

Efecto antifúngico de esporas  
encapsuladas de *Metarhizium anisopliae*  
sobre el desarrollo de plantas de frijol  
(*Phaseolus vulgaris L*) infectadas con  
*Fusarium moniliforme*

Antifungal Effect Of Encapsulated *Metarhizium anisopliae* spores on  
the development of bean plants (*Phaseolus vulgaris L*) infected with  
*Fusarium moniliforme*

—  
Rosa Isela Cruz Rodríguez • rosa.cr@tuxtla.tecnm.mx  
ORCID: 0000-0002-4743-9112

María Laura Porraz Ruiz • maría.pr@tuxtla.tecnm.mx  
ORCID: 0000-0003-4884-7545

Salvador Hernández Garduza • salvador.hr@tuxtla.tecnm.mx  
ORCID: 0009-0009-9426-9628

Jorge Armando Gómez Salinas • jorge.gs@tuxtla.tecnm.mx  
ORCID: 0000-0003-3611-5822

TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO, CAMPUS TUXTLA, TUXTLA  
GUTIÉRREZ, CHIAPAS, MÉXICO



Para citar este artículo:

Cruz Rodríguez, R. I., Porraz Ruiz, M. L., Hernández Garduza, S., & Gómez Salinas, J. A. Efecto antifúngico de esporas encapsuladas de *Metarhizium anisopliae* sobre el desarrollo de plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) infectadas con *Fusarium moniliforme*. *Espacio I+D, Innovación más Desarrollo*, 12(34). <https://doi.org/10.31644/IMASD.34.2023.a01>

## RESUMEN

La producción anual del cultivo de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en México se reduce principalmente por enfermedades y plagas. Una alternativa de control biológico es el empleo de esporas de *Metarhizium anisopliae* por su capacidad de colonizar la rizosfera, pero su efectividad disminuye por la sensibilidad a factores ambientales. Por tanto, el objetivo de este estudio fue analizar el potencial de biocontrol de una formulación de alginato con esporas de *M. anisopliae* en el cultivo de frijol infectado con *Fusarium*. Se planteó un diseño experimental completamente al azar, utilizando plantas sanas como control, también se inocularon de plantas con una suspensión de *Fusarium oxysporum* en el sustrato y adicionalmente a una parte de estas se les depositó en la base del tallo 1 g de cápsulas de alginato que contenían esporas de *M. anisopliae* por planta, se midieron los parámetros morfométricos cada 8 días durante 8 semanas, así como la aparición de síntomas de fusariosis. Tras analizar los datos obtenidos se observó que hubo diferencias significativas a los 64 días después de la inoculación (ddi) siendo mayor el peso seco foliar y de raíces, así como la longitud de raíz en las plantas donde hubo interacción de *Fusarium* y las esporas encapsuladas de *Metarhizium*, esto sugiere que la presencia de ambos microorganismos afectó de forma positiva el metabolismo de las plantas, superando los beneficios de *Metarhizium* como promotor de crecimiento. Además, se observó que el porcentaje de incidencia en la raíz disminuyó con el tratamiento 4 sin presentar diferencia significativa de 32 a 64 ddi con valores similares al tratamiento 3 a los 16 días. Se concluyó que la aplicación de esporas encapsuladas de *M. anisopliae* es una opción viable para reducir el efecto del marchitamiento por *Fusarium* en el cultivo de frijol.

### Palabras clave:

*Metarhizium anisopliae*; alginato; incidencia de la enfermedad.

— Abstract —

The annual production of the bean crop (*Phaseolus vulgaris L.*) in Mexico is reduced mainly by diseases and pests. An alternative for biological control is the use of *Metarhizium anisopliae* spores due to their ability to colonize the rhizosphere, but their effectiveness decreases due to sensitivity to environmental factors. Therefore, the objective of this study was to analyze the biocontrol potential of an alginate formulation with spores of *M. anisopliae* in the bean crop with *Fusarium* infected. A completely randomized experimental design was proposed using healthy plants as control, plants were also inoculated with a suspension of *Fusarium oxysporum* in the substrate and additionally to a part of these plants, 1 g of capsules of alginate with *M. anisopliae* spores per plant was deposited at the stem base, the morphometric parameters were measured every 8 days for 8 weeks, as well as the appearance of *Fusarium* wilt symptoms. After analyzing the data obtained, it was shown that there were significant differences 64 days after inoculation (ddi), with greater leaf and root dry weight, as well as root length in plants where there were interactions between *Fusarium* and encapsulated spores of *Metarhizium*, which suggests that the presence of the microorganisms positively affected the treatment of the plants, surpassing the benefits of the application of *Metarhizium* reported as a growth promoter. In addition, the incidence of the root disease will occur during the first 32 days of cultivation. It was concluded that the application of encapsulated spores of *M. anisopliae* is a viable option as a biocontrol to reduce the effect of *Fusarium* wilt in the bean crop.

**Keywords:**

*Encapsulated; Metarhizium anisopliae; alginate; disease incidence.*

El grano de frijol por su alto contenido de proteínas se considera uno de los alimentos principales de la gastronomía en México tanto para la población rural como urbana, por lo que es de vital importancia mantener una producción suficiente para satisfacer la demanda, ya que existen diversos factores que influyen en la calidad del grano, como el manejo agronómico y las condiciones del cultivo y almacenamiento, además que durante su desarrollo en campo se ve amenazado por plagas y enfermedades. Las especies de *Fusarium* son las más agresivas que limitan la productividad del frijol común, principalmente *Fusarium solani* (Toghueo *et al.*, 2016), el síntoma principal de la fusariosis es la pudrición de la raíz, que comienza con la reducción del sistema radicular en longitud y peso, disminuyendo así la capacidad de absorción de nutrientes y de agua de la planta, llevándola hasta su muerte, otro género que afecta este cultivo es *Rhizoctonia*, los cuales llegan a provocar graves daños en las variedades susceptibles hasta el 94% de la incidencia de la enfermedad y de 39% en las resistentes (Ketta & Hewedy, 2021). El manejo convencional para controlar estos patógenos es la aplicación de fungicidas químicos, y el abuso de estos compuestos ha afectado otros componentes del ecosistema, como es la inhibición de los polinizadores y la reducción de comunidades microbianas benéficas del suelo, incluso han provocado la aparición de patógenos resistentes. Aunado a que la acumulación de esos compuestos inorgánicos afecta la salud de quien lo aplica y del medio ambiente. En las últimas décadas se han buscado alternativas que reduzcan esas afectaciones, siendo el más prometedor el uso de agentes de biocontrol (bacterias y hongos) de amplio espectro antagonista (Uzman *et al.*, 2019; Sánchez-Rodríguez *et al.*, 2016).

Se ha demostrado que los microorganismos no patógenos asociados con la planta generalmente la protegen mediante una rápida colonización y, por lo tanto, utilizan los sustratos disponibles, quedando limitados para los organismos patógenos obstaculizando el crecimiento de los últimos (Mayerhofer *et al.*, 2019). Especies de hongos entomopatógenos como *Beauveria bassiana* y algunas pertenecientes al género *Metarhizium* se han empleado para el control de insectos en cultivos de importancia alimentaria, pueden colonizar sus raíces (Ahmad *et al.*, 2020; Razinger *et al.*, 2020; Krell *et al.*, 2017), promover el crecimiento e incluso aumentar sus resistencia ante patógenos virales y fúngicos (Shalan *et al.*, 2021; Shalan & Ibrahim, 2018) debido a su capacidad de producción de moléculas bioactivas por parte de su metabolismo secundario tales como hormonas y antibióticos, (Shah *et al.*, 2022). El entomopatógeno *M. anisopliae* ataca naturalmente a insectos de diversos órdenes (Yousef *et al.*, 2018) mediante la combinación de enzimas hidrolíticas tales como glucanasas, lipasas, amilasas, quitinasas y de metabolitos tóxicos como las destruxinas y citocalasinas, desafortunadamente su prevalencia en el ambiente se ve limitada debido a que es

sensible a factores ambientales como temperatura, humedad y radiación (Putnoky-Csicsó *et al.*, 2020), reduciendo su efectividad en los cultivos; por consiguiente, para prolongar los beneficios que brinda la interacción de *M. anisopliae* con su planta huésped se requiere de una cobertura que le permita incrementar su permanencia y resistencia ambiental, al respecto se han realizado investigaciones que proponen la inclusión de esporas del microorganismo en una matriz polimérica no tóxica (Manzanarez-Jiménez *et al.*, 2023) y biocompatible. El alginato de sodio es un polímero que se ha empleado para la encapsulación de células, que ha permitido la liberación de las células bajo condiciones específicas y se han alcanzado del 80 al 95 % de supervivencia (Sarma *et al.*, 2023; De Oliveira Lopes *et al.*, 2020), siendo una buena alternativa para la protección de agentes de biocontrol fúngicos, incluidos los entomopatógenos (Lei *et al.*, 2022). Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue analizar el potencial de biocontrol de una formulación de alginato con esporas encapsuladas de *M. anisopliae* en el cultivo de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) infectado con *Fusarium*.

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1 Microorganismos

*Metarhizium anisopliae* se obtuvo del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) y *Fusarium moniliforme* molecularmente identificado (no.GU982311.1).

### 2.2 Encapsulación de esporas de *Metarhizium anisopliae* en alginato de sodio

Las cápsulas de alginato se prepararon mediante gelificación iónica, de acuerdo a lo reportado por Meirelles *et al.*, (2023) con algunas modificaciones. Se preparó la solución de alginato de sodio (Marca Sigma-Aldrich-Merck) al 4% p/v y esterilizó a 15 Lb por 15 minutos. Posteriormente en una campana de flujo laminar esa solución se mezcló con una suspensión de esporas ( $1 \times 10^7$  esporas/mL.) de *M. anisopliae*, la cual se preparó a partir de un cultivo en caldo Czapek de 7 días al 4 % v/v. se mantuvo en agitación hasta que la mezcla fuera uniforme y se depositó en una jeringa de 20 mL sin aguja, de la cual se dejó caer gota a gota sobre una solución de cloruro de calcio ( $\text{CaCl}_2$ ) (Marca Meyer) al 10 % previamente estéril y a temperatura ambiente que se mantuvo en agitación continua, al entrar en contacto la mezcla (alginato de Na-suspensión de esporas) en la solución de  $\text{CaCl}_2$  se forman instantáneamente las perlas, encapsulando las esporas. Las perlas o cápsulas se mantuvieron en la solución de  $\text{CaCl}_2$  durante 30 min, transcurrido ese

tiempo se lavaron con agua estéril y se depositaron en un recipiente seco y estéril, finalmente se secaron en un horno a 45 °C durante 48 h.

### 2.3 Material vegetal

Las semillas de frijol se obtuvieron del invernadero del Tecnológico Nacional de México, campus Tuxtla provenientes de cultivos de conservación.

### 2.4 Establecimiento del experimento a nivel invernadero

A partir de un cultivo previo en cajas Petri con agar papa dextrosa (PDA) durante 7 días a  $28 \pm 2^\circ\text{C}$ , se preparó la suspensión del inóculo del patógeno a una concentración suspensión de  $1 \times 10^6$  esporas/mL de *F. moniliforme*, para ello se adicionó a cada placa 10 mL de agua destilada estéril y perlas de cristal que se agitaron lentamente para desprender las esporas del micelio. Cada semilla de frijol se sembró en 100 g de sustrato Peat moss en bolsas negras de vivero a 4 cm de profundidad, 12 días después de la germinación, las plantas fueron trasplantadas en macetas que contenían 500 g del mismo sustrato, se evaluaron cuatro tratamientos: 1) frijol - testigo neutro -(Fr), 2) frijol + *F. moniliforme* (Fr + Fm), 3) frijol + cápsulas de *M. anisopliae* (Fr + CMa), 4) frijol + cápsulas de *M. anisopliae* + *F. moniliforme* (Fr + CMa + Fm). En el momento del trasplante para los tratamientos 3 y 4 se les depositó a una distancia no mayor de 5 cm de la base del tallo 1 g de cápsulas de esporas de *M. anisopliae*. Transcurridos 7 días de que las plantas de frijol tuvieron contacto con las cápsulas de *M. anisopliae* se inocularon las plantas de los tratamientos 2 y 4 con 20 mL de una suspensión de *F. moniliforme*. El desarrollo de los síntomas de fusariosis se analizó utilizando seis plantas por tratamiento; las observaciones se realizaron a intervalos de 15 días durante 2 meses. Las variables evaluadas fueron peso fresco y peso seco foliar y de raíz (g), longitud de la raíz (cm), altura de planta (cm), clorofila (SPAD), diámetro de tallo (mm) e incidencia en raíz (%).

Para cada unidad experimental se midieron las variables diámetro del tallo, altura y longitud de raíz con un vernier y/o flexómetro, para obtener los pesos fresco y seco, las plantas se retiraron del sustrato, se lavaron y secaron con papel absorbente y se separaron en dos secciones: radicular y foliar, posteriormente se pesaron en una balanza analítica y fueron depositadas en bolsas de papel y secadas en un horno a 45°C hasta obtener valores de peso seco constantes.

El porcentaje de incidencia de la enfermedad (IR) en raíces se determinó mediante la siguiente fórmula:  $\text{IR} (\%) = n/N \times 100$ . Donde n es el número de plantas que muestran síntomas de enfermedad con al menos una raíz enferma y N es el número total de muestras utilizadas (Cruz-Rodríguez *et al.*, 2020).

## 2.5. Diseño experimental y análisis estadístico

Se utilizó un diseño de bloques completos al azar, cuatro bloques con seis repeticiones monitoreados cuatro veces; con un total de 96 unidades experimentales. Para los análisis estadísticos, se usó ANOVA de una vía al 5 % de nivel de significancia usando el programa Statgraphics.

## 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 3.1 Efecto de los encapsulados de *M. anisopliae* sobre los parámetros de crecimiento de las plantas de frijol

La aplicación de las cápsulas con esporas de *M. anisopliae* tuvo un efecto positivo sobre el desarrollo foliar y del sistema radicular en las plantas de frijol a los 64 días después de la inoculación (ddi) (Cuadro 1). Los parámetros enfocados en el crecimiento de raíz como son el peso fresco y seco, además de la longitud son los que principalmente presentan variaciones entre los tratamientos 1 y 2, siendo este último en el que se observan los valores menores de todo el experimento, debido a que es el tejido donde inicia el proceso de infección de *Fusarium*. En el caso del tratamiento 4, que también se inoculó con *F. moniliforme*, este presenta no sólo diferencias significativas en el crecimiento de raíz con el resto de los tratamientos, sino también en el desarrollo foliar tal es el caso del número de hojas con este tratamiento (66 hojas) se observó un aumento del 55% respecto a las plantas del tratamiento 1 que se desarrollaron en condiciones normales con un valor promedio de 42.5 hojas.

Algunos de los procesos que resultan de la interacción de las células del hongo entomopatógeno con el tejido celular vegetal, inician a través de la producción de enzimas hidrolíticas por parte del hongo, que permiten la degradación de los componentes de la pared celular de la planta y de esta manera la hifa puede penetrar en la superficie de las células colonizando así a las raíces, facilitando la captación de nutrientes y agua (Liao *et al.*, 2013). Otro de los mecanismos reportados del género *Metarhizium* es su capacidad de activar vías de señalización de defensa en la célula vegetal que se traducen en la producción de moléculas como fitohormonas que aceleran el crecimiento, lo anterior se observó en plantas de *Arabidopsis thaliana*, debido a la presencia de *Metarhizium robertsii*, mediante un aumento en la producción de Ácido 3 Indol Acético (IAA) lo que promovió el desarrollo de pelo radicular (Liao *et al.*, 2017). Por último, las células del hongo entomopatógeno pueden actuar como elicitador, para acelerar la producción de fitoquímicos que brinden protección a la célula del ataque de *F. moniliforme*, reduciendo los síntomas en las plantas por la presencia del patógeno.

La presencia de *F. moniliforme* afectó significativamente la producción de clorofila en los tratamientos 2 y 4 con valores de  $29.84 + 4.72$  y  $31.7 + 0.12$  respectivamente, sin embargo, no presentó diferencias significativas con el tratamiento 1, mientras que la interacción del entomopatógeno con la planta en el tratamiento 3, mostró el mayor índice relativo de clorofila con  $40.41 + 4.24$ , este índice es expresado en unidades SPAD y se ha correlacionado de forma positiva con el estado o capacidad de absorción de nitrógeno de las plantas, Casierra *et al.*, (2012) señalan que el contenido de pigmentos fotosintéticos puede aumentar o disminuir debido a los factores causantes de estrés (luz, temperatura, humedad, nutrientes, etc.), a la edad fisiológica o la capacidad fotosintética de la planta, en este caso la variación se debe al estrés biótico.

### 3.2 Análisis de la incidencia de la enfermedad provocada por *Fusarium moniliforme*

Las especies de *Fusarium* son conocidas como agentes causales de la marchitez y la pudrición de raíz y la base del tallo, uno de los primeros síntomas es el pardeamiento del tejido radicular debido al mecanismo de infección de estos patógenos y en un nivel avanzado se observa clorosis, decoloración vascular y decaimiento, por tal razón se realizó el monitoreo de la incidencia en raíz (IR) durante los 64 días que duró el experimento, tal como se observa en la Figura 1, el porcentaje de IR se presentó en ambos tratamientos donde se inoculó el patógeno, a los 8 días después de su inoculación (16 ddi), el porcentaje de incidencia fue incrementando mientras avanzaba el ciclo del cultivo siendo mayor la incidencia en todos los muestreos del tratamiento 3, alcanzando una IR del  $25.8 + 0.56$  % y a partir de los 48 días se observó una disminución en la presencia de necrosis por *Fusarium* hasta un  $14.6 + 4.6$  %. En el caso de las plantas del tratamiento 4, que fueron pretratadas con las cápsulas con *M. anisopliae* mostraron una ligera resistencia en los primeros días de la infección,  $3.2 + 0.4$  % a los 16 días y alcanzando una incidencia máxima de 8.6 % a los 64 ddi del entomopatógeno, que no es estadísticamente diferente de la IR del tratamiento 3 a los 16 ddi. Lo anterior demuestra que la presencia de *M. anisopliae* disminuyó notablemente el desarrollo normal de la enfermedad; haciendo eficaz la simbiosis planta-hongo entomopatógeno contra *Fusarium*. Se sugiere que los mecanismos de inhibición de crecimiento contra *F. moniliforme* incluyen la combinación de la actividad de enzimas hidrolíticas producidas por el entomopatógeno, que actúen sobre la pared celular de *Fusarium* aunado a la inducción de fitoalexinas por parte de las plantas de frijol (García-Enciso *et al.*, 2018).

## CONCLUSIÓN

La formulación de alginato para encapsular a las esporas de esporas de *Metarhizium anisopliae* permitió su liberación en el suelo, siendo evidente de forma indirecta por el efecto promotor de crecimiento en las plantas de frijol, también se demostró que la interacción de las esporas del entomopatógeno con el tejido vegetal reduce la incidencia de *F. moniliforme* en la raíz. Por lo tanto, la adición como pretratamiento de cápsulas con esporas de *Metarhizium anisopliae* son una opción para controlar la fusariosis en el cultivo de frijol, y con ello reducir en un futuro la aplicación de sustancias químicas en campo para el control de enfermedades en los cultivos provocadas por hongos.

## REFERENCIAS

- Ahmad**, I., Jiménez-Gasco, M. D. M., Luthe, D. S., Shakeel, S. N., & Barbercheck, M. E. (2020). Endophytic *Metarhizium robertsii* promotes maize growth, suppresses insect growth, and alters plant defense gene expression. *Biological Control*, *144*, [104167]. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2019.104167>
- Casierra-Posada**, F., Ávila-León, O., & Riascos-Ortíz, D. (2012). Cambios diarios del contenido de pigmentos fotosintéticos en hojas de caléndula bajo sol y sombra. *Temas Agrarios*, *17*(1), 2012. <https://doi.org/10.21897/rta.v17i1.697>
- Cruz-Rodríguez**, R.I., Cruz-Salomón, A., Ruiz-Lau, N., Pérez-Villatoro, J.I., Esquinca-Avilés, H.A., Meza-Gordillo, R. (2020). Potential Application of *Crotalaria longirostrata* Branch Extract to Reduce the Severity of Disease Caused by *Fusarium*. *Agronomy*, *10*, 524. <https://doi.org/10.3390/agronomy10040524>
- De Oliveira** Lopes, A.R., Locatelli, G.O., de Melo Barbosa, R., Junior, M.L., Mascarin, G.M., Finkler, C.L.L. (2020). Preparation, characterisation and cell viability of encapsulated *Trichoderma asperellum* in alginate beads. *Journal of Microencapsulation*. <https://doi.org/10.1080/02652048.2020.1729884>
- García Enciso**, E. L., Robledo Olivo, A., Benavides Mendoza, A., Solís Gaona, S., & González Morales, S. (2018). Efecto de elicitores de origen natural sobre plantas de tomate sometidas a estrés biótico. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, (20). <https://doi.org/10.29312/remexca.voi20.991>
- Ketta**, H.A., Hewedy, O.A.R. (2021). Biological control of *Phaseolus vulgaris* and *Pisum sativum* root rot disease using *Trichoderma* species. *Egypt J Biol Pest Control* *31*, 96. <https://doi.org/10.1186/s41938-021-00441-2>
- Krell**, V., Jakobs-Schoenwandt, D., Vidal, S., Patel, A.V. (2017). Encapsulation of *Metarhizium brunneum* enhances endophytism in tomato plants. *Biological Control*, *116*, 62–73. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2017.05.004>
- Lei**, C. J., Halim, N. A., Asib, N., Zakaria, A., & Azmi, W. A. (2022). Conidial Emulsion Formulation and Thermal Storability of *Metarhizium anisopliae* against Red Palm Weevil, *Rhynchophorus ferrugineus* Olivier (Coleoptera: Dryophthoridae). *Microorganisms*, *10*(7), 1460. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10071460>
- Liao**, X., Fang, W., Lin, L., Lu, H. L., & St Leger, R. J. (2013). *Metarhizium robertsii* produces an extracellular invertase (MrINV) that plays a pivotal role in rhizospheric interactions and root colonization. *PloS one*, *8*(10), e78118. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0078118> (10), e78118

- Liao, X., Lovett, B., Fang, W., & St Leger, R. J. (2017).** *Metarhizium robertsii* produces indole-3-acetic acid, which promotes root growth in *Arabidopsis* and enhances virulence to insects. *Microbiology (Reading, England)*, 163(7), 980–991. <https://doi.org/10.1099/mic.0.000494>
- Manzanarez-Jiménez, L. A., García-Gutiérrez, C., Rosas-García, N. M., Luna-González, A., & Ortega-Avilés, M. (2023).** Formulaciones Micro Encapsuladas de *Metarhizium anisopliae* Contra el Gusano Tabacalero. *Southwestern Entomologist*, 47(4), 895-902. <https://doi.org/10.3958/059.047.0413>
- Mayerhofer, J., Rauch, H., Hartmann, M., Widmer, F., Gschwend, F., Strasser, H., Leuchtmann, A., Enkerli, J. (2019).** Response of soil microbial communities to the application of a formulated *Metarhizium brunneum* biocontrol strain. *Biocontrol Sci. Technol.* 29, 547–564. <https://doi.org/10.1080/09583157.2019.1566953>
- Meirelles, L.N., Mesquita, E., Almeida-Corrêa, T., Barbosa-Bitencourt R.O., Oliveira, J.L., Leonardo Fernandes-Fraceto, L., Guedes-Camargo, M., Pinheiro-Bittencourt, V.R.E. (2023).** Encapsulation of entomopathogenic fungal conidia: evaluation of stability and control potential of *Rhipicephalus microplus*. *Ticks and Tick-borne Diseases*. 14 (4), 102184. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2023.102184>
- Putnoky-Csicsó, B., Tonk, S., Szabó, A., Márton, Z., Tóthné Bogdányi, F., Tóth, F., Abod, É., Bálint, J., & Balog, A. (2020).** Effectiveness of the Entomopathogenic Fungal Species *Metarhizium anisopliae* Strain NCAIM 362 Treatments against Soil Inhabiting *Melolontha melolontha* Larvae in Sweet Potato (*Ipomoea batatas* L.). *Journal of fungi (Basel, Switzerland)*, 6(3), 116. <https://doi.org/10.3390/jof6030116>
- Razinger, J., Praprotnik, E., & Schroers, H. J. (2020).** Bioaugmentation of Entomopathogenic Fungi for Sustainable *Agriotes* Larvae (Wireworms) Management in Maize. *Frontiers in plant science*, 11, 535005. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.535005>
- Sarma, B.D., Puzari, K.C., Dutta, P., Pandey A.K. (2023).** An alginate-based encapsulation enhances shelf life and bioactivity of the entomopathogenic fungus, *Metarhizium anisopliae*. *Egypt J Biol Pest Control* 33, 69. <https://doi.org/10.1186/s41938-023-00714-y>
- Shaalan, R. S., Gerges, E., Habib, W., Ibrahim, L. (2021).** Endophytic colonization by *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* induces growth promotion effect and increases the resistance of cucumber plants against *Aphis gossypii*. *Journal of Plant Protection Research*, 61(4), 358-370. <https://doi.org/10.24425/jppr.2021.139244>
- Shaalan, R., Ibrahim, L. (2018).** Entomopathogenic fungal endophytes: Can they colonize cucumber plants? In *Book of Proceedings of the IX*

*International Scientific Agriculture Symposium AGROSYM; AGROSYM: Jahorina, Bosnia and Herzegovina, pp. 853–860.*

- Shah, S., Ash, G.J., Wilson, B.A. (2022).** Resporulation on *Metarhizium anisopliae* granules on soil and mortality of *Tenebrio molitor*: Implications for wireworm management in sweetpotato. *Ann. Appl. Biol.*, 1–12. <https://doi.org/10.1111/aab.12797>
- Uzman, D., Pliester, J., Leyer, I., Entling, M.H., Reineke, A. (2019).** Drivers of entomopathogenic fungi presence in organic and conventional vineyard soils. *Appl. Soil Ecol.* 133, 89–97. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2018.09.004>
- Vemmer, M., Patel, A.V. (2013)** Review of encapsulation methods suitable for microbial biological control agents. *Biol. Control*, 67, 380–389. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2013.09.003>
- Yousef, M., Alba-Ramírez, C., Garrido Jurado, I., Mateu, J., Raya Díaz, S., Valverde-García, P., & Quesada-Moraga, E. (2018).** *Metarhizium brunneum* (Ascomycota; Hypocreales) Treatments Targeting Olive Fly in the Soil for Sustainable Crop Production. *Frontiers in plant science*, 9, 1. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00001>

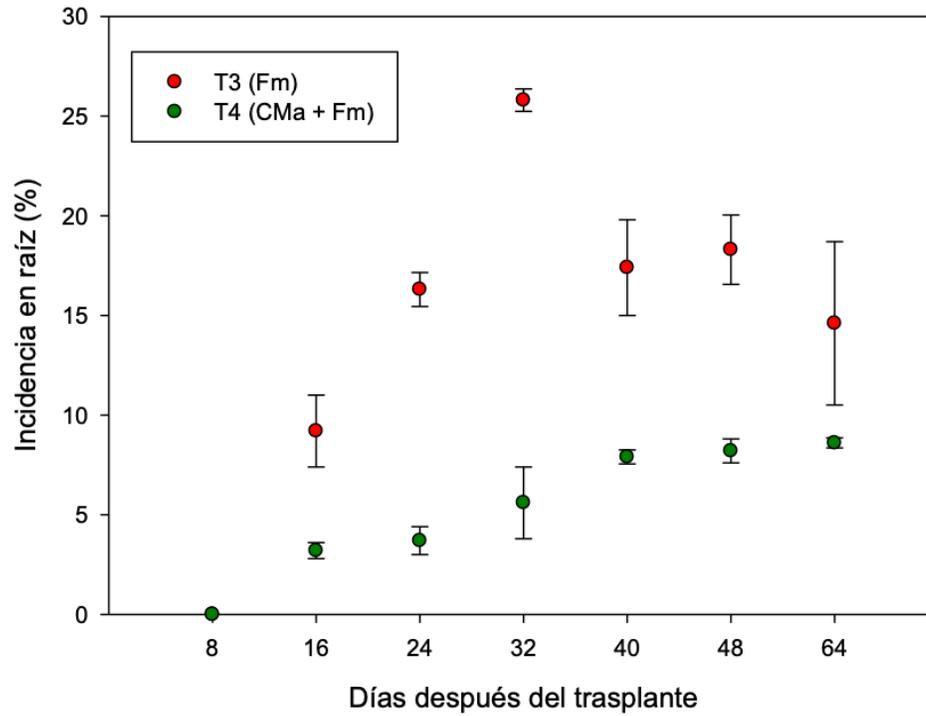


Figura 1. Porcentaje de incidencia de fusariosis en raíz de *Phaseolus vulgaris* L. Fm: *F. moniliforme*. CMA: Cápsulas de esporas de *M. anisopliae*

### Cuadro 1

Variables morfológicas de las plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) infectadas con *Fusarium* a los 64 días de después de la inoculación

No.	Tratamiento	Variables							
		Peso Foliar fresco (g)	Peso Foliar seco (g)	Peso Raíz fresco (g)	Peso Raíz seco (g)	Longitud de raíz (cm)	Número de hojas	Altura de planta (cm)	Índice relativo de clorofila (unidades SPAD)
1	Fr	12.97 ± 4.63 c	2.48 ± 0.50 c	2.47 ± 0.21 c	0.54 ± 0.02 c	27.1 ± 0.22 c	42.5 + 0.71 b	60.4 + 0.71 ab	34.94 + 1.18 b
2	Fr + Fm	16.35 ± 4.75 c	3.11 ± 0.63 c	2.08 ± 0.12 d	0.48 ± 0.03 d	26.4 ± 0.0 d	45.0 + 8.49 b	45.0 + 8.49 c	29.84 + 4.72 bc
3	Fr + CMA	25.81 ± 0.0 b	4.68 ± 0.93 b	3.38 ± 0.42 b	0.66 ± 0.05 b	29.04 ± 1.07 b	48.5 + 9.31 b	75.75 + 17.04 b	40.41 + 4.24 a
4	Fr + CMA + Fm	48.05 ± 0.0 a	9.46 ± 0.0 a	6.49 ± 0.0 a	1.13 ± 0.0 a	34.29 ± 0.77 a	66.0 + 1.21 a	110.0 + 2.5 a	31.7 + 0.12 c

Valores promedio de tres repeticiones seguidas de al menos una misma letra no son significativamente diferentes a  $P < 0.05$  (prueba de Tukey). Fr: frijol; CMA: Cápsulas de esporas de *M. anisopliae*; Fm: *F. moniliforme*