidad media ponderada ocasionada por *Plasmopara* en el cultivo de cempasúchil a los 91 días después del trasplante.**

**Cuadro 7. Resultados del análisis no paramétrico de Kruskal-Wallis para la variable severidad media ponderada ocasionada por *Plasmopara* en el cultivo de cempasúchil a los 97 días después del trasplante.**

Programa	Media	Des. estándar	Error estándar
1	1.625	0.59511904	0.29755952
2	1.1875	0.82600948	0.41300474
3	1.75	0.70710678	0.35355339
4	1.3125	0.96555252	0.48277626
5	0	0	0
6	2.0625	0.71807033	0.35903517
7	1.5625	1.14336856	0.57168428
8	1.0625	0.7465197	0.37325985
9 (testigo)	1.5	0.5	0.25

<sup>1)</sup>Programa 1: *Trichoderma-Trichoderma-Bacillus-Bacillus-Bacillus.*, <sup>2)</sup> Programa 2: *Bacillus-Bacillus-Bacillus-Trichoderma-Trichoderma.*, <sup>3)</sup> Programa 3: *Bacillus-Bacillus-milstop-milstop-milstop.*, <sup>4)</sup> Programa 4: *Trichoderma-Trichoderma-Trichoderma-milstop-milstop.*, <sup>5)</sup> Programa 5: *Bacillus-Bacillus-Tecto60-Tecto60-Tecto60.*, <sup>6)</sup>Programa 6: *Trichoderma-Trichoderma-Tecto60-Tecto60-Tecto60.*, <sup>7)</sup> Programa 7: *Bacillus-Bacillus-Bacillus-Bacillus-Bacillus.*, <sup>8)</sup> Programa 8: *Trichoderma-Trichoderma-Trichoderma-Trichoderma-Trichoderma.*, <sup>9)</sup> Programa 9: agua-agua-agua-agua-agua



**Figura 6. Severidad media ponderada ocasionada por *Plasmopara* en el cultivo de campesúchil a los 97 días después del trasplante.**

De acuerdo al análisis realizado en el muestreo número tres a los 97 días después del trasplante (Cuadro 7) nuevamente no existieron diferencias significativas ( $P > F = 0.0409$ ), sin embargo se determinó que la rotación de *Bacillus subtilis*+Tecto 60 originó un control en la intensidad de la enfermedad al reducir la severidad en las plantas ocasionada por *Plasmopara* spp (programa cinco), esto lo podemos apreciar en la Figura 6.

Los resultados encontrados con *Bacillus subtilis* como inhibidor de la intensidad de la enfermedad concuerdan con lo indicado por Ñacato y Valencia (2016) quienes mencionan que las bacterias de tipo *Bacillus* son efectivas para inhibir el desarrollo de algunos hongos fitopatógenos y, en específico, *Bacillus subtilis* provee un control efectivo de enfermedades causadas por hongos y bacterias.

En este sentido, *Bacillus* spp. es conocida por su antagonismo sobre muchos hongos fitopatógenos, capaces de inhibir el crecimiento de hongos del suelo, tales como *Fusarium oxysporum*, *Fusarium* sp. *Lycopersici*, *Pythium ultimum*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii*, *Phytophthora nicotianae*, *Fusarium miniliforme* y *Fusarium solani* (Castillo, 2011). Además, se ha determinado que presenta un efecto inhibitorio en el crecimiento del micelio del hongo patógeno *Sclerotinia sclerotium* (Leiva-Santos, 2006).

Mejía *et al.* (2016) indican que cepas de *Bacillus* utilizadas para control de la marchitez en chile habanero como la cepa CBRF8 mostró mayor porcentaje de inhibición micelial en *Fusarium solani*, la cepa CBMT51 mostró mayor porcentaje de inhibición y halo de inhibición en *Fusarium equiseti* y la cepa CBMT2 tuvo actividad antifúngica contra ambos patógenos y presencia de halo de inhibición en *Fusarium equiseti*. Por otro lado, Reinoso *et al.*, (2007) mencionan que *Bacillus* se encuentra entre uno de los géneros más utilizados para el control biológico de *Rhizoctonia solani* y *Alternaria solani* en condiciones *in vitro*. En Chile se encontró, que la cepa QST713 de *Bacillus subtilis* fue efectiva en reducir significativamente la incidencia y severidad de la pudrición causada por *Botrytis cinerea* en racimos de uva cv. Sauvignon Blanc, cuando fue aplicada en floración (Lisboa-Minguzzi, 2003).

Específicamente, las esporas de la bacteria *Bacillus subtilis* actúa como biocontrolador de hongos tales como *Rhizoctonia*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Aspergillus* y otros patógenos nativos del suelo (Alvarado e Higuera, 2013). La acción biocontroladora de *Bacillus subtilis* esta mediada por la producción de metabolitos antibióticos capaces de actuar sobre microorganismos, que afectan directamente algunos fitopatógenos como *Fusarium oxysporum* (Layton *et al.*, 2011). También se ha encontrado un potencial de control

contra *Alternaria* spp. aislada de cultivo de brócoli en experimentos realizados *in vitro* (Ñacato y Valencia, 2016).

Castellanos *et al.* (2004) realizó investigaciones en donde menciona que *Bacillus subtilis* evidenció tener un alto potencial y espectro de acción *in vitro* como biocontrol de patógenos que afectan tanto a la parte del cultivo bajo tierra, en la parte aérea, como en semilleros: *Alternaria porri* (84-100%), *Pyrenochaeta terrestres* (81-94%), *Fusarium* sp. (85-88%), *Fusarium moniliforme* (71-78%), *Alternaria solani* (73-93%), *Stemphylium solani* (80-89%), *Dydimella lycopersici* (94-100%) y *Phytophthora infestans* (90-100%).

En investigaciones realizadas en cepas de *Bacillus subtilis*, de la colección de Cultivos del Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar en La Habana Cuba, fueron evaluadas por sus potencialidades en el control biológico, ensayos realizados *in vitro*, en los cuales encontraron que las cepas: *Bacillus subtilis* B/B  $\alpha$ 10(B/BL10) provoca la mayor disminución del micelio de *Fusarium solani* en un 67 % de inhibición, *Bacillus subtilis* B/23-45-6, B/23-44-7 y B/BL $\alpha$ 10 inhiben el crecimiento micelial de *Fusarium sporotrichois* en un 50 %, por último la cepa de *Bacillus subtilis* 23/45-6 inhibe el crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* en un 50 % (Villa *et al.*, 2007).

El género *Trichoderma* posee cualidades para el control de enfermedades en plantas causadas por patógenos fúngicos del suelo, principalmente de los géneros *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, *Sclerotium*, *Pythium*, *Fusarium*, *Botrytis* (Ezziyyani *et al.*, 2004)

*Sclerotinia* (Chiriboga *et al.*, 2015), *Alternaria* spp., *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* y *Fusarium roseum* (Infante *et al.*, 2009).

Michel *et al.* (2013) mencionaron que con dos años de evaluación consecutivos, comprobaron que *Trichoderma* spp., es un prometedor biocontrol para los agentes causales de la “escoba de bruja” del mango por *Fusarium oxysporum* y *Fusarium subglutinans*. La Investigación realizada en Colombia, con aislamientos autóctonos de *Trichoderma* sp. demostraron tener capacidad antagónica contra *Moniliophthora roreri* en cultivo de cacao, llevándose a cabo en condiciones de campo, mostrando menores porcentajes de severidad externa e interna, y en consecuencia la mayor disminución de daño en los frutos de cacao (Villamil *et al.*, 2015).

Una de las especie de *Trichoderma* más utilizadas e investigadas para el control bilógico es *Trichoderma harzianum*, que tuvo un claro efecto antagónico contra *Phytophthora capsici* en cultivos duales previamente *in vitro*, realizados en España (Ezziyyani *et al.*, 2004). También, pruebas *in vitro* del efecto antagónico de *Trichoderma harzianum*, elaborados por Rodríguez y Veneros (2011) demostraron que tiene la capacidad de reducir el crecimiento de los hongos fitopatógenos (*Rhizopus nigricans*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Alternaria alternata*, *Stemphylium lycopersici*, *Fusarium oxysporum*, *Lasiodiplodia thebromae*) en frutos postcosecha de “papaya”.

En Colombia se investigaron las cepas nativas TCN-014 y TCC-005 de *Trichoderma harzianum* las cuales presentaron un efecto biocontrolador sobre *Fusarium solani*, causante de la marchitez del maracuyá, disminuyendo significativamente los síntomas, el número de plántulas enfermas, plantas con pudrición en corona y plántulas muertas,

en condiciones de invernadero (Cubillos *et al.*, 2011). Tratamientos con el antagonista *Trichoderma harzianum* cepa A34 redujeron de forma significativa la incidencia y severidad de la marchitez por *Fusarium oxysporum* f. *sp.* cubense (Pérez *et al.*, 2009).

Por otro lado, Chávez *et al.* (2013) reportan que no se encontraron efectos estadísticamente significativo en relación a diferentes dosis de *Trichoderma* spp., aplicadas sobre la incidencia y severidad de *Plasmopara vitícola* en el cultivo de la vid variedad Datal.

De acuerdo con la información citada anteriormente, concuerda con los resultados encontrados en la presente investigación, en donde *Trichoderma harzianum* no fue capaz de reducir la severidad ocasionada por *Plasmopara* spp. La combinación de *Trichoderma harzianum*+Tecto 60 (programa seis) presentó los valores más altos de severidad de *Plasmopara* spp., seguido por el programa tres a base de *Bacillus subtilis*+milstop.

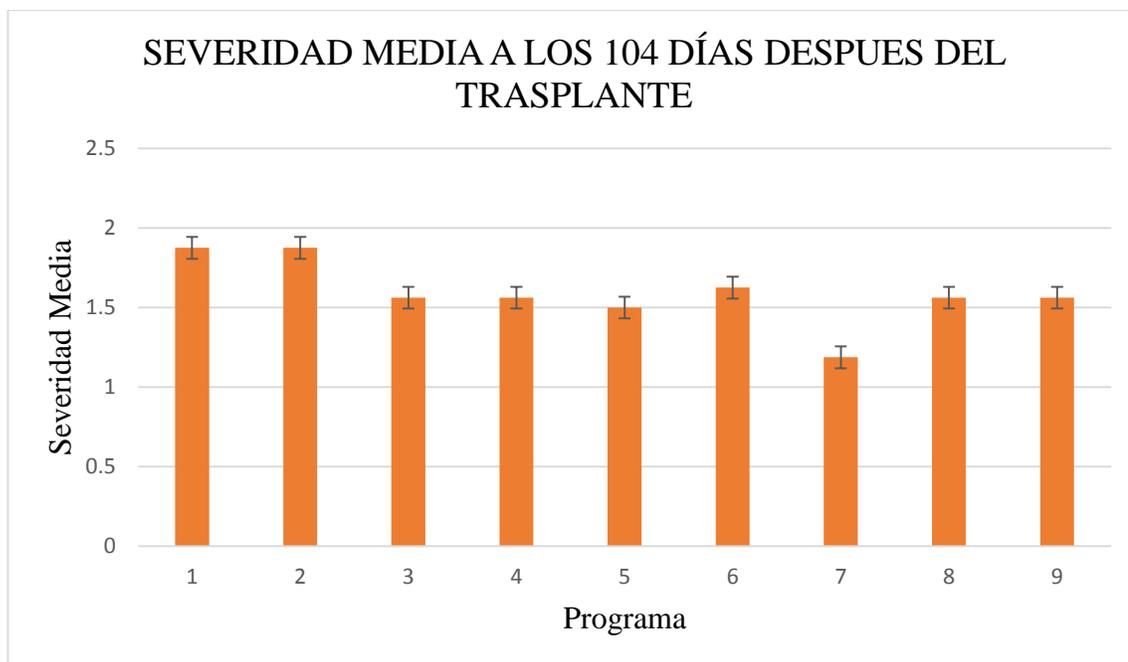
Sin embargo a pesar de los resultados encontrados, es pertinente proponer la continua utilización de este agente de control contra *Plasmopara* spp., de acuerdo a lo indicado por Guédez *et al.* (2012) quienes indican que el control biológico basado en hongos como *Trichoderma harzianum*, es una estrategia efectiva pero a largo plazo, ya que es necesario primero lograr la adaptación del microorganismo al ambiente y su establecimiento en el ecosistema.

A los 104 días después del trasplante el análisis no paramétrico de Kruskal-Wallis mostró que no existieron diferencias significativas estadísticamente entre los programas evaluados con un resultado de  $P > F = 0.8276$ , al igual que en el muestreo número cinco realizado a los 111 días después del trasplante con un resultado  $P > F = 0.9068$ , como se puede observar en los cuadros 8 y 9, para complementar lo que nos muestran los cuadros ya mencionados, en las figuras 7 y 8 podemos observar el comportamiento de los programas evaluados en el muestreo cuatro y cinco.

**Cuadro 8. Resultados del análisis no paramétrico de Kruskal-Wallis para la variable severidad media ponderada ocasionada por *Plasmopara* en el cultivo de cempasúchil a los 104 días después del trasplante.**

Programa	Media	Des. estándar	Error estándar
1	1.875	0.4330127	0.21650635
2	1.875	0.4330127	0.21650635
3	1.5625	1.14336856	0.57168428
4	1.5625	0.23935678	0.11967839
5	1.5	0.28867513	0.14433757
6	1.625	0.32274861	0.16137431
7	1.1875	0.80039053	0.40019526
8	1.5625	0.47324236	0.23662118
9 (testigo)	1.5625	0.31457643	0.15728822

<sup>1)</sup>Programa 1: *Trichoderma-Trichoderma-Bacillus-Bacillus-Bacillus.*, <sup>2)</sup> Programa 2: *Bacillus-Bacillus-Bacillus-Trichoderma-Trichoderma.*, <sup>3)</sup> Programa 3: *Bacillus-Bacillus-milstop-milstop-milstop.*, <sup>4)</sup> Programa 4: *Trichoderma-Trichoderma-Trichoderma-milstop-milstop.*, <sup>5)</sup> Programa 5: *Bacillus-Bacillus-Tecto60-Tecto60-Tecto60.*, <sup>6)</sup>Programa 6: *Trichoderma-Trichoderma-Tecto60-Tecto60-Tecto60.*, <sup>7)</sup> Programa 7: *Bacillus-Bacillus-Bacillus-Bacillus-Bacillus.*, <sup>8)</sup> Programa 8: *Trichoderma-Trichoderma-Trichoderma-Trichoderma-Trichoderma.*, <sup>9)</sup> Programa 9: agua-agua-agua-agua-agua



**Figura 7. Severidad media ponderada ocasionada por *Plasmopara* en el cultivo de cempasúchil a los 104 días después del trasplante.**

**Cuadro 9. Resultados del análisis no paramétrico de Kruskal-Wallis para la variable severidad media ponderada ocasionada por *Plasmopara* en el cultivo de cempasúchil a los 111 días después del trasplante.**

Programa	Media	Des. estándar	Error estándar
1	1.1875	0.82600948	0.41300474
2	1.25	0.93541435	0.46770717
3	1.5	1.2416387	0.62081935
4	1.375	0.25	0.125
5	0.9375	0.625	0.3125
6	1.625	0.47871355	0.23935678
7	1.4375	0.23935678	0.11967839
8	1.5625	0.23935678	0.11967839
9 (testigo)	1.375	0.25	0.125

<sup>1)</sup>Programa 1: *Trichoderma-Trichoderma-Bacillus-Bacillus-Bacillus.*, <sup>2)</sup> Programa 2: *Bacillus-Bacillus-Bacillus-Trichoderma-Trichoderma.*, <sup>3)</sup> Programa 3: *Bacillus-Bacillus-milstop-milstop-milstop.*, <sup>4)</sup> Programa 4: *Trichoderma-Trichoderma-Trichoderma-milstop-milstop.*, <sup>5)</sup> Programa 5: *Bacillus-Bacillus-Tecto60-Tecto60-Tecto60.*, <sup>6)</sup>Programa 6: *Trichoderma-Trichoderma-Tecto60-Tecto60-Tecto60.*, <sup>7)</sup> Programa 7: *Bacillus-Bacillus-Bacillus-Bacillus-Bacillus.*, <sup>8)</sup> Programa 8: *Trichoderma-Trichoderma-Trichoderma-Trichoderma-Trichoderma.*, <sup>9)</sup> Programa 9: agua-agua-agua-agua-agua



**Figura 8. Severidad media ponderada ocasionada por *Plasmopara* en el cultivo de cempasúchil a los 111 días después del trasplante.**

Al no existir diferencias significativas de los cinco muestreos realizados a los 81, 91, 97, 104 y 111 días después del trasplante, en el Cuadro 10 se indica la separación de medias de la severidad media ponderada ocasionada por *Plasmopara* de cada uno de los muestreos.

**Cuadro 10. Separación de medias para la variable severidad media ponderada ocasionada por *Plasmopara* en cada tratamiento.**

Programa	Días Después del Trasplante				
	81 DDT	91 DDT	97 DDT	104 DDT	111 DDT
P1	1.625a	1.625a	1.625a	1.875a	1.1875a
P2	1.5a	1.9375a	1.1875a	1.875a	1.25a
P3	1.375a	1.75a	1.75a	1.5625a	1.5a
P4	1.5a	1.6875a	1.3125a	1.5625a	1.375a
P5	1.5625a	1.25a	0a	1.5a	0.9375a
P6	1.625a	1.625a	2.0625a	1.625a	1.625a
P7	1.375a	2.1875a	1.5625a	1.1875a	1.4375a
P8	1.875a	1.6875a	1.0625a	1.5625a	1.5625a
P9 (testigo)	1.8125a	2.125a	1.5a	1.5625a	1.375a

<sup>1)</sup>Programa 1: *Trichoderma-Trichoderma-Bacillus-Bacillus-Bacillus.*, <sup>2)</sup> Programa 2: *Bacillus-Bacillus-Bacillus-Trichoderma-Trichoderma.*, <sup>3)</sup> Programa 3: *Bacillus-Bacillus-milstop-milstop-milstop.*, <sup>4)</sup> Programa 4: *Trichoderma-Trichoderma-Trichoderma-milstop-milstop.*, <sup>5)</sup> Programa 5: *Bacillus-Bacillus-Tecto60-Tecto60-Tecto60.*, <sup>6)</sup>Programa 6: *Trichoderma-Trichoderma-Tecto60-Tecto60-Tecto60.*, <sup>7)</sup> Programa 7: *Bacillus-Bacillus-Bacillus-Bacillus-Bacillus.*, <sup>8)</sup> Programa 8: *Trichoderma-Trichoderma-Trichoderma-Trichoderma-Trichoderma.*, <sup>9)</sup> Programa 9: agua-agua-agua-agua-agua

De acuerdo a lo observado en los resultados obtenidos de la separación de medias que se analizaron de los cinco muestreos realizados, se determinó que la combinación de *Bacillus subtilis*+Tecto 60 (programa cinco) es el que logro reducir la severidad media

ponderada de la enfermedad ocasionada por *Plasmopara* spp., ya que es el programa que tiene los valores más bajos estadísticamente, desde el muestreo número dos hasta el final del experimento, lo cual indica que existió una diferencia cuantitativamente hablando en la reducción de la severidad ocasionada por dicho patógeno.

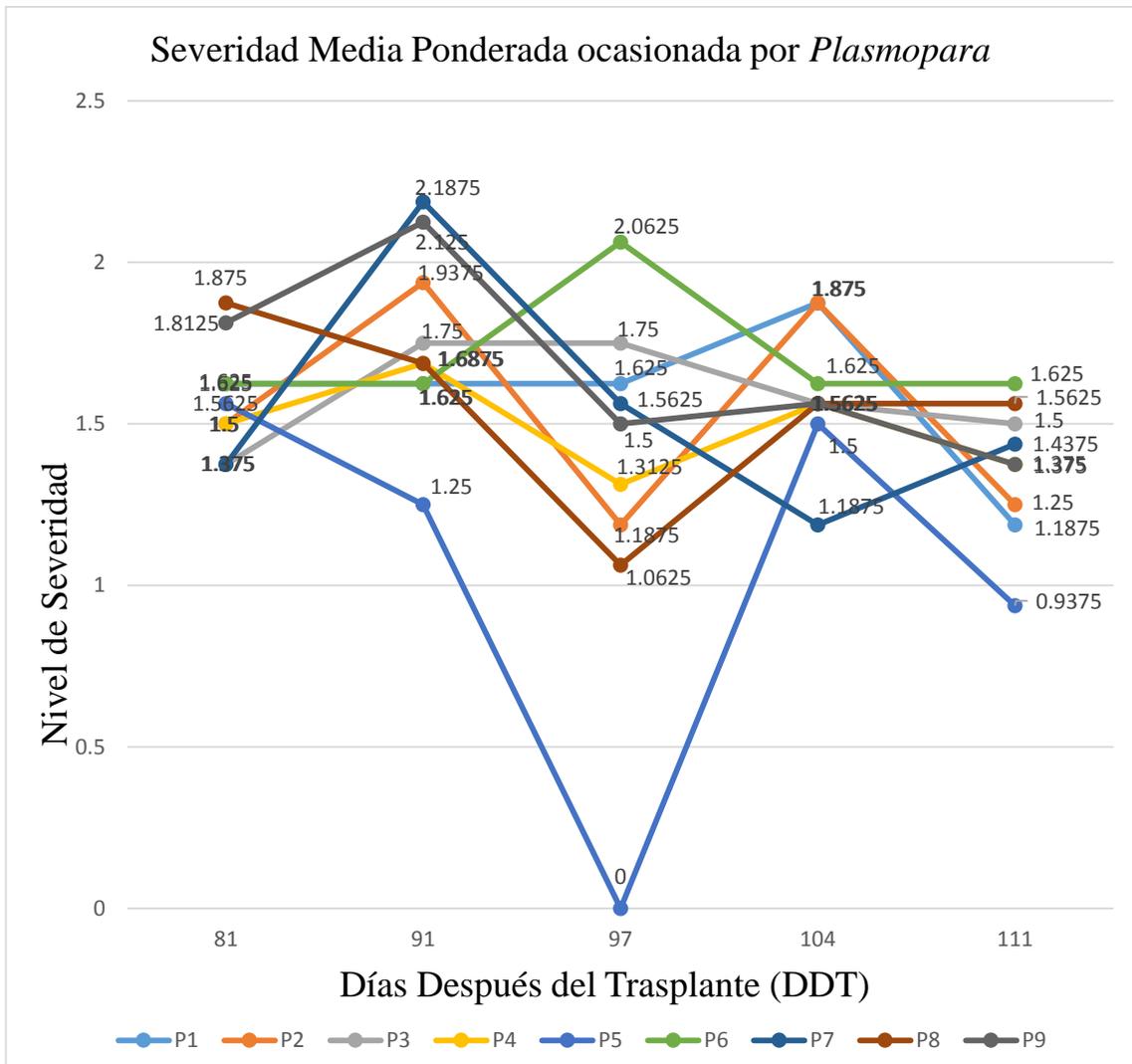
Por el contrario se tiene el caso de la combinación de *Trichoderma harzianum*+Tecto 60 (programa seis), que durante el tratamiento fue el que mantuvo los más valores altos constantemente, cabe mencionar que en el último muestreo fue el que obtuvo el valor más alto de severidad en comparación a los otros programas rebasando incluso al testigo, lo que permite suponer que Tecto 60 redujo la eficiencia de *Trichoderma harzianum*, sobre todo considerando que cuando solamente se aplicó *Trichoderma harzianum* la severidad fue menor.

Los combinaciones a base de *Trichoderma harzianum*+*Bacillus subtilis* (programa uno) y *Bacillus subtilis*+*Trichoderma harzianum* (programa dos) al final del tratamiento, fueron de los que presentaron menor severidad ocasionada por *Plasmopara* spp.

El programa ocho, que consistió únicamente en la aplicación de *Trichoderma harzianum*, mostró uno de los valores más altos de severidad al final de la evaluación, a pesar que durante el desarrollo del experimento mostró capacidad de ir reduciendo la severidad entre las diferentes fechas de muestreo.

Respecto al resto de los programas (tres, cuatro, siete y nueve), se encuentran en un rango estadísticamente similar en la severidad media ponderada, indicativo de no tener una variación drástica en la intensidad de la enfermedad.

En la Figura 9, se muestra el progreso de la enfermedad ocasionada por *Plasmopara* spp, y su desarrolló ante el efecto de los diferentes paquetes de control a través del tiempo.



**Figura 9. Progreso de la severidad media ponderada a través del tiempo en los diferentes programas de control contra *Plasmopara*.**

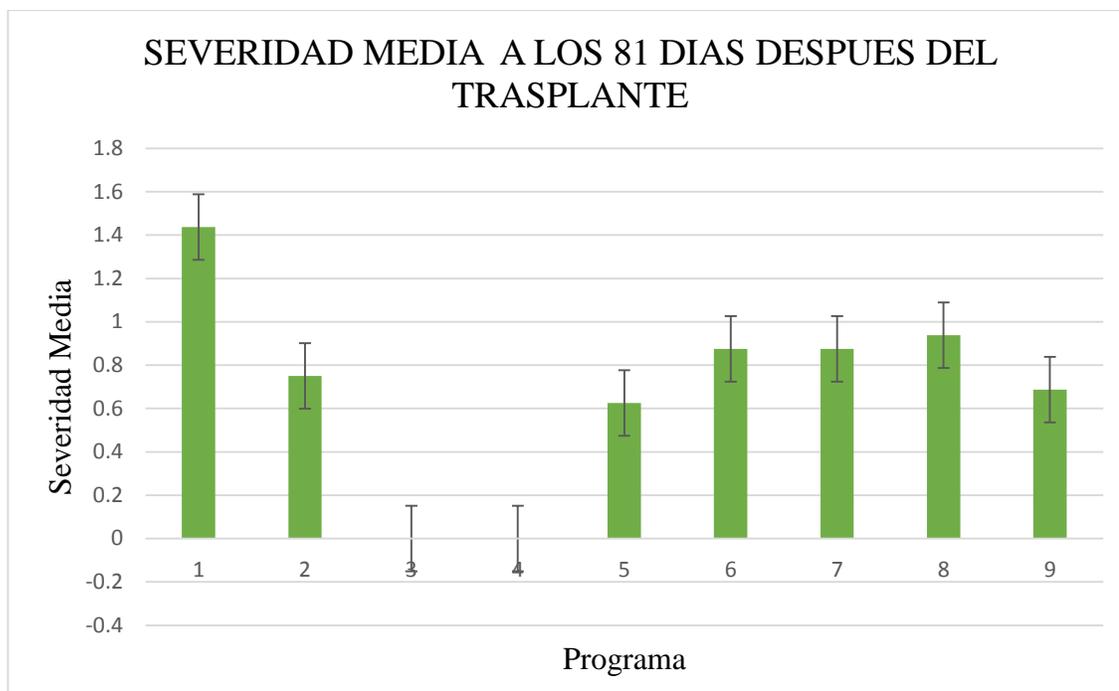
## 6.2 Severidad de la enfermedad ocasionada por *Septoria*

De acuerdo a los datos de los cinco muestreos, no se obtuvieron diferencias estadísticas significativas en la variable evaluada ocasionada por *Septoria*, en los cuadros 11, 12, 13, 14 y 15 se muestran los resultados del análisis no paramétrico de Kruskal-Wallis obtenidos en cada uno de los muestreos realizados a los 81 (P>F= 0.2344), 91 (P>F= 0.9682), 97 (P>F= 0.6654), 104 (P>F= 0.8356), 111 (P>F= 0.4627) días después del trasplante, para complementar los cuadros en las figuras 10,11,12,13 y 14 podemos observar el comportamiento que tuvieron los programas durante el desarrollo del experimento.

**Cuadro 11. Resultados del análisis no paramétrico de Kruskal-Wallis para la variable severidad media ponderada ocasionada por *Septoria* en el cultivo de cempasúchil a los 81 días después del trasplante.**

Programa	Media	Des. estándar	Error estándar
1	1.4375	0.125	0.0625
2	0.75	0.8660254	0.4330127
3	0	0	0
4	0	0	0
5	0.625	0.72168784	0.36084392
6	0.875	1.03077641	0.5153882
7	0.875	1.03077641	0.5153882
8	0.9375	1.08733236	0.54366618
9 (testigo)	0.6875	0.80039053	0.40019526

<sup>1)</sup>Programa 1: *Trichoderma-Trichoderma-Bacillus-Bacillus-Bacillus.*, <sup>2)</sup> Programa 2: *Bacillus-Bacillus-Bacillus-Trichoderma-Trichoderma.*, <sup>3)</sup> Programa 3: *Bacillus-Bacillus-milstop-milstop-milstop.*, <sup>4)</sup> Programa 4: *Trichoderma-Trichoderma-Trichoderma-milstop-milstop.*, <sup>5)</sup> Programa 5: *Bacillus-Bacillus-Tecto60-Tecto60-Tecto60.*, <sup>6)</sup>Programa 6: *Trichoderma-Trichoderma-Tect 60-Tecto60-Tecto60.*, <sup>7)</sup> Programa 7: *Bacillus-Bacillus-Bacillus-Bacillus-Bacillus.*, <sup>8)</sup> Programa 8: *Trichoderma-Trichoderma-Trichoderma-Trichoderma-Trichoderma.*, <sup>9)</sup> Programa 9: agua-agua-agua-agua-agua

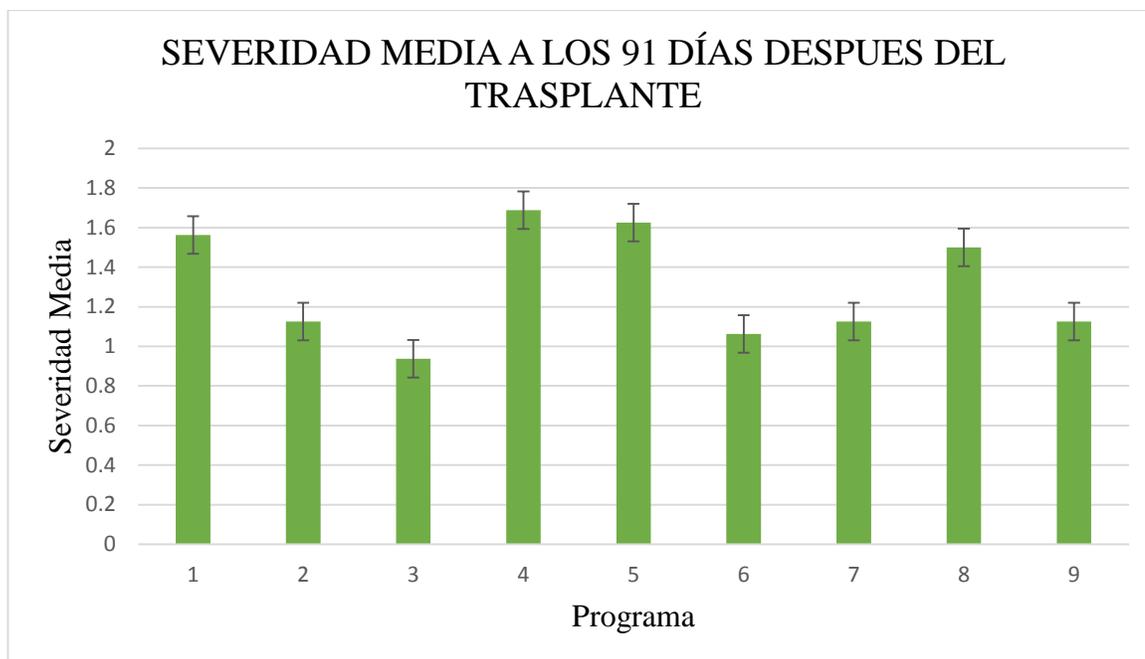


**Figura 10. Severidad media ponderada ocasionada por *Septoria* en el cultivo de cempasúchil a los 81 días después del trasplante.**

**Cuadro 12. Resultados del análisis no paramétrico de Kruskal-Wallis para la variable severidad media ponderada ocasionada por *Septoria* en el cultivo de cempasúchil a los 91 días después del trasplante.**

Programa	Media	Des. estándar	Error estándar
1	1.5625	1.06800047	0.53400023
2	1.125	0.8291562	0.4145781
3	0.9375	1.19678388	0.59839194
4	1.6875	0.5153882	0.2576941
5	1.625	1.36167789	0.68083894
6	1.0625	1.23110723	0.61555361
7	1.125	0.8291562	0.4145781
8	1.5	1.02062073	0.51031036
9 (testigo)	1.125	1.36167789	0.68083894

<sup>1)</sup>Programa 1: *Trichoderma-Trichoderma-Bacillus-Bacillus-Bacillus.*, <sup>2)</sup> Programa 2: *Bacillus-Bacillus-Bacillus-Trichoderma-Trichoderma.*, <sup>3)</sup> Programa 3: *Bacillus-Bacillus-milstop-milstop-milstop.*, <sup>4)</sup> Programa 4: *Trichoderma-Trichoderma-Trichoderma-milstop-milstop.*, <sup>5)</sup> Programa 5: *Bacillus-Bacillus-Tecto60-Tecto60-Tecto60.*, <sup>6)</sup>Programa 6: *Trichoderma-Trichoderma-Tecto60-Tecto60-Tecto60.*, <sup>7)</sup> Programa 7: *Bacillus-Bacillus-Bacillus-Bacillus-Bacillus.*, <sup>8)</sup> Programa 8: *Trichoderma-Trichoderma-Trichoderma-Trichoderma-Trichoderma.*, <sup>9)</sup> Programa 9: agua-agua-agua-agua-agua

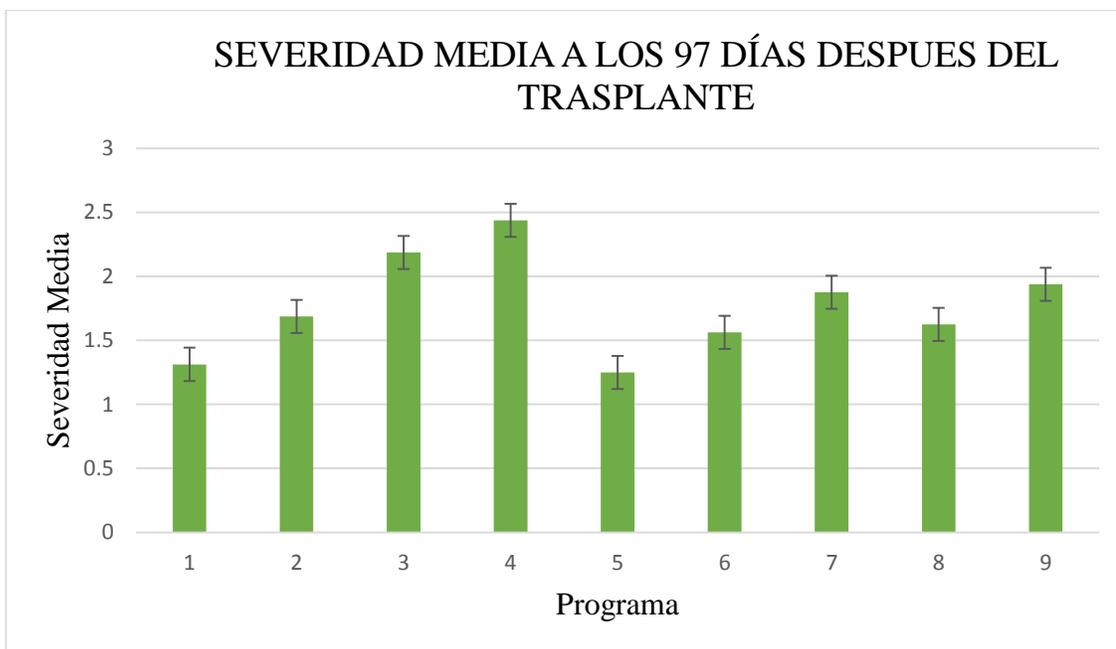


**Figura 11. Severidad media ponderada ocasionada por *Septoria* en el cultivo de cempasúchil a los 91 días después del trasplante.**

**Cuadro 13. Resultados del análisis no paramétrico de Kruskal-Wallis para la variable severidad media ponderada ocasionada por *Septoria* en el cultivo de cempasúchil a los 97 días después del trasplante.**

Programa	Media	Des. estándar	Error estándar
1	1.3125	0.9437293	0.47186465
2	1.6875	1.46308749	0.73154374
3	2.1875	0.42695628	0.21347814
4	2.4375	0.42695628	0.21347814
5	1.25	0.88975652	0.44487826
6	1.5625	0.375	0.1875
7	1.875	0.14433757	0.07216878
8	1.625	1.10867789	0.55433895
9 (testigo)	1.9375	1.375	0.6875

<sup>1)</sup>Programa 1: *Trichoderma-Trichoderma-Bacillus-Bacillus-Bacillus.*, <sup>2)</sup> Programa 2: *Bacillus-Bacillus-Bacillus-Trichoderma-Trichoderma.*, <sup>3)</sup> Programa 3: *Bacillus-Bacillus-milstop-milstop-milstop.*, <sup>4)</sup> Programa 4: *Trichoderma-Trichoderma-Trichoderma-milstop-milstop.*, <sup>5)</sup> Programa 5: *Bacillus-Bacillus-Tecto60-Tecto60-Tecto60.*, <sup>6)</sup>Programa 6: *Trichoderma-Trichoderma-Tecto60-Tecto60-Tecto60.*, <sup>7)</sup> Programa 7: *Bacillus-Bacillus-Bacillus-Bacillus-Bacillus.*, <sup>8)</sup> Programa 8: *Trichoderma-Trichoderma-Trichoderma-Trichoderma-Trichoderma.*, <sup>9)</sup> Programa 9: agua-agua-agua-agua-agua

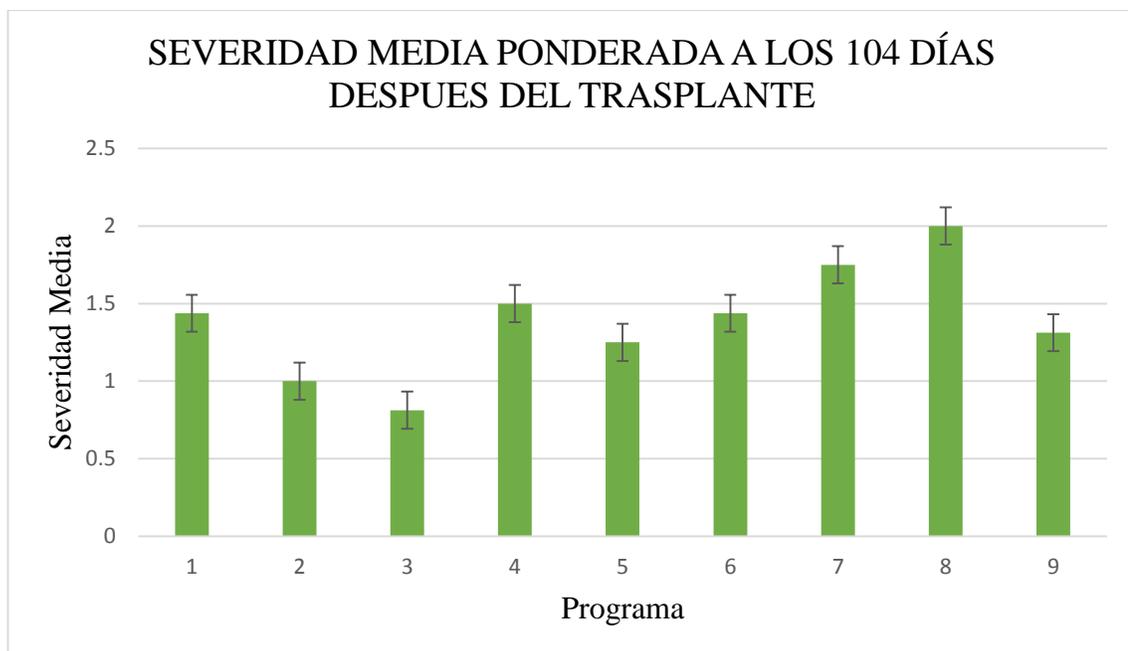


**Figura 12.** Severidad media ponderada ocasionada por *Septoria* en el cultivo de cempasúchil a los 97 días después del trasplante.

**Cuadro 14.** Resultados del análisis no paramétrico de Kruskal-Wallis para la variable severidad media ponderada ocasionada por *Septoria* en el cultivo de cempasúchil a los 104 días después del trasplante.

Programa	Media	Des. estándar	Error estándar
1	1.4375	1.04831214	0.52415607
2	1	1.22474487	0.61237244
3	0.8125	0.98689327	0.49344664
4	1.5	1.22474487	0.61237244
5	1.25	0.88975652	0.44487826
6	1.4375	1.34435548	0.67217774
7	1.75	0.35355339	0.1767767
8	2	0.64549722	0.32274861
9 (testigo)	1.3125	0.89849411	0.44924706

<sup>1)</sup>Programa 1: *Trichoderma-Trichoderma-Bacillus-Bacillus-Bacillus.*, <sup>2)</sup> Programa 2: *Bacillus-Bacillus-Bacillus-Trichoderma-Trichoderma.*, <sup>3)</sup> Programa 3: *Bacillus-Bacillus-milstop-milstop-milstop.*, <sup>4)</sup> Programa 4: *Trichoderma-Trichoderma-Trichoderma-milstop-milstop.*, <sup>5)</sup> Programa 5: *Bacillus-Bacillus-Tecto60-Tecto60-Tecto60.*, <sup>6)</sup>Programa 6: *Trichoderma-Trichoderma-Tecto60-Tecto60-Tecto60.*, <sup>7)</sup> Programa 7: *Bacillus-Bacillus-Bacillus-Bacillus-Bacillus.*, <sup>8)</sup> Programa 8: *Trichoderma-Trichoderma-Trichoderma-Trichoderma-Trichoderma.*, <sup>9)</sup> Programa 9: agua-agua-agua-agua-agua

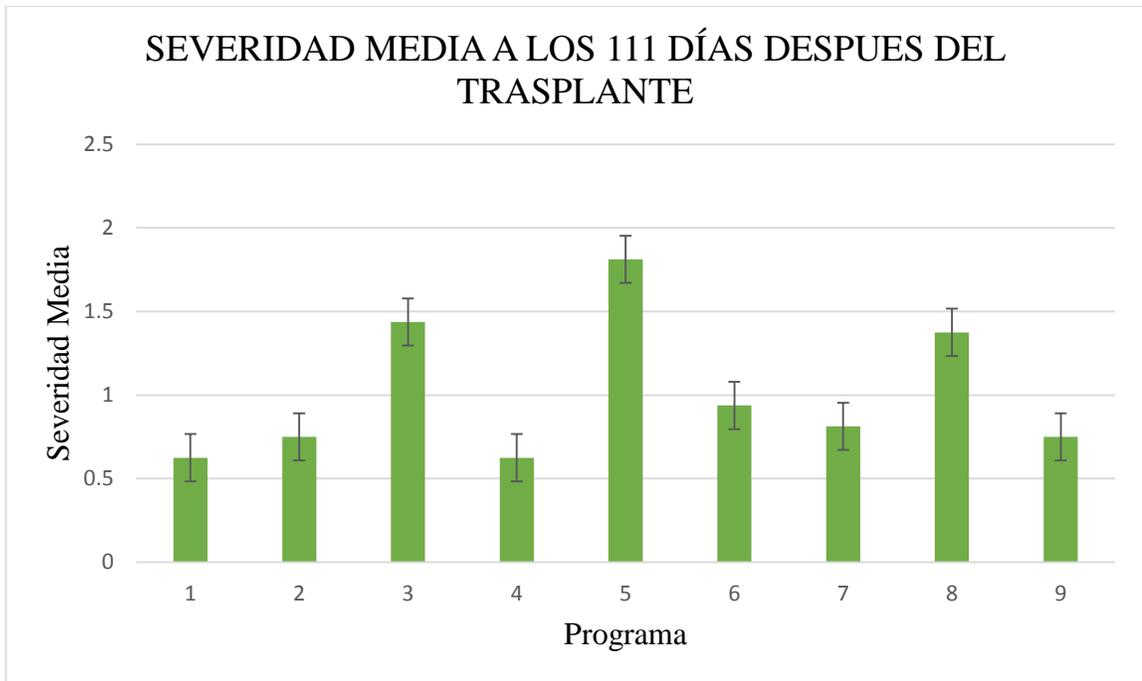


**Figura 13. Severidad media ponderada ocasionada por *Septoria* en el cultivo de cempasúchil a los 104 días después del trasplante.**

**Cuadro 15. Resultados del análisis no paramétrico de Kruskal-Wallis para la variable severidad media ponderada ocasionada por *Septoria* en el cultivo de cempasúchil a los 111 días después del trasplante.**

Programa	Media	Des. estándar	Error estándar
1	0.625	0.72168784	0.36084392
2	0.75	0.88975652	0.44487826
3	1.4375	1.14336856	0.57168428
4	0.625	0.72168784	0.36084392
5	1.8125	0.42695628	0.21347814
6	0.9375	0.625	0.3125
7	0.8125	0.9437293	0.47186465
8	1.375	1.05079335	0.52539668
9 (testigo)	0.75	0.88975652	0.44487826

<sup>1)</sup>Programa 1: *Trichoderma-Trichoderma-Bacillus-Bacillus-Bacillus.*, <sup>2)</sup> Programa 2: *Bacillus-Bacillus-Bacillus-Trichoderma-Trichoderma.*, <sup>3)</sup> Programa 3: *Bacillus-Bacillus-milstop-milstop-milstop.*, <sup>4)</sup> Programa 4: *Trichoderma-Trichoderma-Trichoderma-milstop-milstop.*, <sup>5)</sup> Programa 5: *Bacillus-Bacillus-Tecto60-Tecto60-Tecto60.*, <sup>6)</sup>Programa 6: *Trichoderma-Trichoderma-Tecto60-Tecto60-Tecto60.*, <sup>7)</sup> Programa 7: *Bacillus-Bacillus-Bacillus-Bacillus-Bacillus.*, <sup>8)</sup> Programa 8: *Trichoderma-Trichoderma-Trichoderma-Trichoderma-Trichoderma.*, <sup>9)</sup> Programa 9: agua-agua-agua-agua-agua



**Figura 14.** Severidad media ponderada ocasionada por *Septoria* en el cultivo de cempasúchil a los 111 días después del trasplante.

En el Cuadro 16, se reportan los datos obtenidos de la separación de medias de los cinco muestreos, de la variable severidad media ponderada ocasionada por *Septoria*.

**Cuadro 16. Separación de medias para la variable severidad media ponderada ocasionada por *Septoria* en cada tratamiento, con la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis.**

Días Después del Trasplante					
Programa	81 DDT	91 DDT	97 DDT	104 DDT	111 DDT
T1	1.4375a	1.5625a	1.3125a	1.4375a	1.8125a
T2	0.75a	1.125a	1.6875a	1a	0.75a
T3	0a	0.9375a	2.1875a	0.8125a	1.4375a
T4	0a	1.6875a	2.4375a	1.5a	0.625a
T5	0.625a	1.625a	1.25a	1.25a	1.8125a
T6	0.875a	1.0625a	1.5625a	1.4375a	0.9375a
T7	0.875a	1.125a	1.875a	1.75a	0.8125a
T8	0.9375a	1.5a	1.625a	2a	1.375a
T9	0.6875a	1.125a	1.9375a	1.3125a	0.75a

DDT: Días Después del Trasplante.

<sup>1)</sup>Programa 1: *Trichoderma-Trichoderma-Bacillus-Bacillus-Bacillus.*, <sup>2)</sup> Programa 2: *Bacillus-Bacillus-Bacillus-Trichoderma-Trichoderma.*, <sup>3)</sup> Programa 3: *Bacillus-Bacillus-milstop-milstop-milstop.*, <sup>4)</sup> Programa 4: *Trichoderma-Trichoderma-Trichoderma-milstop-milstop.*, <sup>5)</sup> Programa 5: *Bacillus-Bacillus-Tecto60-Tecto60-Tecto60.*, <sup>6)</sup>Programa 6: *Trichoderma-Trichoderma-Tecto60-Tecto60-Tecto60.*, <sup>7)</sup> Programa 7: *Bacillus-Bacillus-Bacillus-Bacillus-Bacillus.*, <sup>8)</sup> Programa 8: *Trichoderma-Trichoderma-Trichoderma-Trichoderma-Trichoderma.*, <sup>9)</sup> Programa 9: agua-agua-agua-agua-agua

En los datos que se muestran en el Cuadro 16, se observó que el tratamiento realizado con *Trichoderma harzianum*+milstop (programa cuatro), evidentemente detuvo la severidad ocasionada por *Septoria*, sobre todo al final del tratamiento, donde mostró el valor más bajo de severidad, sin embargo es prudente mencionar que la aplicación únicamente de *Trichoderma harzianum* no hubo una reducción de severidad, sino hasta que se realizó la aplicación de milstop. Lo anterior puede explicarse a que el bicarbonato de potasio (milstop) es recomendado para el control de hongos foliares (PHC, 2016).

En el caso de *Bacillus subtilis*+milstop (tratamiento tres), fue el segundo programa con mayor severidad al final del tratamiento, al inicio del tratamiento, a base de *Bacillus subtilis* no se redujo la severidad, sino hasta la aplicación milstop que se pudo observar una reducción de la severidad ocasionada por *Septoria*.

De acuerdo a lo anterior, podemos decir que tanto la aplicación con *Trichoderma harzianum* y *Bacillus subtilis* al inicio de los tratamientos (programa tres y programa cuatro), no mostraron efecto en reducir la severidad por *Septoria*, sino hasta que se complementó con el producto milstop. Esto lo podemos sustentar con los resultados obtenidos de los tratamientos únicamente programados a base de *Bacillus subtilis* (programa siete) y *Trichoderma harzianum* (programa ocho), los cuales permitieron que *Septoria* siguiera ocasionando severidad en la planta. Es importante mencionar que a pesar de los resultados obtenidos en el presente trabajo, hay investigaciones que hablan del efecto de inhibición de *Trichoderma* ante *Septoria*. Perelló *et al.* (2009) evaluaron aislamientos de *Trichoderma* contra la mancha foliar en trigo ocasionada por *Septoria tritici* y mencionan que *Trichoderma* puede ser un prometedor control biológico contra *Septoria tritici* en campo, reduciendo la incidencia y severidad en las primeras etapas del cultivo.

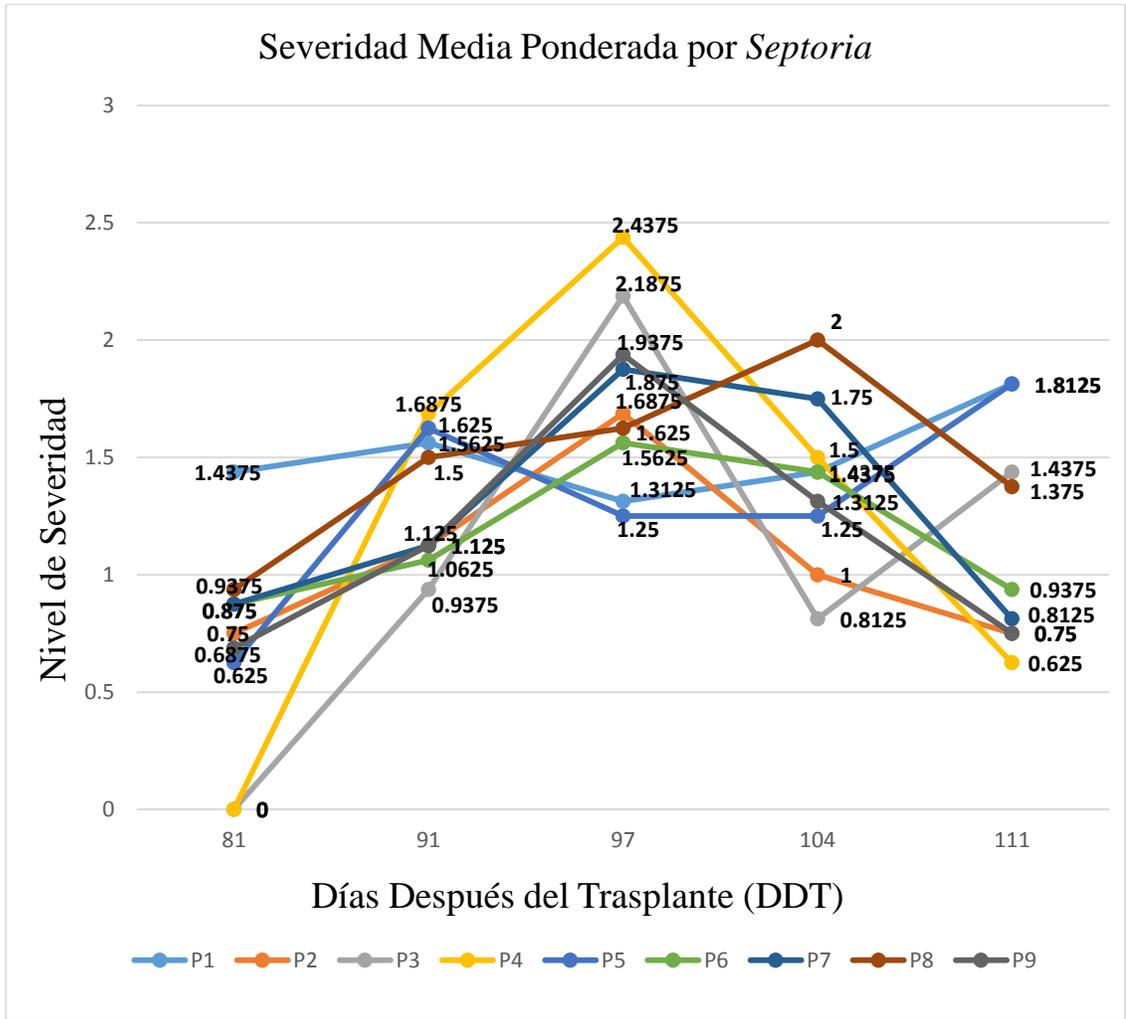
Por otro lado tenemos los tratamientos de *Trichoderma harzianum*+*Bacillus subtilis* (programa uno) y *Bacillus subtilis*+Tecto 60 (programa cinco), en el último muestreo presentaron mayor grado de severidad de los nueve programas realizados. El programa *Bacillus subtilis*+*Trichoderma harzianum* (programa dos) al final del experimento presento una de las severidades más bajas, sin embargo cabe mencionar que la severidad se mantuvo en un rango estadísticamente similar durante todo el tratamiento. Al

respecto, Alvarado e Higuera (2013) mencionan que en un experimento realizado en condiciones de campo en Argentina, no se encontraron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos evaluados, pero consideran que el tratamiento *Trichoderma harzianum*+*Bacillus subtilis* fue el que presentó mayor cantidad de plantas sanas de cebolla paiteña (*Allium cepa*) libres de *Sclerotium cepivorum*.

En tratamiento a base de *Trichoderma harzianum*+Tecto 60 (programa seis), se observó que al aplicar *Trichoderma harzianum* siguió mostrando severidad ocasionada por *Septoria*, pero fue hasta la tercera fecha que hubo una reducción de la severidad.

En base a los resultados obtenidos, *Trichoderma harzianum* no tuvo una eficiencia significativa en el control de *Septoria*, ya que en todos los programas que fue utilizado, no redujo la severidad, o por lo menos en la mayoría mantuvo la severidad en rangos estadísticamente casi iguales, lo cual podemos decir que tuvo un comportamiento inestable durante el tiempo del experimento. En el caso de *Bacillus subtilis*, logró reducir la severidad en algunos tratamientos.

La Figura 15, muestra el desarrollo de la severidad media ponderada ocasionada por *Septoria* durante el desarrollo del experimento, en donde se aprecia el comportamiento de cada uno de los programas a través del tiempo.



**Figura 15. Progreso de la severidad media ponderada a través del tiempo en los diferentes programas de control contra *Septoria*.**

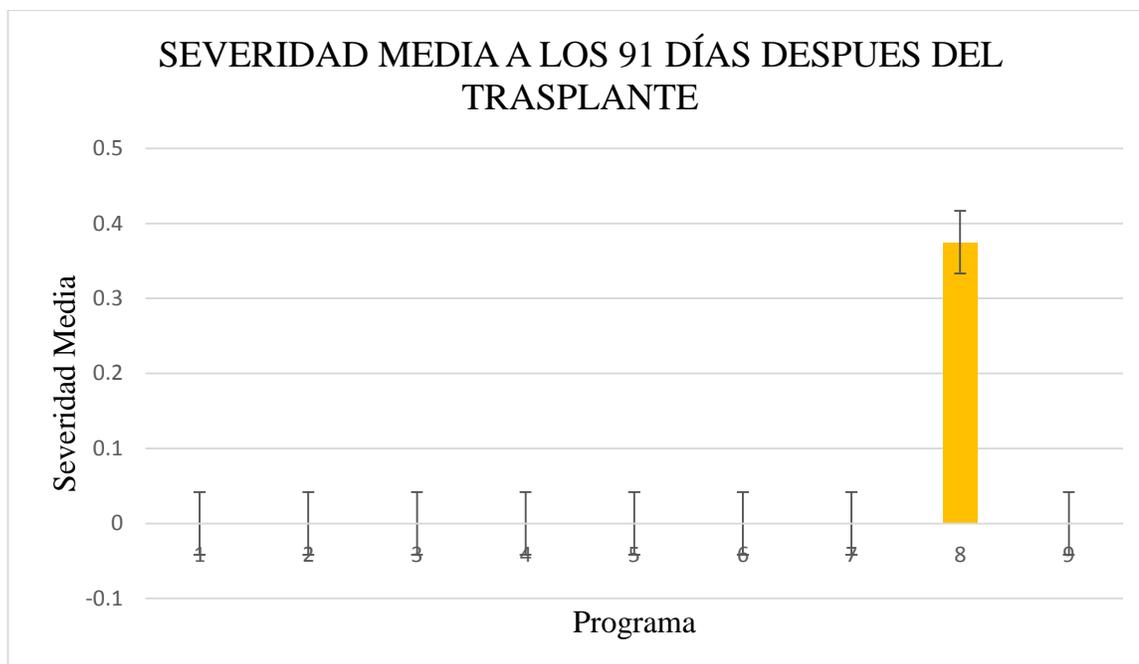
### 6.3 Severidad de la enfermedad ocasionada por *Alternaria*

En comparación a los patógenos discutidos anteriormente (*Plasmopara* y *Septoria*), *Alternaria* se presentó hasta los 91 días después del trasplante (Figura 16), causando manchas foliares y severidad en las hojas, a pesar de lo mencionado, en los cuadros 17, 18, 19 y 20 se observa que en los cuatro muestreos realizados, no hubo diferencias significativas en términos estadísticos, obteniendo como resultados a los 91 días después del trasplante ( $P>F= 0.4586$ ), 97 días después del trasplante ( $P>F= 0.0947$ ), 104 días después del trasplante ( $P>F= 0.8427$ ) y 111 días después del trasplante ( $P>F= 0.4833$ ).

**Cuadro 17. Resultados del análisis no paramétrico de Kruskal-Wallis para la variable severidad media ponderada ocasionada por *Alternaria* en el cultivo de cempasúchil a los 91 días después del trasplante.**

Programa	Media	Des. estándar	Error estándar
1	0	0	0
2	0	0	0
3	0	0	0
4	0	0	0
5	0	0	0
6	0	0	0
7	0	0	0
8	0.375	0.75	0.375
9 (testigo)	0	0	0

<sup>1)</sup>Programa 1: *Trichoderma-Trichoderma-Bacillus-Bacillus-Bacillus.*, <sup>2)</sup> Programa 2: *Bacillus-Bacillus-Bacillus-Trichoderma-Trichoderma.*, <sup>3)</sup> Programa 3: *Bacillus-Bacillus-milstop-milstop-milstop.*, <sup>4)</sup> Programa 4: *Trichoderma-Trichoderma-Trichoderma-milstop-milstop.*, <sup>5)</sup> Programa 5: *Bacillus-Bacillus-Tecto60-Tecto60-Tecto60.*, <sup>6)</sup>Programa 6: *Trichoderma-Trichoderma-Tecto60-Tecto60-Tecto60.*, <sup>7)</sup> Programa 7: *Bacillus-Bacillus-Bacillus-Bacillus-Bacillus.*, <sup>8)</sup> Programa 8: *Trichoderma-Trichoderma-Trichoderma-Trichoderma-Trichoderma.*, <sup>9)</sup> Programa 9: agua-agua-agua-agua-agua

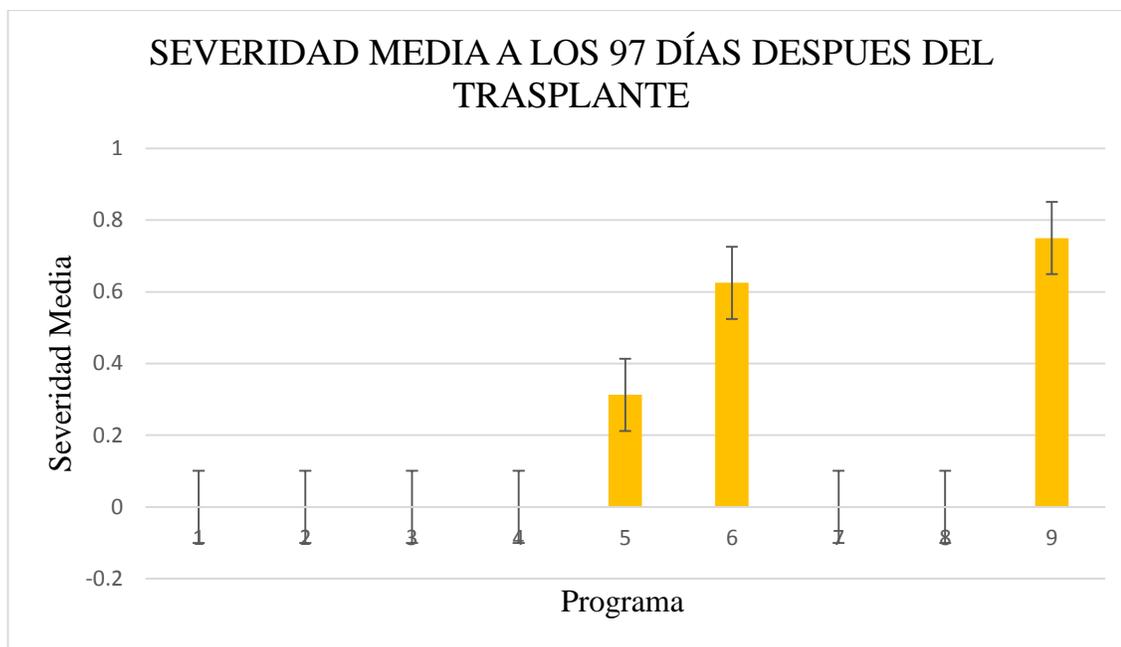


**Figura 16. Severidad media ponderada ocasionada por *Alternaria* en el cultivo de cempasúchil a los 91 días después del trasplante.**

**Cuadro 18. Resultados del análisis no paramétrico de Kruskal-Wallis para la variable severidad media ponderada ocasionada por *Alternaria* en el cultivo de cempasúchil a los 97 días después del trasplante.**

Programa	Media	Des. estándar	Error estándar
1	0	0	0
2	0	0	0
3	0	0	0
4	0	0	0
5	0.3125	0.625	0.3125
6	0.625	0.72168784	0.36084392
7	0	0	0
8	0	0	0
9 (testigo)	0.75	0.88975652	0.44487826

<sup>1)</sup>Programa 1: *Trichoderma-Trichoderma-Bacillus-Bacillus-Bacillus.*, <sup>2)</sup> Programa 2: *Bacillus-Bacillus-Bacillus-Trichoderma-Trichoderma.*, <sup>3)</sup> Programa 3: *Bacillus-Bacillus-milstop-milstop-milstop.*, <sup>4)</sup> Programa 4: *Trichoderma-Trichoderma-Trichoderma-milstop-milstop.*, <sup>5)</sup> Programa 5: *Bacillus-Bacillus-Tecto60-Tecto60-Tecto60.*, <sup>6)</sup>Programa 6: *Trichoderma-Trichoderma-Tecto60-Tecto60-Tecto60.*, <sup>7)</sup> Programa 7: *Bacillus-Bacillus-Bacillus-Bacillus-Bacillus.*, <sup>8)</sup> Programa 8: *Trichoderma-Trichoderma-Trichoderma-Trichoderma-Trichoderma.*, <sup>9)</sup> Programa 9: agua-agua-agua-agua-agua

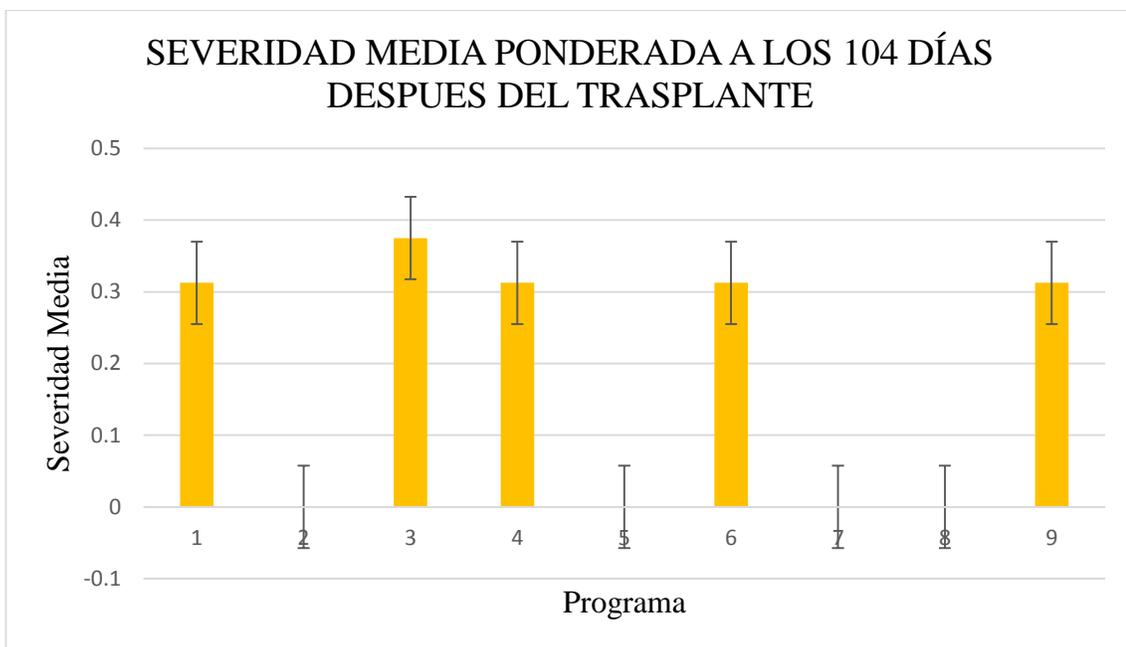


**Figura 17. Severidad media ponderada ocasionada por *Alternaria* en el cultivo de cempasúchil a los 97 días después del trasplante.**

**Cuadro 19. Resultados del análisis no paramétrico de Kruskal-Wallis para la variable severidad media ponderada ocasionada por *Alternaria* en el cultivo de cempasúchil a los 104 días después del trasplante.**

Programa	Media	Des. estándar	Error estándar
1	0.3125	0.625	0.3125
2	0	0	0
3	0.375	0.75	0.375
4	0.3125	0.625	0.3125
5	0	0	0
6	0.3125	0.625	0.3125
7	0	0	0
8	0	0	0
9 (testigo)	0.3125	0.625	0.3125

<sup>1)</sup>Programa 1: *Trichoderma-Trichoderma-Bacillus-Bacillus-Bacillus.*, <sup>2)</sup> Programa 2: *Bacillus-Bacillus-Bacillus-Trichoderma-Trichoderma.*, <sup>3)</sup> Programa 3: *Bacillus-Bacillus-milstop-milstop-milstop.*, <sup>4)</sup> Programa 4: *Trichoderma-Trichoderma-Trichoderma-milstop-milstop.*, <sup>5)</sup> Programa 5: *Bacillus-Bacillus-Tecto60-Tecto60-Tecto60.*, <sup>6)</sup>Programa 6: *Trichoderma-Trichoderma-Tecto60-Tecto60-Tecto60.*, <sup>7)</sup> Programa 7: *Bacillus-Bacillus-Bacillus-Bacillus-Bacillus.*, <sup>8)</sup> Programa 8: *Trichoderma-Trichoderma-Trichoderma-Trichoderma-Trichoderma.*, <sup>9)</sup> Programa 9: agua-agua-agua-agua-agua

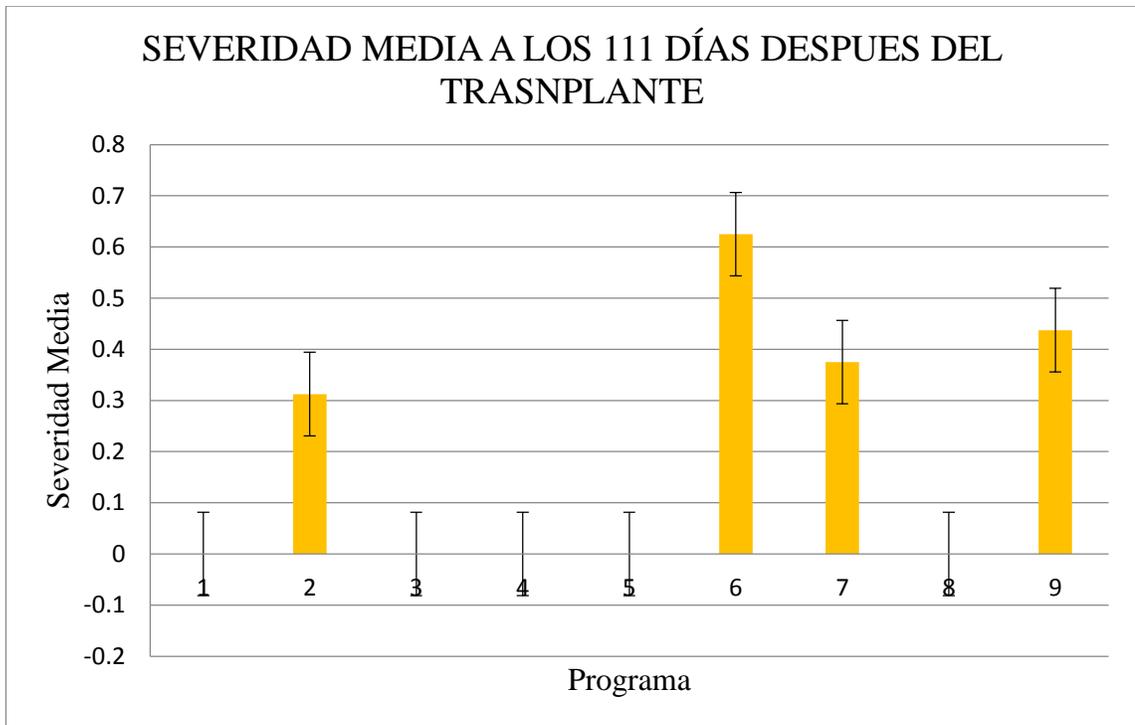


**Figura 18. Severidad media ponderada ocasionada por *Alternaria* en el cultivo de cempasúchil a los 104 días después del trasplante.**

**Cuadro 20. Resultados del análisis no paramétrico de Kruskal-Wallis para la variable severidad media ponderada ocasionada por *Alternaria* en el cultivo de cempasúchil a los 111 días después del trasplante.**

Programa	Media	Des. estándar	Error estándar
1	0	0	0
2	0.3125	0.625	0.3125
3	0	0	0
4	0	0	0
5	0	0	0
6	0.625	0.72168784	0.36084392
7	0.375	0.75	0.375
8	0	0	0
9 (testigo)	0.4375	0.875	0.4375

<sup>1)</sup>Programa 1: *Trichoderma-Trichoderma-Bacillus-Bacillus-Bacillus.*, <sup>2)</sup> Programa 2: *Bacillus-Bacillus-Bacillus-Trichoderma-Trichoderma.*, <sup>3)</sup> Programa 3: *Bacillus-Bacillus-milstop-milstop-milstop.*, <sup>4)</sup> Programa 4: *Trichoderma-Trichoderma-Trichoderma-milstop-milstop.*, <sup>5)</sup> Programa 5: *Bacillus-Bacillus-Tecto60-Tecto60-Tecto60.*, <sup>6)</sup>Programa 6: *Trichoderma-Trichoderma-Tecto60-Tecto60-Tecto60.*, <sup>7)</sup> Programa 7: *Bacillus-Bacillus-Bacillus-Bacillus-Bacillus.*, <sup>8)</sup> Programa 8: *Trichoderma-Trichoderma-Trichoderma-Trichoderma-Trichoderma.*, <sup>9)</sup> Programa 9: agua-agua-agua-agua-agua



**Figura 19. Severidad media ponderada ocasionada por *Alternaria* en el cultivo de cempasúchil a los 111 días después del trasplante.**

A pesar de no existir diferencias significativas entre los, en el Cuadro 21, se observa que algunos programas utilizados tuvieron capacidad de reducir la severidad media ponderada ocasionada por *Alternaria*.

**Cuadro 21. Separación de medias para la variable severidad media ponderada ocasionada por *Alternaria* en cada tratamiento, con la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis.**

Programa	Días Después del Trasplante				
	(81 DDT)	(91 DDT)	(97 DDT)	(104 DDT)	(111 DDT)
P1	0	0	0	0.3125a	0
P2	0	0	0	0	0.3125a
P3	0	0	0	0.375a	0
P4	0	0	0	0.3125a	0
P5	0	0	0.3125a	0	0
P6	0	0	0.625a	0.3125a	0.625a
P7	0	0	0	0	0.375a
P8	0	0.375a	0	0	0
P9 (testigo)	0	0	0.75a	0.3125a	0.4375a

DDT: Días Después del Trasplante.

<sup>1)</sup>Programa 1: *Trichoderma-Trichoderma-Bacillus-Bacillus-Bacillus.*, <sup>2)</sup> Programa 2: *Bacillus-Bacillus-Bacillus-Trichoderma-Trichoderma.*, <sup>3)</sup> Programa 3: *Bacillus-Bacillus-milstop-milstop-milstop.*, <sup>4)</sup> Programa 4: *Trichoderma-Trichoderma-Trichoderma-milstop-milstop.*, <sup>5)</sup> Programa 5: *Bacillus-Bacillus-Tecto60-Tecto60-Tecto60.*, <sup>6)</sup>Programa 6: *Trichoderma-Trichoderma-Tecto60-Tecto60-Tecto60.*, <sup>7)</sup> Programa 7: *Bacillus-Bacillus-Bacillus-Bacillus-Bacillus.*, <sup>8)</sup> Programa 8: *Trichoderma-Trichoderma-Trichoderma-Trichoderma-Trichoderma.*, <sup>9)</sup> Programa 9: agua-agua-agua-agua-agua

Se observó que inicialmente la combinación de *Trichoderma harzianum*+Tecto 60 (programa seis), al final del ensayo fue el que presentó la mayor severidad ocasionada por *Alternaria* (Cuadro 21). Dicho efecto se expresó a partir del muestreo tres (Figura 17), después de la aplicación de Tecto 60, mostrando el valor más alto de severidad en la planta con respecto a los demás programas; La falta de control de este ingrediente activo (Thiabendazol=Tecto 60) ante *Alternaria*, puede ser debido a que no tiene efecto sobre este hongo, además no existen reportes específicos de efectividad sobre dicho patógeno. Dicho efecto también se observó en el programa de *Bacillus subtilis*+Tecto 60

(programa cinco), que no tuvo presencia de *Alternaria* mientras se aplicó *Bacillus subtilis*, pero al ser aplicado el Tecto 60, permitió la presencia y daños de *Alternaria*, aunque en los restantes muestreos no mostró más severidad.

Por otro lado la combinación de *Trichoderma harzianum*+*Bacillus subtilis* (programa uno) y *Bacillus subtilis*+*Trichoderma harzianum* (programa dos), fueron las combinaciones que no expresaron la severidad de *Alternaria* hasta el muestreo cuatro y cinco (figuras 18 y 19) respectivamente, expresando los menores grados de severidad de la enfermedad, por lo que se enfatiza que la combinación de los productos biológicos (*Trichoderma harzianum* y *Bacillus subtilis*) dan un nivel de control de *Alternaria* en el área foliar de la planta de cempasúchil.

En el caso de las combinaciones *Bacillus subtilis*+milstop (programa tres) y *Trichoderma harzianum*+milstop (programa cuatro), se observó que durante las aplicaciones de *Bacillus subtilis* y *Trichoderma harzianum* no se expresó la enfermedad, pero después de aplicar el producto milstop, se expresó la enfermedad en niveles de 0.37 y 0.31, sin embargo para el muestreo realizado a los 111 días después del trasplante, se detuvo la severidad ocasionada por *Alternaria* (Figura 19), aunque en las hojas jóvenes no se observaron daños; lo anterior soporta el efecto que se reporta milstop (I.A. Bicarbonato de Potasio) y que es recomendado para el control de enfermedades foliares, entre ellas una de las principales es *Alternaria* (PHC, 2016).

Por otro lado, la aplicación únicamente de *Trichoderma harzianum* (programa ocho) mostro tener capacidad de inhibición, ya que a partir del muestreo dos, redujo la severidad por *Alternaria* en las hojas jóvenes durante el resto del experimento.

El uso de *Trichoderma* en investigaciones, ha demostrado ser un efectivo controlador biológico contra *Alternaria*. En Tlayacapan, Morelos (México) se reportó que aislamientos de *Trichoderma*, obtenidos de suelos sembrados con tomate y con problemas de *Alternaria solani* y *Phytophthora infestans*, en condiciones *in vitro*, determinaron que por su acción antagónica sobre *Alternaria solani* y *Phytophthora infestans*, puede considerarse como un agente promisorio en el control biológico de las enfermedades que ocasionan estos fitopatógenos (Michel *et al.*, 2008).

Por otro lado en Lima (Perú), especies evaluadas de *Trichoderma* (*Trichoderma harzianum*, *Trichoderma viride* y *Trichoderma* cepa R6) en cultivos *in vitro*, mostraron potencial de efecto inhibitorio contra *Alternaria alternata*, destacando la cepa de *Trichoderma* R6 la cual presentó un mayor porcentaje de inhibición contra este patógeno, tanto *in vitro* (82,67%) como *in planta* (incidencia 33,3%) (Camarena, 2012).

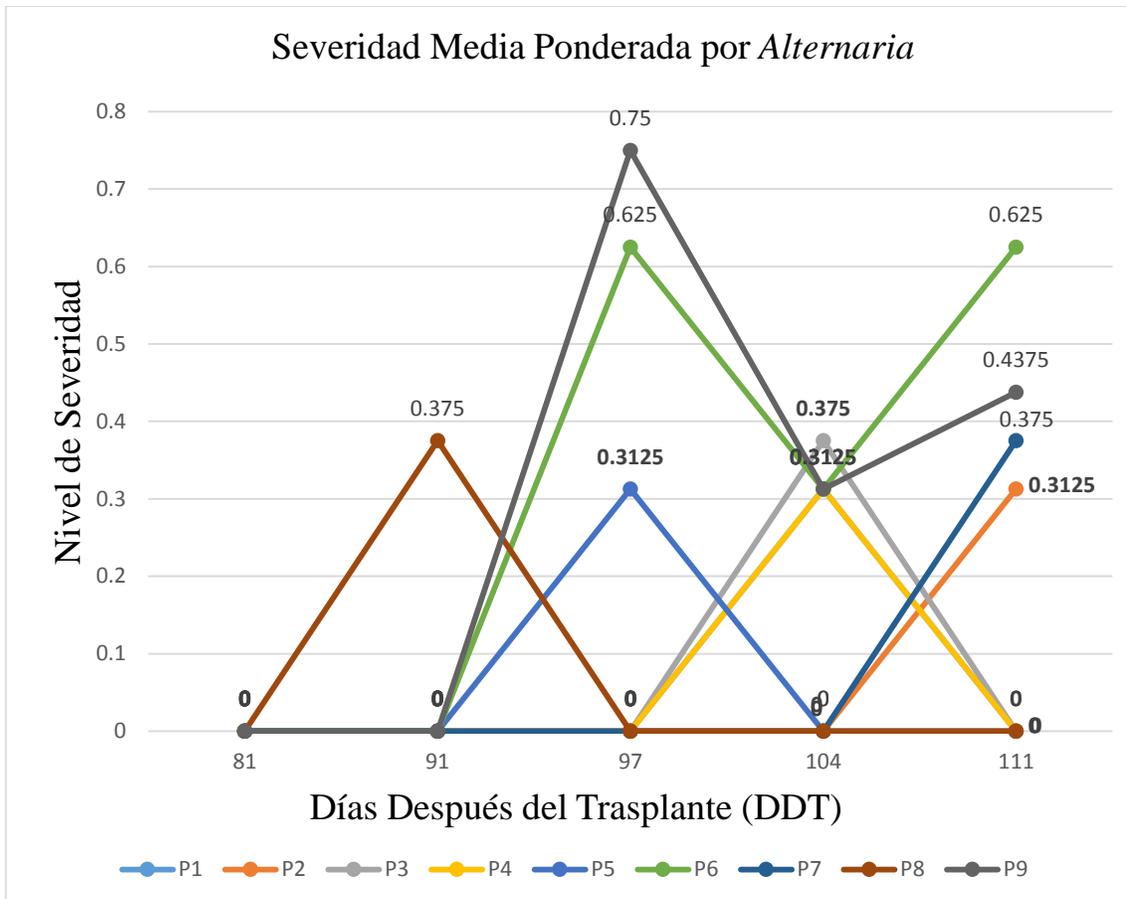
Rodríguez y Veneros (2011) reportan que, en condiciones *in vitro*, *Trichoderma harzianum* mostró un efecto antagónico por lo que puede ser un efectivo controlador biológico de hongos patógenos de frutos postcosecha de papaya, entre ellos *Alternaria alternata*.

Respecto a *Bacillus subtilis* (programa siete) a pesar de ser aplicado desde el inicio del ensayo, permitió que *Alternaria* se estableciera y mostrará cierto nivel de severidad de la enfermedad al final del experimento. Sin embargo es importante mencionar que existen reportes que hablan de la efectividad antagónica de *Bacillus subtilis* contra *Alternaria*. Castellanos *et al.* (2004) mencionan que *Bacillus subtilis* evidencio tener potencial *in vitro* como biocontrol de patógenos como *Alternaria porri* (84-100%), *Alternaria solani*

(73-93%) entre otros. En Ecuador, siete cepas autóctonas de *Bacillus subtilis* mostraron capacidad antagónica en pruebas realizadas *in vitro* contra el hongo *Alternaria* spp., en donde evidenciaron que el crecimiento del patógeno se vio afectado significativamente por dos de las cepas evaluadas, demostrando que las cepas de *Bacillus subtilis* poseen potencial como controladores biológicos contra *Alternaria* spp. en cultivo de brócoli (*Brassica oleracea*) variedad italiana (Ñacato y Valencia, 2016).

La presencia de *Alternaria* durante el desarrollo del experimento fue a partir de los 91 días después del trasplante en el programa ocho, aunque en el testigo y programa seis fue a partir de los 97 días después del trasplante, manteniendo su presencia durante todo el ensayo; la efectividad de los productos se observó en diferentes tiempos (Cuadro 21) pero específicamente en el programa uno, tres, cuatro y cinco se logró controlar, mientras que en el programa dos y programa siete la enfermedad se presentó hasta el final del experimento por lo que se considera hubo un efecto de no desarrollo de la enfermedad.

En la Figura 20 se puede observar de manera general, el comportamiento de los nueve programas, en el control de *Alternaria* a través del tiempo.



**Figura 20. Progreso de la severidad media ponderada a través del tiempo en los diferentes programas de control contra *Alternaria*.**

## VII CONCLUSIONES

Los programas de aspersión a base de *Bacillus subtilis* y *Trichoderma harzianum*, redujeron la severidad ocasionada por *Plasmopara* spp. y *Alternaria* spp. en el Valle de Toluca.

La utilización de *Bacillus subtilis* y la combinación de *Trichoderma harzianum*+ *Bacillus subtilis*, pueden ser utilizados como una alternativa de control de *Plasmopara* spp. en cempasúchil.

Los productos biológicos *Bacillus subtilis* y *Trichoderma harzianum* permitieron expresión de severidad por *Septoria*, pero es importante mencionar que la combinación de estos aplicando inicialmente *Bacillus* y después *Trichoderma*, si logro que se redujera la severidad, caso contrario cuando se aplicó primero *Trichoderma* y después *Bacillus* que no logro reducir la severidad.

El biológico a base de *Trichoderma harzianum* no tiene una eficiencia para el control de *Septoria* y que *Bacillus subtilis* puede ser una alternativa de control contra *Septoria* en cultivo de cempasúchil.

*Trichoderma harzianum* y *Bacillus subtilis* en combinación mostraron la capacidad de reducir la severidad ocasionada por *Alternaria*.

*Trichoderma harzianum* mostró capacidad de inhibición de *Alternaria* y el programa a base de *Bacillus subtilis* puede reducir la severidad.

En general, para controlar las enfermedades foliares ocasionadas por *Alternaria*, *Plasmopara* y *Septoria* en cultivo cempasúchil se puede utilizar productos base de *Trichoderma harzianum* y *Bacillus subtilis*; aunque cada uno es capaz de reducir más la severidad de un patógeno que de otro, actuando de diferente manera contra cada uno de estos patógenos.

## VIII BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

Agrios, G. 2005. Plant Pathology. 5ª ed. Elsevier. USA. 922 pp.

Alvarado-España, D.C., Higuera-Pabón, J.S. 2013. Evaluación de microorganismos benéficos *Trichoderma harzianum* y *Bacillus subtilis* como controladores biológicos de *Sclerotium cepivorum* en el cultivo de cebolla paitaña (*Allium cepa* L.), en el sector La Esperanza, Cantón Bolívar, Carchi-Ecuador. Tesis de grado. Universidad Politécnica estatal del Carchi, Facultad de Industrias agropecuarias y ciencias ambientales. Tulcán, Ecuador. 65 pp.

Basurto-Cadena M.G., Salcedo-Hernández R., Vázquez-Arista M., Romero-Valdez, M.E., Díaz-Serrano F.R., Bucio-Villalobos C.M., Martínez-Jaime O.A. UNAL. 2010. Control biológico de jitomate con la cepa mexicana *Bacillus subtilis* no 21. En memorias: XII Congreso nacional de ciencia y tecnología de alimentos. Guanajuato, Guanajuato. 7 pp.

Camarena-Lizarzaburu, J.A. 2012. Efecto de la actividad metabólica de cepas de hongos antagonistas sobre *Alternaria alternata* (fr.) causante de la mancha parda en cítricos. Tesis de licenciatura. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Escuela Académico Profesional de Ciencias Biológicas. Lima, Perú. 76 pp.

Cantrill, R. 2004. Lutein from *Tagetes erecta*. Chemical and Technical Assessment, FAO. 5 pp.

Castellanos-Linares, J.J., Ortiz-Guilián, L., Oliva, P., Dueñas, J.M., Fresneda-Buides, J., Fraga-Ruíz, S., Meléndez-Ferrer, O. 2004. Estudios relacionados con el uso de *Bacillus*

*subtilis* en el control de hongos fitopatógenos. Convención Internacional TROPICO '2004.II Congreso de Agricultura Tropical. La Habana. Cuba. ISBN-959-7167-02-6. 12 pp.

Castillo-Rodríguez, O. 2011. Nutrición y *Bacillus Subtilis* en el control de marchitamiento por *Fusarium* spp. en el tomatillo (*Physalis ixocarpa* B.) en Sinaloa. Tesis de Maestría. Instituto Politécnico Nacional. Centro interdisciplinario de investigación para el desarrollo integral regional unidad Sinaloa. Sinaloa, México. 62 pp.

Chavez, Z., Inciarte, M., Urdaneta, T., Gómez, A., Petit, B., Urdaneta, M. 2013. Efecto de *Trichoderma* sp. sobre *Plasmopara vitícola* en plantaciones de vid (*Vitis vinífera* L.) del municipio Mara, Estado Zulia. Venezuela. REDIELUZ 3(1 y 2): 82-86.

Chiriboga-P, H., Gómez-B, G., Garcés-E, K. 2015. Protocolos para la formulación y aplicación del bio-insumos: *Trichoderma* spp. para el control biológico de enfermedades. IICA. Paraguay. 16 pp.

Cubillos, J. G.; Páez; A.; Mejía, L. 2011. Evaluación de la capacidad biocontroladora de *Trichoderma harzianum* Rifai contra *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. Asociado al complejo Secadera en Maracuyá, bajo condiciones de invernadero. Rev. Fac. Nal. Agr. Medellin 64 (1): 5821-5830.

Del Villar-Martínez, A. A., Serrato-Cruz, M. Á., Solano-Navarro, A., Arenas-Ocampo, M. L., Quintero-Gutiérrez, A. G., Sánchez-Millán, J. L., Evangelista-Lozano, S., Jiménez-Aparicio, A., García-Jiménez, F. A., Vanegas-Espinoza, P. E. 2007. Carotenoides en *Tagetes erecta* L. La modificación genética como alternativa. Revista Fitotecnia Mexicana 30(2): 109-118.

Ezziyyani, M., Pérez-Sánchez, C., Sid-Ahmed, A., Requena, M.E., Candela, M.E. 2004. *Trichoderma harzianum* como biofungicida para el biocontrol de *Phytophthora capsici* en plantas de pimiento (*Capsicum annuum* L.). Rev. Anales de biología 26: 35-45.

Gómez-Rodríguez, O. y Zavaleta-Mejía, E. 2001. La Asociación de Cultivos una Estrategia más para el Manejo de Enfermedades, en Particular con *Tagetes* spp. Revista Mexicana de Fitopatología 19(1): 94-99.

Guédez, C., Cañizales, L., Castillo, C., Olivar, R. 2012. Evaluación *in vitro* de aislamientos de *Trichoderma harzianum* para el control de *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii* y *Fusarium oxysporum* en plantas de tomate. Revista de la sociedad Venezolana de Microbiología 32: 44-49.

INEGI. 2007. Cultivos anuales de los Estados Unidos Mexicanos. VIII Censo Agrícola, Ganadero y Forestal. Censo Agropecuario. pag. 63. Disponible en [http://www.inegi.org.mx/prod\\_serv/contenidos/espanol/bvinegi/productos/censos/agropecuaria/2007/anua\\_y\\_perenes/anuales\\_eum/culanumex6.pdf](http://www.inegi.org.mx/prod_serv/contenidos/espanol/bvinegi/productos/censos/agropecuaria/2007/anua_y_perenes/anuales_eum/culanumex6.pdf) consultado el 05/05/2015.

Infante, D., Martínez, B., González, N., Reyes, Y. 2009. Mecanismo de acción de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos. Rev. Protección Veg. 24(1): 14-21.

Layton, C., Maldonado, E., Monroy, L., Corrales, L.C., Sánchez, L.C. 2011. *Bacillus* spp.; perspectiva de su efecto biocontrolador mediante antibiosis en cultivos afectados por fitopatógenos. NOVA- Publicación Científica en ciencias biomédicas 9(15): 177-187.

Leiva-Santos, Y.A. 2006. Evaluación *in vitro* de la eficacia biocontroladora de *Trichoderma* sp. y *Bacillus* sp. sobre *Sclerotinia sclerotiorum*, aislada de brócoli. Universidad de Talca, Escuela de Agronomía. Talca, Chile. 27 pp.

Lisboa-Minguzzi, M.A. 2003. Efectividad de *Bacillus subtilis* y de una cepa nativa de *Trichoderma harzianum* sobre la incidencia y severidad de pudrición gris (*Botrytis cinerea*) en *Vid vinífera*. Tesis de licenciatura. Universidad de Talca Facultad de Ciencias Agrarias, Escuela de Agronomía. Talca, Chile. 35 pp.

Mastouri, F., Bjorkman, T., Harman, G.E. 2010. Seed Treatment with *Trichoderma harzianum* Alleviates Biotic, Abiotic, and Physiological Stresses in Germinating Seeds and Seedlings. *Phytopathology* 100 (11): 1213-1221.

Mejía-Bautista, M.A, Reyes-Ramírez, A., Cristóbal-Alejo, J., Tun-Suárez, J.M., Borges-Gómez, L. del C. 2016. *Bacillus* spp. en el control de la marchitez causada por *Fusarium* spp. en *Capsicum chinense*. *Revista Mexicana de Fitopatología* 34: En prensa.

Mendez-García, E.F. 2009. Cultivo de marigol (*Tagetes erecta* L.) en el Perú: presente y futuro. Tesis de Postgrado. Universidad Nacional Agraria La Molina, Escuela de Postgrado. Lima, Perú. 114 pp.

Michel-Aceves, A.C., Otero-Sánchez, M.A., Martínez-Rojero, R.D., Ariza-Flores, R., Barrios-Ayala, A., Rebolledo-Martínez, A. 2008. Control biológico *in vitro* de enfermedades fungosas en tomate *Lycopersicon esculentum* Mill. *Avances en Investigación Agropecuaria* 12 (3): 55-68.

Michel-Aceves, A.C., Otero-Sánchez, M.A., Díaz-Castro, A., Martínez-Rojero, R.D., Ariza-Flores, R., Barrios-Ayala, A. 2013. Biocontrol de la “Escoba de bruja” del mango, con *Trichoderma* spp., en condiciones de campo. *Revista Mexicana de Fitopatología* 31(1): 1-12.

NCBI (National Center for Biotechnology Information) Taxonomy Browser

Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi>.

Consultado el 8 de Agosto

Ñacato-Suntaxi, C.A., Valencia-Gondón, M.F. 2016. Aislamiento, Identificación y pruebas *in vitro* de cepas autóctonas de *Bacillus subtilis* como agente de biocontrol de *Alternaria* spp. en *Brassica oleracea* var. Italica. Tesis de Licenciatura. Universidad Politécnica Salesiana sede Quito. Quito, Ecuador. 43 pp.

Pal, K. K. and B. McSpadden Gardener, 2006. Biological Control of Plant Pathogens. *The Plant Health, Instructor* DOI: 10.1094/PHI-A-2006-1117-02.

Perelló, A.E., Moreno, M.V., Mónaco, C., Simón, M.R., Cordo, C. 2009. Biological control of *Septoria tritici* blotch on wheat by *Trichoderma* spp. under field conditions in Argentina. *Biocontrol* 54: 113-122.

Pérez-Vicente, L., Batlle-Viera, A., Chacón-Benazet, J., Montenegro-Moracén, V. 2009. Eficacia de *Trichoderma harzianum* A34 en el control de *Fusarium oxysporum* F. sp. *cubense*, agente causal de la marchitez por *Fusarium* o mal de Panamá de los bananos en Cuba. *Fitosanidad* 13(4): 259-263.

PHC (Plant Health Care). 2016. Disponible en: <http://www.phcmexico.com.mx/phcbiopesticidas.html>. Consultada el 10 de Agosto.

Quimia (Química Internacional Aplicada). 2016. Disponible en: <http://www.quimia.com.mx/descargas/productos/bs/BSfichatenica.pdf>. Consultada el 10 de Agosto.

Reinoso-Pozo, Y., Vaillant-Flores, D., Casadesús-Romero, L., García-Pérez, E., Pazos Álvarez-Rivera, V. 2007. Selección de cepas de *Bacillus* y otros géneros relacionados para el control biológico de hongos fitopatógenos. *Fitosanidad* 2(1): 35-40.

Reyes, A., Cristobal, J.; Ruíz, E., Tun, J. 2012. Inhibición del crecimiento *in vitro* de *Fusarium* sp. aislado de chile habanero (*Capsicum chinensis*) con hongos antagonistas. *Fitosanidad* 16 (3): 161-165.

Rodríguez-Lacherre, M., Veneros-Terrones, R. 2011. Control biológico de *Trichoderma harzianum* Rifai sobre hongos patógenos de frutas postcosecha de *Carica papaya* procedente de zonas de distribución del distrito Trujillo (Perú). *Revista de la Facultad de Ciencias Biológicas* 31(2): 9 pp.

Romero-Coba, S. 1996. Plagas y enfermedades de ornamentales. Universidad Autónoma de Chapingo I.S.B.N. 968-884-330-7. UACH, Texcoco, Estado de México, 244p.

Serrano-Carreón L., Galindo-Fentanes E., 2007. Control biológico de organismos fitopatógenos un reto multidisciplinario. *Ciencia*: 77-89.

Syngenta. 2016. Disponible en:  
[http://fria.syngenta.com.mx/Data/Sites/1/agroquimicos\\_productos/fungicidas/tecto/tecto\\_info.pdf](http://fria.syngenta.com.mx/Data/Sites/1/agroquimicos_productos/fungicidas/tecto/tecto_info.pdf) Consultada el 10 de agosto.

SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). 2014. Disponible en:  
<http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-cultivo/>. Consultado el 10 de Agosto.

Serrato-Cruz, M.C. 2004. Cempoal-xochilt: diversidad biológica y uso. Ciencia y Desarrollo. Julio/Agosto, vol. Núm. pp.01-03

UNION PUEBLA. 2014. Disponible en  
<<http://www.unionpuebla.mx/articulo/2014/10/29/economia/puebla-lider-en-produccion-de-cempasuchil>>

Villa, P., Alfonso, I., Rivero, M. J., González, G. 2007. Evaluación de cepas de *Bacillus subtilis* bioantagonistas de hongos fitopatógenos del género *Fusarium*. ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar XLI(1): 52-56.

Villacide, J.M. y Corley, J. C. 2012. Introducción a la teoría del control biológico de plagas: Manejo integrado de plagas forestales. INTA. Bariloche, Argentina. 19 pp.

Villamil-Carvajal, J.E., Viteri-Rosero, S.E., Villegas-Orozco, W.L. 2015. Aplicación de antagonistas microbianos para el control biológico de *Moniliophthora roreri* Cif & Par en *Theobroma cacao* L. bajo condiciones de campo. Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín 68(1): 7441-7450.

Yáñez-Juarez, M.J., Ayala-Tafoya, F., Partida-Ruvalcaba, L., Vélazquez-Alcaráz, T.J., Godoy-Angulo, T.P., Diaz-Valdéz, T. 2014. Efecto de bicarbonatos en el control de cenicilla (*Oidium* sp.) en pepino (*Cucumis sativus* L.). Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas 5(6): 991-1000.

## IX ANEXOS



Síntoma de daño de aproximadamente un 30% en hoja de cempasúchil ocasionado por *Plasmopara* spp.



Signo de *Plasmopara* spp. (esporulación abierta) en el envés de hoja de cempasúchil.



Signo de *Plasmopara* spp. en el envés de hoja de cempasúchil.



Síntomas de daño en hojas de cempasúchil ocasionado por *Plasmopara* spp y *Septoria*.



Nivel de severidad de un 10% a 15% en hoja compasúchil ocasionada por *Plasmopara* spp.



Síntoma de daño en hoja de cempasúchil ocasionado por *Septoria*.



Ubicación de los bloques del ensayo en campo.



Visualización general de la ubicación del experimento y de la planta al segundo día de ser trasplantada 29/08/2015.



Apariencia del experimento a los 20 días después del trasplante.



Apariencia del experimento a los 35 días después del trasplante.



Apariencia del experimento a los 35 días después del trasplante.



Apariencia del experimento a los 55 días después del trasplante.



Apariencia del experimento a los 75 días después del trasplante.



Apariencia del experimento a los 90 días después del trasplante.



Aplicación de los productos a los 95 días después del trasplante.



Vista del experimento a los 100 días después del trasplante.





Apariencia del ensayo a los 104 días después del trasplante.



Cultivo de cempasúchil a los 115 días después del trasplante.