



TESIS

“Evaluación de hidrogeles biodegradables de quitosano con *Trichoderma* sp. para el control de *Phytophthora capsici*”

PRESENTA:

Ing. Lizbeth de Jesús Martínez Vela.

DIRECTOR DE TESIS:

Dra. Mayra Itzcalotzin Montero Cortes.

CODIRECTOR DE TESIS:

Dr. Alejandro Joaquín Qui Zapata.

REVISORES DE TESIS:

Dra. Zaira Yunuen García Carvajal.

Dra. Vania Sbeyde Farias Cervantes.

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN AGROBIOTECNOLOGÍA

TLAJOMULCO DE ZÚÑIGA, JALISCO. JUNIO, 2026.



Educación
Secretaría de Educación Pública



TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO



Instituto Tecnológico de Tlajomulco
Subdirección Académica
División de Estudios de Posgrado e Investigación

Tlajomulco de Zúñiga, Jal. **25/mayo/2026**
No. DE OFICIO: DEPI/082/2026

Asunto: Autorización de impresión de tesis.

LIZBETH DE JESÚS MARTÍNEZ VELA (M23940440)
CANDIDATA AL GRADO DE MAESTRÍA
EN CIENCIAS EN AGROBIOTECNOLOGÍA
PRESENTE

Por este conducto, tengo el agrado de comunicarle que el Comité Tutorial asignado a su trabajo de tesis titulado **"Evaluación de hidrogeles biodegradables de quitosano con *Trichoderma sp.* para el control de *Phytophthora capsici*"**, ha informado a esta División de Estudios de Posgrado e Investigación (DEPI), que están de acuerdo con el trabajo presentado.

Por lo anterior, se le **AUTORIZA** a que proceda con la impresión definitiva de su trabajo de tesis.

Esperando que el logro del mismo sea acorde con sus aspiraciones profesionales, reciba un cordial saludo.

ATENTAMENTE

Excelencia en Educación Tecnológica®
Educando para la Sociedad Actual y los Retos del Futuro



S.E.P.
TECNM
14DIT0603B
IT TLAJOMULCO
DIV. DE ESTUDIOS
DE POSGRADO
E INVESTIGACIÓN


BENJAMIN HERNÁNDEZ MÁRQUEZ
JEFE DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS
DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
DEL TecNM CAMPUS TLAJOMULCO

Ccp.- Luz Elena Alfaro Orozco; Departamento de Servicios Escolares
Expediente
MIBR/IGL/BHM/AIRV



2026
año de
Margarita
Maza



KM. 10 carretera a San Miguel Cuyutlán, Cto. Vicente Fernández Gómez C.P.45640 Tlajomulco de Zúñiga, Jal.
Tel. 33 29 02 11 30 e-mail: plan_tlajomulco@tecnm.mx www.tlajomulco.tecnm.mx

La presente investigación formó parte del proyecto “Optimización de hidrogel biodegradable como acarreador para uso agrícola” del Fondo COECYTJAL De la Ciencia al Mercado con clave de proyecto 11001-2024.

Parte de los experimentos se realizaron en las instalaciones de la Unidad de Biotecnología Vegetal y Laboratorio Nacional PlanTECC del Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, Zapopan, Jalisco, México.

AGRADECIMIENTOS

La realización de la presente tesis representa la culminación de una importante etapa de mi formación profesional y personal. Deseo expresar mi agradecimiento a las personas que contribuyeron a que este trabajo fuera posible.

Agradezco a mi directora de tesis por su apoyo, orientación y paciencia tanto académicamente como personalmente, a mi codirector por la confianza y apoyo durante mi estancia, a mis asesoras por las valiosas aportaciones durante el desarrollo de esta investigación, sus conocimientos de cada uno de los integrantes de mi comité fueron fundamentales para mi crecimiento académico y conclusión del proyecto.

A mis papás, por enseñarme el valor del trabajo, la responsabilidad y dedicación, a mis hermanos por ser fuente de fortaleza, por su comprensión y palabras de aliento en esta etapa. Por creer en mí y recordarme que el esfuerzo y la perseverancia tienen recompensa.

Quiero agradecer a mis perritas Matilda y Manchitas, quienes me acompañaron durante las jornadas de estudio, su cariño y alegría hicieron más llevaderos los días difíciles y me recordaron la importancia de encontrar momentos de felicidad en medio de los desafíos.

A mis compañeras de laboratorio por el acompañamiento, apoyo y amistad durante mi estancia.

A mí misma por la constancia, la disciplina y la determinación para continuar avanzando aun en los momentos de incertidumbre y dificultad. Este trabajo representa no solo un logro académico, sino también el resultado de años de esfuerzo, aprendizaje y crecimiento personal.

Agradezco al Gobierno de Jalisco, la SICyT y al COECyTJAL por el apoyo económico otorgado al proyecto 11001-2024. Asimismo, agradezco a la Red Internacional de biosecuranet.

RESUMEN

El presente trabajo de investigación consistió en la evaluación de hidrogeles biodegradables como sistemas de liberación de *Trichoderma* spp. para el control biológico de la marchitez ocasionada por *Phytophthora capsici* en plantas de chile serrano (*Capsicum annuum*). Inicialmente, se evaluaron diferentes cepas de *Trichoderma* con el propósito de seleccionar aquellas con mayor potencial antagonista frente al fitopatógeno. Posteriormente, se desarrollaron y caracterizaron hidrogeles biodegradables a base de quitosano, incorporando las cepas seleccionadas T22 (*T. harzianum*) y T18 (*T. viride*). La caracterización de los hidrogeles incluyó análisis morfológico mediante microscopía estereoscópica, microscopía electrónica de barrido (MEB) para el análisis de la estructura tridimensional de los hidrogeles además de la distribución superficial de las esporas incorporadas, espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) para la identificación de los grupos funcionales e interacciones entre los componentes del hidrogel formulado, determinación de la capacidad de absorción de agua y evaluación de la biodegradación mediante ensayos de entierro en suelo tanto estéril como inoculado con microorganismos.

Asimismo, se analizó el impacto del proceso de fabricación de los hidrogeles sobre la viabilidad de las cepas encapsuladas mediante su cultivo en medio PDA y la determinación de la actividad metabólica en la raíz de las plantas de los diferentes tratamientos utilizando cloruro de 2,3,5-trifeniltetrazolio (TTC). Finalmente, se evaluó el efecto biocontrolador de la aplicación de los hidrogeles en plantas de chile serrano frente a la marchitez ocasionada por *P. capsici*. Los resultados indicaron que los hidrogeles con *Trichoderma* (T18 y T22) contribuyeron a la protección de las plantas frente al patógeno. Además, se observaron diferencias en el desempeño de las cepas *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma viride* encapsuladas en los hidrogeles, tanto en su viabilidad dentro de los hidrogeles como en su efecto sobre el crecimiento. En la evaluación de biocontrol se obtuvo una inhibición de los síntomas en las plantas tratadas con HT18, posteriormente en el siguiente experimento se obtuvo una disminución de la incidencia las plantas tratadas con HT22, esto nos sugiere que los hidrogeles tienen el potencial como portadores de las cepas de *Trichoderma*, sin embargo su efecto como biocontrolador es determinado por las condiciones empleadas durante su aplicación.

ÍNDICE

Contenido

AGRADECIMIENTOS	v
RESUMEN	vii
ÍNDICE.....	viii
ÍNDICE DE FIGURAS	xii
ÍNDICE DE CUADROS	xv
1. CAPÍTULO	1
1.1. Introducción general	1
1.2. Revisión de literatura	2
1.2.1. Importancia económica del cultivo <i>Capsicum annuum</i>	2
1.2.2. Principales enfermedades.....	6
1.2.3. <i>Trichoderma</i>	9
1.2.4. Hidrogeles.....	13
1.3. Planteamiento del problema	18
1.4. Justificación	19
1.5. Hipótesis	20
1.6. Objetivos.....	21
Objetivo general.....	21
Objetivos particulares.....	21
2. CAPÍTULO	22
Actividad de bioestimulación y control de cepas de <i>Trichoderma</i> sobre plantas de chile y contra <i>Phytophthora capsici</i>	22
2.1. Resumen	22
2.2. Introducción	22

2.3.	Metodología	24
2.3.1.	Material biológico.....	24
2.3.2.	Material vegetal.	24
2.3.3.	Control de <i>P. capsici in vitro</i>	24
2.3.4.	Microscopía confocal.	25
2.3.5.	Efecto de la bioestimulación.	25
2.3.6.	Efecto de biocontrol.	25
2.3.7.	Análisis estadístico.	26
2.4.	Resultados y discusión	26
2.4.1.	Control de <i>P. capsici in vitro</i>	26
2.4.2.	Colonización en raíces.....	27
2.4.3.	Efecto de la bioestimulación	28
2.4.4.	Control biológico	30
2.5.	Conclusión	31
2.6.	Referencias bibliográficas	32
3.	CAPÍTULO.....	35
Hidrogeles de gelatina-quitosano-PVA incorporando <i>Trichoderma</i> y su caracterización.....		35
3.1.	Resumen	35
3.2.	Introducción	36
3.3.	Metodología	39
3.3.1.	Reactivos	39
3.3.2.	Material biológico.....	40
3.3.3.	Material vegetal	40
3.3.4.	Preparación de hidrogel.....	40

3.3.5.	Absorción de agua y sensibilidad al pH.....	41
3.3.6.	Contenido en equilibrio del agua en suelo	42
3.3.7.	Análisis morfológico	42
3.3.8.	Espectroscopía infrarroja por Transformada de Fourier (FT-IR).....	43
3.3.9.	Estudio de degradación mediante técnica de entierro.....	43
3.3.10.	Efecto de la encapsulación en el crecimiento de <i>Trichoderma</i>	44
3.3.11.	Protección de cultivo	44
3.3.12.	Análisis estadístico.....	45
3.4.	Resultados y discusión	46
3.4.1.	Preparación de hidrogel.....	46
3.4.2.	Estudio de absorción de agua y sensibilidad al pH.	48
3.4.3.	Contenido del equilibrio hídrico en suelo.....	51
3.4.4.	Análisis morfológico	52
3.4.5.	Espectroscopía infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR).....	54
3.4.6.	Estudio de degradación mediante técnica de entierro.....	56
3.4.7.	Efecto de la encapsulación en el crecimiento de <i>Trichoderma</i>	58
3.4.8.	Protección de cultivos	59
3.5.	Conclusión	64
3.6.	Referencias.....	64
4.	CAPÍTULO	72
	Caracterización del efecto de la encapsulación de <i>Trichoderma</i> dentro de los hidrogeles (Gel-CTS-PVA) en el hongo y su efectividad biológica.	72
4.1.	Resumen.....	72
4.2.	Introducción.....	73
4.3.	Metodología	75

4.3.1.	Material biológico	75
4.3.2.	Material vegetal	75
4.3.3.	Crecimiento de <i>Trichoderma</i> encapsulado	76
4.3.4.	Evaluación de viabilidad de <i>Trichoderma</i> encapsulado	76
4.3.5.	Protección de cultivo	77
4.3.6.	Análisis estadístico	79
4.4.	Resultados y discusión	79
4.4.1.	Crecimiento de <i>Trichoderma</i> encapsulado	79
4.4.2.	Evaluación de la viabilidad de <i>Trichoderma</i> encapsulado	81
4.4.3.	Protección al cultivo	81
4.4.3.1.	Experimento 1	81
4.4.3.2.	Experimento 2.	85
4.4.3.3.	Experimento 3.	85
4.5.	Conclusión	88
4.6.	Referencias	89
5.	CAPÍTULO	93
5.1.	Discusiones generales	93
5.2.	Conclusiones generales	95

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.1. Cultivos duales. A) T18+PHC 3 días de crecimiento (ddc); B) T18+PHC 10 ddc; C) FUHER+PHC 3 ddc; D) FUHER+PHC 10 ddc; E) LE21+PHC 3 ddc; F) LE21+PHC 10 ddc; G) T22+PHC 3 ddc; H) T22+PHC 10 ddc; I) T7+PHC 3 ddc; J) T7+PHC 10 ddc; K) PHC 3 ddc; L) PHC 10 ddc.....	27
Figura 2.2 Colonización de raíces. A) Raíz de control; B) Raíz con FUHER; C) Raíz con LE21; D) Raíz con T7; E) Raíz con T18; F) Raíz con T22. La flecha indica la presencia del micelio de <i>Trichoderma</i> en la raíz.	28
Figura 2.3 Parámetros de desarrollo de la planta de chile (<i>Capsicum annum</i>) en 49 ddih. A) Diámetro de tallo, B) Longitud del área, C) Numero de hojas, D) Índice de clorofila (SPADS)	29
Figura 2.4 Escala de severidad de la enfermedad. A) grado 1, B) grado 2, C) grado 3, D) grado 4, E) grado 5.....	30
Figura 2.5 Efecto de protección de las diferentes cepas de <i>Trichoderma</i> en chile.	31
Figura 3.1 . Proceso para obtener hidrogeles con especies de <i>Trichoderma</i> creado en BioRender. Qui-Zapata, J. (2026) https://BioRender.com/hww95wn Absorción de agua y estudio de sensibilidad de pH.	48
Figura 3.2 Índices de hinchamiento del hidrogel con <i>Trichoderma</i> spp. (HT) y sin hongo (H) a diferentes valores de pH. Los valores con la misma letra son estadísticamente iguales según la prueba de Tukey ($P<0.05$).	50
Figura 3.3 Contenido hídrico de equilibrio del hidrogel con <i>Trichoderma harzianum</i> T22 (HT22) y sin hongo (H) en el suelo. Los valores con la misma letra son estadísticamente iguales según la prueba de Tukey ($P<0.05$).	51
Figura 3.4 Morfología de los hidrogeles. Imágenes SEM: H: Hidrogel a 1,000X, B) HT22: Hidrogel a 1,000X con <i>Trichoderma harzianum</i> (1X106 esporas) Imágenes estereoscópicas: C) H: Hidrogel sin <i>Trichoderma</i> a 20X, D) HT22: Hidrogel con <i>T. harzianum</i> (1X109 esporas) a 20X.....	53
Figura 3.5 Espectros FTIR del hidrogel (H), hidrogel con <i>Trichoderma harzianum</i> (HT22), gelatina (G), alcohol polivinílico (PVA), quitosano (QTS) y <i>Trichoderma harzianum</i> (T22).....	54

Figura 3.6 Fotografías de microscopio estereoscópico de hidrogeles biodegradados utilizando el método de enterramiento del suelo. HS (hidrogel) y HT22S (hidrogel con <i>Trichoderma</i>) en suelo estéril; HI (hidrogel) y HT22I (hidrogel con <i>Trichoderma</i>) en suelo inoculado. La barra corresponde a 1 mm.....	56
Figura 3.7 Estudios de biodegradación: H (hidrogel) y HT (hidrogel con <i>Trichoderma</i> spp.) en suelo estéril; HI (hidrogel) y HTI (hidrogel con <i>Trichoderma</i> spp.) en suelo inoculado.	57
Figura 3.8 Crecimiento en medio PDA de esporas libres y encapsuladas. Las letras D representan los días posteriores a la siembra de los microorganismos; HT22 y HT18 son hidrogeles con cepas de <i>Trichoderma</i>	59
Figura 3.9 Efecto de los hidrogeles en la protección de los cultivos: A) T0: plantas de control; B) PHC: plantas inoculadas con <i>P. capsici</i> ; C) T22: plantas inoculadas con solución de esporas de T22; D) T18: plantas inoculadas con solución de esporas de T18; E) H: plantas con hidrogeles; F) HT22: plantas con hidrogeles + T22; G) HT18: plantas con hidrogeles +T18.....	61
Figura 3.10 Gravedad de la enfermedad en plántulas de chile infectadas con <i>Phytophthora capsici</i> . PHC: plantas inoculadas con <i>P. capsici</i> ; T18: plantas inoculadas con solución de esporas T18 e inoculadas con <i>P. capsici</i> ; T22: plantas inoculadas con solución de esporas T22 e inoculadas con <i>P. capsici</i> ; H: plantas con hidrogeles e inoculadas con <i>P. capsici</i> ; HT22: plantas con hidrogeles + T22 e inoculadas con <i>P. capsici</i> ; HT18: plantas con hidrogeles + T18 e inoculadas con <i>P. capsici</i> . La gravedad de la enfermedad va de grado 0 (plantas sanas) a grado 5 (plantas muertas).	63
Figura 4.1 Efecto de los hidrogeles en la protección de los cultivos: A) T0: plantas de control; B) PHC: plantas inoculadas con <i>P. capsici</i> ; C) T22: plantas inoculadas con solución de esporas de T22; D) T18: plantas inoculadas con solución de esporas de T18; E) H: plantas con hidrogeles; F) HT22: plantas con hidrogeles + T22; G) HT18: plantas con hidrogeles + T18.....	83
Figura 4.2 Gravedad de la enfermedad en plántulas de chile infectadas con <i>Phytophthora capsici</i> . PHC: plantas inoculadas con <i>P. capsici</i> ; T18: plantas inoculadas con solución de esporas T18 e inoculadas con <i>P. capsici</i> ; T22: plantas	

inoculadas con solución de esporas T22 e inoculadas con <i>P. capsici</i> ; H: plantas con hidrogeles e inoculadas con <i>P. capsici</i> ; HT22: plantas con hidrogeles + T22 e inoculadas con <i>P. capsici</i> ; HT18: plantas con hidrogeles + T18 e inoculadas con <i>P. capsici</i>	84
Figura 4.3 Efecto de los hidrogeles en la protección de los cultivos: A) T0: plantas de control; B) PHC: plantas inoculadas con <i>P. capsici</i> ; C) T22: plantas inoculadas con solución de esporas de T22; D) T18: plantas inoculadas con solución de esporas de T18; E) H:.....	87
Figura 4.4 Gravedad de la enfermedad en plántulas de chile infectadas con <i>Phytophthora capsici</i> . PHC: plantas inoculadas con <i>P. capsici</i> ; T18: plantas inoculadas con solución de esporas T18 e inoculadas con <i>P. capsici</i> ; T22: plantas inoculadas con solución de esporas T22 e inoculadas con <i>P. capsici</i> ; H: plantas con hidrogeles e inoculadas con <i>P. capsici</i> ; HT22: plantas con hidrogeles + T22 e inoculadas con <i>P. capsici</i> ; HT18: plantas con hidrogeles + T18 e inoculadas con <i>P. capsici</i>	88
Figura 4.5 Crecimiento de hidrogeles de las diferentes fracciones del hidrogel HT18 en medio PDA.	80
Figura 4.6 Crecimiento de hidrogeles de las diferentes fracciones del hidrogel HT22 en medio PDA.	80
Figura 4.7 Viabilidad de las esporas de <i>Trichoderma</i> (T22) encapsulado.	81

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 2.1 Porcentaje de inhibición del crecimiento radial de patógeno a las 72 h de incubación.....	26
Cuadro 2.2 Efecto de la bioestimulación de <i>Trichoderma</i> spp. en plantas de chile.	29
Cuadro 2.3 Escala de severidad de la enfermedad.....	30
Cuadro 3.1 Parámetros de crecimiento de la planta, incidencia y daño radicular al final del experimento.	60
Cuadro 4.1 Escala de severidad de la enfermedad en plantas infectadas con <i>P. capsici</i>	78
Cuadro 4.2 Parámetros de crecimiento de la planta e incidencia al final del experimento.	81
Cuadro 4.3 Parámetros de crecimiento de la planta, incidencia y daño radicular al final del experimento.	85

1. CAPÍTULO

1.1. Introducción general

El cultivo de *Capsicum annuum*, comúnmente conocido como chile, es de gran importancia tanto en México como a nivel mundial, debido al uso de sus frutos, ya sean frescos o secos, como condimentos fundamentales. Además, sus frutos son una fuente de colorantes naturales, capsaicinoides y compuestos como el ácido ascórbico, que son utilizados en la fabricación de diversos productos industriales, alimentos en conserva y cosméticos. El término "chile verde" se refiere a los frutos en su estado natural o procesado, y la mayoría de estos se utilizan en esa fase. El color verde se debe a la acumulación de clorofila, mientras que los frutos maduros adquieren colores rojos o amarillos debido a pigmentos como la licopersicina, la xantofila y el caroteno. El término "secos" se utiliza para una variedad de chiles que se dejan madurar y luego se secan o deshidratan, como el chile ancho, mulato y guajillo, entre otros (Montes, 2010).

México se distingue por su elevada diversidad de *Capsicum annuum*, lo que implica numerosos desafíos en los sistemas de producción debido a la variedad de patógenos que afectan a la planta, destacándose el oomiceto *Phytophthora capsici*, responsable de la marchitez del chile. Los síntomas de esta enfermedad incluyen la pudrición de la raíz, tallo y fruto, resultando en la muerte completa de la planta infectada. Una estrategia eficaz, económica y ecológicamente sostenible a largo plazo para enfrentar este problema es el uso de biocontroladores como *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Streptomyces* (bacterias) y *Trichoderma*. Estos agentes poseen múltiples mecanismos que inhiben y reducen el desarrollo de *P. capsici*, perjudicando la formación de esporangios, la germinación y movilidad de las zoosporas, y el crecimiento del tubo germinativo (Quispe, 2022).

Este estudio se centra en el desarrollo de un hidrogel biodegradable el cual facilite el desarrollo del *Trichoderma sp.* como agente de biocontrol para combatir la

marchitez en Chile causada por *Phytophthora capsici*. La elección de *Trichoderma* sp. se basa en su habilidad para competir con otros microorganismos por recursos como el espacio y nutrientes, además de su capacidad para producir metabolitos secundarios, ejercer efectos antibióticos y estimular la resistencia de la planta contra la enfermedad. Además, la propiedad de biodegradabilidad contribuye a prevenir la contaminación del suelo, ofreciendo así una ventaja respecto a los métodos de control actualmente en uso.

1.2. Revisión de literatura

1.2.1. Importancia económica del cultivo *Capsicum annum*

Los chiles y pimientos son ingredientes fundamentales de la gastronomía mexicana y se encuentran entre los productos con mayor potencial en el mercado global. La producción anual alcanza los 3.2 millones de toneladas, con un crecimiento promedio anual del 4.82% en el período de 2003 a 2016. Actualmente, estos cultivos son importantes para la exportación, con el 29.17% de la producción total destinada al mercado internacional (SAGARPA, 2017).

En 2008, México ocupó el segundo lugar en producción mundial de chiles y pimientos, superado solo por China. Este cultivo es fundamental para la economía nacional, siendo el décimo en valor de producción agrícola, con un valor de 709,148 miles de pesos y una producción de 2,055 miles de toneladas de 133 mil hectáreas cosechadas, con un rendimiento promedio de 15.5 toneladas por hectárea (FAO, 2011). Este cultivo es intensivo en mano de obra, requiriendo aproximadamente de 120 a 200 jornales por hectárea cosechada (Arroyo, 2012).

Los chiles más destacados en el ámbito nacional son el ancho, jalapeño, serrano, mirasol (también conocido como guajillo cuando está seco) y el pimiento morrón, estos representan entre el 70% y 80% de la producción nacional. Los chiles picantes se consumen principalmente dentro del país, mientras que los chiles dulces, como el pimiento morrón, se destinan principalmente a la exportación (Aguirre, 2017).

1.2.1.1. Clasificación taxonómica de la planta

El género *Capsicum* se encuentra dentro de la familia *Solanaceae* y la subfamilia *Solanoideae*, formando parte de la tribu *Capsiceae*. Comprende 24 especies silvestres y 5 domesticadas. La taxonomía del género *Capsicum* presenta complejidades debido a la considerable variabilidad entre los tipos cultivados y la diversidad de criterios de clasificación empleados (Montes, 2010).

La definición del género *Capsicum* y sus especies se basa en seis criterios diversos. Para unificar estos criterios, es necesario realizar estudios similares en todas las especies del género y en taxa de géneros cercanos como *Witheringia*, con el cual a veces se confunde. *Capsicum* incluye plantas herbáceas o arbustivas de hasta 1.5 metros de altura, que pueden ser perennes o anuales, y son principalmente glabras. Las flores son solitarias, raramente en pares y ocasionalmente fasciculadas, sin constricción en la base del cáliz y el pedicelo. Los frutos inmaduros son verdes, y los maduros son rojos, naranjas o púrpura-amarillos, variando en tamaño y forma. Las semillas son de color crema a amarillo (Montes, 2010).

1.2.1.2. Características del cultivo

El chile es una planta con comportamiento anual y perenne, caracterizada por tener tallos erectos, herbáceos y ramificados de color verde oscuro. Su sistema de raíces puede llegar a profundidades de 0,70 a 1,20 m y extenderse lateralmente hasta 1,20 m. La altura promedio de la planta es de 60 cm, y sus hojas son planas, simples y de forma ovoide alargada. Las flores, que son perfectas (hermafroditas), se desarrollan en las axilas de las ramas. Los frutos presentan una gran variabilidad en forma (alargada, cónica o redonda), tamaño (1 a 30 cm de longitud) y grosor (cuerpo grueso, macizo o aplanado). En estado inmaduro, los frutos son verdes o amarillos, mientras que en estado maduro pueden ser rojos, amarillos, anaranjados o cafés (Montes, 2010).

El chile se cultiva en regiones templadas, tropicales y subtropicales de América, Europa, Asia y África, siendo de gran importancia económica. Es una planta

sensible a las bajas temperaturas y prefiere climas libres de heladas. Generalmente, el cultivo de chile requiere una temperatura media diaria de 24°C; por debajo de 15°C, el crecimiento de la planta se reduce significativamente y a temperaturas inferiores a 8-10°C, las plantas detienen su desarrollo. A temperaturas superiores a 35°C, la fructificación es muy débil o inexistente debido a problemas de polinización, especialmente si el aire es seco (Montes, 2010).

Los suelos ideales para el cultivo de chile son de textura ligera, específicamente areno-arcillosos, y con alta capacidad de retención de humedad. En general, los chiles son poco tolerantes a la salinidad. Los valores de pH óptimos para su crecimiento oscilan entre 6.3 y 7.0; fuera de este rango, la disponibilidad de nutrientes se ve afectada, haciendo poco recomendable su siembra. La humedad relativa óptima para el cultivo de chile se encuentra entre el 50 y 70% (Montes, 2010).

1.2.1.3. Técnicas tradicionales de propagación de chile

- Semillero

En este sistema, se emplean pequeños túneles cubiertos de plástico, dentro de los cuales se siembran las semillas al voleo o en hileras sobre el suelo, con el propósito de obtener plántulas de raíz desnuda para el trasplante. Sin embargo, este método de semillero a menudo resulta en plantas heterogéneas, débiles, deshojadas y con tejidos vegetales muy endurecidos o extremadamente tiernos. Este estrés vegetativo, ocasionado por las fluctuaciones de temperatura en el suelo, es una característica común de este sistema (Cetz, 2005).

- Producción de plántulas con cepellón

Otra técnica utilizada es el cultivo de plantas en contenedores con cepellón, que implica sembrar las semillas en celdas de cartón o plástico (bandejas) llenas de un sustrato comercial con características específicas. Estas incluyen una buena capacidad de aireación, retención adecuada de agua, pH neutro o ligeramente ácido y niveles equilibrados de nutrientes. Una ventaja de esta técnica es que protege las raíces durante el trasplante al mantenerlas contenidas en el cepellón. Después de

la siembra, las bandejas se colocan en una cámara de germinación durante 48 a 72 horas, a una temperatura de 22 a 25°C. Luego, se trasladan al semillero, donde las plantas se desarrollan hasta el trasplante. El tiempo de germinación varía de 45 a 60 días (Cetz, 2005).

- Producción de semillas

En la producción de semillas, es esencial mantener una separación de al menos 400 metros entre los cultivares para evitar la polinización cruzada. La recolección de las semillas debe realizarse cuando los frutos alcanzan su completa madurez. Se estima que el rendimiento de semillas oscila entre 39 y 56 kg por hectárea, dependiendo de la especie (Cetz, 2005).

Propagación in vitro de *Capsicum* sp.

El cultivo de tejidos, una técnica que implica el crecimiento de células y tejidos vegetales en condiciones asépticas, ha sido una contribución significativa en el ámbito de la biotecnología. A pesar de los avances recientes en la propagación de plantas y el mejoramiento genético en varias especies de la familia *Solanaceae*, el chile (*Capsicum* sp.) ha enfrentado dificultades en este aspecto.

Se han identificado desafíos significativos en la regeneración completa de plantas en *Capsicum*, lo que sugiere la presencia de problemas morfogénicos en estas especies. Canul (1996) ha informado sobre los mejores resultados para la formación de brotes en este cultivo utilizando el medio de cultivo MS semisólido de Murashige y Skoog (1962), complementado con Bencil aminopurina (BAP) a concentraciones de 1.5 y 0.5 mg/l. Además, destaca la importancia de considerar el tamaño del explante, ya que se requiere que el meristemo tenga dos primordios foliares para lograr un establecimiento exitoso.

Cultivo de meristemos

La multiplicación vegetativa *in vitro* se basa fundamentalmente en el cultivo de meristemos, que puede llevarse a cabo mediante dos métodos: la formación de yemas axilares y la formación de yemas adventicias. Aunque no es el método más rápido, el cultivo de meristemos ha sido ampliamente preferido en la propagación

comercial debido a su fácil establecimiento en la mayoría de las especies y a la estabilidad genética de las plantas regeneradas (Cetz, 2005).

1.2.2. Principales enfermedades

El cultivo de chile se enfrenta a la amenaza de diversos microorganismos patógenos durante las diversas fases de producción, desde las plántulas hasta postcosecha. Estos microorganismos provocan enfermedades que, a su vez, resultan en la disminución de la población de plantas, la merma en su potencial productivo y un impacto negativo tanto en la cantidad como en la calidad del chile.

1.2.2.1. Nemátodos formadores de agallas de las raíces.

En las regiones de Aguascalientes, San Luis Potosí y Zacatecas, las raíces de las plantas de chile a menudo muestran bolas, nudos o agallas debido a la infestación por nematodos de la especie *Meloidogyne incognita*. La alimentación de estos nematodos en las raíces provoca heridas que facilitan la entrada de patógenos que afectan estos órganos (Velásquez, Reveles & Reveles, 2013).

Los síntomas en las hojas provocados por estos organismos son similares a los de otros patógenos que invaden las raíces de las plantas de chile, incluyendo amarillamiento, enanismo, marchitez durante periodos de altas temperaturas, follaje escaso o de menor tamaño, y frutos pequeños con escasa calidad comercial. El síntoma característico de esta enfermedad es la formación de nudos, bolas o agallas en las raíces, resultado de la actividad de las hembras de los nematodos (Velásquez, Reveles & Reveles, 2013).

Las parcelas más afectadas por estos nematodos suelen tener suelos arenosos, mientras que, en suelos arcillosos, las agallas presentan un menor tamaño. Las temperaturas del suelo entre 15 y 27 °C favorecen el desarrollo de los nematodos agalladores (Velásquez, Reveles & Reveles, 2013).

La rotación de cultivos es una medida recomendada para manejar los nematodos agalladores, utilizando cereales como avena, cebada o trigo, y pastos en rotaciones de dos a tres años para reducir la población de nematodos y el daño que ocasionan. Exponer las raíces afectadas a temperaturas extremas puede deshidratar a las

hembras y las masas de huevecillos, disminuyendo así la población de nematodos. La siembra de plantas como el cempasúchil (*Tagetes erecta*), cuyas raíces emiten una sustancia repelente, también es una estrategia útil para reducir la población de nematodos y los daños que causan (Velásquez, Reveles & Reveles, 2013).

1.2.2.2. Ahogamiento de los almárgocitos

En almárgos tradicionales de Aguascalientes y Zacatecas, los muestreos han revelado la presencia de los hongos *Fusarium spp.*, *Rhizoctonia spp.* y *Alternaria spp.*, que son los causantes de la enfermedad. Adicionalmente, se identificaron poblaciones de nematodos fitoparásitos como *Aphelenchoides spp.*, *Pratylenchus spp.*, *Aphelenchus spp.*, *Ditylenchus spp.* y *Heterodera spp.* (Velásquez, Reveles & Reveles, 2013).

La enfermedad puede provocar dos sintomatologías durante la germinación de la semilla y posteriormente. En preemergencia la semilla germina y alcanza a emitir un pequeño tallo que al ser infectado por los hongos mencionados toma una coloración café oscura y muere rápidamente, por lo tanto, este daño solamente se puede observar cuando las plántulas no infectadas emergen. Cuando la enfermedad se presenta en postemergencia las hojas de las plantas infectadas pierden turgencia, es decir, se observan flácidas o 22 marchitas, eventualmente toda la plántula manifiesta el síntoma y cae al suelo formando manchones o lunares de este tipo de plantas por lo que la enfermedad también se conoce como “dormidera” (Velásquez, Reveles & Reveles, 2013).

El manejo preventivo del damping-off es fundamental para evitar la aparición de la enfermedad en el almárgo. Se aconseja emplear semillas provenientes de plantas y frutos sanos y con las características deseadas, cuya selección debe realizarse mientras las plantas están aún en la parcela. Es importante desinfectar las semillas utilizando algún fungicida. La siembra en surcos es recomendable para facilitar la gestión de la enfermedad en caso de que sea necesario. Además, se deben evitar los riegos pesados y frecuentes, ya que una humedad excesiva propicia el desarrollo del damping-off (Velásquez, Reveles & Reveles, 2013).

1.2.2.3. Pudrición de la raíz

En la región, esta enfermedad es una de las más críticas para el cultivo, pudiendo causar una mortalidad del 40 al 70% de las plantas iniciales. La severidad de la enfermedad se ve incrementada por el monocultivo y las lluvias prolongadas (Velásquez, Reveles & Reveles, 2013).

La pudrición de la raíz del chile para secado en el norte-centro de México está asociada con patógenos como *Phytophthora capsici* Leo., *Rhizoctonia spp.*, *Fusarium spp.* y *Verticillium spp.* Estos patógenos tienen la capacidad de sobrevivir en el suelo durante largos periodos sin la presencia de plantas de chile, utilizando estructuras de resistencia como esclerocios, clamidoporas u oosporas (Velásquez, Reveles & Reveles, 2013).

En plantas adultas, el síntoma inicial más frecuente de la infección por estos patógenos es la marchitez. Al inicio de la enfermedad, este síntoma se manifiesta con mayor intensidad al mediodía, confundándose con una falta de humedad en el suelo. Por la tarde, las plantas afectadas recuperan parte de su vigor, pero en unos días, la marchitez se vuelve permanente. Es común observar el ápice y los bordes de las hojas con una coloración café-marrón, rodeada por un área verde opaco. La lesión puede cubrir toda la hoja, que generalmente permanece adherida a la planta (Velásquez, Reveles & Reveles, 2013).

Durante los temporales lluviosos, el agente patógeno *Phytophthora spp.* puede infectar las partes aéreas de la planta, dando lugar a la etapa de tizón foliar de la enfermedad. Dentro de los síntomas que se presentan en las hojas se tienen la formación lesiones circulares de tonalidad verde pálido, con el centro exhibiendo una variación de color que va desde el gris hasta tonos ligeramente café. En cuanto a las ramas, se desarrollan lesiones de tamaño variable y tonalidades que oscilan entre el café y el negro, las cuales tienen el potencial de estrangularlas (Velásquez, Reveles & Reveles, 2013).

Entre los síntomas subterráneos más comunes se incluyen la putrefacción del cuello o de partes de la raíz principal, así como el necrosamiento de las raicillas secundarias. Estas manifestaciones impiden el flujo adecuado del agua y los

nutrientes hacia el follaje de la planta, así como el transporte eficiente de carbohidratos hacia las raíces (Velásquez, Reveles & Reveles, 2013).

El avance de la pudrición de la raíz es más pronunciado en suelos con alta humedad y temperaturas frescas, condiciones típicas durante periodos prolongados de lluvia. Las plantas cultivadas en suelos pesados (arcillosos) o muy compactados, que limitan el drenaje del agua, son más propensas a esta enfermedad (Velásquez, Reveles & Reveles, 2013).

Para el manejo de esta enfermedad, se recomienda un enfoque preventivo que priorice la producción de plántulas saludables, la gestión adecuada del riego y la implementación de prácticas culturales (Velásquez, Reveles & Reveles, 2013). Dado que el uso excesivo de agroquímicos presenta efectos adversos y limitaciones, como la pérdida de eficacia y los altos costos, se vuelve crucial su reducción. El control biológico emerge como una alternativa sostenible, eficiente y económicamente viable, ofreciendo una solución integral para mitigar esta problemática de manera más saludable y respetuosa con el ambiente (Castillo-Sanmiguel et. al, 2021).

Se han diseñado productos innovadores para la protección de cultivos agrícolas, destacando el uso del género *Trichoderma* sp. un microorganismo antagonista que ha sido objeto de múltiples investigaciones (Castillo-Sanmiguel et. al, 2021).

1.2.3. *Trichoderma*.

La agricultura contemporánea se ha vuelto altamente dependiente del uso de plaguicidas químicos para el control de organismos fitopatógenos, lo cual ha conducido a la resistencia de las plagas, alteraciones en la diversidad microbiana del suelo y contaminación ambiental. El daño ambiental creciente derivado del uso de estas sustancias químicas ha impulsado la búsqueda de alternativas biológicas. Entre estas alternativas, destaca el uso de *Trichoderma*, un género fúngico de la rizosfera considerado un simbiote oportunista de plantas. *Trichoderma* es capaz de producir elicitores que inducen defensas vegetales contra patógenos e insectos, facilitar la solubilización de fósforo y promover la síntesis de sustancias que favorecen el crecimiento vegetal (Hernández, et. al, 2019).

Las colonias de *Trichoderma* suelen comenzar con un color blanco y, a medida que maduran, se tornan verde oscuro o amarillento, presentando una esporulación abundante. El micelio generalmente es delgado y ralo, y al observarlo bajo un microscopio, se nota fino; los conidióforos están ramificados y se asemejan a un pequeño árbol. Los conidios son esenciales para la continuidad del hongo durante gran parte del período vegetativo de las plantas. Estos conidios son haploides y tienen una pared compuesta de quitina y glucanos. Además de los conidióforos, se pueden formar en fiálides que emergen del micelio. La mayoría de las especies de *Trichoderma* también producen clamidosporas, que pueden ser intercalares o, en algunos casos, terminales. Estas clamidosporas son capaces de soportar condiciones ambientales adversas, actuando como estructuras de supervivencia que permiten al hongo persistir a lo largo del tiempo (Infante, Martínez, Gonzáles & Reyes, 2009).

Las especies de *Trichoderma* se encuentran mayormente en ambientes terrestres como bosques y suelos agrícolas, adaptándose bien a diversas condiciones ecológicas. Poseen bajos requerimientos nutricionales, pero un amplio rango de temperatura óptima para su crecimiento, que se sitúa entre los 25 y 30°C. Además, tienen la capacidad de crecer de manera saprofítica, interactuar con animales y plantas, y prosperar en una variedad de sustratos. Estas características hacen que sean adecuadas para la producción a gran escala con fines agrícolas (Hernández, Ferrera & Alarcón, 2019).

Diferentes especies dentro de este género están estrechamente vinculadas a la rizosfera de las plantas o pueden establecer relaciones endofíticas, lo que les permite promover el crecimiento y desarrollo vegetal. Esto se logra mediante la producción de hormonas vegetales como auxinas y giberelinas, así como la generación de ácidos orgánicos como el glucónico, fumárico y cítrico. Estos ácidos tienen la capacidad de reducir el pH del suelo, lo que facilita la solubilización de fosfatos, magnesio, hierro y manganeso, elementos cruciales para el metabolismo vegetal. Además de estas funciones benéficas, el género *Trichoderma* desempeña un papel fundamental en el control de hongos fitopatógenos, gracias a sus

propiedades micoparasíticas y antibióticas. Algunas de sus especies son consideradas excelentes agentes de control biológico contra los hongos que causan enfermedades en diversas plantas. *Trichoderma* obtiene nutrientes de los hongos que parasita y de materiales orgánicos, facilitando así su descomposición. Por lo tanto, la incorporación de materia orgánica y composta en el suelo favorece su proliferación y actividad (Hernández, Ferrera & Alarcón, 2019).

Las capacidades antagónicas de *Trichoderma* contra los hongos patógenos se sustentan en la activación de múltiples mecanismos. Estos abarcan desde la competencia por recursos y espacio hasta el micoparasitismo, la producción de sustancias antibióticas, la estimulación del crecimiento vegetal y la inducción de respuestas defensivas en las plantas (Hernández, Ferrera & Alarcón, 2019).

Micoparasitismo.

Durante el micoparasitismo, *Trichoderma* sigue un patrón de crecimiento quimiotrópico hacia el hospedante, adhiriéndose a sus hifas, frecuentemente enrollándose en ellas e incluso penetrándolas. La degradación de las paredes celulares del hospedante ocurre en las fases finales del proceso parasitario, debilitando significativamente al fitopatógeno (Infante, Martínez, Gonzáles & Reyes, 2009). *Trichoderma* secreta una variedad de enzimas que descomponen la pared celular de los hongos que ataca. Las proteasas, quitinasas y glucanasas son algunas de las más destacadas, y su acción resulta en la retracción de la membrana plasmática y la desorganización del citoplasma del huésped. Además, estas enzimas tienen la capacidad de inhibir la germinación de esporas y la elongación del tubo germinativo (Hernández, Ferrera & Alarcón, 2019).

Competencia.

La presencia natural de *Trichoderma* en diversos tipos de suelos, incluyendo los agrícolas, forestales y en barbechos, demuestra su versatilidad ecológica y su capacidad para competir de manera efectiva por espacio y recursos nutricionales. Sin embargo, esta capacidad competitiva puede variar entre las diferentes especies de *Trichoderma*. Este hongo está adaptado biológicamente para colonizar los sustratos de forma agresiva y sobrevivir en condiciones adversas, especialmente

en forma de clamidospora. La competencia por nutrientes abarca el nitrógeno, los carbohidratos no estructurales (como azúcares y polisacáridos como almidón, celulosa, quitina, laminarina y pectinas, entre otros) y los microelementos (Infante, Martínez, Gonzáles & Reyes, 2009).

Crecimiento quimiotrófico.

La capacidad de quimiotropismo positivo implica un crecimiento direccional hacia estímulos químicos específicos. Durante la fase de localización del hospedante, se ha observado que *Trichoderma* puede detectar la presencia del patógeno a cierta distancia, lo que activa el crecimiento de sus hifas en dirección al hospedante en respuesta a dicho estímulo químico (Infante, Martínez, Gonzáles & Reyes, 2009).

Actividad lítica.

Durante este proceso, *Trichoderma* excreta una variedad de metabolitos, entre los que se incluyen enzimas como celulasas, glucanasas, lipasas, proteasas y quitinasas, las cuales desempeñan un papel crucial en la ruptura de la pared celular de las hifas del hospedante. A través de los puntos de contacto donde se produce la lisis y se forman orificios, las hifas del micoparásito penetran en las del hongo hospedante y absorben nutrientes del interior del hongo fitopatógeno (Infante, Martínez, Gonzáles & Reyes, 2009).

Trichoderma ha sido identificado como una valiosa fuente de enzimas, que incluyen aquellas aplicables en la industria alimentaria, como celulasas, glucanasas, xilanasas, pectinasas y laminarinasas. Además, varias especies de *Trichoderma* producen metabolitos secundarios de gran relevancia en la agricultura, desde compuestos volátiles hasta no volátiles con propiedades antimicrobianas y de defensa vegetal. Entre estos se destacan los diterpenos tetracíclicos, como el harziandione, los sesquiterpenos como los tricotecenos, tricodermin y harzianum A, y el triterpeno viridin, que confieren a *Trichoderma* su capacidad como agente de biocontrol frente a organismos fitopatógenos. El éxito de *Trichoderma* como biocontrolador radica en su capacidad para sintetizar una amplia gama de compuestos antagónicos, como proteínas, enzimas y antibióticos, así como sustancias promotoras del crecimiento, como vitaminas y hormonas, que benefician

de manera significativa a los cultivos agrícolas (Hernández, Ferrera & Alarcón, 2019).

1.2.4. Hidrogeles.

Los hidrogeles son estructuras poliméricas tridimensionales entrecruzadas, capaces de absorber y retener grandes volúmenes de agua sin disolverse. Tienen la capacidad de absorber grandes cantidades de agua, lo que les permite expandirse significativamente y adquirir una consistencia blanda y elástica. Estas propiedades se deben a su elevada hidrofiliidad, atribuida a la presencia de grupos funcionales solubles en agua, como -OH, -COOH, -CONH- y -SOH, entre otros. Los hidrogeles pueden estar compuestos por polímeros de origen natural o sintético, y su red se estabiliza mediante diferentes tipos de enlaces, tales como covalentes, iónicos, puentes de hidrógeno, fuerzas de Van der Waals o interacciones hidrofóbicas, dependiendo del grado de hidrofiliidad del polímero o del tipo de agente entrecruzante utilizado. (Hernandez *et al.*, 2016; Gonzales, 2007; Ortega *et al.*, 2024)

Los hidrogeles elaborados a partir de polímeros representan una opción altamente prometedora como materiales inteligentes debido a su capacidad para experimentar cambios estructurales y físicos en respuesta a diversas condiciones externas. Estas condiciones incluyen, entre otras, la temperatura, el pH, el campo eléctrico, la presencia de iones o ciertas especies químicas, la fuerza iónica, los componentes del solvente, la radiación electromagnética y/o estímulos fotoeléctricos (Gonzales, 2007).

La presencia de grupos funcionales como ácidos carboxílicos en los geles conlleva a una mayor ionización cuando el pH aumenta. Este proceso incrementa el número de cargas dentro de la red polimérica, lo que genera repulsiones electrostáticas adicionales entre las cadenas del polímero. Como consecuencia, se produce un aumento en la hidrofilia de la red y, por ende, un mayor grado de hinchamiento del material. Por el contrario, en los geles que contienen grupos funcionales como aminas, su ionización se incrementa cuando el pH del medio de hinchamiento

disminuye, lo que resulta en una mayor capacidad de hinchamiento debido a repulsiones electrostáticas adicionales (Gonzales, 2007).

La capacidad de expansión de un hidrogel surge de un equilibrio delicado entre las fuerzas cohesivas y dispersivas presentes en las cadenas poliméricas hidratadas. Estas fuerzas cohesivas se generan principalmente a través de entrecruzamientos covalentes, característicos de los hidrogeles químicos, pero también pueden manifestarse como fuerzas electrostáticas, hidrofóbicas o dipolo-dipolo, propias de los hidrogeles físicos. La transición de fase en estos materiales se ve facilitada por cinco interacciones moleculares esenciales: las fuerzas de Van der Waals, las interacciones hidrofóbicas, las fuerzas electrostáticas, los enlaces de hidrógeno y las transferencias de carga (Gonzales, 2007).

1.2.4.1. Hidrogeles en la agricultura

Diversas estrategias han sido implementadas para el desarrollo de formulaciones basadas en *Trichoderma* spp. a partir de su biomasa fúngica (Martínez *et al.*, 2023). Dichas formulaciones buscan preservar y optimizar el desempeño biológico de los conidios de *Trichoderma* sp., siendo los polvos y granulados las presentaciones más comunes. No obstante, persisten limitaciones en cuanto a la innovación de fórmulas que permitan mejorar la preservación de la actividad biológica, el tiempo de activación, la reducción del número de aplicaciones, la eficiencia en el uso de agua, la tolerancia a la desecación, la estabilidad durante el almacenamiento y transporte así como la liberación dirigida del ingrediente activo en campo, considerando que estos organismos presentan una elevada susceptibilidad a factores abióticos adversos, incluyendo fluctuaciones térmicas y de pH, además de la exposición a radiación solar (Cruz-Barrera *et al.*, 2024; Brondi *et al.*, 2025). Adicionalmente, estas presentaciones suelen presentar baja viabilidad y estabilidad (Løvschall *et al.*, 2024), lo que restringe la capacidad de los microorganismos para establecerse y desplegar su potencial antagónico en el control de fitopatógenos y plagas (Arias-Chavarría *et al.*, 2025).

Por ello, el diseño de formulaciones debe asegurar tanto la protección como el mantenimiento de la viabilidad de los conidios o micelios de los hongos antagónicos,

por ello es fundamental que la formulación se base en materiales de bajo impacto ambiental, que minimicen riesgos ecológicos, favorezcan la colonización y supervivencia del inóculo en la planta hospedera, al mismo tiempo que ofrezcan facilidad de aplicación, garantizando su utilidad y viabilidad tanto en entornos agrícolas como en investigación (Mulatu *et al.*, 2021; Saldaña-Mendoza *et al.*, 2023; Arias-Chavarría *et al.*, 2025; Brondi *et al.*, 2025).

La encapsulación ofrece ventajas significativas, no solo al prolongar la viabilidad del inóculo, sino también al optimizar su acción mediante una liberación sostenida y controlada de los microorganismos, protegiéndolos de procesos de degradación en el suelo y de la acción de otros microorganismos competidores (Brondi *et al.*, 2025).

Los polisacáridos ofrecen una opción ideal para la encapsulación de inóculos, ya que combinan disponibilidad, biocompatibilidad y biodegradabilidad, estas características favorecen su integración en prácticas agrícolas sostenibles sin comprometer la eficacia del inóculo (Brondi *et al.*, 2025).

Diversos polímeros han sido empleados en la encapsulación de compuestos activos (Martínez *et al.*, 2023; Lotfalinezhad *et al.*, 2024) y de agentes de control biológico, entre los que destacan el alginato, el almidón, la pectina, la celulosa, la carragenina, el agar y el quitosano que facilitan una liberación controlada de los microorganismos y favorecen el incremento del rendimiento de los cultivos (Chaudhary & Shukla, 2020; SaberiRiseh *et al.*, 2021; Arias-Chavarría *et al.*, 2025; Brondi *et al.*, 2025).

1.2.4.2. Quitosano

El quitosano, un polisacárido encontrado de manera natural en los caparazones de crustáceos, también forma parte de los exoesqueletos de insectos y está presente en las paredes celulares de diversos hongos, levaduras y algas. Es conocido por ser biodegradable, biocompatible y no tóxico (Rossainz *et al.*, 2017).

El quitosano, producto de la desacetilación parcial de la quitina, es un polisacárido catiónico lineal compuesto de unidades de β -(1-4)-2-desoxi-2-amino-D-glucopiranososa (D-glucosamina) y β -(1-4)-2-desoxi-2-acetamido-D-glucopiranososa (N-acetil-D-glucosamina). Su estructura helicoidal tridimensional se estabiliza

mediante enlaces de hidrógeno entre los monómeros constituyentes (Sánchez *et al.*, 2007).

Propiedades del quitosano útiles en agricultura.

En ambientes ácidos ($\text{pH} < 5,5$), el quitosano desarrolla una carga positiva debido a la protonación del grupo amino de sus unidades de glucosamina, lo que lo hace soluble en agua y le confiere una mayor actividad biocida (Lárez, 2007).

El quitosano, al ser un polielectrolito catiónico cargado positivamente, interactúa electrostáticamente con bacterias cuyas membranas celulares tienen carga negativa, alterando considerablemente las propiedades de barrera de la membrana externa. Se ha propuesto que el complejo polielectrolítico formado bloquea la membrana celular externa, interrumpiendo el flujo normal de nutrientes y desechos, y causando la muerte de las bacterias (Lárez, 2007).

La estructura química del quitosano, caracterizada por la presencia de grupos amino, le permite establecer interacciones con otros compuestos, además de ser capaz de ingresar al sistema vascular de las plantas, donde puede inducir respuestas fisiológicas y activar vías metabólicas relacionadas con la defensa (Saberí *et al.*, 2023).

1.2.4.3. Alcohol polivinílico

El alcohol polivinílico (PVA) es un polímero sintético producido mediante la hidrólisis, ya sea en medio ácido o básico, del acetato de polivinilo (PVAc). Aunque es de origen sintético, el PVA destaca por ser biodegradable y biocompatible, propiedades que lo hacen adecuado para aplicaciones médicas y ambientales. Sus características físicas y químicas, como la solubilidad en agua y la resistencia mecánica, dependen en gran medida de su peso molecular y del grado de hidrólisis (Carhuapoma, 2005).

1.2.4.4. Gelatina

La gelatina es un biopolímero obtenido a partir del colágeno, una proteína estructural predominante en los seres humanos y constituye el componente esencial de la matriz extracelular en múltiples tejidos (Salazar, 2021).

La versatilidad de la gelatina ha sido ampliamente estudiada, destacándose por sus propiedades intrínsecas que facilitan el diseño de múltiples sistemas de transporte, tales como micropartículas, nanopartículas, fibras e hidrogeles. Las fibras de gelatina poseen una alta relación superficie-volumen, lo que las hace ideales para diversas aplicaciones. Por otro lado, los hidrogeles de gelatina tienen la capacidad de retener moléculas en los espacios formados por la reticulación de su estructura polimérica. (Foon *et al.*, 2015).

1.3. Planteamiento del problema

La enfermedad de marchitez en el cultivo de chile, causada por el patógeno *Phytophthora capsici*, representa una amenaza significativa para la industria agrícola y la seguridad alimentaria. Esta patología se caracteriza por la marchitez progresiva de las plantas, que reduce el rendimiento y la calidad de los frutos, la enfermedad comúnmente se origina a partir del agente patógeno presente en el suelo o en plántulas infectadas o por el agua que corre en un área infestada, lo que resulta en pérdidas económicas considerables para los productores y un impacto significativo en la seguridad alimentaria, debido a que el chile es un cultivo ampliamente utilizado.

Lograr un control total de la marchitez en los cultivos de chile representa un desafío considerable, especialmente cuando el patógeno está presente y las condiciones propicias. La aplicación de fungicidas puede contribuir a reducir los diferentes niveles de severidad de la enfermedad, pero no logra un control completo de la misma. Además, es importante tener en cuenta que las aplicaciones de fungicidas tienden a ser menos efectivas una vez que los síntomas de la enfermedad han aparecido.

El efecto de químicos en el ambiente y en la salud aplicadores es importante buscar alternativas que no afecten el medio ambiente y la salud.

Es imperativo abordar la enfermedad de marchitez en el cultivo de chile a través de investigaciones que busquen desarrollar estrategias de control más efectivas para mitigar el impacto de la enfermedad garantizando la seguridad alimentaria y la sostenibilidad de la industria agrícola.

1.4. Justificación

En el combate contra la enfermedad de la marchitez en cultivos de chile, se han implementado diversas estrategias que abarcan tanto soluciones químicas como alternativas más sostenibles. Entre las soluciones químicas, se destacan el uso de fungicidas específicos que buscan controlar la propagación del patógeno causante, sin embargo, la búsqueda de soluciones sostenibles y sistemas de manejo integrado que reduzcan la incidencia de la enfermedad de marchitez y minimicen el uso de agroquímicos representa un reto para la agricultura.

La innovación de polímeros biodegradables como agentes de biocontrol ha surgido como una opción prometedora. Este estudio se enfoca en la formulación y desarrollo de hidrogeles biodegradables con la capacidad de desarrollar *Trichoderma sp.* de manera eficaz, el cual es un hongo conocido por su capacidad de actuar como agente de biocontrol contra patógenos del suelo, además de inducir respuestas de defensa en las plantas hospedantes. Esta alternativa no solo aborda el combate de la enfermedad, sino que también promueve prácticas agrícolas respetuosas con el medio ambiente, mejora la calidad y rendimiento de los cultivos de chile y conlleva a la ventaja adicional de reducir la mano de obra necesaria para aplicar fungicidas, al proporcionar una liberación controlada y prolongada de los agentes beneficiosos en el tiempo, minimizando así la necesidad de aplicaciones frecuentes.

1.5. Hipótesis

Los hidrogeles de quitosano formulados con *Trichoderma* spp. facilitarán la colonización fúngica con la planta, promoviendo su acción biocontroladora frente a *Phytophthora capsici* y asegurando una degradación gradual del material en el ambiente.

1.6. Objetivos

Objetivo general

Desarrollar hidrogeles biodegradables de quitosano con *Trichoderma* sp. para el control de *Phytophthora capsici*.

Objetivos particulares

- Optimizar el proceso de fabricación del hidrogel mediante la modificación de las materias primas (grados de pureza menor) y ajustes en el proceso de secado, al mismo tiempo que incorporar *Trichoderma* spp. como agente activo.
- Caracterizar fisicoquímicamente un granulado que contenga como base quitosano e incluya la incorporación de *Trichoderma* spp.
- Evaluar el control biológico de la marchitez (*Phytophthora capsici*) en plantas de chile (*Capsicum annuum*) mediante la aplicación de *Trichoderma* spp. incorporado en granulados con quitosano.

2. CAPÍTULO

Actividad de bioestimulación y control de cepas de *Trichoderma* sobre plantas de chile y contra *Phytophthora capsici*

2.1. Resumen

El cultivo de chile (*Capsicum annuum*) enfrenta enfermedades como la pudrición de raíz causada por *Phytophthora capsici*. Este estudio evaluó la capacidad benéfica y de biocontrol de *Trichoderma* spp. en chile serrano, considerando su capacidad protectora frente al patógeno. Las cepas se activaron en medio PDA. Se realizaron pruebas *in vitro* de antagonismo y evaluaciones *in planta*. La cepa FUHER destacó por incrementar significativamente la biomasa, por otra parte, la microscopía confocal evidenció interacciones endófitas con las raíces de todas las cepas. Los ensayos de cultivos duales en PDA demostraron inhibición de *P. capsici* por todas las cepas. Finalmente, se calculó la incidencia de la enfermedad y se confirmó el potencial de *Trichoderma* spp. como un agente de biocontrol efectivo y sostenible.

2.2. Introducción

El cultivo de *Capsicum annuum*, comúnmente conocido como chile, es de gran importancia tanto en México como a nivel mundial, debido al uso de sus frutos, ya sean frescos o secos, como condimentos fundamentales. Además, sus frutos son una fuente de colorantes naturales, capsaicinoides y compuestos como el ácido ascórbico, que son utilizados en la fabricación de diversos productos industriales, alimentos en conserva y cosméticos (Montes *et al.*, 2010). El cultivo de chile se enfrenta a la amenaza de diversos microorganismos patógenos durante las diversas fases de producción, desde las plántulas hasta postcosecha, lo que resulta en la disminución de la población de plantas. México se distingue por su elevada diversidad de *C. annuum*, lo que implica numerosos desafíos en los sistemas de producción debido a la variedad de patógenos que afectan a la planta, destacándose el oomiceto *Phytophthora capsici*, responsable de la marchitez del chile. Los síntomas de esta enfermedad incluyen la pudrición de la raíz, tallo y fruto, resultando en la muerte completa de la planta infectada (Quispe *et al.*, 2022), esta

enfermedad es una de las más críticas para el cultivo, pudiendo causar una mortalidad del 40 al 70% de las plantas iniciales. La severidad de la enfermedad se ve incrementada por el monocultivo y las lluvias prolongadas (Velásquez *et al.*, 2013). El uso excesivo de agroquímicos presenta efectos adversos y limitaciones, como la pérdida de eficacia y los altos costos, se vuelve crucial su reducción. Una estrategia eficaz, económica y ecológicamente sostenible a largo plazo para enfrentar este problema es el uso de biocontroladores como *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Streptomyces* (bacterias) y *Trichoderma*. Estos agentes poseen múltiples mecanismos que inhiben y reducen el desarrollo de *P. capsici*, perjudicando la formación de esporangios, la germinación y movilidad de las zoosporas, y el crecimiento del tubo germinativo (Quispe *et al.*, 2022). Entre estas alternativas, destaca el uso de *Trichoderma*, un género fúngico de la rizosfera considerado un simbiote oportunista de plantas. *Trichoderma* es capaz de producir elicitors que inducen defensas vegetales contra patógenos e insectos, facilitar la solubilización de fósforo y promover la síntesis de sustancias que favorecen el crecimiento vegetal. Diferentes especies dentro de este género están estrechamente vinculadas a la rizosfera de las plantas o pueden establecer relaciones endofíticas, lo que les permite promover el crecimiento y desarrollo vegetal. Esto se logra mediante la producción de hormonas vegetales como auxinas y giberelinas, así como la generación de ácidos orgánicos como el glucónico, fumárico y cítrico. Estos ácidos tienen la capacidad de reducir el pH del suelo, el género *Trichoderma* desempeña un papel fundamental en el control de hongos fitopatógenos, gracias a sus propiedades micoparasíticas y antibióticas (Hernández *et al.*, 2019).

Este estudio se centró en el género *Trichoderma* spp. como agente de biocontrol para combatir la marchitez en Chile causada por *P. capsici*, debido a su habilidad para competir con otros microorganismos por recursos como el espacio y nutrientes, además de su capacidad para producir metabolitos secundarios, ejercer efectos antibióticos y estimular la resistencia de la planta contra la enfermedad, adicionalmente se analizó su potencial como bioestimulante en plantas de Chile serrano (*C. annuum*).

2.3. Metodología

2.3.1. Material biológico.

Se utilizó la cepa de *Phytophthora capsici* (PHC), la cual se sembró en medio V8 clarificado durante 5 días a 26°C en condiciones de oscuridad y 5 días a 26°C en luz continua, se inundó la caja con agua destilada estéril y se colocó en refrigeración a 4°C por 30 minutos para la liberación de las zoosporas. Se cuantificó en la cámara Neubauer y se resuspendió en agua destilada estéril a una concentración de 1×10^4 zoosporas mL⁻¹ (López-Gervacio *et al.*, 2025).

Las cepas de *Trichoderma* T22, T7, T18, LE21 y FUHER (*Penicillium verruculosum*), se colocaron en medio papa dextrosa-agar (PDA) durante 7 días a 26°C±2°C, se inundaron las cajas con agua destilada estéril y se cuantificaron en la cámara de Neubauer, se resuspendieron en agua destilada estéril a una concentración de 1×10^6 esporas mL⁻¹.

2.3.2. Material vegetal.

Se emplearon semillas de chile serrano Harris Moran Seed Company, colocadas en semilleros para su germinación en sustrato Sunshine mix.

2.3.3. Control de *P. capsici* in vitro.

Se utilizó el método de cultivo dual, los ensayos de inhibición-antagonismo de crecimiento del patógeno se realizó por triplicado en medio papa dextrosa-agar (PDA) colocando un disco de 5 mm de diámetro del hongo patógeno a 1 centímetro del borde de una placa Petri, en el extremo opuesto de cada placa se colocó un disco de 5 mm de diámetro de cada una de las cepas de *Trichoderma* spp. Las muestras fueron incubadas a 26°C durante 10 días y se registró el diámetro del crecimiento radial a las 72 horas, para verificar el ritmo de crecimiento del antagonista y del patógeno. La capacidad antifúngica se determinó con base en el Porcentaje de inhibición de crecimiento radial del patógeno (PIRGP) de acuerdo con la formula $PIRGP = ((R1-R2) / R) \times 100$ donde R1, es el radio del hongo testigo y R2 es el radio del hongo en la confrontación con los antagonistas (Michel *et al.*, 2019).

2.3.4. Microscopía confocal.

Para determinar la colonización y localización en la raíz de chile de las cepas de *Trichoderma* spp. y FUHER, se tomaron raíces de plántulas de chile después de 7 días de inoculadas con las cepas, las muestras fueron decoloradas con KOH al 10% (p/v), se realizaron lavados con agua destilada estéril, posteriormente se tiñeron con azul de tripano al 0.05% (p/v) y con Uvitex 2B, finalmente se observaron en un microscopio confocal (Diagne *et al.*, 2011).

2.3.5. Efecto de la bioestimulación.

Se utilizaron plantas de chile serrano de 30 días de edad, se trasplantaron en bolsas de plástico con sustrato estéril Sunshine mix. Se realizaron las soluciones de esporas a una concentración de 1×10^6 esporas mL^{-1} de las cepas de *Trichoderma* (T22, T7, T18, LE21) y *P. verrucosum* (FUHER) para inocularlas al momento del trasplante y como control se empleó únicamente agua estéril, se colocaron las raíces en las soluciones preparadas previamente durante 10 minutos. Se llevó a cabo la evaluación de los diferentes tratamientos en el día 49 posterior a la inoculación de *Trichoderma* spp. de los parámetros de desarrollo de la planta, incluyendo altura de la planta (a partir de la base del tallo hasta el meristemo apical), número de hojas y diámetro del tallo. Además, se determinó el índice de clorofila mediante mediciones con el medidor SPAD 502 (SPAD chlorophyll meter).

2.3.6. Efecto de biocontrol.

Se utilizaron plantas de chile serrano de 40 días de edad, se trasplantaron en bolsas de plástico con sustrato estéril Sunshine mix. Se realizaron las soluciones de esporas a una concentración de 1×10^6 esporas mL^{-1} de las cepas de *Trichoderma* spp. (T22, T7, T18, LE21), *P. verrucosum* (FUHER) y como control se empleó únicamente agua estéril para inocular al momento del trasplante, se colocaron las raíces en las soluciones preparadas previamente durante 10 minutos. Se realizó una segunda inoculación después de 10 días con soluciones de esporas con la misma concentración, agregando 5 mL a cada planta; 15 días después de la primera inoculación se realizó una suspensión del patógeno *P. capsici* de 1×10^4 zoosporas mL^{-1} , cada planta fue inoculada con 5 mL de la suspensión.

2.3.7. Análisis estadístico.

Los datos obtenidos durante los experimentos se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) y una comparación de medias por el método de Tukey ($p < 0.05$).

2.4. Resultados y discusión

2.4.1. Control de *P. capsici* in vitro

Se observaron las respuestas de las cepas antagonistas con respecto al patógeno *P. capsici*, a partir de las 72 horas la inhibición fue evidente, con excepción de FUHER, el cual tuvo un crecimiento de 14.97% (Tabla 2.1, Figura 2.1). El día de contacto de las cepas fue al tercer día, con excepción de T22 el cual fue en el segundo día después de la siembra, el patógeno ya no tuvo crecimiento al momento del contacto, este tipo de comportamiento ha sido observado en otros patógenos como *P. parasítica*, *Fusarium oxysporum* y *Alternaria porri* (Michel *et al.*, 2019). Al décimo día se observó la colonización de las cepas antagonistas sobre el patógeno, esto puede atribuirse al micoparasitismo el cual implica un crecimiento quimiotrófico del hongo micoparásito hacia su hospedante estableciendo contacto con sus hifas mediante adhesión, envolviéndolas con frecuencia y, en algunas circunstancias, penetrándolas, además de la competencia por espacio y nutrientes característicos de sus mecanismos de acción (Infante *et al.*, 2009). La inhibición mostró un aumento progresivo con el transcurso del tiempo, atribuible a la destrucción del micelio del patógeno. En algunas interacciones, se detectó una zona de inhibición en crecimiento, relacionada con la velocidad de proliferación del antagonista (Ezziyyani *et al.*, 2004).

Cuadro 2.1 Porcentaje de inhibición del crecimiento radial de patógeno a las 72 h de incubación

Cepa	*Diámetro de PHC	*PIRGP
PHC	3.74±0.181 ^A	-
T22	2.56±0.241 ^B	31.55%
T7	2.7±0.235 ^B	27.81%
T18	3.02±0.327 ^B	19.25%
LE21	2.64±0.594 ^B	29.41%
FUHER	3.18±0.148 ^{AB}	14.97%

*Los valores presentados son medias $\pm$ desviación estándar, los valores con la misma letra son estadísticamente iguales de acuerdo con la prueba de Tukey ($p < 0.05$)

+PHC= *Phytophthora capsici*, PIRGP=Porcentaje de inhibición del crecimiento radial del patógeno

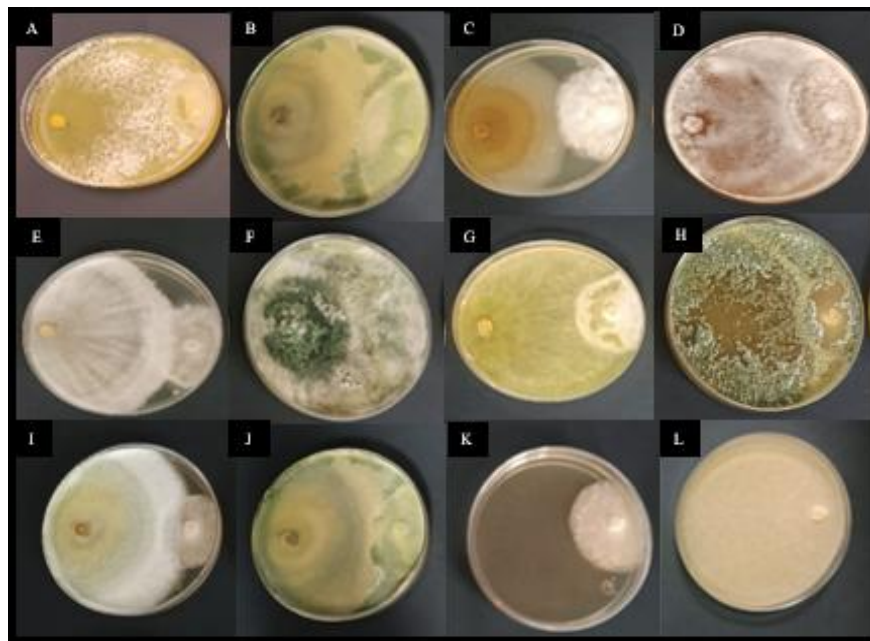


Figura 0.1. Cultivos duales. A) T18+PHC 3 días de crecimiento (ddc); B) T18+PHC 10 ddc; C) FUHER+PHC 3 ddc; D) FUHER+PHC 10 ddc; E) LE21+PHC 3 ddc; F) LE21+PHC 10 ddc; G) T22+PHC 3 ddc; H) T22+PHC 10 ddc; I) T7+PHC 3 ddc; J) T7+PHC 10 ddc; K) PHC 3 ddc; L) PHC 10 ddc

2.4.2. Colonización en raíces

Se observó la colonización de las raíces de las diferentes cepas, con el microscopio confocal se observó la interacción endófito de la cepa FUHER (Figura 2B) y las cepas T7, T18 y T22 de *Trichoderma spp.* con las plantas (Figura 2D-F), presentando un crecimiento micelar intracelular en la raíz, mientras que la cepa LE21 (*Trichoderma spp.*), presentó una interacción epífita en la raíz de la planta (Figura 2C). Algunas especies del género *Trichoderma* se han adaptado a la rizosfera de las plantas, evolucionando como endófitos facultativos con capacidad para colonizar tanto el espacio intercelular como el intracelular de las raíces (Andrade *et al.*, 2023).

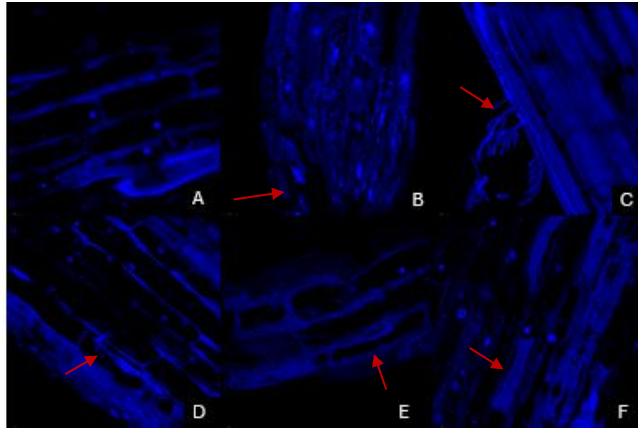


Figura 0.2 Colonización de raíces. A) Raíz de control; B) Raíz con FUHER; C) Raíz con LE21; D) Raíz con T7; E) Raíz con T18; F) Raíz con T22. La flecha indica la presencia del micelio de *Trichoderma* en la raíz.

2.4.3. Efecto de la bioestimulación

Se realizó la inoculación con *Trichoderma* spp. en plantas de chile, 49 días después de la inoculación con el hongo (*ddih*) se observó una mayor altura de plantas en las plantas con las cepas T7, FUHER y T22, aunque T18 también presentó una mayor altura esta no fue significativamente diferente con las plantas testigo.

Por otra parte, las cepas que destacaron por un mayor número de hojas fueron las cepas T22 y FUHER, el diámetro de tallo se mantuvo similar para todos los tratamientos al igual que el índice de clorofila SPAD, estos resultados son similares a los obtenidos por Santana *et al.* (2016), donde a pesar de obtener resultados superiores de medias en las plantas con *Trichoderma*, no encontraron diferencias significativas con respecto al control. Otros estudios en maíz han reportado mayor altura de planta, longitud de raíz y peso seco (Vázquez *et al.*, 2019). El impacto de *Trichoderma* en el sistema radicular sugiere su potencial aplicación como enraizador. En este sentido, se destaca como un promotor del crecimiento vegetal y una opción prometedora para la reducción del uso de fertilizantes químicos en la agricultura (Shida *et al.*, 2020).

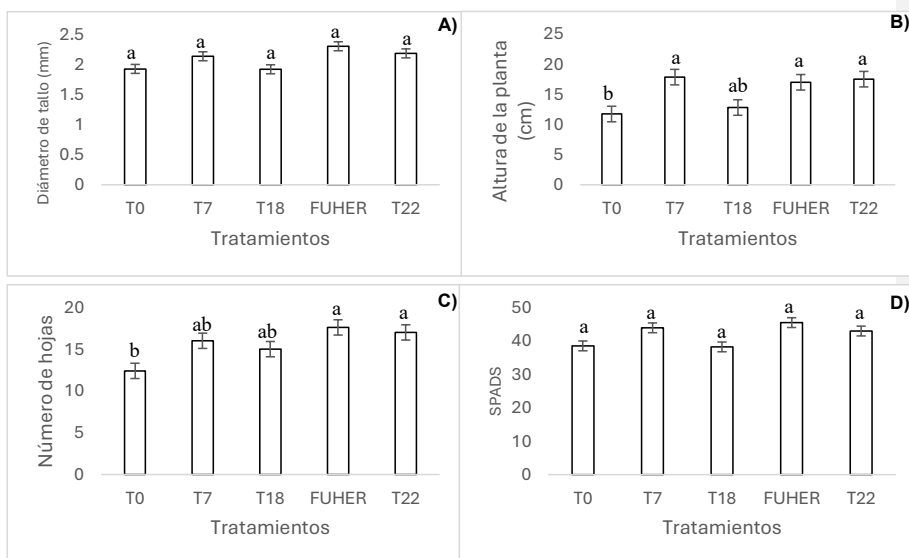


Figura 0.3 Parámetros de desarrollo de la planta de chile (*Capsicum annuum*) en 49 ddi. A) Diámetro de tallo, B) Longitud del área, C) Numero de hojas, D) Índice de clorofila (SPADS)

Cuadro 2.2 Efecto de la bioestimulación de *Trichoderma* spp. en plantas de chile.

Tratamiento	*Peso fresco		*Peso seco	
	Raíz	Área foliar	Raíz	Área foliar
T0	0.060±0.037 ^B	0.694±0.189 ^B	0.015±0.007 ^A	0.065±0.014 ^A
T7	0.136±0.100 ^{AB}	1.044±0.388 ^{AB}	0.062±0.050 ^A	0.126±0.066 ^A
T18	0.070±0.057 ^B	0.808±0.366 ^{AB}	0.028±0.024 ^A	0.091±0.050 ^A
FUHER	0.312±0.202 ^A	1.514±0.472 ^A	0.064±0.031 ^A	0.168±0.079 ^A
T22	0.150±0.098 ^{AB}	1.176±0.423 ^{AB}	0.039±0.024 ^A	0.181±0.128 ^A

*Los valores presentados son medias ± desviación estándar, los valores con la misma letra son estadísticamente iguales de acuerdo con la prueba de Tukey (p<0.05)

Por otra parte, la cepa FUHER obtuvo mayor peso fresco tanto en raíz como en la parte foliar, respecto a las plantas testigo.

2.4.4. Control biológico

Para evaluar la protección al cultivo con las diferentes cepas, 15 días después de las dos inoculaciones con *Trichoderma*, se realizó la infección con *P. capsici*. La enfermedad se evaluó de acuerdo con los síntomas visibles que presentaron mediante un examen visual que se describen en la tabla 3.

Cuadro 2.3 Escala de severidad de la enfermedad.

Grado de severidad	Síntomas
0	Plantas sanas, sin ningún síntoma.
1	Hojas con pérdida de turgencia.
2	Cambio de color de tallo (oscurecimiento), hojas con pérdida de turgencia.
3	Daño en tallo, inicio de pérdida de turgencia en tallo y pérdida de hojas
4	Pérdida de turgencia en tallo, hojas marchitas, pérdida de hojas, daño de cuello avanzado.
5	Planta completa marchita, daño en cuello, planta sin hojas, micelio visible en tallo.



Figura 0.4 Escala de severidad de la enfermedad. A) grado 1, B) grado 2, C) grado 3, D) grado 4, E) grado 5.

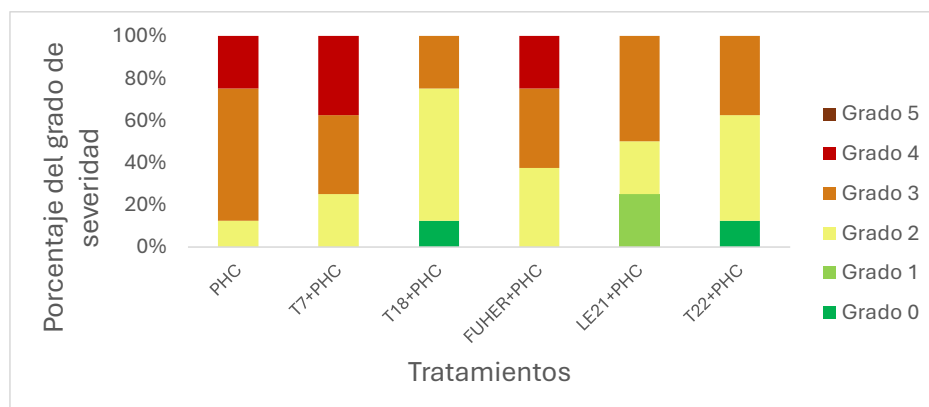


Figura 0.5 Efecto de protección de las diferentes cepas de *Trichoderma* en Chile.

Los resultados obtenidos con las diferentes cepas no presentaron diferencias significativas respecto al control con el patógeno *P. capsici* (PHC), sin embargo, las cepas T18 y T22 lograron tener un 12.5% de plantas sin síntomas, lo que nos indica que pueden llegar a tener una protección de acuerdo con el porcentaje de colonización que tienen las diferentes cepas evaluadas. Cabe resaltar que ambas cepas tuvieron una colonización endófitas en la raíz, estos resultados son similares a los obtenidos por Bae et al (2011), donde las cepas de *Trichoderma sp.* endófitas presentaron una inhibición de *P. capsici*.

2.5. Conclusión

Las cepas evaluadas presentaron un efecto benéfico en el desarrollo de las plantas, destacando la cepa FUHER con un incremento significativamente mayor en biomasa. La microscopía confocal permitió ver la relación endófitas que desarrollaron las cepas evaluadas con las plantas, lo que evidencia su asociación benéfica en las cepas FUHER, T7, T18 y T22, mientras que la cepa LE21 presentó una relación epífita. Por otra parte, en el cultivo dual las cepas lograron inhibir el crecimiento del patógeno y algunas mostraron micoparasitismo. Asimismo, en la evaluación *in planta*, se observó una reducción en la severidad de los síntomas de la enfermedad en las plantas inoculadas con las cepas de *Trichoderma spp.* (T7, T18, T22 y LE21),

así como con la cepa FUHER, estos resultados sugieren que dichas cepas tienen potencial para su estudio y aplicación en estrategias integradas de manejo de enfermedades en cultivos.

2.6. Referencias bibliográficas

1. Andrade, P., Rivera, M., Landero, N., Silvia, H., Martínez, S., & Romero, O. (2023). Beneficios ecológicos y biológicos del hongo cosmopolita *Trichoderma* spp. en la agricultura: una perspectiva en el campo mexicano. *Revista Argentina de Microbiología*, 55(4), 366-377.
2. Bae, H., Roberts, D., Lim, H., Strem, M., Park, S., Melnick, C., & Bailey, B. (2011). Endophytic *Trichoderma* isolates from tropical environments delay disease onset and induce resistance against *Phytophthora capsici* in hot pepper using multiple mechanisms. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 24(3), 336–351.
3. Diagne, N., Escoute, J., Lartaud, M., Verdeil, J., Franche, C., Kane, A., Bogusz, D., Diouf, D., Duponnois, R., & Svistoonoff, S. (2011). Uvitex2B: a rapid and efficient stain for detection of arbuscular mycorrhizal fungi within plant roots. *Mycorrhiza*, 21(4), 315–321. <https://doi.org/10.1007/s00572-010-0357-8>
4. Ezziyyani, M., Pérez, C. S., Ahmed, A. S., Requena, M. E., & Candela, M. E. (2004). *Trichoderma harzianum* como biofungicida para el biocontrol de *Phytophthora capsici* en plantas de pimienta (*Capsicum annuum* L.). *Anales de Biología*, 26, 35-45.
5. Hernández, D., Ferrera, R., & Alarcón, A. (2019). *Trichoderma*: importancia agrícola, biotecnológica, y sistemas de fermentación para producir biomasa y enzimas de interés industrial. *Chilean Journal of Agricultural & Animal Sciences*, 35(1), 84-97.
6. Infante, D., Martínez, B., González, N., & Reyes, Y. (2009). Mecanismos de acción de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos. *Revista de Protección Vegetal*, 24(1), 14-21.

7. López-Gervacio, A. d. J., Qui-Zapata, J. A., Barrera-Martínez, I., Montero-Cortés, M. I., & García-Morales, S. (2025). Selenium Nanoparticles (SeNPs) inhibit the growth and proliferation of reproductive structures in *Phytophthora capsici* by altering cell membrane stability. *Agronomy*, 15(2), 490. <https://doi.org/10.3390/agronomy15020490>
8. Michel, A., Hernández, J., Toledo, R., Sabino, J., & Romero, T. (2019). Capacidad antagónica de *Trichoderma* spp. nativa contra *Phytophthora parasítica* y *Fusarium oxysporum* aislados de cultivos de jamaica. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 42(3), 235-241.
9. Montes, S., López, L. P., Hernández, S., & Ramírez, M. (2010). *Recopilación y análisis de la información existente de las especies del género Capsicum que crecen y se cultivan en México*. Escuela de Agronomía, Universidad Autónoma de Sinaloa (UAS) / SEMARNAT-CONABIO.
10. Quispe, E., Moreira, A., & Garcés, F. (2022). A review about biocontrollers of *Phytophthora capsici* and its impact on *Capsicum* plants: A perspective from outside to inside the plant. *Scientia Agropecuaria*, 13(3), 275-289.
11. Santana, Y., Busto, A., Gonzáles, Y., Aguiar, I., Carrodegua, S., Páez, P., & Díaz, G. (2016). Efecto de *Trichoderma harzianum* Rifai y FitoMas-E® como bioestimulantes de la germinación y crecimiento de plántulas de tomate. *Centro Agrícola*, 43(3), 5-12.
12. Shida, J., Zhihua, L., Bin, L., Yucheng, W., & Jinjie, W. (2020). The effect of *Trichoderma* biofertilizer on the quality of flowering Chinese cabbage and the soil environment. *Scientia Horticulturae*, 262, 109053.
13. Vázquez, J., Gonzáles, C., Chiquito, R., Sangabriel, W., & Alvarado, G. (2019). Evaluation of the biofertilizer potential of five species of *Trichoderma* in the production of native ear corn and hybrid under field conditions. *ITEA-Información Técnica Económica Agraria*, 115(3), 213-218.

14. Velásquez, R., Reveles, R., & Reveles, M. (2013). *Manejo de las principales enfermedades del chile para secado en el norte centro de México* (Folleto técnico Núm. 50). Campo Experimental Zacatecas, CIRNOC-INIFAP.

3. CAPÍTULO

Hidrogeles de gelatina-quitosano-PVA incorporando *Trichoderma* y su caracterización

3.1. Resumen

La utilización de microorganismos como agentes de biocontrol constituye una alternativa a los agroquímicos empleados en la agricultura, siendo *Trichoderma* spp. especialmente destacada por su promoción del desarrollo vegetal y la protección contra patógenos. Sin embargo, las formulaciones comerciales están sujetas a limitaciones, incluyendo una vida útil limitada, susceptibilidad a factores bióticos y abióticos, y el uso de portadores inapropiados. Se ha demostrado que la encapsulación de microorganismos dentro de matrices poliméricas es un método eficaz para protegerlos, al tiempo que sirve como vehículo para la entrega de bioproductos duraderos. La combinación de quitosano, gelatina y alcohol polivinílico ha permitido el desarrollo de hidrogeles con características ventajosas en el sector agrícola. Estos hidrogeles se presentan como sustitutos de la encapsulación de microorganismos de control biológico. En este estudio, los hidrogeles se cargaron con *especies de Trichoderma* mediante un proceso de gelificación inducida por pH por precipitación alcalina utilizando hidróxido de sodio (NaOH). Se realizó una caracterización exhaustiva de los hidrogeles, abarcando su capacidad de absorción de agua a diferentes niveles de pH tanto en ambientes acuáticos como en suelos. El análisis morfológico se realizó mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) y microscopía estereoscópica para determinar la estructura tridimensional. Las interacciones químicas se investigaron mediante la utilización de espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR). La capacidad de degradación de los hidrogeles se evaluó mediante pruebas de enterramiento del suelo, que implicaron el uso tanto de suelo estéril como inoculado. La eficacia de los hidrogeles para proteger las plantas de chile frente a *Phytophthora capsici* fue evaluada mediante ensayos experimentales. Además, la encapsulación de *especies*

de *Trichoderma* resultó en la promoción del crecimiento fúngico tras un periodo de almacenamiento de 10 días a temperatura ambiente. Sin embargo, debe señalarse que las tasas de crecimiento observadas mostraron variabilidad dependiendo de la *cepa específica de Trichoderma* que se encapsulara. En conclusión, el presente estudio demostró que los hidrogeles cargados con *T. viride* (HT18) mostraron la capacidad de inducir resistencia en las plantas de chile frente a *P. capsici*, logrando así una reducción del 100% de los síntomas y promoviendo el desarrollo de la planta. En cambio, los hidrogeles con *T. harzianum* T22 demostraron incapacidad para proporcionar protección. Estos resultados demuestran el posible uso del hidrogel formulado con T18 como portador eficaz, ya que mantiene la viabilidad de las especies de *Trichoderma* y promueve la protección de las plantas de chile frente a la infección por *P. capsici*.

3.2. Introducción

La producción agrícola constituye la base de la alimentación y la agricultura. Las plagas y enfermedades suponen una grave amenaza para la seguridad alimentaria, el comercio y los medios de vida en todo el mundo, provocando pérdidas de hasta el 40% de la producción. La creciente demanda global de alimentos se debe principalmente al crecimiento poblacional, y las proyecciones indican que para el año 2050 la demanda habrá aumentado un 50% (FAO, 2025). Este aumento de la demanda ha provocado una mayor dependencia de agroquímicos para mantener una alta productividad agrícola. Sin embargo, una gran variedad de fitopatógenos del suelo, como el oomiceto *Phytophthora capsici*, agente causal de la marchitez (Montes *et al.*, 2010), supone una grave amenaza para el rendimiento de una gran variedad de cultivos solanáceos y cucurbitáceos, principalmente chiles (*Capsicum* spp.). Este cultivo posee un valor hortícola, económico, medicinal y nutracéutico notable. Sin embargo, es simultáneamente muy susceptible a factores de estrés bióticos y abióticos (Momo *et al.*, 2022). *P. capsici* posee la capacidad de persistir en el suelo durante largos periodos en ausencia de plantas hospedadoras mediante la utilización de oosporas, lo que complica su erradicación y gestión (Velásquez *et al.*, 2013).

Los agroquímicos, especialmente los fungicidas, han desempeñado históricamente un papel fundamental en la preservación del rendimiento de los cultivos. Sin embargo, han surgido preocupaciones sobre su uso excesivo, dadas sus posibles implicaciones para la contaminación ambiental, los riesgos para la salud pública y la aparición de resistencia a los hongos. Además, los efectos perjudiciales sobre organismos no objetivo han impulsado el establecimiento de regulaciones y marcos legales más estrictos que regulan la utilización de compuestos químicos (Kalyabina *et al.*, 2021; Reeves *et al.*, 20219). En consecuencia, los agricultores están explorando métodos alternativos, incluidos enfoques biológicos. Los métodos de control biológico han surgido como una vía prometedora en la búsqueda de ampliar las prácticas de agricultura regenerativa (Ahmed *et al.*, 2014).

En el contexto del cultivo de chile, se ha documentado que varias cepas de *Trichoderma* spp. establecen asociaciones con el sistema radicular, ejerciendo así un efecto protector frente a infecciones por *P. capsici*. Esta protección se ha asociado con bioestimulación, inducción de resistencia y efectos de respuesta sistémica (Bae *et al.*, 2011; Lei *et al.*, 2023), pero también se han utilizado cepas con ambas propiedades (Kim *et al.*, 2010; Martínez-Vela *et al.*, 2025; Zhou *et al.*, 2025). Sin embargo, la producción a gran escala de agroformulaciones basadas en biofungicidas enfrenta desafíos considerables. La formulación de *productos de biocontrol basados en Trichoderma* se enfrenta a varios desafíos técnicos y comerciales debido a la naturaleza viva de los microorganismos. Mantener una alta viabilidad y estabilidad de las esporas durante el almacenamiento y la distribución supone un desafío importante, ya que *las especies de Trichoderma* muestran sensibilidad a factores ambientales como la temperatura, la humedad, los niveles de oxígeno y la exposición a la luz. La selección del tipo de formulación (sólido, líquido o granular) ejerce una influencia considerable en la vida útil, la facilidad de aplicación y el rendimiento en campo, lo que a menudo requiere compromisos entre estabilidad y practicidad (Srivastava *et al.*, 2026). En consecuencia, existe un imperativo para el desarrollo de portadores similares a hidrogeles que faciliten la producción de productos biológicos rentables, naturales y no tóxicos. El empleo de estos portadores mejoraría la eficacia, longevidad y persistencia de los agentes

biológicos. Además, minimizaría los riesgos de producción y protegería a los agentes de los factores de estrés ambiental (van Lenteren *et al.*, 2012).

La encapsulación de *Trichoderma* spp. dentro de hidrogeles podría proporcionar soluciones viables y sostenibles para aplicaciones agrícolas a gran escala. Se ha demostrado que la encapsulación de microorganismos beneficiosos en matrices poliméricas protectoras favorece la viabilidad de los conidios en condiciones ambientales adversas y factores de estrés (Brondi *et al.*, 2022). En la búsqueda de alternativas sostenibles, la gelatina y el quitosano, biopolímeros naturales, junto con el PVA, un biopolímero sintético, han surgido como candidatos prometedores debido a sus beneficios ecológicos y rentabilidad como portadores de agentes de control biológico (Hassan *et al.*, 2017).

La gelatina (gel), una proteína soluble producida por la hidrólisis parcial del colágeno se emplea ampliamente debido a su alta capacidad de retención de agua y su capacidad para formar hidrogeles, emulsionar sistemas y estabilizar macromoléculas (Xu *et al.*, 2025). El quitosano (CTS) es un polisacárido lineal desacetilado derivado de la quitina y compuesto por diferentes cantidades de residuos enlazados (β 1–4) de N-acetil-2 amino-2-desoxi-D-glucosa (glucosamina, GlcN) y 2-amino residuos de 2-desoxi-D-glucosa (N-acetilglucosamina, GlcNAc), que son biodegradables y no tóxicos, han sido objeto de extensa investigación debido a sus propiedades antimicrobianas y su capacidad para promover el crecimiento vegetal. y la capacidad de inducir mecanismos de defensa en plantas (Bakeer, *et al.*, 2016). El alcohol polivinílico (PVA) es un polímero vinílico que se distingue por su solubilidad inherente en agua, su capacidad para formar hidrogeles y su completa biodegradabilidad bajo condiciones que implican consorcios microbianos metabólicamente aclimatados (Bercea *et al.*, 2024). Por el contrario, el quitosano ha demostrado su capacidad para establecer estructuras matriciales junto con otros polímeros, encapsulando así agentes de control biológico para recubrimientos de semillas (Chandrika *et al.*, 2019). Esta propiedad no solo protege a los agentes del estrés, sino que también mejora su eficacia para promover la germinación. Además, se ha demostrado que la aplicación de fertilizantes

recubiertos de quitosano presenta propiedades de liberación controlada y retención de agua (Wu *et al.*, 2008). Por ejemplo, se ha demostrado que el QTS forma perlas mediante gelificación inducida por pH mediante precipitación alcalina usando NaOH 1N, mostrando así control sobre la liberación de agentes bioactivos (Yip *et al.*, 2015).

Se ha documentado el desarrollo de hidrogeles Gel-QTS-PVA para aplicaciones agrícolas. El grupo de trabajo ha desarrollado un hidrogel biodegradable Gel-QTS-PVA, que posee una red polimérica interconectada, altamente entrecruzada, porosa y biodegradable. Esta red exhibe la capacidad de retener biomoléculas y actuar como portadora (López-Velázquez *et al.*, 2019). Es evidente que estos hidrogeles se distinguen por su notable biocompatibilidad, propiedades mecánicas excepcionales y su capacidad para facilitar interacciones celulares, lo que los hace muy adecuados para una amplia gama de aplicaciones que involucran microorganismos y células (Ortega-Sánchez *et al.*, 2024). En consecuencia, se puede postular que la incorporación de microorganismos de control biológico, como *Trichoderma* spp., podría mejorar las propiedades protectoras y la viabilidad de la formulación.

Hasta donde tenemos conocimiento, no existen informes que describan la encapsulación de *Trichoderma* spp. utilizando una mezcla ternaria Gel-QTS-PVA para hidrogel preparada específicamente por inducción de pH de gelificación con hidróxido de sodio (NaOH). El objetivo de este estudio fue doble: primero, evaluar el efecto de incorporar dos cepas de *Trichoderma* en un hidrogel compuesto por Gel-QTS-PVA formado por gelificación inducida por pH sobre sus propiedades fisicoquímicas; y segundo, determinar su eficacia para proteger contra la infección por *Phytophthora capsici* en plántulas de chile serrano en condiciones de invernadero.

3.3. Metodología

3.3.1. Reactivos

Gelatina de grado alimentario (Gelatina, Bloom 290 Duche®, Ciudad de México, México), quitosano de alta densidad de grado alimentario (QTS, America Alimentos, Guadalajara, Jalisco, México), alcohol polivinílico de viscosidad media (PVA, ≤

hidrolisis al 98%, viscosidad media, POCHTECA®, Ciudad de México, México), solución salina tamponada con fosfato (PBS), ácido clorhídrico (HCl, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EE. UU.).

3.3.2. Material biológico

Los hongos encapsulados fueron *Trichoderma harzianum* T22 (T22) y *Trichoderma viride* 18 (T18). *T. harzianum* T22 se obtuvo del producto comercial PHC® T-22® (PHC®, México). *Trichoderma viride* 18 (T18) fue suministrado por el Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, AC. (CIATEJ). La cepa fue seleccionada de una colección de *cepas de Trichoderma* de varias regiones de México por sus efectos inhibitorios contra múltiples hongos patógenos (Martínez-Vela *et al.*, 2025). Las cepas fueron cultivadas en medio de agar de dextrosa papa (PDA) durante un periodo de siete días a una temperatura de $26^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.

Se utilizó una cepa patógena de *Phytophthora capsici* (JAL-M60) de la colección de cepas en CIATEJ, que se siembra en medio clarificado V8 durante cinco días a $26^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ en oscuridad y cinco días a $26^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ en luz continua. El recipiente se llenaba entonces con una solución estéril de agua destilada y se mantenía a una temperatura de refrigeración de 4°C durante 30 minutos, con la intención de facilitar la liberación de zoosporas. La cuantificación se realizó utilizando la cámara de Neubauer, y las muestras se resuspendieron en agua destilada estéril a una concentración de 1×10^4 zoosporas por mililitro (López-Gervacio *et al.*, 2025).

3.3.3. Material vegetal

El experimento utilizó semillas de pimiento serrano var. Camino Real F1 (Harris Moran®, Seed Company, Davis, CA, EE. UU.). Las semillas se colocaron luego en bandejas para germinar en el sustrato (Mezcla nº 3, Sunshine®) con un fotoperiodo de 16/8 horas de luz/oscuridad a $26^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.

3.3.4. Preparación de hidrogel

Mezcla polimérica ternaria: Se prepararon soluciones de quitosano (QTS) al 3% (p/v) y dos polímeros a concentraciones del 2.5% (p/v). El QTS se disolvió en ácido

acético 0.4 M, mientras que los polímeros se disolvieron en agua destilada a 37 °C y 85 °C, respectivamente, removiendo durante 2 horas. La mezcla polimérica se removió a temperatura ambiente durante 1 hora.

Suspensión de esporas: Los hongos encapsulados fueron identificados como *Trichoderma harzianum* T22 (T22) y *Trichoderma viride* 18 (T18). La suspensión de esporas se obtuvo cultivando las cepas de *Trichoderma* en PDA durante siete días a 26°C ± 2°C. Posteriormente, se añadieron 10 mL de agua destilada estéril, las muestras se homogeneizaron y se recuperaron y cuantificaron los conidios utilizando una cámara de Neubauer. La suspensión fue sometida a un proceso de concentración mediante centrifugación a una velocidad de 11,000 g durante 14 minutos (Heraeus Multifuge X3R, Thermo Fisher Scientific). Este procedimiento se llevó a cabo hasta alcanzar una concentración de 1×10⁹ esporas por mililitro.

El proceso de precipitación de Gel-QTS-PVA fue una reacción ácido-base. Las suspensiones de esporas se incorporaron a la mezcla polimérica, que se mantuvo en agitación durante dos horas. A partir de entonces, la suspensión se fue añadiendo gradualmente a una solución acuosa de NaOH de 1.0 N bajo agitación constante hasta que se formaron hidrogeles con morfología esférica o en forma de perla. Las perlas/esferas obtenidas se lavaron con agua destilada hasta alcanzar un pH de 7 (Hernández *et al.*, 2016) y luego se secaron en un horno de convección a 60 °C durante 90 minutos (Yamato, modelo DX402C). Las muestras secas se almacenaron en bolsas al vacío y se mantuvieron a temperatura ambiente para facilitar la caracterización posterior. La nomenclatura asignada a los hidrogeles es la siguiente:

H: Hidrogel sin *Trichoderma*

HT18: Hidrogel encapsulando *T. viride* T18

HT22: Hidrogel encapsulando *T. harzianum* T22

3.3.5. Absorción de agua y sensibilidad al pH.

Se utilizaron hidrogeles secos (secados por convección) y posteriormente se pesaron (15.9 mg). Los hidrogeles se sumergieron en 1 mL de soluciones tampón

de fosfato de sodio 0.1 M a pH 5.0, 6.0 y 7.0; y en agua destilada con pH 6.5. Las muestras se mantuvieron a una temperatura de 28°C durante 24 horas bajo agitación constante (Corning PC-620D) (López-Velázquez *et al.*, 2019), este experimento tuvo tres replicas por tratamiento. Los hidrogeles se extrajeron de las distintas soluciones, se secaron superficialmente con papel filtro y se pesaron (BP121S Sartorius). La absorción total de agua se determinó mediante la siguiente ecuación:

$$AT(\%) = \frac{P_f - P_0}{P_0} (100\%)$$

Donde AT es porcentaje de absorción total de agua; P_0 es peso inicial de la muestra y P_f peso final de la muestra.

3.3.6. Contenido en equilibrio del agua en suelo

Se utilizaron hidrogeles secos (secados por convección) y pesados previamente con una masa de 15.9 mg. Estos hidrogeles se colocaron en 1.5 mL de agua destilada, se mantuvieron a temperatura ambiente, posteriormente se retiraron del líquido a distintos tiempos (1, 3, 6, 12 y 24 horas) en un periodo de 24 h, este procedimiento se realizó por triplicado. Se retiró el exceso de agua con papel filtro y se pesaron. Para realizar el cálculo del contenido de agua en equilibrio (CEE) se utilizó la siguiente ecuación:

$$CEE(\%) = \frac{W_s - W_d}{W_d} (100\%)$$

Donde W_s representa la masa del hidrogel después de distintas duraciones de hidratación y W_d corresponde a la masa de las muestras en estado seco.

3.3.7. Análisis morfológico

Las muestras de hidrogel (HT22 y H) fueron sometidas a análisis mediante microscopía estereoscópica (Leica EZ4 HD Digital Stereo Microscope) y microscopía electrónica de barrido (SEM, JEOL JSM-6010LA). Para el microscopio electrónico de barrido (SEM), las muestras se recubrieron con oro usando un pulverizador catódica (Denton Vacuum Desk IV, LLC) (Cruz-Barrera *et al.*, 2024).

3.3.8. Espectroscopía infrarroja por Transformada de Fourier (FT-IR)

El experimento se llevó a cabo empleando la técnica de reflectancia total atenuada (ATR). Las muestras liofilizadas (designadas como HT22 y H) se colocaron entonces sobre el cristal ATR, que fue meticulosamente limpiado con alcohol isopropílico tras cada lectura. Los espectros se obtuvieron con 24 escaneos, utilizando el software MicroLab del espectrómetro Cary 630 FTIR (Agilent Technologies), generando finalmente el espectro medio (López-Velázquez *et al.*, 2019).

3.3.9. Estudio de degradación mediante técnica de entierro

Esta evaluación se realizó mediante una prueba de enterramiento del suelo en condiciones controladas (Saruchi *et al.*, 2016). Se utilizó sustrato esterilizado (Mix No. 3, Sunshine®) e inoculó con microorganismos (5 mL a una concentración de 2×10^6 UFC mL⁻¹). El sustrato se colocó en recipientes de plástico, mantenido a un nivel de humedad de aproximadamente el 70% mediante riego cada tres días, y posteriormente se colocaron en un invernadero durante un periodo de 28 días. El experimento consistió en la implementación de tres réplicas, cada una compuesta por tres hidrogeles (H y HT22) dentro de un medio de suelo estéril e inoculado, enterrado a una profundidad de 5 centímetros. Las muestras se extrajeron en los días 5, 14, 21 y 28, se lavaron con agua destilada y se analizaron mediante estereoscopia y degradación de hidrogel mediante un análisis de pérdida de peso (López-Velázquez *et al.*, 2019).

El análisis de pérdida de peso implicó la evaluación triplicada de la degradación de las muestras, calculando la razón de pérdida de peso a partir del valor medio del cambio de peso de nueve muestras. La fórmula matemática empleada para calcular la relación de pérdida de peso de las muestras se proporciona mediante la siguiente ecuación (Huang *et al.*, 2018).

$$WL (\%) = \frac{W_f - W_o}{W_o} (100\%)$$

Donde WL: es la pérdida de peso (%); W_o : es el peso inicial de la muestra; W_f : es el peso final de la muestra.

Los hidrogeles fueron examinados mediante microscopía estereoscópica (Leica EZ4 HD Digital Stereo Microscope) a los 5, 14, 21 y 28 días después del inicio del experimento (López-Velázquez *et al.*, 2019).

3.3.10. Efecto de la encapsulación en el crecimiento de *Trichoderma*

El impacto de la encapsulación en la germinación y crecimiento de *Trichoderma* se evaluó 24 horas después del proceso de fabricación. Se utilizaron hidrogeles en forma de perlas, que se sumergieron en 1 mL de agua destilada estéril durante un periodo de 3 horas. Las muestras que fueron sumergidas en agua se colocaron en el centro de placas de Petri que contenían un medio PDA. Las muestras y suspensiones de esporas (T18 y T22) fueron sometidas a una temperatura de incubación de $26^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 10 días, empleando una concentración de 1×10^9 esporas mL^{-1} . Para fines de comparación, se utilizó la misma concentración en las soluciones de esporas libres que se empleó en las esporas encapsuladas. Se realizó un análisis comparativo para evaluar la duración requerida para la germinación y el crecimiento en todos los grupos de tratamiento. (Brondi *et al.*, 2022).

3.3.11. Protección de cultivo

El impacto en la capacidad de biocontrol de las dos cepas de *Trichoderma* fue evaluado en un experimento de invernadero. En este estudio, las cepas se incorporaron en hidrogeles en plántulas de chile serrano (*Capsicum annuum*). El experimento consistió en la utilización de plantas de 30 días de antigüedad, seguida del trasplante de plántulas en bolsas con sustrato estéril (Mezcla nº 3, Sunshine®). Posteriormente, se aplicaron cinco hidrogeles en la base de cada planta. El diseño experimental consistió en una estructura de bloques aleatorizados, con 13 réplicas de los siguientes tratamientos: hidrogel (H), hidrogel con *Trichoderma* T22 (HT22), hidrogel con *Trichoderma* T18 (HT18), solución de esporas a una concentración de 1×10^6 esporas mL^{-1} de las cepas de las especies de *Trichoderma* (T22 y T18), se utilizó agua destilada (O) como control, plantas inoculadas solo con *P. capsici* (PHC) y con hidrogel (H). Diez días después del trasplante, las plantas fueron inoculadas

con *P. capsici* aplicando 5 mililitros de una suspensión de zoosporas (1×10^4 de zoosporas mL^{-1}) (Wang *et al.*, 2013). Finalmente, se evaluaron la incidencia de enfermedades, la altura y el peso fresco de las plántulas, y la viabilidad radicular (López-Velázquez *et al.*, 2019). La gravedad de la enfermedad también se evaluó utilizando una escala desde grado 0 (plantas sanas) hasta grado 5 (plantas muertas) (Martínez-Vela *et al.*, 2025).

La evaluación de la viabilidad radicular se llevó a cabo midiendo la reducción del cloruro de 2,3,5-trifeniltetrazolio (TTC) (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EE. UU.) a 1,3,5-trifenilformazano (TTF) (Luo *et al.*, 2025). Al concluir el experimento, se recogieron tres muestras de raíces, se enjuagaron a fondo con agua destilada y se documentó su peso inicial. Las muestras se sumergieron en una solución de 0.01 M TTC disuelta en un tampón de fosfato de sodio 0.01 M, pH 7, donde se mantuvieron durante 1 hora a 37°C. A partir de este intervalo, la reacción se terminó con la adición de 1 mL de ácido sulfúrico de 1 M. El tejido fue luego macerado con acetato de etilo puro (Sigma-Aldrich) para recuperar el TTF y se midió hasta 10 mL con el mismo disolvente. Posteriormente, el grado de absorción de luz se determinó mediante un espectrofotómetro (Genesys 10UV Termo Spectronic) a una longitud de onda de 485 nanómetros. La viabilidad radicular se obtuvo calculando la intensidad de reducción del TCC (mg g h) = absorbancia de la reducción del TTC / PF h, donde PF es la masa radicular fresca y h el tiempo de incubación.

3.3.12. Análisis estadístico

Los datos obtenidos durante los experimentos fueron sometidos a un análisis unidireccional de varianza (ANOVA) utilizando el software Minitab® 19 (Minitab LLC, State College, PA, EE. UU.) y a una comparación de medias usando el método de Tukey ($p < 0.05$).

3.4. Resultados y discusión

3.4.1. Preparación de hidrogel

El objetivo fue fabricar hidrogeles Gel–QTS–PVA mediante gelificación inducida por pH por precipitación alcalina con 1N NaOH, que sirva como portador para *las especies de Trichoderma*, como estrategia verde para la protección de las plantas de Chile contra el patógeno *Phytophthora capsici*. El hongo encapsulado estaba compuesto por dos cepas distintas: una *cepa comercial de Trichoderma harzianum* T22 (T22) y una cepa de la colección CIATEJ, *Trichoderma viride* 18 (T18).

El procedimiento para obtener los hidrogeles se detalla en la Figura 1. El proceso para obtener el hidrogel fue modificado y simplificado en comparación con el reportado por López-Velázquez *et al* (2019). La precipitación del quitosano (QTS) se logra mediante una reacción ácido-base. En este proceso, la suspensión polimérica acidificada que contiene *Trichoderma* spp. funciona como un sistema donador de protones debido a la presencia de quitosano solubilizado en ácido acético. En presencia de un entorno ácido, los grupos amino ($-NH_2$) del quitosano experimentan un proceso de protonación, mediante el cual aceptan protones (H^+) del ácido acético. Esto da lugar a la conversión de los grupos aminos en grupos amonio cargados positivamente ($-NH_3^+$). Este proceso, conocido como protonación, aumenta la densidad de carga de las cadenas quitosanas, aumentando así su polaridad y solubilidad en agua. La posterior adición de NaOH provoca un aumento del pH del medio de reacción (aproximadamente 7.5), lo que conduce a la desprotonación y neutralización de los grupos amonio. En consecuencia, la solubilidad del quitosano se reduce, lo que conduce a su precipitación. Esto, a su vez, promueve la formación de hidrogeles estables en forma de esferas (perlas) que encapsulan físicamente a *Trichoderma* spp. (Yip *et al.*, 2015). Los hidrogeles hidratados (húmedos), carentes de componentes fúngicos, exhibían una morfología esférica y un tono amarillo ligeramente transparente, mientras que los hidrogeles que contenían el *T. harzianum* encapsulado T22 también manifestaban una morfología esférica y una coloración marrón.

En consecuencia, los hidrogeles húmedos pasaron por un proceso de secado por convección, lo que resultó en la formación de hidrogeles secos. Tras el proceso de secado, se observó una disminución sustancial en el tamaño, acompañada de una transición de tonalidades y un aumento de rigidez, resultado de la pérdida de agua. Se ha observado que el secado por convección, que utiliza aire caliente, altera la estructura y las propiedades mecánicas de los hidrogeles en mayor medida que el secado por liofilización. Esto provoca variaciones en las propiedades fisicoquímicas del hidrogel y, sobre todo, en la actividad protectora de *las especies de Trichoderma* (hinchazón, permeabilidad y estabilidad general del material) (Dalmau *et al.*, 2017; Álvarez-Castillo *et al.*, 2021). Se ha reportado que el método de secado por convección induce alteraciones en la configuración tridimensional de la red polimérica dentro del hidrogel durante el proceso de eliminación de agua. En estado hidratado, se produce un aumento en los enlaces de hidrógeno y el entrelazamiento de cadenas poliméricas, lo que resulta en una estructura más expandida que sufre un colapso más drástico cuando se pierde agua durante el secado por convección (Krastev *et al.*, 2025). Los hidrogeles liofilizados poseen una estructura más porosa, que modifica la liberación de compuestos cargados y la absorción de agua (Simoni *et al.*, 2017). Una comparación del proceso de preparación de López-Velázquez *et al.* (2019) con el reportado en este trabajo de investigación revela una reducción en el número de pasos del procedimiento, con la eliminación de ciclos de congelación/deshielo, doble liofilización y uso de xileno. Esta optimización del proceso de preparación promueve vías verdes para la preparación de hidrogeles basados en Gel-QTS-PVA para uso agrícola.

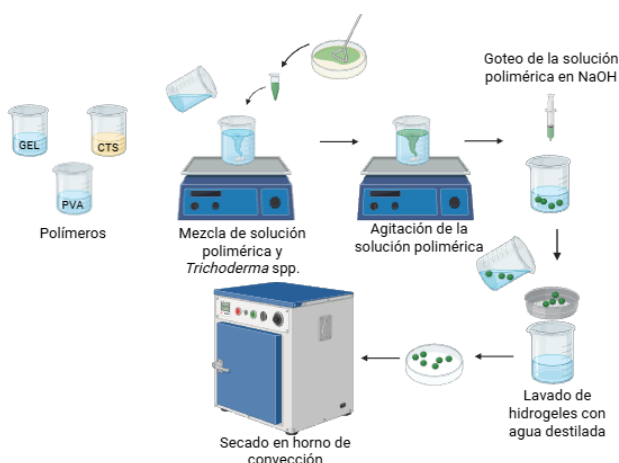


Figura 0.1 . Proceso para obtener hidrogeles con especies de *Trichoderma* creado en BioRender. Qui-Zapata, J. (2026) <https://BioRender.com/hwv95wn> Absorción de agua y estudio de sensibilidad de pH.

Dado que las propiedades fisicoquímicas de los hidrogeles obtenidos están determinadas principalmente por la composición del polímero y el método de gelificación (Alves *et al.*, 2025), solo los hidrogeles cargados con *T. harzianum* T22 (HT22) fueron caracterizados fisicoquímicamente. Se realizó un ensayo de protección de cultivos en el que se prepararon y utilizaron hidrogeles cargados con *T. viride* 18 (HT18) con el fin de comparar los efectos biológicos de hidrogeles cargados con *T. harzianum* T22 (HT22).

3.4.2. Estudio de absorción de agua y sensibilidad al pH.

La calidad del agua de riego constituye un factor fundamental en el cultivo de cultivos. El pH es un parámetro principal en este sentido, ya que sirve como indicador de la acidez, neutralidad o alcalinidad del agua, lo que a su vez afecta al rendimiento de los cultivos. Además, se ha demostrado que el pH del agua de riego para cultivos de chile influye en la capacidad de absorción de agua de los hidrogeles, lo cual se refleja en la inflamación (López-Velázquez *et al.*, 2019). La absorción de agua de los hidrogeles se evaluó mediante una medición meticulosa

de la cantidad de líquido absorbida por el material hasta la saturación, conocida también como equilibrio de hinchazón.

Los hidrogeles mostraron discrepancias en su capacidad de absorción de agua entre el hidrogel desprovisto de microorganismos (H) y los que incorporan *Trichoderma harzianum* T22 (HT22), junto con un impacto sustancial en el pH del medio (Fig. 3.2). El tratamiento con H mostró diferencias estadísticamente significativas en comparación con el control en pH 5 y 6, un comportamiento que contrasta con el reportado por López-Velázquez *et al.* (2019). En el caso de HT22, no se observaron diferencias significativas entre los diferentes rangos de pH evaluados y el control; sin embargo, se detectaron diferencias en comparación con H. Estos resultados sugieren que la estructura hidrogel responde significativamente a las variaciones del pH, modificando su capacidad de retención de agua como resultado del gradiente de concentración iónica entre el interior de la matriz polimérica y el medio de hinchazón (Becerra-Bracamontes *et al.*, 2009). Durante el proceso de hinchazón, la difusión de las moléculas de agua comienza desde la superficie de la red polimérica hacia su interior (Tran Vo *et al.*, 2022). El grado de inflamación del hidrogel es directamente proporcional a la fuerza iónica del entorno. En el contexto de condiciones de pH ácido, los grupos amino del quitosano sufren protonación (NH_3^+), aumentando así las repulsiones electrostáticas generadas por los grupos iónicos. Este fenómeno tiene el potencial de aumentar la hidrofilia de la matriz, promoviendo así la expansión estructural (Tran Vo *et al.*, 2022).

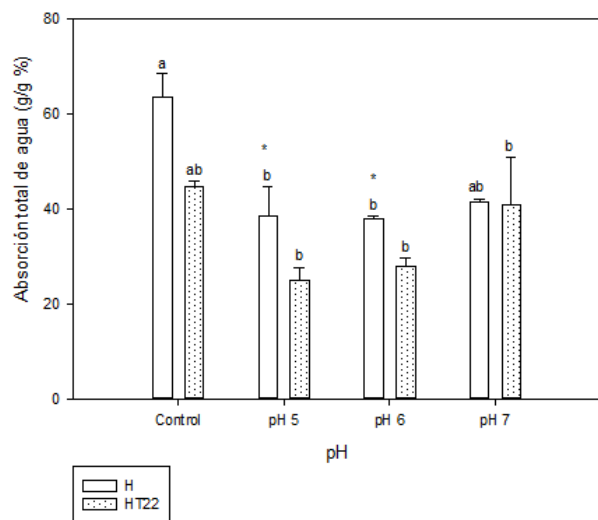


Figura 0.2 Índices de hinchamiento del hidrogel con *Trichoderma* spp. (HT) y sin hongo (H) a diferentes valores de pH. Los valores con la misma letra son estadísticamente iguales según la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

3.4.3. Contenido del equilibrio hídrico en suelo

El contenido de equilibrio de agua en el suelo se identificó como un factor crítico en un hidrogel destinado a aplicaciones agrícolas, dado su impacto en la capacidad del gel para absorber riego y lluvias a través de su red de polímeros (Tran Vo *et al.*, 2022).

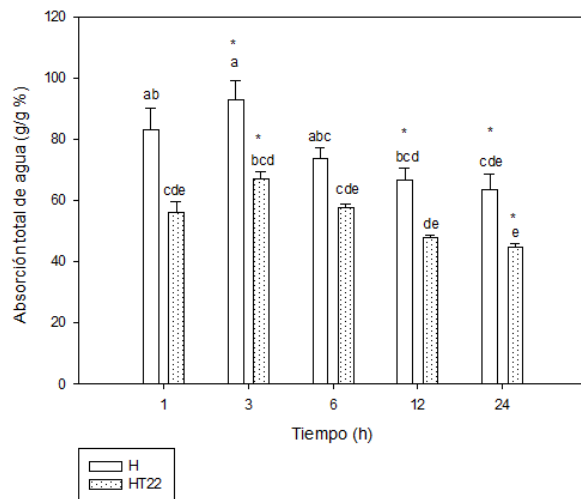


Figura 0.3 Contenido hídrico de equilibrio del hidrogel con *Trichoderma harzianum* T22 (HT22) y sin hongo (H) en el suelo. Los valores con la misma letra son estadísticamente iguales según la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

El porcentaje de hinchazón de los hidrogeles en el suelo mostró diferencias estadísticas entre el hidrogel solo (H) y el hidrogel con *Trichoderma harzianum* T22 (HT22) añadido (Figura 3.3). Para H, se observó una mayor absorción en el rango de 1 a 3 horas, seguida de una disminución gradual significativa del volumen de 12 horas a 24 horas. Para HT22, se observó una diferencia significativa en el periodo de 3 horas respecto a la absorción de 24 horas, además de diferencias significativas respecto a H en el punto de tiempo de 3 horas. Este fenómeno guarda semejanza con las observaciones reportadas por López-Velázquez *et al.* (2019) y Estrella (2015), que lo atribuyeron al fenómeno del "overshooting". Dicho fenómeno se caracteriza por una absorción inicial rápida y alta, que posteriormente disminuye

gradualmente hasta alcanzar un estado de equilibrio, debido a la redistribución interna del agua a medida que el sistema se estabiliza (Yin *et al.*, 2008).

Los grupos amino libres presentes dentro de la red polimérica generan repulsiones electrostáticas entre las cadenas poliméricas, facilitando así un proceso de hinchazón más rápido. Las interacciones electrostáticas iniciadas por los grupos funcionales provocan la expansión del hidrogel hasta alcanzar el equilibrio (Tran Vo *et al.*, 2022).

3.4.4. Análisis morfológico

Las variedades en la morfología estructural entre hidrogeles con (HT22) y sin *T. harzianum* (H) quedaron confirmadas por las imágenes del SEM. Se emplearon una serie de aumentos para facilitar un examen exhaustivo de las perlas liofilizadas, con el objetivo de esclarecer sus configuraciones estructurales externas e internas.

En las micrografías obtenidas mediante microscopía electrónica de barrido (MEB), se observó una superficie irregular y aglomerada sin poros (Fig. 3.4 A-B) para ambos hidrogeles (H y HT22), sin embargo, en la superficie de los hidrogeles HT22 se observan esporas teniendo una forma esférica característica de ellas, el promedio del diámetro se realizó utilizando el programa In Touch Scope versión 1.09, obteniendo como resultado un promedio de $3.35 \pm 0.37 \mu\text{m}$, esto es mayor al promedio de $2.14 \pm 0.22 \mu\text{m}$ reportado por Brondi *et al.* (2022), esta diferencia se puede atribuir a la mezcla polimérica que está cubriendo la superficie de las esporas. Las morfologías irregulares observadas tras el secado por convección pueden atribuirse a gradientes de humedad y al colapso de la red polimérica. Estos fenómenos se previenen principalmente por la liofilización (Yin *et al.*, 2008). Brondi *et al.* (2022) obtuvieron resultados análogos en la superficie de hidrogeles utilizando un proceso de secado por horno por convección (28°C). Como indica el estudio de Bocourt *et al.* (2008), se ha demostrado que los hidrogeles liofilizados poseen una mayor porosidad en comparación con los hidrogeles secos al sol. Esta observación indica que el método de secado impacta significativamente en la morfología y porosidad de los hidrogeles. Sin embargo, no se observó la presencia de esporas

incrustadas. No obstante, los resultados del ensayo de viabilidad demostraron la presencia de *especies de Trichoderma* en el hidrogel.

Además, los hidrogeles se observaron mediante un microscopio estereoscópico con un aumento de 20X. Los hidrogeles formados (estado húmedo) presentaban una forma esférica con dimensiones de 2.50 mm de diámetro y un color uniforme, ligeramente amarillento, en los hidrogeles sin hongo (H) (Fig. 3.4-C). En cambio, los hidrogeles que contenían *Trichoderma harzianum* (HT22) mostraron una forma irregular y un tono más oscuro, atribuible a la incorporación de las esporas fúngicas (Fig. 3.4-D), lo que confirma la eficacia del proceso de encapsulación.

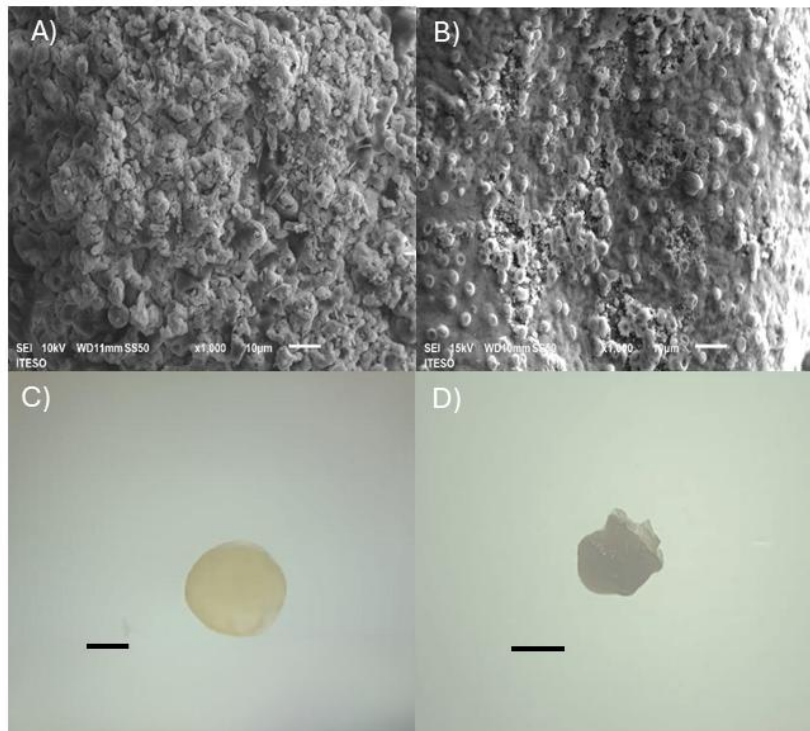


Figura 0.4 Morfología de los hidrogeles. Imágenes MEB: H: Hidrogel a 1,000X, B) HT22: Hidrogel a 1,000X con *Trichoderma harzianum* (1×10^6 esporas) Imágenes estereoscópicas: C) H: Hidrogel sin *Trichoderma* a 20X, D) HT22: Hidrogel con *T. harzianum* (1×10^9 esporas) a 20X.

3.4.5. Espectroscopía infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR)

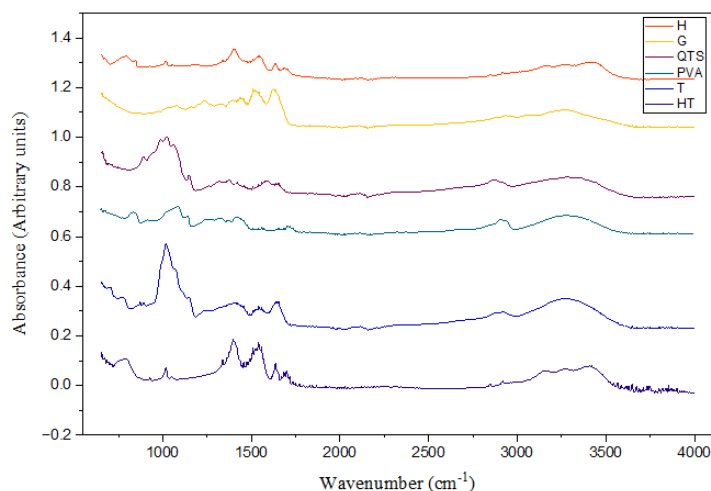


Figura 0.5 Espectros FTIR del hidrogel (H), hidrogel con *Trichoderma harzianum* (HT22), gelatina (G), alcohol polivinílico (PVA), quitosano (QTS) y *Trichoderma harzianum* (T22).

Los espectros FTIR fueron sometidos a un análisis riguroso para dilucidar las interacciones químicas entre los polímeros de los hidrogeles (H y HT22). Se utilizaron los espectros de los polímeros prístinos (Gel, QTS y PVA) como controles y se compararon con los de los hidrogeles. Los espectros FTIR se describieron en la región de 4,000–600 cm^{-1} .

El espectro IR en gel (Figura 3.5) mostró los siguientes picos: 1,000–950 cm^{-1} (amida III: estiramiento esquelético) y 1435 cm^{-1} (amida II: Se han identificado los siguientes picos: curvatura de CH_2 a 1,250 cm^{-1} , amida III: curvatura N–H a 1,100 cm^{-1} , amida III: estiramiento C–O a 1,625 cm^{-1} , y acoplamiento de estiramiento/hidrógeno C=O con COO a 1,625 cm^{-1} (Ortega-Sánchez *et al.*, 2024).

El análisis de los espectros QTS reveló que el pico amino (–NH) se situaba en el rango de 1,550 a 1,570 cm^{-1} , mientras que el pico carboxilo (C=O) estaba situado aproximadamente en 1,650 cm^{-1} . Las bandas características de los sacáridos quitosanos se encuentran entre 890 y 1,150 cm^{-1} , mientras que los grupos aminos se encuentran en 1,680 cm^{-1} (Carhuapoma *et al.*, 2005). Por el contrario, las bandas

dentro del rango de 3,500 a 3,200 cm^{-1} se atribuyen a la banda amida A y a la banda amida B en 3,080 cm^{-1} , que son grupos significativos dentro de la estructura de la gelatina (Skopinska-Wisniewska *et al.*, 2021).

Los espectros de PVA mostraron picos de 915 cm^{-1} (balanceo CH_2) y 820 cm^{-1} (estiramiento C-C), así como 820 cm^{-1} , 1085 cm^{-1} (estiramiento C-O y flexión O-H). Se identificaron las siguientes vibraciones: 1350 cm^{-1} (tijera O-H, balanceo con C-H, balanceo) y 1,400 cm^{-1} (flexión CH_2) (Ortega-Sánchez *et al.*, 2024).

El polvo liofilizado de *T. harzianum* exhibía las principales bandas de absorción infrarroja características de lípidos, proteínas y fosfatos. El rango de longitudes de onda entre 600 y 4,000 cm^{-1} abarca un amplio espectro de compuestos moleculares, incluyendo, pero no limitado a, ácidos grasos (lípidos), proteínas y péptidos (amidas), y carbohidratos (polisacáridos presentes en la pared celular). Se observaron picos de mayor absorción en ~880, ~1,050 y ~1,100 cm^{-1} . Estos picos corresponden a vibraciones de lípidos, amida I y amida II, ácidos nucleicos, ribosa y glucógeno, respectivamente (Fantin *et al.*, 2022).

Los espectros FTIR de los hidrogeles liofilizados cargados con *Trichoderma* y sin las esporas reflejaban estructuras químicas similares, solapándose en la mayoría de las regiones debido a la alta similitud intrínseca entre ellos. Por consiguiente, distinguir entre ellos mediante métodos rudimentarios resultó complicado. La presencia de enlaces -OH de la interacción entre quitosano y alcohol polivinílico se revela por los espectros en el rango de 3,000-3,500 cm^{-1} , asociados a enlaces de hidrógeno. Los grupos funcionales del quitosano interactúan con los del PVA a través de enlaces de hidrógeno entre los grupos $-\text{NH}_2$ y $-\text{OH}$ del quitosano con los grupos $-\text{OH}$ del PVA, manteniendo ambas cadenas cercanas (Bocourt *et al.*, 2008; Enoch *et al.*, 2023). La banda observada entre 3,000 y 2,800 cm^{-1} se atribuye al estiramiento de los grupos alcanos $-\text{CH}$, mientras que la banda de 1680 cm^{-1} corresponde a los enlaces $\text{C}=\text{O}$ del grupo acetato. Los picos observados en 1,550 cm^{-1} y 1,460 cm^{-1} se atribuyen a la ionización de los grupos amino primarios (Enoch *et al.*, 2023).

3.4.6. Estudio de degradación mediante técnica de entierro

Las muestras se enterraron a una profundidad de 5 centímetros y se colocaron en recipientes con sustrato esterilizado por autoclave (degradabilidad). Como se ilustra en la Figura 3.6, la superficie de la esfera sufre una transformación con el tiempo, volviéndose más irregular en la superficie, con manchas marrones y un tono amarillento general. Estos cambios indican una degradación en la matriz polimérica.

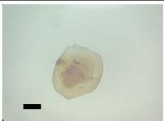
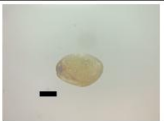
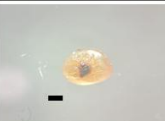
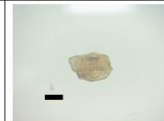
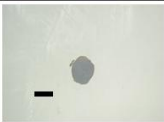
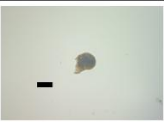
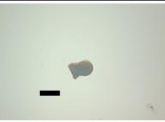
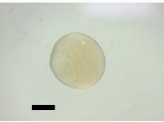
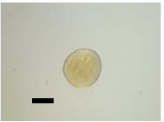
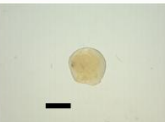
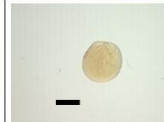
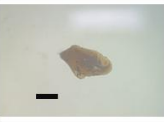
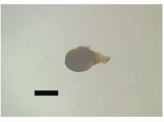
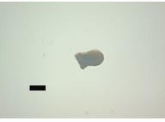
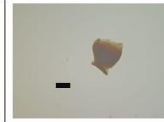
Tratamiento		Día 5	Día 14	Día 21	Día 28
Degradación	HS				
	HT22S				
Biodegradación	HI				
	HT22I				

Figura 0.6 Fotografías de microscopio estereoscópico de hidrogeles biodegradados utilizando el método de enterramiento del suelo. HS (hidrogel) y HT22S (hidrogel con *Trichoderma*) en suelo estéril; HI (hidrogel) y HT22I (hidrogel con *Trichoderma*) en suelo inoculado. La barra corresponde a 1 mm.

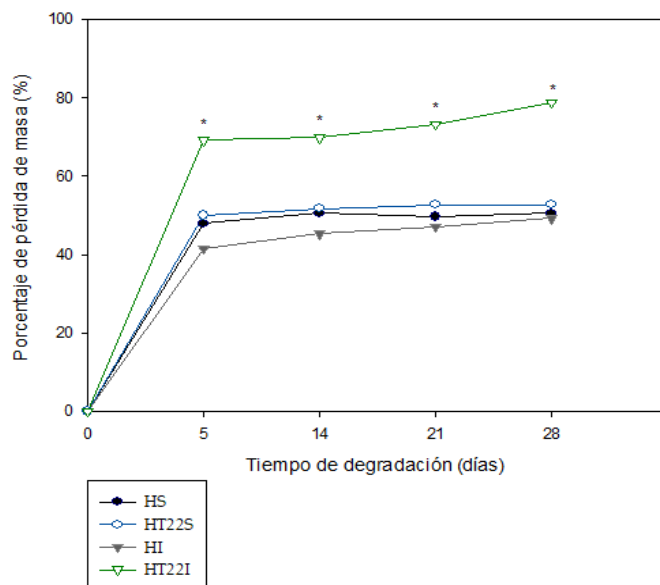


Figura 0.7 Estudios de biodegradación: H (hidrogel) y HT (hidrogel con *Trichoderma* spp.) en suelo estéril; HI (hidrogel) y HTI (hidrogel con *Trichoderma* spp.) en suelo inoculado. * representa diferencias estadísticamente significativas según la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

Se observó una reducción en la masa de los hidrogeles a medida que aumentaban los días de exposición al suelo. Los hidrogeles que incorporaban *Trichoderma* spp. mostraron una mayor pérdida de masa en comparación con los hidrogeles sin elementos fúngicos. Además, en suelos inoculados con microorganismos, se observó una diferencia significativa en el peso registrado de HT22I en comparación con otros tratamientos. López-Velázquez *et al.* (2019) informaron que la carga bacteriana del suelo está asociada con la degradación de hidrogeles, lo que indica que la presencia de microorganismos puede acelerar este proceso. Se ha documentado que las alteraciones en el entorno físico y biológico del suelo pueden afectar la actividad y eficiencia de microorganismos beneficiosos y agentes de biocontrol dentro del microbioma del suelo, así como sus interacciones con las

plantas (Gavilanes *et al.*, 2021). Además, se ha documentado que los hidrogeles compuestos por poliacrilamida, un polímero sintético, presentan una degradación mínima en el suelo cuando se usan como material independiente. Sin embargo, cuando se incorpora quitosano a la formulación, los hidrogeles sufren degradación en el suelo en presencia de enzimas producidas por hongos como *Trichoderma viride* (Silva *et al.*, 2014). Se plantea la hipótesis de que la rápida y efectiva degradación de HT22I cuando *Trichoderma* está presente en el hidrogel y un microbioma podría estar activando la germinación del hongo, así como su mecanismo enzimático, además de acelerar la degradación del hidrogel HT22I en comparación con otros tratamientos.

3.4.7. Efecto de la encapsulación en el crecimiento de *Trichoderma*

El presente estudio se llevó a cabo con el objetivo de evaluar el efecto de la encapsulación de hidrogel en la germinación y crecimiento de las esporas de *Trichoderma*. Con este fin, los tiempos de germinación y desarrollo micelial de esporas recientemente recuperadas (libres; T22, T18) se compararon con los encapsulados en la matriz polimérica (HT22, HT18). La proliferación de esporas libres en el medio PDA se observó a partir del tercer día, consistente con el hidrogel HT22; por el contrario, los hidrogeles HT18 mostraron crecimiento hasta el quinto día (Fig. 3.8). Estos resultados sugieren que la viabilidad de las esporas de *Trichoderma* spp. se mantiene tras el proceso de encapsulación, aunque con diferentes tasas de crecimiento según la cepa encapsulada. La disminución en la tasa de crecimiento microbiano podría estar asociada a la disponibilidad limitada de agua dentro de la matriz polimérica, así como a su estructura compacta, que podría dificultar la distribución de las esporas (Brondi *et al.*, 2022). Alternativamente, este fenómeno podría estar asociado con la inducción de un estado de latencia de esporas tras el proceso de secado. La latencia se caracteriza como una condición de inactividad fisiológica resultante de una reducción significativa de la humedad y la temperatura. Esto permite la supervivencia prolongada de las esporas deshidratadas y su posterior reactivación en presencia de agua y nutrientes (Wang *et al.*, 2023). En el contexto de la encapsulación de esporas de *Trichoderma*, Dogaru *et al.* (2021) observaron que el crecimiento de esporas en el medio de cultivo solo

era evidente tras un periodo de siete días, un hallazgo atribuido a la encapsulación dentro de una matriz nanocompuesta basada en gelatina. Este componente también está presente en la formulación utilizada en el presente estudio.

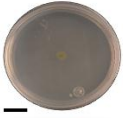
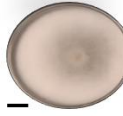
	Esporas libres T22	Esporas libres T18	HT22	HT18
D0				
D3				
D5				
D10				

Figura 0.8 Crecimiento en medio PDA de esporas libres y encapsuladas. Las letras D representan los días posteriores a la siembra de los microorganismos; HT22 y HT18 son hidrogeles con cepas de *Trichoderma*. La barra corresponde a 1 cm.

3.4.8. Protección de cultivos

El presente estudio se llevó a cabo con el objetivo de evaluar el efecto de la encapsulación de esporas de *Trichoderma* sobre la capacidad de controlar la infección por *Phytophthora capsici* en plántulas de chile. Los resultados de los parámetros de crecimiento de las plantas, la incidencia de enfermedades y la viabilidad radicular se presentan en la Tabla 3.1; el efecto sobre la protección de plantas y raíces se presenta en la Figura 3.9 Se observaron diferencias estadísticamente significativas en los parámetros de crecimiento respecto al tratamiento de la PHC. Estas diferencias se observaron específicamente en la altura

de la planta para los tratamientos T22, H y HT18, y en el peso fresco solo para el tratamiento HT18.

Cuadro 3.1 Parámetros de crecimiento de la planta, incidencia y daño radicular al final del experimento.

Tratamiento	Altura de la planta	Peso fresco	Incidencia	Viabilidad de las raíces
	(cm)	(g)	(%)	(mg g ⁻¹ h)
T0	31.92±6.11 ^{AB}	0.552±0.1647 ^B	0%	0.907±0.536 ^A
PHC	23.35±7.22 ^C	0.442±0.355 ^B	46%	0.367±0.202 ^A
T18+PHC	27.58±6.13 ^{BC}	0.596±0.268 ^B	31%	0.978±0.115 ^A
T22+PHC	31.77±7.47 ^B	1.094±0.471 ^{AB}	8%	0.656±0.354 ^A
H+PHC	32.77±8.31 ^A	0.993±0.381 ^{AB}	15%	0.419±0.268 ^A
HT18+PHC	31.85±5.77 ^B	1.350±0.529 ^A	0%	0.779±0.421 ^A
HT22+PHC	23.77±7.32 ^{BC}	0.729±0.704 ^{AB}	54%	0.715±0.360 ^A

T0: control de plantas; PHC: plantas inoculadas con P. capsici; T22: plantas inoculadas con solución de esporas de T22; T18: plantas inoculadas con solución de esporas de T18; H: plantas con hidrogeles; HT22: plantas con hidrogeles + T22; HT18: plantas con hidrogeles + T18. Los valores con diferentes letras muestran diferencias estadísticamente significativas según la prueba de Tukey (p<0.05).

En cuanto a la incidencia de enfermedades y su impacto en la protección de las plantas, la utilización de esporas de *Trichoderma* no encapsuladas en la base de la planta mostró un efecto protector variable. El tratamiento T18 resultó en una reducción del 23% en la incidencia (véase la Figura 3.9D), mientras que la T22 logró una reducción del 83% (véase Figura 3.9C). Por el contrario, cuando las esporas se aplicaron encapsuladas en hidrogel, se observó un comportamiento diferencial. El

tratamiento HT18 proporcionó una protección del 100% de las plantas (Figura 3.9F), mientras que HT22 no mostró ningún efecto protector (Figura 3.9G).

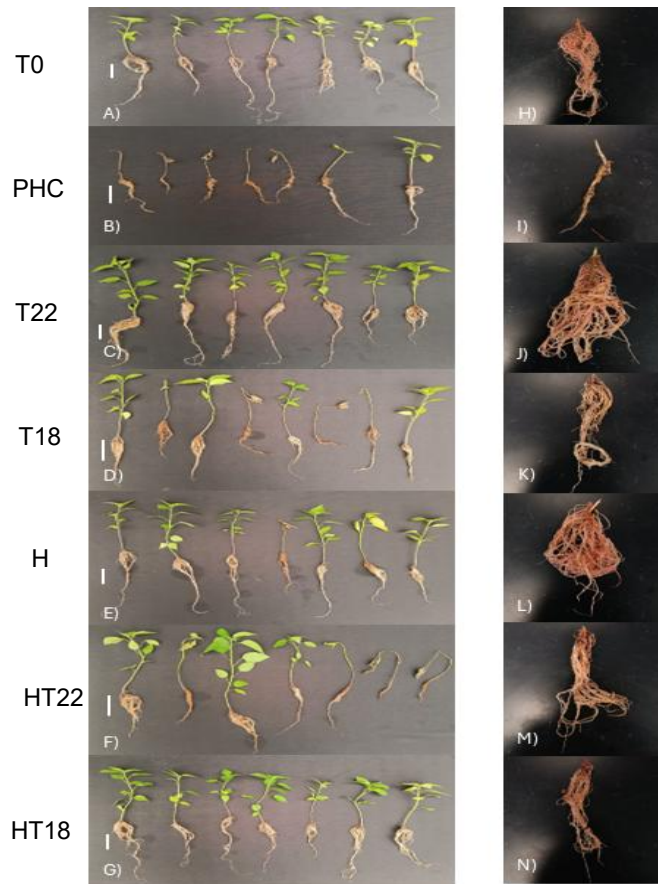


Figura 0.9 Efecto de los hidrogeles en la protección de los cultivos: A) T0: plantas de control; B) PHC: plantas inoculadas con *P. capsici*; C) T22: plantas inoculadas con solución de esporas de T22; D) T18: plantas inoculadas con solución de esporas de T18; E) H: plantas con hidrogeles; F) HT22: plantas con hidrogeles + T22; G) HT18: plantas con hidrogeles + T18. La barra corresponde a 5 cm.

Estos resultados contrastan con los reportados por López-Velázquez *et al.* (2019), quienes observaron hasta un 80% de mortalidad usando hidrogeles con componentes análogos. Sin embargo, existen discrepancias metodológicas destacadas entre ambos estudios, especialmente en lo que respecta al tipo de

quitosano utilizado. En el estudio de López-Velázquez *et al.* (2019), se utilizó quitosano de grado reactivo (Sigma-Aldrich), mientras que en el presente estudio se empleó quitosano de alta densidad de grado alimentario. Se ha informado que el origen y las características fisicoquímicas del quitosano influyen significativamente en la inducción de resistencia en plantas. Esto podría explicar el efecto protector observado incluso en el tratamiento con hidrogel sin *Trichoderma* (López-Velázquez *et al.*, 2021).

Cabe destacar que el tratamiento con HT18, correspondiente a una cepa nativa de *Trichoderma viride*, mostró una interacción más favorable con la encapsulación en el hidrogel en términos de protección vegetal en comparación con HT22, una cepa comercial de *Trichoderma harzianum* T22. Esta observación es especialmente interesante dado que HT22 pudo activarse, germinar y emerger del hidrogel en menos tiempo (Fig. 3.8). Se ha documentado que *T. harzianum* posee una amplia variedad de mecanismos de control biológico, incluyendo la producción de metabolitos antimicrobianos y enzimas líticas antifúngicas, en contraste con *T. viride*. Sin embargo, también se ha documentado que ciertas cepas de *T. viride* pueden mostrar una mayor actividad enzimática que algunas cepas de *T. harzianum*. En este sentido, Gajera y Vakharia (2012) demostraron que cinco cepas de *T. viride* exhibieron una actividad enzimática lítica significativamente mayor (es decir, quitinasas, β -1,3 glucanasas y proteasas) en comparación con seis cepas de *T. harzianum* durante las interacciones con *Aspergillus niger*. Este trasfondo podría explicar la respuesta mejorada observada en la encapsulación del tratamiento HT18, en la que los componentes hidrogel, especialmente el quitosano, habrían promovido la activación metabólica del hongo, facilitando así una colonización radicular más eficiente y, en consecuencia, un nivel más alto de protección vegetal en comparación con HT22 (Stoilova *et al.*, 2001).

La evaluación de la viabilidad radicular utilizando la reducción de cloruro de 2,3,5-trifeniltetrazolio (TTC) reveló que las plantas expuestas a esporas encapsuladas de *Trichoderma* mostraron valores de viabilidad comparables a los observados en el tratamiento con PHC, aunque fueron inferiores a los registrados en el grupo control.

Sin embargo, a pesar de la ausencia de diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos (véase Cuadro 3.1), se observaron variaciones notables en el desarrollo radicular (véase Fig. 3.9H–N). Los hallazgos actuales son consistentes con los reportados por López-Velázquez *et al.* (2019), quienes evaluaron la viabilidad radicular de plantas tratadas con selenito frente a la infección por *P. capsici*. Los investigadores observaron valores más bajos en plantas infectadas que en aquellas tratadas con selenito.

Una observación destacada del estudio se refiere al contraste entre plantas protegidas y aquellas enfermas. La mayoría de las plantas enfermas mostraban un grado más alto de gravedad (Fig. 3.10). Como ya se ha demostrado en otros estudios, la eficacia del control biológico de especies o cepas individuales de *Trichoderma* muestra una variabilidad significativa. La implementación exitosa de este control depende de una evaluación meticulosa de las condiciones ambientales predominantes y de las interacciones particulares entre las plantas y los patógenos implicados (Lou *et al.*, 2025).

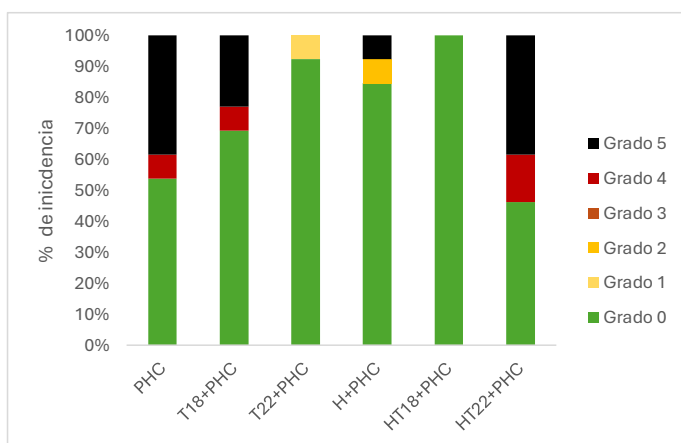


Figura 0.10 Gravedad de la enfermedad en plántulas de chile infectadas con *Phytophthora capsici*. PHC: plantas inoculadas con *P. capsici*; T18: plantas inoculadas con solución de esporas T18 e inoculadas con *P. capsici*; T22: plantas inoculadas con solución de esporas T22 e inoculadas con *P. capsici*; H: plantas con hidrogeles e inoculadas con *P. capsici*; HT22: plantas con hidrogeles + T22 e inoculadas con *P. capsici*; HT18: plantas con hidrogeles + T18 e inoculadas con *P. capsici*. La gravedad de la enfermedad va de grado 0 (plantas sanas) a grado 5 (plantas muertas).

Por tanto, es imprescindible mejorar la eficacia del proceso de encapsulación para asegurar la preservación o aumento de los mecanismos protectores activados por *Trichoderma*. El presente estudio reveló modificaciones en las propiedades fisicoquímicas del hidrogel asociadas a su composición, el proceso de fabricación y la incorporación de esporas de *Trichoderma*. Se observó que estas modificaciones ocurrían sin comprometer la viabilidad del hidrogel ni su capacidad de protección de la planta. No obstante, hay varios aspectos que deben examinarse en estudios posteriores. Estos son la función de las características inherentes de las cepas *Trichoderma* en la regulación de la actividad protectora, así como los procesos implicados en la reactivación adecuada de esporas y la dinámica de activación y crecimiento del hongo dentro de la matriz hidrogel.

3.5. Conclusión

El presente estudio demostró que el hidrogel formulado es capaz de incorporar y mantener viables las esporas de *Trichoderma* spp. tras el proceso de fabricación. El hidrogel presentaba una estructura densa y aglomerada, una superficie irregular y una capacidad de absorción de agua de 1,40–1,63 (g/g). Además, demostró degradación en pruebas de enterramiento en suelos estériles y suelos inoculados con microorganismos. Los hidrogeles HT18 demostraron una tasa de inhibición del 100% de los síntomas causados por *P. capsici*, mientras que simultáneamente promovían el crecimiento vegetativo en comparación con las plantas control. En conjunto, estos resultados sugieren un posible uso del hidrogel como sistema de entrega y aplicación de microorganismos beneficiosos en sistemas agrícolas.

3.6. Referencias

1. Ahmed, E. A., Hassan, E. A., El-Tobgy, K. M. K., & Ramadan, E. M. (2014). Evaluation of rhizobacteria of some medicinal plants for plant growth promotion and biological control. *Annals of Agricultural Sciences*, 59(2), 273–280.
2. Alves, S. J. d. M., Santos, M. A., Neto, J. E. d. S., Silva, H. N. d., Barbosa, M. C. S., Fook, M. V. L., Navarro, R. F., & Silva, S. M. d. L. (2025). Combined effect of pH and neutralizing solution molarity on the rheological properties of chitosan

- hydrogels for biomedical applications. *Gels*, 11(3), 212. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201720160241>
3. Álvarez-Castillo, E., Bengoechea, C., Félix, M., & Guerrero, A. (2021). Freeze-drying versus heat-drying: Effect on protein-based superabsorbent material. *Processes*, 9(6), 1076. <https://doi.org/10.3390/pr9061076>
 4. Bae, H., Roberts, D., Lim, H., Strem, M., Park, S., Ryu, C., & Bailey, B. (2011). Endophytic *Trichoderma* isolates from tropical environments delay disease onset and induce resistance against *Phytophthora capsici* in hot pepper using multiple mechanisms. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 24(3), 336–351. <https://doi.org/10.1094/MPMI-09-10-0221>
 5. Bakeer, T. A. R., El-Mohamedy, S. R., Saied, M. N., & Abd-El-Kareem, F. (2016). Field suppression of *Fusarium* soil-borne diseases of tomato plants by the combined application of bioagents and chitosan. *British Biotechnology Journal*, 13(1), 1–10.
 6. Becerra-Bracamontes, F., Sánchez-Díaz, J. C., Arellano-Ceja, J., González-Álvarez, A., & Martínez-Ruvalcaba, A. (2009). Effect of pH and sodium phosphate dibasic concentration on the swelling properties of chitosan hydrogels. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 8(1), 121–126.
 7. Bercea, M. (2024). Recent advances in poly(vinyl alcohol)-based hydrogels. *Polymers*, 16(14), 2021. <https://doi.org/10.3390/polym16142021>
 8. Bocourt, P. M., Cruz, R. J., Bada, R. N., & Peniche, C. C. (2008). Síntesis y caracterización de hidrogeles biocompatibles interpenetrados de quitosana y poliacrilamida. *Revista CENIC Ciencias Químicas*, 39(2), 73-77.
 9. Brondi, M. G., Florencio, C., Mattoso, L. H. C., Ribeiro, C., & Farinas, C. S. (2022). Encapsulation of *Trichoderma harzianum* with nanocellulose/carboxymethyl cellulose nanocomposite. *Carbohydrate Polymers*, 295, 119876. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.119876>

10. Carhuapoma, W. B., & Santiago, J. C. (2005). Caracterización de hidrogeles de quitosano–alcohol polivinílico obtenidos por radiación gamma. *Revista Iberoamericana de Polímeros*, 6(4), 312-323.
11. Cassanelli, M., Prosapio, V., Norton, I., & Mills, T. (2019). Role of the drying technique on the low-acyl gellan gum gel structure. *Food and Bioprocess Technology*, 12(2), 313–324. <https://doi.org/10.1007/s11947-018-2210-6>
12. Chandrika, K. S. V. P., Prasad, R. D., & Godbole, V. (2019). Development of chitosan–PEG blended films using *Trichoderma*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 126, 282–290.
13. Compant, S., Duffy, B., Nowak, J., Clement, C., & Barka, E. A. (2005). Use of plant growth promoting bacteria for biocontrol of plant diseases. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(9), 4951–4959.
14. Cruz-Barrera, M., Izquierdo-García, L. F., Gómez-Marroquín, M., Santos-Díaz, A., Uribe-Gutiérrez, L., & Moreno-Velandia, C. A. (2024). Hydrogel capsules as delivery system for *Trichoderma koningiopsis* Th003. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 40(3), 108. <https://doi.org/10.1007/s11274-024-03897-0>
15. Dalmau, E., Bornhorst, G. M., Eim, V., Rosselló, C., & Simal, S. (2017). Effects of freezing and drying on gastric digestion of apples. *Food Chemistry*, 215, 7–16. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.134>
16. Dogaru, B. I., Stoleru, V., Mihalache, G., Yonsel, S., & Popescu, M. C. (2021). Gelatin nanocomposite matrix for *Trichoderma harzianum* spores. *Molecules*, 26(19), 5755. <https://doi.org/10.3390/molecules26195755>
17. Enoch, K., Rakavi, C. S., & Somasundaram, A. A. (2023). Improved mechanical properties of chitosan/PVA hydrogel—A detailed rheological study. *Surfaces and Interfaces*, 41, 103178. <https://doi.org/10.1016/j.surfin.2023.103178>

18. Estrella, H. O. (2015). *Caracterización mecánica de un hidrogel híbrido impurificado con partículas de carbono* (Tesis de licenciatura). Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, México.
19. Fantin, L. H., de Souza Madureira Felício, A. L., Sumida, C. H., Gonçalves, R. M., Braga, K., de França, J. A., & Canteri, M. G. (2022). Characterisation of *Trichoderma* strains using FTIR-ATR spectroscopy and molecular analysis. *European Journal of Plant Pathology*, 162(4), 945–956. <https://doi.org/10.1007/s10658-021-02449-8>
20. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). (2025). *Plant Production and Protection*. FAO.
21. Gajera, H. P., & Vakharia, D. N. (2012). Production of lytic enzymes by *Trichoderma* isolates during in vitro antagonism with *Aspergillus niger*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 43(1), 43–52. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822012000100005>
22. Gavilanes, F. Z., Amaral, H. F., García, M. C., Araujo-Junior, F., Júnior, L. A., Nomura, R. B., & Andrade, D. (2021). Interactions between edaphoclimatic conditions and plant–microbial inoculants and their impacts on plant growth. En N. R. Maddela, L. C. García Cruzatty, & S. Chakraborty (Eds.), *Advances in the Domain of Environmental Biotechnology* (pp. 431–455). Springer. https://doi.org/10.1007/978-981-15-8999-7_22
23. Guimaraes, J. J., Sousa, F. G. G., Román, R. M. S., Pai, A. D., Rodrigues, S. A., & Sarnighausen, V. C. R. (2021). Effect of irrigation water pH on the agronomic development of hops. *Agricultural Water Management*, 253, 106924. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2021.106924>
24. Hassan, O., & Chang, T. (2017). Chitosan for eco-friendly control of plant disease. *Asian Journal of Plant Pathology*, 11(2), 53–70.
25. Hernández, I., Herver, R., Olivos, M., & Marquez, C. (2016). Elaboración de un hidrogel a partir de quitosano para la eliminación de metales pesados (Cu) en

- una muestra modelo de agua. *Revista de Simulación de Laboratorio*, 3(9), 16-21.
26. Huang, Z., Qian, L., Yin, Q., Yu, N., Liu, T., & Tian, D. (2018). Biodegradability studies of poly (butylene succinate) composites filled with sugarcane rind fiber. *Polymer Testing*, 66, 319–326.
 27. Kalyabina, V. P., Esimbekova, E. N., Kopylova, K. V., & Kratasyuk, V. A. (2021). Pesticides: Formulants, distribution pathways and effects on human health. *Toxicology Reports*, 8, 1179–1192.
 28. Kim, S., Jang, Y., Kim, H., Koh, Y., & Kim, Y. (2010). Comparison of microbial fungicides in antagonistic activities related to the biological control of *Phytophthora capsici*. *The Plant Pathology Journal*, 26(4), 340–345. <https://doi.org/10.5423/PPJ.2010.26.4.340>
 29. Krastev, V., Stoyanova, N., Valcheva, I., Draganova, D., Spasova, M., & Stoilova, O. (2025). Encapsulation of *Bacillus subtilis* in chitosan gel beads for eco-friendly crop protection. *Gels*, 11(4), 302. <https://doi.org/10.3390/gels11040302>
 30. Lei, G., KunHua, Z., Chen, X., Huang, Y., Yuan, X., Li, G., & Fang, R. (2023). Transcriptome and metabolome analyses of pepper roots infected by *Phytophthora capsici*. *BMC Genomics*, 24(1), 1–16. <https://doi.org/10.1186/s12864-023-09713-7>
 31. López-Gervacio, A. J., Qui-Zapata, J. A., Barrera-Martínez, I., Montero-Cortés, M. I., & García-Morales, S. (2025). Selenium nanoparticles inhibit *Phytophthora capsici* growth. *Agronomy*, 15(2), 490. <https://doi.org/10.3390/agronomy15020490>
 32. López-Velázquez, J. C., Haro-González, J. N., García-Morales, S., Espinosa-Andrews, H., Navarro-López, D. E., Montero-Cortés, M. I., & Qui-Zapata, J. A. (2021). Physicochemical properties of chitosans inducing plant defense. *Polymers*, 13(12), 1940. <https://doi.org/10.3390/polym13121940>

33. López-Velázquez, J. C., Rodríguez-Rodríguez, R., Espinosa-Andrews, H., Qui-Zapata, J. A., García-Morales, S., Navarro-López, D. E., Luna-Bárcenas, G., Vassallo-Brigneti, E. C., & García-Carvajal, Z. Y. (2019). Gelatin–chitosan–PVA hydrogels and agricultural applications. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 94(11), 3495–3504. <https://doi.org/10.1002/jctb.5961>
34. López-Velázquez, J. L., Navarro-López, D. E., Qui-Zapata, J. A., León-Morales, J. M., Saavedra-Loera, D. I., & García-Morales, S. (2019). Effect of selenite and inulin on the *Capsicum annuum*–*Phytophthora capsici* interaction. *Biotechnología Vegetal*, 19(1), 25–34.
35. Luo, M., Huang, Q. R., Jia, M. X., Zeng, J. Y., & Dong, Z. Y. (2025). *Trichoderma azadirachtae* Ta3302 as a biocontrol agent. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 140, 102976.
36. Martínez-Vela, L. J., Montero-Cortés, M. I., Qui-Zapata, J. A., García-Carvajal, Z. Y., & Farías-Cervantes, V. S. (2025). *Trichoderma* strains with biostimulant activity. *Avances en Ingeniería Química*, 4, BIO216–BIO221.
37. Momo, J., Kumar, A., Islam, K., Ahmad, I., Rawoof, A., & Ramchiary, N. (2022). *Capsicum* proteomics: Advances and prospects. *Journal of Proteomics*, 261, 104578. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2022.104578>
38. Montes, S., López, L. P., Hernández, S., & Ramírez, M. (2010). *Especies del género Capsicum en México*. UAS–SEMARNAT–CONABIO.
39. Ortega-Sánchez, C., Melgarejo-Ramírez, Y., Rodríguez-Rodríguez, R., Jiménez-Ávalos, J. A., Giraldo-Gomez, D. M., Gutiérrez-Gómez, C., Rodríguez-Campos, J., Luna-Bárcenas, G., Velasquillo, C., & Martínez-López, V. (2024). Hydrogel based on chitosan/gelatin/poly(vinyl alcohol) for in vitro human auricular chondrocyte culture. *Polymers*, 16(4), 479. <https://doi.org/10.3390/polym16040479>
40. Reeves, W., McGuire, M. K., Stokes, M., & Vicini, J. L. (2019). Assessing pesticide safety in food. *Advances in Nutrition*, 10(1), 80–88.

41. Saruchi, Kaith, B. S., Kumar, V., & Jindal, R. (2016). Biodegradation of interpenetrating polymer networks. *Biotechnology Reports*, 9, 74–81.
42. Silva, D. A. D., Martens, P. J., Gilmore, K. J., & Panhuis, M. H. (2014). Degradation of ionic–covalent hydrogels. *Journal of Applied Polymer Science*, 132(4), 41216. <https://doi.org/10.1002/app.41216>
43. Simoni, R. C., Lemes, G. F., Fialho, S., Gonçalves, O. H., Gozzo, A. M., Chiaradia, V., Sayer, C., Shirai, M. A., & Leimann, F. V. (2017). Drying effects on gelatin hydrogels. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 89(1), 745–755. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201720160241>
44. Skopinska-Wisniewska, J., Tuszyńska, M., & Olewnik-Kruszkowska, E. (2021). Comparative study of gelatin hydrogels modified by various cross-linking agents. *Materials*, 14(2), 396. <https://doi.org/10.3390/ma14020396>
45. Srivastava, S., Debnath, B., Manda, R. R., Maurya, S., Rana, M., & Tiwari, A. K. (2026). *Trichoderma* in sustainable agriculture. *Annals of Applied Biology*, 188(2), 332–351. <https://doi.org/10.1111/aab.70052>
46. Stoilova, O., Koseva, N., Petrova, T., Manolova, N., Rashkov, I., & Naydenov, M. (2001). Hydrolysis of chitosan by *Trichoderma viride*. *Journal of Bioactive and Compatible Polymers*, 16(5), 379–392.
47. Tran Vo, T. M., Piroonpan, T., Preuksarattanawut, C., Kobayashi, T., & Potiyaraj, P. (2022). Characterization of pH-responsive high molecular-weight chitosan/poly (vinyl alcohol) hydrogel prepared by gamma irradiation for localizing drug release. *Bioresources and Bioprocessing*, 9(1), 89. <https://doi.org/10.1186/s40643-022-00576-6>
48. van Lenteren, J. C. (2012). Commercial augmentative biological control. *BioControl*, 57(1), 1–20.
49. Velásquez, R., Reveles, R., & Reveles, M. (2013). *Manejo de enfermedades del chile*. INIFAP.

50. Wang, B., Li, T., Tian, S., Wang, H., Li, X., Wang, F., & Cai, K. (2023). Chlamydospore dormancy in fungi. *Journal of Basic Microbiology*, 64(2), e2300365.
51. Wang, J. E., Li, D. W., Zhang, Y. L., Zhao, Q., Huang, Y. M., & Gao, Z. H. (2013). Defense responses of pepper infected with *Phytophthora capsici*. *European Journal of Plant Pathology*, 136(4), 625–638.
52. Wu, L., & Liu, M. (2008). Chitosan-coated NPK fertilizer with controlled release. *Carbohydrate Polymers*, 72(2), 240–247.
53. Xu, X., Xi, Y., & Weng, Y. (2025). Gelatin-based materials for food packaging. *RSC Advances*, 15(44), 30605–30621.
54. Yin, Y., Ji, X., Dong, H., & Ying, Y. (2008). Study of the swelling dynamics with overshooting effect of hydrogels based on sodium alginate-g-acrylic acid. *Carbohydrate Polymers*, 71(4), 682–689. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2007.07.012>
55. Yip, J., Yuen, C. W. M., Kan, C. W., Cheung, H. C., Leung, H. M. P., Cheuk, K., Cheng, S. Y., & Liu, L. W. (2015). Chitosan/clotrimazole microcapsules. *The Journal of The Textile Institute*, 106(6), 641–647. <https://doi.org/10.1080/00405000.2014.933513>
56. Zhou, J., Liang, J. F., Zhang, X., Wang, F., Qu, Z., Gao, T. G., Yao, Y., & Luo, Y. (2025). *Trichoderma brevicompactum* 6311 for control of *Phytophthora capsici*. *Journal of Fungi*, 11(2), 105. <https://doi.org/10.3390/jof11020105>

4. CAPÍTULO

Caracterización del efecto de la encapsulación de *Trichoderma* dentro de los hidrogeles (Gel-CTS-PVA) en el hongo y su efectividad biológica.

4.1. Resumen

Los hidrogeles representan una alternativa prometedora para aplicaciones agrícolas debido a su capacidad para retener agua y encapsular microorganismos benéficos. Particularmente, los hidrogeles formulados con quitosano, gelatina y PVA presentan propiedades como biocompatibilidad, biodegradabilidad y alta capacidad de absorción de agua, lo que favorece la protección, viabilidad y liberación controlada de microorganismos utilizados en el manejo biológico de fitopatógenos. En el presente estudio, los hidrogeles con *Trichoderma harzianum* (HT22) y *Trichoderma viride* (HT18) lograron mantener la viabilidad de las esporas después del proceso de secado, teniendo un crecimiento en medio PDA después de 3 y 5 días respectivamente. Se analizó el efecto de los hidrogeles (Gel-QTS-PVA) con las distintas cepas de *Trichoderma* incorporadas en plantas de chile serrano (*Capsicum annuum*) para el control de *Phytophthora capsici* comparado con las esporas libres, donde obtuvimos resultados variables en los tres experimentos realizados; en el primer experimento no se tuvo diferencias significativas en las variables evaluadas como es altura de planta, peso fresco e incidencia, sin embargo en el segundo y tercer experimento aumentamos los días de interacción planta-hidrogeles respecto al primer experimento, con el fin de favorecer la colonización del *Trichoderma*. En el experimento dos, los hidrogeles con (HT18) lograron la inhibición de los síntomas de la enfermedad y un mayor crecimiento vegetal respecto a la altura de las plantas, no obstante, en el tercer experimento no se obtuvieron diferencias significativas en ningún tratamiento, tuvimos una disminución en la severidad de la enfermedad en todos los tratamientos atribuido a la forma de conservación de la cepa del patógeno en medio artificial y no en un hospedero vegetal, y solo un 20% de incidencia de las plantas tratadas con HT22, lo cual nos indica que ambas cepas de *Trichoderma* encapsuladas (T22 y T18) pueden llegar a tener un efecto biocontrolador dependiendo de las condiciones y parámetros establecidos.

4.2. Introducción

El cultivo de chile (*Capsicum* spp.) posee gran relevancia hortícola a nivel mundial debido a su valor económico, al poder emplear sus frutos tanto frescos como secos en diversos sectores como son el alimentario, medicinal y nutracéutico (Momo *et al.*, 2022; Montes *et al.*, 2010). Sin embargo, *Capsicum* es vulnerable a factores de estrés abiótico y biótico que afectan su productividad, los principales microorganismos que lo afectan son bacterias, nematodos, virus y hongos (Momo *et al.*, 2022; Velasquez *et al.*, 2013); una de las enfermedades con mayor impacto en la pérdida de producción del cultivo que provoca una mortalidad desde el 40% hasta el 70% de las plantas es la marchitez o secadera del chile, causada por el oomiceto *Phytophthora capsici*, su principal síntoma es la pudrición radicular (Velasquez *et al.*, 2013; Godínez-Paoli *et al.*, 2020; Quispe-Quispe *et al.*, 2022), el control se realiza a través del uso de oomiceticidas los cuales presentan efectos adversos en el ecosistema como es la contaminación de suelos y agua (Quispe *et al.*, 2022; Brondi *et al.*, 2022).

El uso de fertilizantes químicos y pesticidas ha sido clave en el aumento de los rendimientos agrícolas, sin embargo, su manejo inadecuado puede generar impactos negativos en el medio ambiente. Por ello, uno de los principales retos actuales es la transición hacia prácticas agrícolas más sostenibles (Brondi, *et al.*, 2022), las estrategias de control biológico han adquirido gran importancia en la agricultura, el uso de microorganismos benéficos, como bacterias y hongos representa una alternativa eficaz para el manejo de plagas y enfermedades, además de reducir el uso de pesticidas químicos y disminuir el riesgo asociado al desarrollo de resistencia por parte de los organismos fitopatógenos (Brondi, *et al.*, 2022; Saberi-Riseh *et al.*, 2021).

Se ha investigado el uso de hongos del género *Trichoderma* spp. el cual logró establecer asociaciones con la planta a través del sistema radicular, además de estar asociado con la bioestimulación e inducción de la resistencia y respuesta sistémica (Bae *et al.*, 2011; Lei *et al.*, 2023). Sin embargo, las formulaciones biológicas presentan desafíos técnicos como la estabilidad y viabilidad durante su

almacenamiento, debido a los factores ambientales como la exposición a la luz, fluctuaciones de temperatura y humedad (Srivastava *et al.*, 2026).

La encapsulación de *Trichoderma* spp. en hidrogeles representa una estrategia prometedora para el desarrollo de tecnologías sostenibles aplicables a la agricultura a gran escala. Diversos estudios han demostrado que la incorporación de microorganismos benéficos en matrices poliméricas protectoras contribuye a preservar su viabilidad y estabilidad durante el almacenamiento y la aplicación en campo (Brondi *et al.*, 2022).

La combinación de gelatina, quitosano y alcohol polivinílico (PVA) representa una alternativa prometedora para el desarrollo de sistemas de encapsulación destinados a aplicaciones agrícolas. Mientras que la gelatina y el quitosano aportan biocompatibilidad, biodegradabilidad y propiedades bioactivas, el PVA contribuye a mejorar la estabilidad mecánica y estructural de la matriz. Estas características, aunadas a su bajo impacto ambiental y viabilidad económica, convierten a estos materiales en candidatos adecuados para la formulación de portadores de agentes de control biológico (Hassan *et al.*, 2017).

La incorporación de quitosano en la formulación de hidrogeles resulta particularmente atractiva para aplicaciones agrícolas debido a su capacidad para formar matrices poliméricas estables en combinación con otros materiales (Bercea *et al.*, 2024). Estas matrices permiten la encapsulación y protección de agentes de control biológico, reduciendo el impacto de condiciones ambientales adversas y favoreciendo su liberación gradual. Asimismo, los sistemas basados en quitosano se caracterizan por su capacidad de retención de agua y sus propiedades de liberación controlada, atributos que pueden contribuir tanto a la supervivencia de los microorganismos encapsulados como al crecimiento y establecimiento de las plantas (Chandrika *et al.*, 2019).

Se ha reportado la formulación de hidrogeles Gel-QTS-PVA para aplicaciones agrícolas, en su red altamente reticulada se logró retener biomoléculas (López-Velázquez *et al.*, 2019). Las características fisicoquímicas de estos hidrogeles, incluyendo su elevada biocompatibilidad, estructura porosa y capacidad para

facilitar las interacciones célula-matriz, los hacen especialmente adecuados para la encapsulación de microorganismos y células, favoreciendo su viabilidad y estabilidad durante el almacenamiento y la aplicación (Ortega-Sánchez *et al.*, 2024).

El objetivo en este capítulo fue evaluar la viabilidad del *Trichoderma* después del proceso de encapsulación y su efectividad biocontroladora de los hidrogeles (Gel-QTS-PVA) con *Trichoderma* spp. en plantas de chile (*Capsicum annuum*) frente a la marchitez (*Phytophthora capsici*).

4.3. Metodología

4.3.1. Material biológico

Los hongos encapsulados fueron *Trichoderma harzianum* T22 (T22) y *Trichoderma viride* 18 (T18). *T. harzianum* T22 se obtuvo del producto comercial PHC® T-22® (PHC®, México). *Trichoderma viride* 18 (T18) fue suministrado por el Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, AC. (CIATEJ). La cepa fue seleccionada de una colección de *cepas de Trichoderma* de varias regiones de México por sus efectos inhibitorios contra múltiples hongos patógenos (Martínez-Vela *et al.*, 2025). Los sujetos fueron cultivados en medio de agar de dextrosa de patata (PDA) durante un periodo de siete días a una temperatura de $26^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.

Se utilizó una cepa patógena de *Phytophthora capsici* (JAL-M60) de la colección de cepas en CIATEJ, que se siembra en medio clarificado V8 durante cinco días a $26^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ en oscuridad y cinco días a $26^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ en luz continua. El recipiente se llenaba entonces con una solución estéril de agua destilada y se mantenía a una temperatura de refrigeración de 4°C durante 30 minutos, con la intención de facilitar la liberación de zoosporas. La cuantificación se realizó utilizando la cámara de Neubauer, y las muestras se resuspendieron en agua destilada estéril a una concentración de 1×10^4 zoosporas por mililitro (López-Gervacio *et al.*, 2025).

4.3.2. Material vegetal

El experimento utilizó semillas de chile serrano var. Camino Real F1 (Harris Moran®, Seed Company, Davis, CA, EE. UU.). Las semillas se colocaron luego en bandejas

para germinar en el sustrato (Mezcla nº 3, Sunshine®) con un fotoperiodo de 16/8 horas de luz/oscuridad a $26^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.

4.3.3. Crecimiento de *Trichoderma* encapsulado

El impacto de la encapsulación en la germinación y crecimiento de *Trichoderma* se evaluó 24 horas después del proceso de fabricación. Se utilizaron hidrogeles en forma de perlas, las cuales fueron formadas a partir de una solución de 10 mL a una concentración de 1×10^9 esporas mL^{-1} , se tomaron 2 mL de la solución y se goteó en NaOH 1 N, después de la formación de las esferas, se colocaron en cajas Petri para su secado, este proceso se repitió cuatro veces hasta finalizar con los 10 mL preparados, manteniendo las perlas formadas de cada 2 mL en cajas separadas, posteriormente las perlas formadas de las diferentes fracciones de la solución polimérica se sumergieron en 1 mL de agua destilada estéril durante un periodo de 3 horas. Las muestras que habían sido sumergidas en agua se colocaron en el centro de placas de Petri que contenían un medio PDA. Las muestras fueron sometidas a una temperatura de incubación de $26^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 10 días. Se realizó un análisis fotográfico en los días 3, 5 y 10 posteriores a la siembra, con el fin de comparar y evaluar la duración requerida para la germinación y el crecimiento de las dos diferentes cepas encapsuladas (T18 y T22) (Brondi *et al.*, 2022).

4.3.4. Evaluación de viabilidad de *Trichoderma* encapsulado

Para evaluar la capacidad de la matriz polimérica de proteger a las esporas de *Trichoderma* spp. a las variaciones térmicas se realizó la comparación con una suspensión de esporas a la misma concentración (1×10^9 esporas mL^{-1}), el análisis se realizó mediante la reducción cloruro de 2,3,5 trifeniltetrazolio (TTC) (Sigma-Aldrich) a 1,3,5 trifenilformazan (TTF), siguiendo la metodología de Wang *et al.* (2013) con modificaciones, la viabilidad se evaluó después del proceso de secado usando un horno (Yamato, modelo DX402C) a 40°C y 60°C durante 2 horas. Se tomaron 0.34 g de hidrogel equivalentes a los mililitros de solución de esporas, posterior al proceso de secado se incubaron durante 72 horas con caldo dextrosa papa esterilizado, se centrifugaron las muestras y se eliminó el sobrenadante, se agregó la solución de TTC 0.01 M disuelto en tampón de fosfato de sodio 0.01 M,

pH 7, se incubaron durante 30 minutos a 37°C, transcurrido el tiempo se determinó la absorbancia en un espectrofotómetro (Thermo Scientific™ Lector de microplaca multimodo Varioskan™ LUX) a 485 nm. Se realizó el cálculo de la viabilidad de acuerdo con la siguiente formula:

$$\% \text{ viabilidad} = \frac{\bar{x} \text{ Abs muestra}}{\bar{x} \text{ Abs blanco}} (100\%)$$

4.3.5. Protección de cultivo

En este estudio, las cepas se incorporaron en hidrogeles los cuales fueron aplicados en plántulas de chile serrano (*Capsicum annuum*). El experimento consistió en la utilización de plantas de 30 días de edad, las cuales se trasplantaron en bolsas con sustrato estéril (Mezcla N.º 3, Sunshine). Posteriormente, se aplicaron cinco hidrogeles previamente hidratados con agua destilada esterilizada durante 2 horas, en la base de cada planta. El diseño experimental consistió en una estructura de bloques aleatorios, con 10 réplicas de los siguientes tratamientos: hidrogel (H), hidrogel con *Trichoderma* T22 (HT22), hidrogel con *Trichoderma* T18 (HT18), solución de esporas a una concentración de 1×10^6 esporas mL^{-1} de las cepas de la especie de *Trichoderma* (T22 y T18), se utilizó agua destilada (O) como control, plantas inoculadas solo con *P. capsici* (PHC) y con hidrogel (H). Se realizaron 3 experimentos de protección donde varió el tiempo de interacción hidrogeles-planta, el primer experimento se inoculó con quince días después del trasplante, el segundo experimento fue inoculado veintidós días después del trasplante al igual que el último experimento sin embargo este último experimento se aumentó el número de plantas teniendo un total de 15 repeticiones por tratamiento; en todos los experimentos las plantas fueron inoculadas con *P. capsici* aplicando 5 mililitros de una suspensión de zoosporas (1×10^4 de zoosporas mL^{-1}) (Wang *et al.*, 2013). Finalmente, se evaluó la incidencia de la enfermedad, la altura y el peso fresco de las plántulas, así como la viabilidad radicular (López-Velázquez *et al.*, 2019). La severidad de la enfermedad también se evaluó utilizando una escala desde grado 0 (plantas sanas) hasta grado

Comentado [JAQZ1]: Hay que darle una leída a la traducción, hay varias cosas que se tradujeron de manera literal

5 (plantas muertas) de acuerdo con los síntomas visibles descritos en el cuadro 4.1 (Martínez-Vela *et al.*, 2025).

Cuadro 4.1 Escala de severidad de la enfermedad en plantas infectadas con P. capsici

Grado 0	Planta sana
Grado 1	Hojas marchitas
Grado 2	Hojas marchitas/ Defoliación/Cambio de color en tallo (verde oscuro)
Grado 3	Hojas marchitas/ Defoliación/Cambio de color en tallo (necrosidad)/Tallo sin turgencia
Grado 4	Hojas marchitas/ Defoliación/Cambio de color en tallo (necrosidad)/Tallo sin turgencia/Crecimiento de micelio en tallo (visible a simple vista menos de 1 cm)
Grado 5	Hojas marchitas/ Defoliación/Cambio de color en tallo (necrosidad)/Tallo sin turgencia/Crecimiento de micelio en tallo (visible a simple vista más de 1 cm)

La evaluación de la viabilidad radicular se llevó a cabo midiendo la reducción del cloruro de 2,3,5-trifeniltetrazolio (TTC) (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EE. UU.) a 1,3,5-trifenilformazano (TTF) (López-Gervacio *et al.*, 2025). Al concluir el experimento, se recogieron cinco muestras de raíces, se enjuagaron a fondo con agua destilada y se registró su peso inicial. Las muestras se sumergieron en una solución de 0.01 M TTC disuelta en un tampón de fosfato de sodio 0.01 M, pH 7, donde se mantuvieron durante 1 hora a 37°C. A partir de este intervalo, la reacción se terminó con la adición de 1 mL de ácido sulfúrico de 1 M. El tejido fue macerado con acetato de etilo puro (Sigma-Aldrich) para recuperar el TTF y se aforo hasta 10 mL con el mismo disolvente. Posteriormente, el grado de absorción de luz se determinó mediante un espectrofotómetro (Genesys 10UV Termo Spectronic) a una longitud de onda de 485 nanómetros. La viabilidad radicular se obtuvo calculando la intensidad de reducción del TCC (mg g h) = $\text{absorbancia de la reducción del TTC} / \text{PF h}$, donde PF es la masa radicular fresca y h el tiempo de incubación.

4.3.6. Análisis estadístico

Se realizó un análisis ANOVA de una sola vía completamente al azar, para la comparación de medias se realizó por medio de la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

4.4. Resultados y discusión

4.4.1. Crecimiento de *Trichoderma* encapsulado

El efecto de la encapsulación en el crecimiento de *Trichoderma* se realizó en fracciones de la solución polimérica preparada inicialmente, con el fin de determinar si el crecimiento del *Trichoderma* se obtenía en todas las partes de la solución polimérica preparada. Se evaluó 24 horas después del proceso de fabricación, se realizó el seguimiento del crecimiento de los hidrogeles sembrados en PDA de cada fracción, en los días 3, 5 y 10 posteriores a la siembra, como resultado del análisis se obtuvieron la figura 4.5 correspondiente a los hidrogeles HT18 y la figura 4.6 para HT22, las fracciones 1, 4 y 5 no presentaron crecimiento fúngico, por el contrario las fracciones 2 y 3 presentaron crecimiento micelar a partir del día 3 en la cepa T22 y a partir del día 5 con la cepa T18, este comportamiento puede relacionarse con la dispersión y concentración de las esporas en las esferas formadas durante el goteo de la solución polimérica; Brondi *et al.* (2022) evaluaron el crecimiento de cepas de *Trichoderma* bajo diferentes condiciones de almacenamiento y reportaron que los procesos de secado y almacenamiento a temperatura ambiente podrían contribuir a una disminución en la viabilidad del hongo. La diferencia en el tiempo de crecimiento de ambas cepas encapsuladas podría estar relacionada a la variación de especies, siendo la cepa T22 *T. harzianum* y la cepa T18 *T. viride*, las cuales tienen diferencias en la producción de enzimas de acuerdo con los resultados de Gajera y Vakharia (2012), los autores reportan que algunas cepas de *T. viride* poseen una amplia gama de mecanismos de defensa.

Comentado [JQ2]: Se describe en algún lado el porque se realizaron las fracciones? Si no, hay que describirlo en esta parte

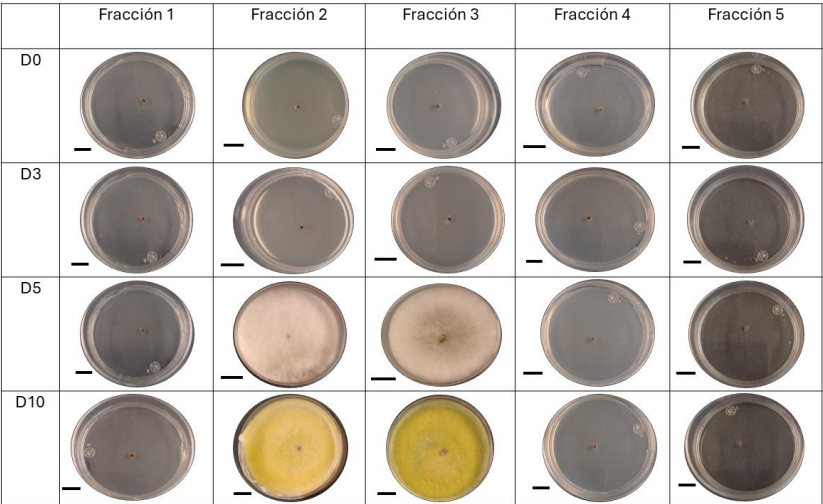


Figura 4.1 Crecimiento de hidrogeles de las diferentes fracciones del hidrogel HT18 en medio PDA. La barra corresponde a 1 cm.

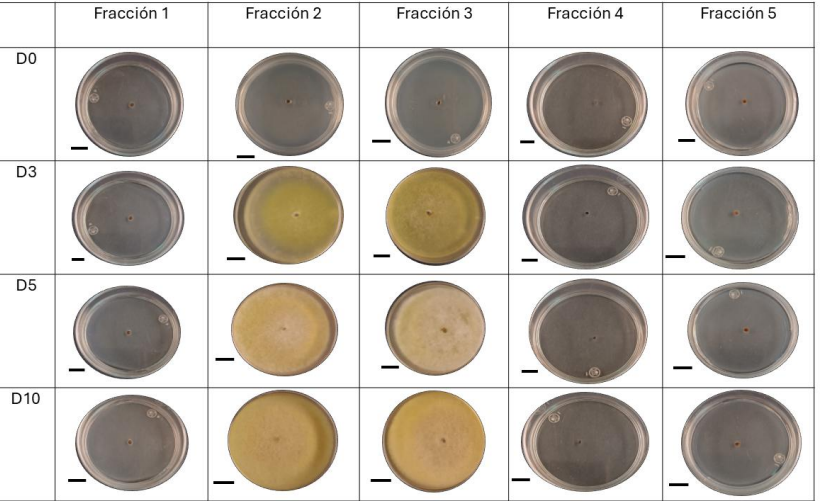


Figura 4.2 Crecimiento de hidrogeles de las diferentes fracciones del hidrogel HT22 en medio PDA. La barra corresponde a 1 cm.

4.4.2. Evaluación de la viabilidad de *Trichoderma* encapsulado

Para la evaluación de la viabilidad de las esporas se realizó después del proceso de secado, se obtuvieron porcentajes de viabilidad menores en los hidrogeles con *Trichoderma* que en las soluciones con esporas libres, esto se puede atribuir a la eficiencia de encapsulación, a pesar de ello las esporas encapsuladas siguen manteniendo su actividad metabólica, como se demostró con el crecimiento en PDA. Sin embargo, se sugiere seguir con la investigación sobre la viabilidad y la concentración de esporas por hidrogel después del proceso de secado.

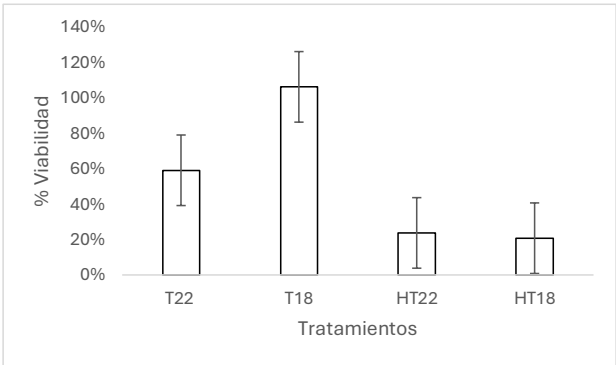


Figura 4.3 Viabilidad de las esporas de *Trichoderma* (T22) encapsulado.

4.4.3. Protección al cultivo

4.4.3.1. Experimento 1

Se evaluó el efecto de la encapsulación de esporas de *Trichoderma* (T18 y T22) sobre la capacidad de control de la infección por *Phytophthora capsici* en plántulas de chile serrano. Los resultados de los parámetros de crecimiento vegetal, incidencia de la enfermedad y viabilidad radicular se presentan en la Cuadro 4.2; el efecto sobre la protección de las plantas se presenta en la Figura 4.1

Cuadro 4.2 Parámetros de crecimiento de la planta e incidencia al final del experimento.

Tratamiento	Altura de planta (cm)	Peso fresco (g)	Incidencia (%)	Viabilidad (mg g ⁻¹ h)
-------------	-----------------------	-----------------	----------------	-----------------------------------

T0	23.25±2.95 ^A	0.285±0.078 ^A	0%	0.680±0.083 ^A
PHC	21.17±3.93 ^A	0.253±0.121 ^A	100%	0.577±0.029 ^{AB}
T18+PHC	19.33±2.48 ^A	0.216±0.175 ^A	75%	0.695±0.032 ^A
T22+PHC	20.753.46 ^A	0.298±0.160 ^A	100%	0.638±0.015 ^A
H+PHC	21.00±1.37 ^A	0.277±0.026 ^A	100%	0.644±0.039 ^A
HT18+PHC	18.86±1.61 ^A	0.331±0.073 ^A	100%	0.449±0.064 ^B
HT22+PHC	21.95±3.05 ^A	0.341±0.011 ^A	100%	0.467±0.048 ^B

T0: plantas de control; PHC: plantas con *P. capsici*; T22: plantas inoculadas con solución de esporas T22; T18: plantas inoculadas con solución de esporas T18; H: plantas con hidrogeles; HT22: plantas con hidrogeles+T22; HT18: plantas con hidrogeles+T18. Los valores con diferentes letras muestran diferencias estadísticamente significativas según la prueba de Tukey (p<0.05).

No se tuvieron diferencias significativas tanto en la altura de las plantas como en el peso fresco de las mismas, sin embargo, se observó mayor peso fresco en los tratamientos con hidrogeles HT18 y HT22, este comportamiento podría estar relacionado con las propiedades bioestimulantes del quitosano, ya que diversos estudios han reportado que este polímero puede favorecer el crecimiento vegetal mediante la reducción de especies reactivas de oxígeno, mejorar la absorción de nutrientes y estimular mecanismos de defensa en las plantas (Rivas-García *et al.*, 2021; Iftime M. *et al* 2024), todos los tratamientos presentaron el 100% de incidencia de la enfermedad con excepción del tratamiento T18 (Figura 4.1), este comportamiento puede atribuirse a la facilidad de las esporas libres para colonizar la raíz de la planta en menor tiempo que las esporas encapsuladas en los hidrogeles, asimismo se ha reportado que T18 (*T. viride*) presenta una mayor actividad lítica en β 1,3 glucanasas y quitinasas en comparación con distintas cepas de *T. harzianum* durante interacciones antagonistas con *Aspergillus niger* (Gajera y Varkharia, 2012), estas enzimas hidrolíticas desempeñan un papel fundamental en la degradación de la pared celular de los fitopatógenos, por lo que la diferencia entre la actividad enzimática de las cepas de *Trichoderma* utilizadas pueden explicar la menor incidencia de la enfermedad que presentó el tratamiento con T18 en solución de esporas.

Comentado [JQ3]: Todo debe de ir en pasado en resutados, revisar

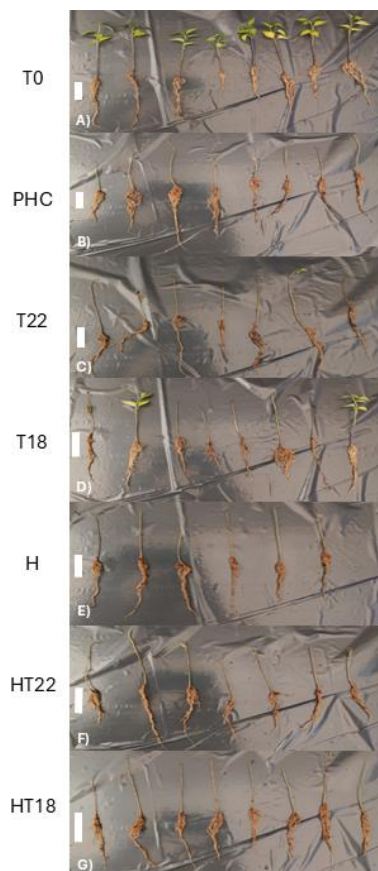


Figura 4.4 Efecto de los hidrogeles en la protección de los cultivos: A) T0: plantas de control; B) PHC: plantas inoculadas con *P. capsici*; C) T22: plantas inoculadas con solución de esporas de T22; D) T18: plantas inoculadas con solución de esporas de T18; E) H: plantas con hidrogeles; F) HT22: plantas con hidrogeles + T22; G) HT18: plantas con hidrogeles + T18. La barra corresponde a 5 cm.

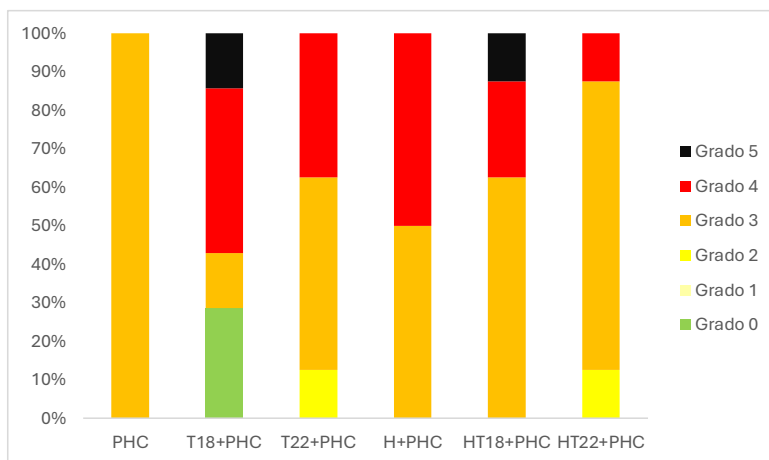


Figura 4.5 Gravedad de la enfermedad en plántulas de chile infectadas con *Phytophthora capsici*. PHC: plantas inoculadas con *P. capsici*; T18: plantas inoculadas con solución de esporas T18 e inoculadas con *P. capsici*; T22: plantas inoculadas con solución de esporas T22 e inoculadas con *P. capsici*; H: plantas con hidrogeles e inoculadas con *P. capsici*; HT22: plantas con hidrogeles + T22 e inoculadas con *P. capsici*; HT18: plantas con hidrogeles + T18 e inoculadas con *P. capsici*.

En este experimento se utilizaron solamente 10 plantas por tratamiento y la inoculación con el patógeno PHC se realizó 15 días posteriores a la aplicación de los hidrogeles y soluciones de esporas. Se observó la incidencia en el total de las plantas inoculadas con *P. capsici*, con excepción del tratamiento T18, la cual tuvo un 75% de incidencia de la enfermedad, durante el proceso de inoculación no se identificaron fallas metodológicas, por lo que se plantea que el tiempo de interacción entre los hidrogeles-planta pudo haber sido insuficiente para permitir la colonización radicular por *Trichoderma* y, en consecuencia, la protección frente al oomiceto. Esta limitada colonización podría explicar la ausencia de protección efectiva frente al oomiceto, observándose un efecto protector únicamente en el tratamiento con la solución de esporas T18.

4.4.3.2. Experimento 2.

En este segundo experimento se emplearon el mismo número de plantas que el primer experimento, no obstante, se aumentó el tiempo de interacción entre hidrogeles-planta de 15 días a 21 días, con la finalidad de favorecer la colonización del *Trichoderma* encapsulado proporcionando el tiempo suficiente para salir del hidrogel y colonizar la raíz de las plantas, permitiendo así una mayor probabilidad de establecimiento y acción biocontroladora.

Los resultados del experimento 2 se describen en el capítulo 3, donde se evaluó el efecto de los hidrogeles con *Trichoderma* contra *P. capsici*.

4.4.3.3. Experimento 3.

Para este último experimento se evaluó la efectividad de los hidrogeles contra el patógeno *P. capsici* después de veintidós días de la aplicación de los hidrogeles.

Los resultados de los parámetros de crecimiento vegetal, incidencia de la enfermedad y viabilidad radicular se presentan en el cuadro 4.3; el efecto sobre la protección de las plantas se presenta en la Figura 4.3.

Cuadro 4.3 Parámetros de crecimiento de la planta, incidencia y daño radicular al final del experimento.

Tratamiento	Altura de planta (cm)	Peso fresco (g)	Incidencia (%)	TCC (mg g ⁻¹ h)
T0	41.80±6.83 ^A	4.37±1.46 ^A	0%	0.359±0.234 ^A
PHC	34.25±10.66 ^A	2.04±1.40 ^B	60%	0.428±0.379 ^A
T18+PHC	39.30±6.16 ^A	2.46±1.38 ^{AB}	60%	0.357±0.457 ^A
T22+PHC	33.30±6.64 ^A	2.21±0.99 ^B	40%	0.295±0.220 ^A
H+PHC	34.85±8.97 ^A	1.80±1.41 ^B	70%	0.699±0.847 ^A
HT18+PHC	36.85±6.58 ^A	2.36±1.65 ^B	60%	0.649±0.821 ^A
HT22+PHC	38.85±6.90 ^A	3.21±1.82 ^{AB}	20%	0.735±0.902 ^A

T0: plantas de control; PHC: plantas con *P. capsici*; T22: plantas inoculadas con solución de esporas T22; T18: plantas inoculadas con solución de esporas T18; H: plantas con hidrogeles; HT22: plantas con hidrogeles+T22; HT18: plantas con hidrogeles+T18. Los valores con diferentes letras muestran diferencias estadísticamente significativas según la prueba de Tukey ($p<0.05$).

Comentado [JQ4]: Aquí es importante mencionar cuales cambios se realizaron con respecto al 1er experimento, de nuevo algo descriptivo

Comentado [JQ5]: Que cambios se realizaron para mejorar con respecto al anterior experimento, hay que describir algo de las mejoras realizadas

No se tuvo diferencias significativas en la altura de las plantas, aunque cabe destacar que las plantas con los tratamientos de hidrogel+ *Trichoderma* mostraron una tendencia de valores de altura superiores respecto a las plantas control con el patógeno (PHC). Por otra parte, los tratamientos T22, H, HT18 y PHC si tuvieron una diferencia significativa con respecto a las plantas control (T0) presentando menor peso fresco. La viabilidad en la raíz no tuvo diferencias significativas entre tratamientos, pero se presenta un alza en los valores de los tratamientos con hidrogeles H, HT18 y HT22, esto se puede atribuir a la eficacia de la colonización del hongo y los efectos del quitosano sobre la planta aumentando la actividad de las β 1,3 glucanasas y peroxidasas como lo reporta López-Velázquez *et al.* (2021), por consiguiente tiene un efecto directo con la reducción de las especies reactivas de oxígeno y aumento de clorofila (Ifime *et al.*, 2024).

Estos resultados presentan diferencias respecto a los obtenidos en el experimento 2 donde la protección se logró con las plantas con el tratamiento HT18 al contrario de este último experimento las plantas con menor porcentaje de incidencia fueron las tratadas con HT22 presentando un 20%, esto puede deberse a la distribución de esporas en las fracciones utilizadas de las distintas cepas y lotes realizados, es decir, al solo usarse las fracciones 2 y 3 de la mezcla polimérica solo se tuvo la certeza del crecimiento del *Trichoderma* de acuerdo con el crecimiento en PDA, sin embargo, no se realizó un conteo de UFC por hidrogel de las diferentes fracciones, dicho análisis podría ser estudiado en futuros trabajos de investigación, para asegurar la concentración empleada en cada planta. La baja severidad de síntomas presentados de las plantas del tercer experimento (Figura 4.4) podría estar relacionada con una posible reducción de la virulencia del aislamiento de PHC, como consecuencia de su mantenimiento prolongado mediante subcultivos de medio V8 sin realizar pases en hospedero vegetal, esta puede ir sufrir modificaciones fisiológicas y de virulencia (Sevillano-Serrano, *et al.*, 2024; Lamour *et al.*, 2012).

Comentado [JQ6]: ¿Qué diferencias hay con respecto al experimento 2? Los resultados son contrarios, hay algún motivo de estos resultados? Hay que tratar de considerar opciones. De nuevo todo descriptivo

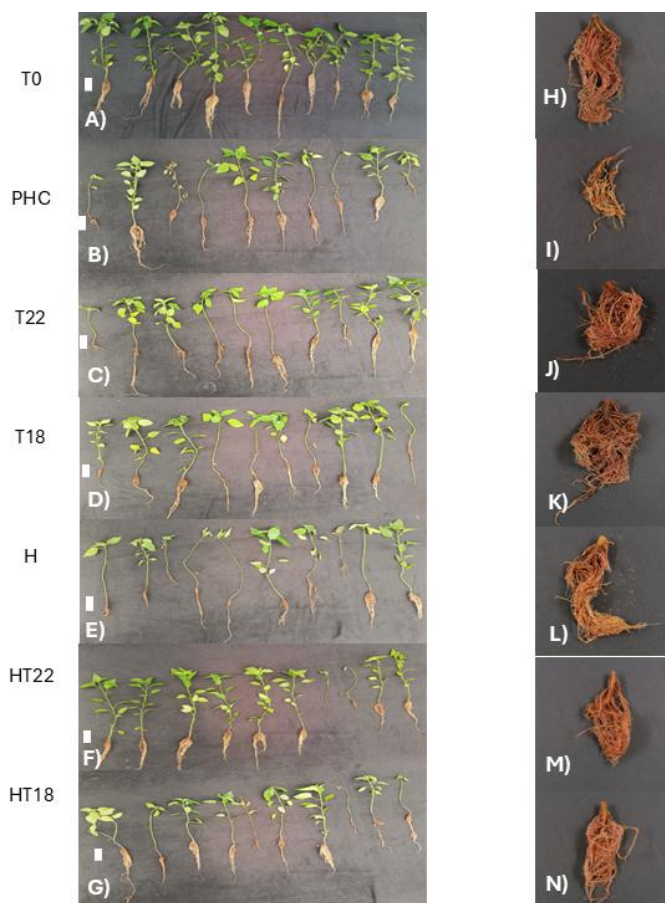


Figura 4.6 Efecto de los hidrogeles en la protección de los cultivos: A) T0: plantas de control; B) PHC: plantas inoculadas con *P. capsici*; C) T22: plantas inoculadas con solución de esporas de T22; D) T18: plantas inoculadas con solución de esporas de T18; E) H: plantas con hidrogeles; F) HT22: plantas con hidrogeles + T22; G) HT18: plantas con hidrogeles + T18. La barra corresponde a 5 cm.

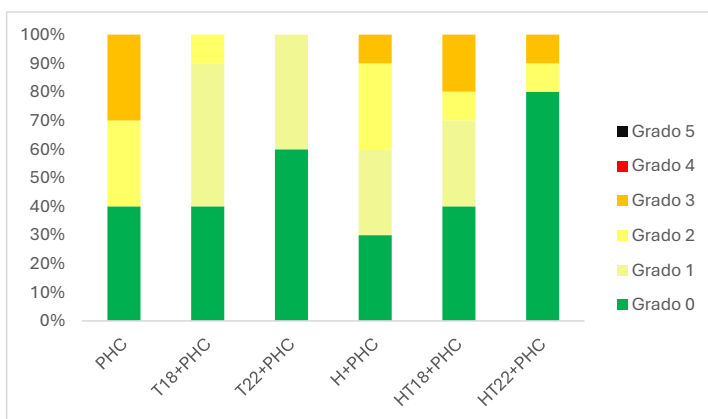


Figura 4.7 Gravedad de la enfermedad en plántulas de chile infectadas con *Phytophthora capsici*. PHC: plantas inoculadas con *P. capsici*; T18: plantas inoculadas con solución de esporas T18 e inoculadas con *P. capsici*; T22: plantas inoculadas con solución de esporas T22 e inoculadas con *P. capsici*; H: plantas con hidrogeles e inoculadas con *P. capsici*; HT22: plantas con hidrogeles + T22 e inoculadas con *P. capsici*; HT18: plantas con hidrogeles + T18 e inoculadas con *P. capsici*.

4.5. Conclusión

En este capítulo se concluye que las esporas de *Trichoderma* encapsuladas si logran mantener su viabilidad después del proceso de encapsulación independientemente de las cepas utilizadas de *Trichoderma*, sin embargo, la distribución de las esporas en las esferas es altamente variable por lo cual se tienen respuestas distintas tanto en la germinación fúngica como en la protección de las plantas infectadas con *P. capsici* en comparación con las esporas libres, es importante destacar que se deben realizar estudios posteriores sobre el proceso de fabricación de los hidrogeles, continuar con las modificaciones del proceso para obtener partículas más pequeñas, una mejor distribución y concentración de las esporas en los hidrogeles para una mayor efectividad en el control biológico, además de profundizar en el mecanismo de interacción hidrogeles-plantas.

4.6. Referencias

1. Bae, H., Roberts, D., Lim, H., Strem, M., Park, S., Ryu, C. y Bailey, B. (2011). Endophytic *Trichoderma* isolates from tropical environments delay disease onset and induce resistance against *Phytophthora capsici* in hot pepper using multiple mechanisms. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 24(3), 336–351. <https://doi.org/10.1094/MPMI-09-10-0201>
2. Bercea, M. (2024). Recent advances in poly(vinyl alcohol)-based hydrogels. *Polymers*, 16(14), Artículo 2021. <https://doi.org/10.3390/polym16142021>
3. Brondi, M. G., Florencio, C., Mattoso, L. H. C., Ribeiro, C. y Farinas, C. S. (2022). Encapsulation of *Trichoderma harzianum* with nanocellulose/carboxymethyl cellulose nanocomposite. *Carbohydrate Polymers*, 295, 119876. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.119876>
4. Chandrika, K. S. V. P., Prasad, R. D. y Godbole, V. (2019). Development of chitosan–PEG blended films using *Trichoderma*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 126, 282–290. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.12.195>
5. Gajera, H. P. y Vakharia, D. N. (2012). Producción de enzimas líticas por aislados de *Trichoderma* durante el antagonismo in vitro con *Aspergillus niger*, el agente causal de la podredumbre del cuello del cacahuete. *Brazilian Journal of Microbiology*, 43(1), 43–52. <https://doi.org/10.1590/S151783822012000100005>
6. Godínez-Paoli, R., Leyva-Mir, S. G., García-Mateos, M. R. y Magdaleno-Villar, J. (2020). Fungicides, biocontrollers and resistance inducers in commercial bell pepper hybrids inoculated with *Phytophthora capsici*. *Mexican Journal of Phytopathology*, 38(2), 258-268. <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2002-1>
7. Hassan, O. y Chang, T. (2017). Chitosan for eco-friendly control of plant disease. *Asian Journal of Plant Pathology*, 11(2), 53–70. <https://doi.org/10.3923/ajppaj.2017.53.70>

8. Iftime, M., Nicolescu A., Oancea F., Georgescu F. y Marin L. (2024). Chitosan-strigolactone mimics with synergistic effect: A new concept for plant biostimulants. *Carbohydrate Polymers*, 341, Artículo 122524. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2024.122524>
9. Lamour, K. H., Mudge, J., Gobena, D., Hurtado-Gonzales, O. P., Schmutz, J., Kuo, A., Miller, N. A., Rice, B. J., Raffaele, S., Cano, L. M., Kamoun, S., Childs, K. L. y Donahoo, R. S. (2012). Genome sequencing and mapping reveal loss of heterozygosity as a mechanism for rapid adaptation in the vegetable pathogen *Phytophthora capsici*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 25(10), 1350–1360. <https://doi.org/10.1094/MPMI-02-12-0028-R>
10. Lei, G., Zhou, K. H., Chen, X., Huang, Y., Yuan, X., Li, G. y Fang, R. (2023). Transcriptome and metabolome analyses revealed the response mechanism of pepper roots to *Phytophthora capsici* infection. *BMC Genomics*, 24, Artículo 626. <https://doi.org/10.1186/s12864-023-09724-4>
11. López-Gervacio, A. J., Qui-Zapata, J. A., Barrera-Martínez, I., Montero-Cortés, M. I. y García-Morales, S. (2025). Selenium nanoparticles inhibit *Phytophthora capsici* growth. *Agronomy*, 15(2), Artículo 490. <https://doi.org/10.3390/agronomy15020490>
12. López-Velázquez, J. C., Haro-González, J. N., García-Morales, S., Espinosa-Andrews, H., Navarro-López, D. E., Montero-Cortés, M. I. y Qui-Zapata, J. A. (2021). Evaluation of the physicochemical properties of chitosans in inducing the defense response of *Coffea arabica* against the fungus *Hemileia vastatrix*. *Polymers*, 13(12), Artículo 1940. <https://doi.org/10.3390/polym13121940>
13. López-Velázquez, J. C., Rodríguez-Rodríguez, R., Espinosa-Andrews, H., Qui-Zapata, J. A., García-Morales, S., Navarro-López, D. E., Luna-Bárcenas, G., Vassallo-Brigneti, E. C. y García-Carvajal, Z. Y. (2019). Gelatin–chitosan–PVA hydrogels and agricultural applications. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 94(11), 3495–3504. <https://doi.org/10.1002/jctb.5961>

14. Martínez-Vela, L. J., Montero-Cortés, M. I., Qui-Zapata, J. A., García-Carvajal, Z. Y. y Farías-Cervantes, V. S. (2025). Trichoderma strains with biostimulant activity. *Avances en Ingeniería Química*, 4, BIO216–BIO221.
15. Momo, J., Kumar, A., Islam, K., Ahmad, I. y Rawoof, A. (2022). A comprehensive update on *Capsicum* proteomics: Advances and future prospects. *Journal of Proteomics*, 261, Artículo 104578. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2022.104578>
16. Montes, S., López, P., Hernández, S. y Ramírez, M. (2010). *Recopilación y análisis de la información existente de las especies del género Capsicum que crecen y se cultivan en México*. Escuela de Agronomía Universidad Autónoma de Sinaloa (UAS), SEMARNAT-CONABIO, INIFAP.
17. Ortega-Sánchez, C., Melgarejo-Ramírez, Y., Rodríguez-Rodríguez, R., Jiménez-Ávalos, J. A., Giraldo-Gomez, D. M., Gutiérrez-Gómez, C., Rodríguez-Campos, J., Luna-Bárcenas, G., Velasquillo, C. y Martínez-López, V. (2024). Hydrogel based on chitosan/gelatin/poly(vinyl alcohol) for in vitro human auricular chondrocyte culture. *Polymers*, 16(4), Artículo 479. <https://doi.org/10.3390/polym16040479>
18. Paoli, A., Mancin, L., Giacona, M. C., Bianco, A. y Caprio, M. (2020). Effects of a ketogenic diet in overweight women with polycystic ovary syndrome. *Journal of Translational Medicine*, 18, Artículo 104. <https://doi.org/10.1186/s12967-020-02277-0>
19. Quispe-Quispe, E., Moreira-Morrillo, A. y Garcés-Fiallos, F. R. (2022). A review about biocontrollers of *Phytophthora capsici* and its impact on *Capsicum* plants: A perspective from outside to inside the plant. *Scientia Agropecuaria*, 13(3), 275-289. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2022.025>
20. Rivas-García, T., González-Gómez, L., Boicet-Fabré, T. y Jiménez-Arteaga, M. C. (2021). Respuesta agronómica de dos variedades de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) a la aplicación del bioestimulante con quitosano. *Terra Latinoamericana*, 39, 1-11. <https://doi.org/10.28940/terra.v39i0.796>

21. Saberi Riseh, R., Ebrahimi-Zarandi, M., Gholizadeh Vazvani, M. y Skorik, Y. A. (2021). Reducing drought stress in plants by encapsulating plant growth-promoting bacteria with polysaccharides. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(23), Artículo 12979. <https://doi.org/10.3390/ijms222312979>
22. Sevillano-Serrano, J., Toome-Heller, M., Taylor, P. W. J., Tyson, J. L. y Braithwaite, M. (2024). Increasing virulence and decreasing fungicide sensitivity in *Phytophthora capsici* after continuous metalaxyl-chlorothalonil exposure. *Journal of Plant Pathology*. Advance online publication. <https://doi.org/10.1007/s42161-024-01713-0>
23. Srivastava, S., Debnath, B., Manda, R. R., Maurya, S., Rana, M. y Tiwari, A. K. (2026). *Trichoderma* in sustainable agriculture: Advances, applications, and future prospects for biocontrol and plant growth promotion. *Annals of Applied Biology*, 188(3), 332–351. <https://doi.org/10.1111/aab.12832>
24. Velasquez-Valle, R., Reveles-Torres, L. R. y Reveles-Hernández, M. (2013). *Manejo de las principales enfermedades del chile para secado en el norte centro de México* (Folleto técnico Núm. 50). INIFAP.

5. CAPÍTULO

5.1. Discusiones generales

La integración de los resultados obtenidos demuestra que el uso de cepas de *Trichoderma* spp. y la cepa FUHER representa una estrategia integral y prometedora para el manejo de *Phytophthora capsici* en el cultivo de chile (*Capsicum annuum*), actuando tanto por vía de la confrontación directa (antagonismo) como indirecta (endofitismo, bioestimulación y sistemas de liberación prolongada basados en hidrogeles poliméricos).

Las cepas exhibieron un rápido antagonismo por competencia de espacio y nutrientes a las 72 horas, culminando en un micoparasitismo agresivo al décimo día mediante el enrollamiento y destrucción del micelio del patógeno. El cese del crecimiento de *P. capsici* al momento del contacto coincide con lo descrito por Michel-Aceves *et al.* (2019) en otros fitopatógenos, sugiriendo un mecanismo de inhibición común mediado por la velocidad de proliferación del antagonista (Ezziyyani *et al.*, 2004; Infante *et al.*, 2009). *in vivo*, la microscopía confocal confirmó que las cepas más eficientes (T7, T18, T22 y FUHER) actúan como endófitos facultativos, penetrando de forma intracelular en el tejido radicular (Andrade-Hoyos *et al.*, 2023). Esta íntima asociación celular es un factor crítico de protección que permite activar las defensas de la planta; esto explica por qué las esporas libres de T18 y T22 lograron mantener un 12.5% de plantas asintomáticas, lo cual guarda consistencia con Bae *et al.* (2011), quienes demostraron que las cepas endófitas de *Trichoderma* spp. inducen una inhibición efectiva contra la marchitez provocada por *P. capsici*.

Se logró realizar el hidrogel empleando materias primas más económicas que las de grado reactivo mediante precipitación alcalina con NaOH 1N, reduciendo drásticamente la complejidad del protocolo tradicional al eliminar xileno y las liofilizaciones. El mecanismo químico se basa en la protonación de los grupos amino del quitosano en medio ácido (formando grupos amonio $-\text{NH}_3^+$), lo que eleva su solubilidad y permite mezclarlo homogéneamente con la gelatina y el

PVA (Yip *et al.*, 2015). Al neutralizar el sistema con la base y alcanzar un pH de 7.0, las cadenas se desprotonan y precipitan de forma irreversible. Esta optimización metodológica representa una simplificación directa del proceso reportado por López-Velázquez *et al.* (2019), promoviendo vías más amigables con el medio ambiente para la preparación de matrices poliméricas destinadas a la protección de cultivos agrícolas.

El análisis espectroscópico FTIR confirmó la compatibilidad estructural de la mezcla mediante la formación de enlaces de hidrógeno entre los grupos —OH y —NH_2 del quitosano con los del PVA, solapándose con las amidas de la gelatina (Ortega-Sánchez *et al.*, 2024; Skopinska-Wisniewska *et al.*, 2021). Morfológicamente, las micrografías de microscopía electrónica de barrido (MEB) revelaron que el secado por convección con aire caliente provocó un colapso de la red tridimensional por la pérdida de agua, restando porosidad superficial en comparación con la liofilización (Simoni *et al.*, 2017; Krastev *et al.*, 2025). No obstante, se recubrieron eficazmente las esporas fúngicas, las cuales alcanzaron un diámetro promedio de $3.35\ \mu\text{m}$, este valor es superior al reportado por Brondi *et al.* (2022) debido a la capa polimérica. Las perlas demostraron una evidente sensibilidad al pH (López-Velázquez *et al.*, 2019), exhibiendo una máxima absorción en medios ácidos debido a repulsiones electrostáticas iónicas (Becerra-Bracamontes *et al.*, 2009; Tran Vo *et al.*, 2022), lo que se relaciona con el fenómeno de “overshooting” (Yin *et al.*, 2008; Estrella, 2015) observado en suelo a las 3 horas de monitoreo.

Los ensayos mediante la técnica de entierro demostraron que las matrices basadas en Gel-QTS-PVA poseen un carácter biodegradable al perder masa de forma progresiva y mostrar superficies irregulares con el paso de los días. Este proceso de biodegradación fue significativamente más rápido en el tratamiento cargado con la cepa activa en suelo inoculado (HT22I). Este comportamiento sustenta lo señalado por López-Velázquez *et al.* (2019) y Gavilanes *et al.* (2021), quienes asocian la carga bacteriana y fúngica del suelo con la degradación del material.

El crecimiento de las cepas de *Trichoderma* varió, la cepa T22 (*T. harzianum*) mostró un crecimiento a los 3 días, por otra parte, la cepa T18 (*T. viride*) tuvo crecimiento hasta el día 5. La viabilidad celular se mantuvo, tal como observaron Dogaru *et al.* (2021) en matrices de gelatina y Wang *et al.* (2023) en procesos de deshidratación fúngica. En el ensayo de protección vegetal frente al patógeno, el hidrogel formulado con la cepa nativa *T. viride* (HT18) logró una protección absoluta del 100% de las plantas, revirtiendo el comportamiento de las esporas libres donde *T. harzianum* T22 había sido superior. Este éxito contrasta positivamente con la incidencia reportada por López-Velázquez *et al.* (2019), esta diferencia fue explicada por López-Velázquez *et al.* (2021) debido al uso de quitosano de alta densidad de grado alimentario, el cual posee una mayor capacidad de inducir resistencia sistémica. Además, como demostraron Gajera y Vakharia (2012), ciertas cepas de *T. viride* exhiben una actividad de enzimas líticas (β 1,3-glucanasas y quitinasas) mayor que las de *T. harzianum*.

5.2. Conclusiones generales

La presente investigación permitió la evaluación de diferentes cepas de *Trichoderma* demostrando que dicho genero tiene la capacidad de biocontrolador frente al oomiceto *P. capsici*, adicionalmente tiene un efecto sobre el crecimiento vegetal. Por otra parte, se logró el desarrollo de una matriz polimérica biodegradable de Gelatina–Quitosano–Alcohol Polivinílico (Gel–QTS–PVA) mediante la precipitación alcalina con NaOH 1 N, simplificando los protocolos con solventes orgánicos tóxicos y liofilizaciones, dichos hidrogeles biodegradables se basaron en la encapsulación de cepas fúngicas del género *Trichoderma* y se evaluó su efecto como biocontrol de la marchitez en el cultivo de chile (*Capsicum annuum*) ocasionada por *P. capsici*.

Las perlas esféricas resultantes (2.50 mm) exhibieron una excelente compatibilidad estructural estabilizada por puentes de hidrógeno, una marcada sensibilidad al pH que favorece el fenómeno de hinchamiento por repulsión electrostática, y una degradación acelerada en el suelo mediada por la propia actividad enzimática

hidrolítica de las cepas cargadas (como las quitinasas), asegurando la biodegradación del hidrogel.

En la evaluación de control biológico a pesar de no obtener diferencias estadísticamente significativas en la altura de las plantas, los tratamientos que combinaron el hidrogel con *Trichoderma* marcaron una clara tendencia superior en comparación con el control enfermo (PHC). El alza observada en los valores de viabilidad radicular en los tratamientos H, HT18 y HT22 confirmó la colonización endófitas del hongo combinada con las propiedades elicitoras del quitosano de alta densidad.

La discrepancia entre los resultados de los experimentos de control biológico realizados no anula la viabilidad de las cepas, esto puede ser explicado por una distribución desigual de esporas entre los diferentes lotes y fracciones poliméricas utilizadas. Debido a que la presencia biológica solo se constató cualitativamente mediante crecimiento en plato (PDA) sin realizar un conteo cuantitativo de UFC por hidrogel antes de la inoculación, se establece como una recomendación fundamental para futuros trabajos estandarizar la concentración de UFC por perla para asegurar dosis uniformes en cada planta. Finalmente, la baja severidad generalizada de los síntomas de marchitez observada en el tercer experimento se atribuye al mantenimiento prolongado del aislamiento de *P. capsici* a través de subcultivos sucesivos en medio V8, sin realizar pases previos por un hospedero vegetal vivo, esto pudo inducir modificaciones fisiológicas que redujeron significativamente su virulencia.