

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA

“ANTONIO NARRO “

DIVISIÓN DE AGRONOMIA

**Supresión de Hongos Fitopatògenos de Suelo Mediante Agentes de
Biocontrol en el Cultivo del Chile Bajo Condiciones de Invernadero.**

Por:

PEDRO AGUILAR ESPINOSA

TESIS

Presentado como Requisito Parcial para

Obtener el Título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITOLOGO

Buenvista Saltillo, Coahuila, México

Marzo de 2006

**UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA
“ANTONIO NARRO “**

**DIVISIÓN DE AGRONOMIA
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGIA**

**Supresión de Hongos Fitopatógenos de Suelo Mediante Agentes de
Biocontrol en el Cultivo del Chile Bajo Condiciones de Invernadero.**

TESIS

Presentada Por:

PEDRO AGUILAR ESPINOSA

**Que se somete a consideración del H. Jurado Examinador
como requisito parcial para obtener el título de:**

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITOLOGO

Aprobado por el Comité de Tesis

Presidente del Jurado

Dr. FRANCISCO DANIEL HERNÁNDEZ CASTILLO

Sinodal

Sinodal

Dr. GABRIEL GALLEGOS MORALES

Dr. RICARDO HUGO LIRA SALDIVAR

**M.C. ARNOLDO OYERVIDES GARCÍA
COORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE AGRONOMIA**

**Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.
Marzo de 2006**

AGRADECIMIENTOS

A DIOS

Por darme la vida, sin ella no fuese posible tal logro. Gracias padre al brindarme tu mano en los momentos difíciles y nunca perder la Fe, el Amor y las Esperanzas de una Buena Nueva.

A MI ALMA TERRA MATER

Por formarme como profesionista con valores personales que adquirir en el transcurso de mi estancia en la narro y sobre todo por ser un instrumento para hacer producir sustentablemente a la Madre Tierra.

COMITÉ DE TESIS

A los maestros que contribuyeron a mi formación profesional al brindarme parte de sus conocimientos y muy en especial al jurado calificador pues sin su colaboración y sus valiosos consejos no fuese posible culminar exitosamente la tesis.

AL COECYT

Por ser una institución que promueve la investigación científica; así mismo por brindarme su apoyo económico para la realización de esta investigación.

AL DR. HUGO LIRA SALDIVAR

Por darme la oportunidad de ser su tesista y tener una crítica externa, que será muy importante para mi formación profesional.

AL CIQA

Por el apoyo financiero par el empastado de la presente tesis.

DEDICATORIAS

A MIS PADRES

José Aguilar Contreras

Margarita Espinosa Peralta

Este triunfo alcanzado es de ustedes. Gracias por apoyarme siempre y tener firme la esperanza al creer que podía lograrlo.

A MIS HERMANOS

Jaime

Por ser una guía a seguir en el desarrollo del bienestar familiar y nunca decaer en los momentos difíciles. Tu ejemplo a sido energía para seguir de frente.

Anziel

Por ser un niño inteligente, con quien he compartido tristezas y alegrías, tus travesuras han sido estímulo ante la carencia de estar lejos de casa.

A MI ESPOSA

Por caminar siempre juntos, por nunca perder la Fe, el Amor y las Esperanza, aun en la distancia siempre ha estado en Mi, Tú mi compañera por siempre.

Dedico la presente a un ser muy especial que sin conocerlo siempre estará presente en mi.

A todas las personas que contribuyeron de alguna u otra forma para este logro: Mi abuelitos Mari y Francico, Chano y Bibi; mis primos Corne, Jaime, Toño; mis Tías y a mis amigos Miguel y Ciro.

A mi pueblo Amacuitlapilco por sembrar en mi la semilla de la lealtad, el honor y las ganas de salir adelante, por donde ando no olvido de quien labrador soy.

INDICE DE CONTENIDO

	Paginas
AGRADECIMIENTOS -----	iii
DEDICATORIAS -----	iv
INDICE DE CONTENIDO -----	v
INDICE DE CUADROS -----	viii
INDICE DE CUADROS DEL APÉNDICE -----	ix
INDICE DE FIGURAS -----	xi
I. INTRODUCCIÓN -----	1
II. LITERATURA REVISADA -----	3
Generalidades del cultivo -----	3
Clasificación Taxonómica -----	5
Descripción Botánica -----	5
Raíz -----	5
Tallo -----	6
Hojas -----	6
Flores -----	6
Fruto -----	6
Semilla -----	6
Aspectos Ambientales que Favorecen al Cultivo del Chile -----	7
Concepto de Marchitamiento -----	8
Hongos y Stramenophilas que Causan la Marchitez del Chile.-----	9
Pudrición de Raíz por <i>Phytophthora capsici</i> -----	10
Posición Taxonómica -----	10
Importancia y Distribución -----	10
Condiciones que Favorecen al Patógeno -----	11
Epifitiología -----	11
Etiología -----	11
Síntomas -----	12
Descripción de Marchitez Causada por <i>Rhizoctonia solani</i> -----	13
Ubicación Taxonómica -----	13
Distribución e Importancia -----	13

Relación Hospedero Patógeno -----	14
Epifitiología -----	14
Etiología -----	15
Síntomas -----	15
Marchitez del Chile Causada por <i>Fusarium oxysporum</i> -----	16
Clasificación Taxonómica -----	16
Epifitiología -----	16
Etiología -----	17
Síntomas -----	17
Métodos de Control de la Marchitez de Chile -----	18
Control Cultural -----	18
Control Físico -----	19
Control Genético -----	19
Control Químico -----	20
Control Biológico -----	20
Antecedentes e Importancia del Control Biológico -----	22
Generalidades de <i>Bacillus subtilis</i> -----	22
Hábitat -----	22
Características Morfológicas -----	23
Fisiología y Composición -----	23
Desarrollo de <i>B. subtilis</i> en Diferentes Medios de Cultivo -----	23
Formas de inhibición de <i>B. subtilis</i> -----	24
Antibióticos producidos por <i>B. Subtilis</i> -----	24
Mecanismos de los Microorganismos Antagónicos. -----	25
Efectos del Control Biológico de <i>Bacillus spp</i> -----	25
III. MATERIALES Y METODOS -----	25
Ubicación del Experimento. -----	25
Establecimiento de Almacigos -----	25
Activación de las Bacterias Antagónicas <i>Bacillus spp.</i> -----	25
Preparación del Caldo Nutritivo -----	25
Incremento de la Bacteria para Inoculación en Planta. -----	26
Conteo de Esporas -----	26
Diseño Experimental -----	26

Parámetros a Evaluar -----	26
Tratamientos -----	27
Transplante de Plántula -----	28
IV. RESULTADOS Y DISCUSION -----	29
V. CONCLUSIONES -----	45
VI. RESUMEN -----	45
VI. LITERATURA CITADA -----	47
VII. APÉNDICE -----	52

INDICE DE CUADROS

Cuadros		Paginas
1.	Escala utilizada para evaluar el grado de desarrollo de la marchitez -----	27
2	Tratamientos empleados para estudiar la efectividad de bacterias esporuladas en el cultivo de chile.-----	28

INDICE DE CUADROS DEL APÉNDICE

Cuadro		Paginas
1	Altura de planta en el cultivo de chile a los 20 días después de la inoculación con <i>Bacillus</i> spp -----	53
2	Análisis de varianza, de la altura de planta en el cultivo de chile a los 20 días después de la inoculación con <i>Bacillus</i> spp-----	53
3	Altura de planta en el cultivo de chile en cm a los 40 de la inoculación con <i>Bacillus</i> spp.-----	54
4	Análisis de varianza, de la altura de planta en el cultivo chile a los 40 días después de la inoculación con <i>Bacillus</i> spp -----	54
5	Altura de planta en el cultivo de chile a los 60 de la inoculación con <i>Bacillus</i> spp. -----	55
6	Análisis de varianza, de la altura de planta en el cultivo chile a los 60 días después de la inoculación con <i>Bacillus</i> spp -----	55
7	Conteo de flores en chile sujeto a la inoculación de <i>Bacillus</i> spp. a los 40 ddt -----	56
8	Datos transformados por $\log x + 1$ en el conteo de flores a los 40 ddt -	56
9	Análisis de varianza, del conteo de flores en chile sujeto a la inoculación de <i>Bacillus</i> spp. a los 40 ddt -----	56
10	Conteo de flores en chile sujeto a la inoculación de <i>Bacillus</i> spp. a los 70 ddt. -----	57
11	Análisis de varianza, del conteo de flores en chile sujeto a la inoculación de <i>Bacillus</i> spp. a los 70 ddt -----	57
12	Conteo de frutos en el cultivo del chile sujeto al efecto de <i>Bacillus</i> spp. a los 70 ddt. -----	58
13	Análisis de varianza, del conteo de frutos en chile sujeto a la inoculación de <i>Bacillus</i> spp. a los 70 ddt -----	58
14	Numero de frutos al primer corte del chile a los 100 ddt.-----	59
15	Datos transformados por $\log x+1$ en el numero de frutos a los 100 ddt -----	59
16	Análisis de varianza del conteo de frutos al primer corte en el cultivo del chile sujeto al efecto de <i>Bacillus</i> spp. a los 100 ddt.-----	59

17	Numero de chiles al segundo corte a los 110 días después de la inoculación con <i>Bacillus</i> spp.-----	60
18	Análisis de varianza para el numero de chile en el segundo corte a los 110 días después de la inoculación con <i>Bacillus</i> spp-----	60
19	Peso en gramos por cada planta cosechada al primer corte del chile, a los 100 ddt.-----	61
20	Datos transformados por log x+1 en la producción obtenida a los 100 ddt.-----	61
21	Análisis de varianza del peso en gramos por cada planta de chile cosechada al primer corte a los 100 ddt.-----	61
22	Segundo corte en plantas de chile a los 110 días después de la inoculación con <i>Bacillus</i> spp.-----	62
23	Datos transformados por log x+1 en el segundo corte de chile a los 110 días después de la inoculación con <i>Bacillus</i> spp-----	62
24	Análisis de varianza para el segundo corte de chile a los 110 días después de la inoculación con <i>Bacillus</i> spp -----	62
25	Longitud de raíz del chile al final de la cosecha -----	63
26	Análisis de varianza de la longitud de la raíz del chile al final de la cosecha -----	63
27	Peso seco de la raíz del chile al final de la cosecha -----	64
28	Análisis de varianza del peso seco de la raíz del chile al final de la cosecha. -----	64
29	Incidencia de la enfermedad en las plantas de chile -----	65
30	Datos corregidos por arcoseno -----	65
31	Análisis de varianza para la incidencia de la enfermedad en las plantas de chile -----	65
32	Severidad en marchitez de planta de chile al final del cultivo -----	66
33	Datos corregidos por arcoseno -----	66
34	Análisis de varianza de severidad en la marchitez de plantas de chile al final del cultivo -----	66

INDICE DE FIGURAS

Figura		Paginas
1	Altura de planta en chile a los 20 después de la inoculación con <i>Bacillus</i> spp -----	29
2	Altura de planta de chile a los 40 días después de la inoculación con <i>Bacillus</i> spp. -----	30
3	Altura de planta de chile a los 60 días después de la inoculación con <i>Bacillus</i> spp.-----	31
4	Conteo de flores en chile sujeto a la inoculación de <i>Bacillus</i> spp. a los 40 ddt.-----	32
5	Numero de flores en plantas de chile a los 70 días después de la inoculación con <i>Bacillus</i> spp. -----	33
6	Numero de frutos en plantas de chile a los 70 días después de la inoculación con <i>Bacillus</i> spp.-----	34
7	Numero de frutos en plantas de chile a los 100 días después de la inoculación con <i>Bacillus</i> spp.-----	35
8	Numero de frutos en plantas de chile a los 110 días después de la inoculación con <i>Bacillus</i> spp -----	36
9	Primer corte de chile a los 100 días después de la inoculación con <i>Bacillus</i> spp.-----	37
10	Segundo conteo en plantas de chile a los 110 días después de la inoculación con <i>Bacillus</i> spp.-----	38
11	Longitud de raíz como resultado de los diferentes tratamientos-----	40
12	Peso seco de raíz del chile al momento del corte final -----	41
13	Conteo inicial y fina de propagulos en el experimento -----	42

INTRODUCCIÓN

La producción de chile a escala mundial se localiza principalmente en China, México, Turquía, España, Estados Unidos, Nigeria e Indonesia. En los últimos 10 años, esa producción, se ha incrementado gradualmente en México a una tasa de crecimiento anual promedio de 6.26% para un acumulado durante el período 1992-2001 de 56.3%.

Entre los problemas que limitan la productividad del chile en México, son prioritarios los de tipo fitosanitarios. Entre ellos se ha destacado la enfermedad conocida como “marchitez del chile”, la cual provoca una muerte prematura de la planta. Galindo, 1960, confirma la presencia de esta enfermedad y señala que es causada por *Phytophthora capsici*. En los últimos años existen varios reportes que señalan a *Fusarium spp.* y *Rhizoctonia spp.* como patógenos asociados con el síndrome de la marchitez de chile (Duran *et al.*, 2001; Espinoza *et al.*, 2001; Velázquez, 2001; Rico *et al.*, 2001; Guerrero *et al.*, 2001), los cuales hay que considerar ya que ambos patógenos están asociados con daños a la raíz en diferentes cultivos. Los resultados obtenidos hasta ahora, sugieren que *Phytophthora* y *Fusarium* son los principales causantes del daño y *Rhizoctonia solani* solo es un hongo oportunista que se alimenta del tejido muerto.

En México se considera que la enfermedad de la marchitez de chile es la más importante de este cultivo (Redondo, 1974; García *et al.*, 2000; Guigon y González, 2001). En condiciones favorables puede causar pérdidas económicas devastadoras al afectar del 60 al 100% de la superficie cultivada. Actualmente existen en México regiones en donde se tienen pérdidas hasta del 80% y Estados como Aguascalientes y San Luis Potosí donde la superficie de siembra de chile se ha reducido un 60% por causa de este problema.

De los fungicidas actuales en el mercado, ninguno ha dado resultados satisfactorios, siendo el control biológico hoy en día una alternativa que podría sustituir el control químico que además de su elevado costo, trae como consecuencia el desarrollo de resistencia en los fitopatógenos, y problemas de contaminación y toxicidad.

Guillen (2005) reporta que la inoculación de bacterias al trasplante y aplicaciones al pie de la planta resulta menor la incidencia y severidad de la marchitez de chile.

Como se menciono anteriormente el síndrome de la marchitez de chile causa grandes perdidas económicas y debido al grado de severidad de plantas muertas ocasionadas por estos patógenos surge el interés de este proyecto, usando bacterias antagónicas del genero *Bacillus spp.* que promueven el desarrollo de la planta y la síntesis de toxinas que producen efectos inhibitorios sobre los patógenos. De acuerdo a lo anterior y a la gran importancia de lo que hoy en día es el control biológico, se generaron los siguientes objetivos.

Objetivo:

- Determinar el efecto de *Bacillus spp* como agentes de biocontrol sobre la marchitez vascular del chile en condiciones de invernadero.
- Evaluar el efecto de las bacterias antagónicas sobre el desarrollo vegetativo del chile jalapeño (*Capsicum annuum L*).

Hipótesis:

Se espera que al menos alguna de las especies de *Bacillus spp.* reduzcan la incidencia y severidad de los patógenos que causan la marchitez de chile.

Se espera que al menos alguna de las especies de *Bacillus spp.* presenten efecto sobre el desarrollo vegetativo del chile jalapeño.

LITERATURA REVISADA

Generalidades del Cultivo

El chile (*Capsicum annuum* L.) es el cultivo hortícola más importantes en México por la superficie que se siembra y por ser este país centro de origen y diversidad (Laborde y Pozo, 1984). A pesar de ello, comparativamente otros países tienen rendimientos superiores en 100% o más.

La producción de chile verde en México se ha incrementado a una tasa de crecimiento de 5.72% anualmente o 25% acumulado durante el período 1997-2001. En el último año en México se sembró 157 000 ha con un rendimiento de 11.3 ton/ha.

El cultivo del chile tiene gran importancia social debido a la enorme cantidad de mano de obra que genera reportándose una demanda de 120 a 150 jornales/ha; es una hortaliza que genera divisas para México ya que su principal mercado se encuentra en Estados Unidos y Canadá en el ciclo invierno – primavera. Las principales variedades sembradas son: Habanero, Jalapeño, Tabasco, Cayene y Panamá (Valadéz, 1996).

Hoy en día, se requiere de manejar a las hortalizas desde un punto de vista sustentable. Este término implica el mantenimiento de la productividad sin deterioro ambiental. En la actualidad para la producción de hortalizas se requieren de la aplicación de diferentes agroquímicos, fertilizantes, fungicidas insecticidas etc., que además de incrementar los costos, deterioran el ambiente sin tener un eficiente control en la enfermedad de la marchitez del chile (Ocampo *et al.*, 2005).

Por otra parte, los acuerdos del tratado de libre comercio y las normas de control de calidad (análisis de riesgos y puntos críticos de control) crean la necesidad de ajustar los sistemas de producción buscando nuevas alternativas (Ocampo *et al.*,2005).

Una alternativa que permitiría disminuir la cantidad de agroquímicos utilizados para la producción de hortalizas son los microorganismos. Esta alternativa además de

contribuir a bajar costos, permitirá la producción sin un grave deterioro del agroecosistema, manteniendo adecuadamente los recursos naturales (Ocampo *et al.*, 2005).

En este sentido, se reconoce que los microorganismos participan en diferentes reacciones de los elementos químicos que se reflejan en su dinámica en la naturaleza. Dentro de las reacciones están; la reducción, oxidación, inmovilización, solubilización y mineralización de nutrientes. Estas reacciones finalmente se reflejan en el suelo como degradación de los compuestos orgánicos, formación de humus, liberación de elementos que incrementan la nutrición de las plantas, producción de compuestos antibióticos, transporte de nutrientes, producción de compuestos promotores del crecimiento, etc (Ocampo *et al.*,2005).

Estas bacterias se han aplicado a semillas, tubérculos o raíz, y son capaces de colonizar las raíces de las plantas y estimular el crecimiento y rendimiento de cultivos (Chanway *et al.* 1989). Los mecanismos del efecto de las bacterias promotoras de crecimiento no son bien comprendidos, sin embargo, se ha sugerido un amplio rango de posibilidades que incluye mecanismos directos o indirectos. (Ocampo *et al.*, 2005).

Los mecanismos indirectos son los metabolitos producidos por las bacterias, pueden funcionar como determinantes antagónicos, involucrando aspectos de control biológico, suprimiendo o inhibiendo el crecimiento de microorganismos perjudiciales para el desarrollo de la planta, vía producción de sideróforos, antibióticos, acción de enzimas líticas (glucanasas, quitinasas) o inducción de mecanismos de resistencia.

Lo mecanismos directos, ocurren cuando los metabolitos producidos por algunas cepas de rizobacterias son utilizados como reguladores de crecimiento o precursores de éstos por parte de la planta.

La conjunción de ambos mecanismos de acción ha dado como resultado la promoción evidente de crecimiento en plantas, observando un incremento en emergencia, vigor y peso de plántulas, mayor desarrollo del sistema radicular e incrementos hasta del 30% en la producción de cultivos del chile (Ocampo *et al.*, 2005).

CULTIVO DEL CHILE

Clasificación Taxonómica

La clasificación botánica del chile (*Capsicum annuum*) según Janick (1965), es la siguiente:

Reino.....Vegetal
 División.....Tracheophyta
 SubdivisiónPteropsida
 Clase.....Angiospermae
 Subclase.....Dicotyledoneae
 Orden.....Solanaceales
 Suborden.....Solanaceae
 Género.....*Capsicum*
 Especie..... *annuum*.

Descripción Botánica

Capsicum annuum es un planta anual en zonas templadas y perenne en tropicales, es muy variable, herbácea, sub-arbustiva, algunas veces leñosas en la base, erecta muy ramificada, alcanza una altura de 1.0 a 1.5 m; cultivándose como planta anual (Pérez *et al.*, 1997).

Cárdenas (1987) menciona que es una planta de ciclo intermedio con floración a los 50 días después del transplante. Su maduración para el consumo en verde es de 100 a 120 días. La producción es concentrada y se obtiene regularmente en dos cortes.

Raíz

Cuenta con un sistema radical pivotante y profundo que puede llegar a medir de 70 a 120 cm, la raíz principal es muy fuerte y frecuentemente dañada durante el transplante, en ella se desarrollan profusamente varias raíces laterales, extendiéndose hasta 1.0 m con un gran número de raíces adventicias (Valadéz, 1996).

Tallo

El tallo es de crecimiento limitado en termino medio puede variar de 0.5 a 1.5 m y cuando las plantas adquieren una cierta edad los tallos se lignifican ligeramente. (SARH, 1994).

Hojas

Las hojas son simples y varían mucho en tamaño, son lampiñas o subglabras, enteras, ovales o lanceoladas y miden de 1.5 a 12 cm. de largo y 0.5 a 7.5 cm de ancho (Guenkov, 1974; citado por Pérez *et al.*, 1997).

Flores

Las flores, son generalmente solitarias, terminales, por su forma de ser parecen ser axilares, sus pecíolos miden más de 1.5 cm de longitud; su cáliz es campánulado (SARH, 1994).

Fruto

El fruto, que es la parte aprovechable, se le conoce con el nombre de chile, se compone de pericarpio, endocarpio y semilla; el pericarpio empieza a crecer después de la polinización de los óvulos (Pérez *et al.*, 1997); su color verde del fruto se debe al alto contenido de clorofila acumulada en las capas de la periferia; otros colores son debido a pigmentos como licopercisina, xantofila y caroteno; y su picosidad (pungensia) es debido al pigmento capcisina (Valadéz, 1996).

Semilla

La semilla del chile tiene forma deprimida reniforme, es lisa, sin brillo, de color blanco y amarillamiento; las variedades de frutos pequeños usualmente tienen semillas más chicas en comparación con las variedades de los fruto grandes; generalmente el peso del fruto de las semillas de las distintas variedades no es igual y oscila entre los limites de 3.8 a 8.0 g el poder germinativo de las semillas frescas, es en general de 95 a 98% y se

mantiene durante 4 a 5 años si las condiciones son favorables (Guenkov, 1974; citado por Pérez et. al., 1997).

Aspecto Climáticos y de Suelo

Edmon (1987) menciona que el chile se produce mejor en un clima relativamente caluroso, en el que la temporada de crecimiento es larga y donde existen pocos peligros de helada.

El rango de temperatura para una mejor germinación es de 24° C a 29° C, los días a emergencia son de 8 a 10 y la temperatura ambiente para su desarrollo en el día es de 18 a 16 ° C y por la noche de 15 a 18° C, a temperaturas menores de 10° C comienza a detenerse el crecimiento. También las temperaturas de suelo influyen en el rendimiento final, los rendimientos mas altos se obtienen entre 21 y 24° C, mientras que temperaturas por debajo de los 20° C, reducen sustancialmente la producción (Messiaen *et al.*, 1995).

Valdez (1989) menciona que la temperatura media para formarse la flor es de 18 a 27° C. a temperatura de 32 a 35° C, en las especies de frutos pequeños, el pistilo crece mas grande que los estambres antes de que abran las anteras, provocando la polinización cruzada, también las altas temperaturas provocan la caída de flores y/o frutos. La humedad relativa optima se da entre 50 y 70%.

Cásseres (1984) menciona que la planta de chile soporta contenidos de sal 2500 hasta 6400 ppm (4 a 10 mmhos) y se desarrolla en suelos desde ligeros (arenosos) hasta pesados (arcillosos); prefiriendo los limo-arenosos, profundos, ricos, bien aireados y con buen drenaje. Al igual que el tomate, el chile es tolerante a ciertas condiciones de acidez y crece bien con pH de 6.8 a 5.5.

Vilmorin (1997) menciona que debido a la germinación y el crecimiento de las plántulas de chile, estas son mas lentas que el tomate, la semilla de chile debe sembrarse de 8 a 10 semanas antes de la fecha que desea trasplantarse.

Concepto de Marchitamiento

Un marchitamiento se designa como aquella enfermedad que ocasiona la pérdida de vigor y frescura, las plantas afectadas quedan colapsadas (García, 1984).

En cuanto a la naturaleza de la marchitez podemos diferenciar dos grupos; fisiológica y patológicamente.

La marchitez fisiológica consiste en la pérdida de turgencia de las hojas principales, en relación a otros órganos, debido a una disminución de agua en el contenido celular (Sarasola, 1975).

El marchitamiento patológico es debido exclusivamente a agentes patógenos. Los síntomas de marchitamiento en este caso pueden deberse a necrosis de las raíces o de la zona del cuello de las plantas (Sarasola, 1975).

Los patógenos que causan estos problemas de marchitez penetran por heridas o raíces secundarias, obstruyendo los tejidos vasculares lo que provoca la marchitez por falta de agua y nutrientes (Manners, 1986).

En el Chile la marchitez o tristeza, es ocasionada principalmente por los hongos habitantes del suelo pertenecientes a los géneros: *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, *Pythium* y *Fusarium* (García y Díaz, 1991). Además Asociados con la manifestación de la enfermedad se han encontrado poblaciones de *Meloidogyne incognita* y *Meloidogyne* spp. afectando plantaciones de Chile en los estados de San Luis Potosí (donde la incidencia llegó a ser de 48%) y Zacatecas, mientras que en Aguascalientes solamente se han encontrado afectando frijol de riego y temporal y alfalfa (Velásquez *et al.* 2001).

Estos patógenos permanecen en el suelo, en los residuos de cosecha o en forma libre como esporas, que son las que inician el daño al cultivo nuevo en el suelo contaminado, atacando las raíces y una vez dentro de ellas destruye el tejido que conduce agua y nutrientes a la planta produciendo la marchitez.

La diseminación de la enfermedad de un sitio a otro, se hace principalmente por medio de plántulas infestadas con esporas de los patógenos y una vez establecidos dentro del terreno permanecerá ahí.

En el terreno, cuando el cultivo ha sido establecido, la enfermedad se transmite por medio del equipo que se utiliza para realizar practicas culturales y por medio del agua de riego que arrastra suelo infestado con esporas o propagulos de los patógenos (Flores y Frías, 1992).

Principales Hongos y Stramenopilas que Causan la Marchitez del Cultivo del Chile.

Uno de los patógenos que afectan al chile es *Phytophthora capsici*. El nombre de *Phytophthora* deriva del griego (*phyton*: planta y *phthora*: destrucción). (Ezziyyani *et al.*, 2004).

Pudrición de Raíz por *Phytophthora capsici*.

De acuerdo Alexopoulos *et al.*, (1996) *Phytophthora* se ubica en la siguiente posición taxonómica.

ReinoStramenopila
 PhylumOomycota
 ClaseOomycetes
 Orden Peronosporales
 Familia Pythiaceae
 Genero *Phytophthora*
 Especie *capsici*.

Importancia y Distribución

Este patógeno fue encontrado por primera vez en Nuevo México, E. U. A., por Leonina en 1922 atacando el cultivo del chile. En México fue descubierto por Galindo en

el año de 1956 atacando plantaciones de chile en los campos de la Escuela Nacional de Agricultura en Chapingo, México (Romero, 1993).

La importancia de este microorganismo es que ocasiona daños del 80% en las zonas productoras de chile: en el Bajío, Aguascalientes y San Luis Potosí, también se a encontrado afectando a las cucurbitáceas (calabaza, pepino, sandia, melón); al tomate y berenjena; en Nayarit y Jalisco causa daños hasta un 50% (Anaya y Romero, 1999).

Condiciones que Favorecen al Patógeno

Epifitiología.

El hongo es un habitante del suelo que puede sobrevivir como saprofito, pero se vuelve parasítico en presencia de hospedantes susceptibles, en tejidos infectados en descomposición o en el suelo, aparece en forma de estructuras de resistencia. El hongo tiene los tipos A-1 y A-2 de apareamiento.

Las condiciones ambientales que favorece el desarrollo de la enfermedad son: alta humedad del suelo y temperaturas frescas; en la ultima etapa del cultivo este es mas afectado, lo cual coincide con la época de lluvias (Mendoza y Pinto, 1985); se desarrolla mejor en suelos pesados y mal drenados (González, 1977); la pudrición de la raíz por *Phytophthora* dañan sus hospedantes en cualquier parte del mundo donde la temperatura se mantiene casi siempre baja entre los 15 y 23° C, la temperatura optima para que este hongo se desarrolle mejor, comprende entre los 25 y 28° C (Romero, 1996).

Etiología

Phytophthora capsici presenta micelio muy ramificado, liso o con un hinchamiento; forma una colonia de apariencia finamente radiada; es una especie heterotalica, que forma anteridio anfígeno y esporangios capilados, alargados con un óptimo termino de crecimiento elevado 26- 32 ° C (Smith *et al.*,1992).

Esporangios desiguales de forma muy variable, predominando los ovoides, elípticos, ovalo-alargados y globosos, con una vacuola en el centro, 28-123µ de largo y 21-50µ de ancho, las clamidosporas son ausentes; oogonios esféricos o subesféricos de paredes lisas

terminales; anteridios claviformes; terminales anfiginios, de 2-21 μ de largo por 12 a 17 μ de ancho; oosporas generalmente apleróticas; esféricas a subesféricas, presentan una pared gruesa y lisa, de color amarillo a castaño, de 24 a 26 μ de diámetro (Romero, 1988). Según González (1979) los micelios son compatibles en este hongo (A1 y A2); el gameto masculino (anteridio) produce un tubo de fertilización a través del cual uno o más núcleos pasan al gameto femenino (oogonio), al fusionarse ambos núcleos se convierte en una oospora.

Su forma de supervivencia ante condiciones adversas es por zoosporas, las cuales poseen dos flagelos laterales, uno liso y otro con bárbulas. *Phytophthora capsici* tiene un poder de competición saprofitica muy bajo en el suelo. Sin embargo, el patógeno puede guardar su poder infectivo en el suelo durante algunos días en forma de zoosporas, algunas semanas en forma de esporocistos y varios años en forma de clamidosporas y de oosporas. Se ubica predominantemente en las capas más superficiales del suelo, ya que al ser un hongo telúrico está fuertemente relacionado con el potencial hídrico del mismo. (Sid *et al.*, 2000).

Síntomas

Las plantas infectadas presentan un marchitamiento de las hojas sin cambios en su color, las cuales finalmente quedan colgadas de los pecíolos. En la base del tallo aparece una mancha marrón verdusca, que se ennegrece de acuerdo con el grado de necrosis de los tejidos y lignificación de la planta. Las raíces y tallos afectados muestran una pudrición suave, acuosa e inodora. Los frutos anticipan su cambio a color rojo y se arrugan. Los tallos continúan erguidos con las hojas colgantes y los frutos secos y arrugados. El síndrome se origina por la obstrucción de los haces vasculares. En campo se puede observar en el mismo lote manchones de plantas con amarillamiento, defoliación, caída de flores y finalmente muerte de la planta. Los tejidos internos de la raíz y el tallo son pardo oscuros y las lesiones externas corresponden a cánceres hundidos que estrangulan el tallo en forma gradual. También el síndrome está asociado con la obstrucción de haces vasculares (Romero, 1989).

Descripción de Marchitez Causada por *Rhizoctonia solani*

Ubicación Taxonómica

Alexopoulos y Mims (1996) Clasifican a *Rhizoctonia solani* kühn de la siguiente manera.

Reino..... Fungi

PhylumDeuteromycota

ClaseDeuteromycetes

Orden.....Agonomycetales

FamiliaMyceliasterilia

Género.....*Rhizoctonia*

Especie..... *solani*

Distribución e Importancia

Rhizoctonia solani es un patógeno de distribución mundial que ocasiona pérdidas importantes en la mayoría de las plantas perennes y anuales incluyendo casi todos los cultivos hortícola que se desarrollan dentro o sobre el suelo. Entre las enfermedades comúnmente causadas por este patógeno esta el llamado "Damping-off" o secadera de plántulas y la podredumbre de las raíces. Cabe destacar que para la mayoría de las hortalizas, no existe ningún fungicida efectivo contra esta enfermedad. Este hongo patógeno de importancia económica, pues afecta a un gran numero de cultivos tanto en México, países latinoamericanos y a nivel mundial. En nuestro país afecta cultivos de frijol, chile, cebada, algodón, tomate, papa, etc., causando serios daños durante cualquier estado de desarrollo de la planta (Agrios, 1998).

Relación Hospedero Patógeno

R. solani puede penetrar al hospedero mecánicamente o bajo la acción de enzimas, dependiendo la etapa de penetración. Dogman y Flentje (1970) mencionados por (Chet, 1980) reportaron que la infección, que puede ser sobre hipocotilos radicales donde el hongo presenta clavijas, penetrando la epidermis del tejido del hospedero. En algunos casos las hifas se aplanan y funcionan como apresorios antes de la penetración. La infección por medio de clavijas aparentemente penetra las células mecánicamente como ha sido descrito en varios estudios, sin embargo, mostró que las células parenquimatosas secretan materiales mucilaginosos, permitiendo así adherirse a los tejidos del hospedero (Chet, 1980).

El rol de las enzimas en la penetración es importante. *R. solani* produce enzimas, las cuales pueden degradar la cutícula, pectinasas y células. Hasta el momento no se han identificado las enzimas que actúan durante la penetración. Pero posiblemente las protopectinasa y celulasas son importantes durante la degradación y muerte de los tejidos del hospedero.

Después de la penetración inicial, el mecanismo patogénico de *R. solani* es variado e inadecuadamente conocidos en los diferentes hospederos. Pero generalmente después de una invasión intercelular sigue una invasión intracelular (Krupa y Dommergues, 1981).

Epifitiología

Las condiciones que favorecen la incidencia de la enfermedad son: exceso de humedad en el suelo y temperatura alrededor de 15° C o mayores. Este hongo produce estructuras de resistencia llamadas microesclerocios, que son como piedrecillas negras que quedan adheridas al tubérculo, dando el aspecto de que estuviera impregnado de lodo. Dichas estructuras se producen al inicio de las lluvias. En plantas suculentas como clavel, gladiolo, etc., se puede observar el micelio como filamento de color café o ámbar a la altura del cuello de la raíz. Esto lo difiere de *Fusarium*, ya que en este pueden observarse estriaciones de color rosa en la raíz porque la epidermis se agrieta y se forman los conidios. *R. solani* sobrevive también en residuos de cosechas y se disemina en la semilla. Los esclerocios germinan entre 8 y 30° C, aunque el intervalo óptimo de temperatura es de

21 a 25° C.

Etiología

La fase sexual de *Rhizoctonia solani* es *Thanatephorus cucumeris*. Esta fase perfecta se forma cuando hay suficiente humedad, y tiene el aspecto de un mildiu fino que se desarrolla sobre el suelo, hojas y tallos infectados. Los basidios tienen forma de barril, se forman sobre una capa membranosa de micelio y tienen cuatro esterigmas, cada una de las cuales produce una basidiosporas ovoide (Agrios, 1991).

El patógeno no forma esporas, durante su crecimiento vegetativo, se clasifica en el orden del micelio estéril de los hongos imperfectos. Según Alexopoulos *et al.*, (1996), sus características distintivas son: ramificación en ángulo recto (90° C), presencia de un septo tipo doliporo y la constricción de la hifa cerca de un punto de origen. Presenta un micelio estéril incoloro cuando pasa por su etapa juvenil pero se torna amarillo o de color café conforme madura (Agrios, 1996).

Síntomas

En condiciones favorables el hongo ataca a las plantas antes de que emerjan o poco después de la emergencia. Las lesiones son hundidas y de tamaño variable, con coloraciones café canelas o café rojizo. Las áreas oscuras y necróticas son mas evidentes cuando el tejido atacado es grande, si las condiciones son favorables, las lesiones se extienden y adquieren un aspecto hundido, que puede llegar a cubrir toda la base del tallo y destruir raíces, debilitando a la planta o amarillarla, en las raíces se observan áreas necróticas que varían en tamaño de acuerdo con el desarrollo de la enfermedad. En partes aéreas se aprecia clorosis, marchites y muerte. En el cuello provoca una pudrición no compacta, por lo que se desprende fácilmente la epidermis, esto es diferente con *P. capsici*. (Romero, 1993).

Marchitez del Chile Causada por *Fusarium oxysporum*

El marchitamiento causado por *Fusarium* es una de las enfermedades mas prevalentes y dañinas de Chile siempre que las plantas se cultiven intensamente. La

enfermedad es mas destructiva en climas cálidos y en suelos arenosos de las regiones templadas.

Clasificación Taxonómica

Alexopoulos *et al.*, (1996) ubican a este genero dentro de una taxonomia artificial:

Reino..... Fungí
 Phylum..... Deuteromycota
 Clase..... Deuteromycetes
 Orden..... Moniliales
 Familia Tuberculariaceae
 Genero *Fusarium*
 Especie *oxysporium*.

Epifitiología

Es un hongo que vive saprofito en el terreno, sobre restos vegetales, contaminando a las plantas después de su plantación, siendo mas factible la contaminación en suelos ligeramente ácidos y húmedos. Desgraciadamente, casi siempre se desarrolla con *Verticillum*, tanto que si se bajara la temperatura para no favorecerlo, se activa el ataque de *Verticillum* y viceversa.

El daño de *Fursarium* es mas intenso a temperaturas de 21 a 33^a C; con menos de 21°C o superiores a 33°C, el hongo se desarrolla mas lentamente. Su crecimiento y reproducción son mayores con temperaturas de suelo alrededor de 27 a 29°C, las plantas mueren de 2 a 4 semanas después de la infección (Mendoza y Pinto, 1985).

Etiología

El ciclo de la enfermedad inicia con la presencia de macroconidios, microconidios, micelio y/o clamidiosporas en el suelo infectado; estos germinan y penetran por las

heridas o aberturas naturales, atacando el xilema, el que adquiere una tonalidad amarillo-ocre-café, el micelio sigue desarrollándose y llega a invadir las células adyacentes al xilema; se presenta una marchitez y la muerte de la planta, la formación de coincidios se efectúa en las hojas de las plantas muertas y en el suelo (Mendoza y Pinto, 1985); *Fusarium* sobrevive durante e cinco a diez años como saprofito en el suelo, por que el hongo produce rápidamente nuevas clamidiosporas muy poco después de la germinación de las espora madre. (Robert y Boothroyd, 1978). En *Fusarium oxysporum*, las clamidiosporas son un tipo tradicional de resistencia, estas son de pared gruesa, forman directamente a partir de compartimentos hifales o conidiales, y asemejan endosporas de las bacterias.

El hongo puede desarrollar microconidios hialinos, pequeños, elípticos conidioforos alargados, clamidiosporas de 1-2 células presentes; macroconidios finos, alargados con 3-5 células puntiagudas, pared delgada, masa de esporas ocre, rosa o amarillo (Mendoza y Pinto, 1985).

Síntomas

El síntoma causado por *Fusarium* se caracteriza por el achaparramiento de la planta, clorosis y finalmente muerte de la planta mostrando también una coloración café en el xilema (Romero, 1996).

Los primeros síntomas de la enfermedad se manifiestan en una ligera aclaración de las nervaduras de los folíolos jóvenes mas externos, después de lo cual ocurre la epinastia de las hojas senescentes ocasionada por el debilitamiento de los pecíolos. Es mas frecuente que en las plantas adultas ocurra epinastia foliar y una previa aclaración de las nervaduras de las hojas antes de que se produzcan acaparamiento, amarillamiento de las hojas inferiores, formación ocasional de raíces adventicias, marchitamiento de los tallos y hojas jóvenes, defoliación, necrosis marginal de las hojas persistentes y finalmente, su muerte. Con frecuencia, estos síntomas aparecen solo en uno de los costados del tallo y avanzan hasta la parte superior de la planta hasta que destruye el follaje y ocasiona la muerte del tallo (Mendoza y Pinto, 1985).

En cortes transversales del tallo, cerca de la base de la planta infectada, se puede observar un anillo de color café en el área de los haces vasculares, y el avance de la decoloración hacia la parte superior de la planta depende de la severidad de la enfermedad.

Métodos de Control de la Marchitez de Chile

Control Cultural

Macias *et al.* (2005) reporta que actualmente no se conoce ningún producto químico que controle la marchitez, tampoco se cuenta con variedades comerciales genéticamente resistentes a esta enfermedad, por lo que se considera que una forma práctica de prevenir la enfermedad consiste en:

1. Nivelar bien el terreno para evitar encharcamientos.
2. Evitar surcos de más de 100 metros de largo.
3. Sembrar semilla procedente de frutos sanos y desinfectarla.
4. Usar plantas sanas en el trasplante.
5. Hacer surcos altos.
6. Aplicar riegos ligeros.
7. Tratar que el agua de riego no toque el tallo de las plantas.
8. Regar en surcos alternos (terciar) en la época de lluvias.
9. Desaguar el terreno inmediatamente después de lluvias fuertes.
10. Eliminar las piletas después de regar en la temporada de lluvias, o bien, evitar el uso de éstas, dando al surcado una pendiente adecuada.
11. No volver a plantar chile en el mismo terreno durante cuatro o cinco años.
12. Si el cultivo estuvo muy afectado por marchitez es conveniente que después de cosechar, arranque todas las plantas, las saque del predio y las quemé.

Control Físico

Dentro de los más utilizados está la solarización donde se colocan cubiertas de polietileno transparente o plástico fotodegradable sobre el suelo húmedo durante los días cálidos de verano, la temperatura que prevalece en los primeros 5 cm en la parte superficial del suelo puede elevarse hasta las 52° C, comparada con un máximo de 37° C suelos que

carecen de acolchado. Esto se mantiene cuando el calentamiento es generado por el sol conocido con el nombre de “ solarización “, el cual inactiva a muchos patógenos que habitan en el suelo. Se ha reportado que una solarización de 20 días, se obtiene una mortalidad de los esclerocios de 80% de 5 a 20 cm de profundidad (Mont Koc R. 1993).

El factor principal en el aumento del crecimiento vegetal es debido a los efectos de la solarización sobre las poblaciones de microorganismos benéficos, algunos son estimulados, otros son poco afectados como *Bacillus* spp. y actinomicetes , los que son afectados se recuperan rápidamente y vuelven a colonizar suelos tratados (De la Garza, 1996).

Control Genético

El control genético se ha enfocado principalmente para *Phytophthora capsici* donde se ha logrado la incorporación de genes de resistencia a los cultivares de chile mejorado. Actualmente se tiene se tiene líneas de chile ancho y mulato que son precoces y presentan un alto grado de resistencia a dichos patógenos (Pozo, 1983).

En nuestro país actualmente se ha encontrado una variedad de chile “criollo Morelos “, con alta resistencia y buena compatibilidad con las variedades comerciales (poblano, mulato, ancho, etc.), a diferencia del chile pasilla, el cual, aunque resiste, no es compatible con las variedades comerciales (Anaya y Romero, 1999).

Control Químico

De los fungicidas actuales en el mercado, ninguno ha dado resultados satisfactorios. Sin embargo de lo mas recomendable para *P. capsici* es conveniente el uso de semillas sanas y/ o desinfectada, desinfección de plántulas con Metalaxil antes del transplante a 1000 ppm antes de llevarlo a campo; después de esto aplicar fungicidas cúpricos o Clorotalonil cada semana principalmente antes de la fluoración, esto para evitar daños aéreos. (Anaya y Romero, 1999). El tratamiento a la semilla con Dexone 3 g/kg de semillas o aspersiones al follaje y dirigidas al cuello de la planta con Difolatan ph 80% 2 g/lt de agua; Dithane M-45, Captan, Benomil, Metalaxil, Fosetil de Aluminio; pueden ayudar al control de la enfermedad.

Para el control de *Rhizoctonia* se utilizan tratamientos a la semilla con captan, Tiabendazol, Quintozeno, Carboxin, Thiram y el Clorotalonil y Metiltiofanato e Iprodiona para aplicar en forma de aspersiones al suelo antes de sembrar y una o dos veces al follaje (De la Garza, 1996).

Romero (1993) menciona que el Benomil, solo abaten temporalmente la población, ya sea porque muchas esporas son capaces de evadir la acción funguicida, o porque los mismos funguicidas, que pueden actuar como agentes mutagénicos, dan por resultado que varias esporas adquieren resistencia.

Control Biológico.

Actualmente se entiende por biocontrol la reducción de la intensidad o las actividades productoras de enfermedades de un patógeno o parásito, lograda mediante la manipulación del ambiente, del hospedero o de los antagonistas del patógeno o plaga que se quiere controlar. En este último caso el biocontrol consiste en la utilización de microorganismos naturales o modificados, para reducir los efectos de organismos indeseables, favoreciendo al mismo tiempo el desarrollo de los microorganismos beneficiosos para las plantas. Los microorganismos antagonistas comprenden cualquier organismo que interfieren en la supervivencia o desarrollo de los patógenos (Sid *et al.*, 1999).

Lagunas *et al.*, (2001) reporta que *Bacillus subtilis*, no solamente inhiben al patógeno, si no que además, promueve el crecimiento de la raíz y de la planta, e incrementa el contenido de lípidos, triglicéridos y esterol en las hojas de jitomate.

En semillas de frijol, se incremento la emergencia de plántulas de 12 a un 100%. Del mismos modo, *Bacillus subtilis* también podría influir en los mecanismos de resistencia, ya que en semillas de chicharo infectados con *Fusarium udum* Butler y tratadas con la bacteria, se incremento la cantidad de PAL (fenil alanina amonio liasa) y la actividad de la peroxidasa (Podile y Laxmi, 1998).

Lagunas *et al.*, 2002 cita que en un experimento realizado en la marchitez de jitomate usando *Trichoderma* y *Bacillus* se obtuvo un control del 85.7 % y fueron

diferentes al efecto de los tratamientos Tiabendazole, Actigard y testigo, los cuales no mostraron diferencia estadística entre ellos.

Guillen (2005) reporta que la inoculación de bacterias al trasplante y aplicaciones al pie de la planta resulta menor la incidencia y severidad de la marchitez de chile, puesto que al primer corte de no se presenta diferencias en la incidencia de la enfermedad. En el segundo y tercer corte la incidencia de plantas enfermas fue menor en los tratamientos con *Bacillus* sp en comparación con el testigo y el tratamiento comercial.

La severidad de la marchitez fue menor en los tratamientos con *Bacillus* B1 y B13, con una infección leve, el tratamiento tradicional con una infección moderada y el testigo presento una infección severa y marchitez en toda la planta.

Antecedentes e Importancia del Control Biológico

La necesidad de reducir el uso de fungicidas químicos y productos fitosanitarios de síntesis ha dado paso a la práctica de la inoculación. En efecto, la demanda impuesta por la sostenibilidad está conduciendo al uso de estrategias que mantenga una protección del medio ambiente. En este contexto, el uso de inóculos microbianos, incluyendo algunos que han sido modificados genéticamente, está cobrando nuevamente interés. Los microorganismos más usados pertenecen a los géneros *Rhizobium*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Trichoderma*, *Streptomyces*, etc. (Sid et al., 2000).

La microflora cerca de la raíz es considerada como la primera línea de defensa en el sistema radicular contra el ataque de patógenos. Las únicas especies comúnmente utilizadas en el control biológico son *Bacillus* sp y *Bacillus penetrans*. Para tener mayor eficiencia en control de hongos de suelo las bacterias deben ser residentes de la rizosfera en las plantas, de esta forma aumenta sus habilidades de producir antibióticos. (Krupa y Dommergues, 1981).

***Bacillus subtilis* (Ehrenberg) Cohn 1872**

Hábitat

Bacillus subtilis es un habitante del heno, polvo, suelo y en el agua principalmente. Esta especie es fácil de aislar de la tierra y se encuentra entre los organismos más frecuentes que aparecen cuando se siembran muestras de tierra en placa de agar.

Características Morfológicas

La forma de *B. subtilis* es de bastones rectos o curvos, con los extremos redondeados, su agrupamiento es aislado y algunas veces en cadenas cortas, su tamaño oscila entre 3 y 4 micras por 1 micra, su formación de esporas es ecuatorial, dichas esporas son subterminales, ovales y que germinan, lateralmente miden 1.2 micras por 0.6 micras. Son bacterias de tipo gram(+) y además no son ácido resistentes, su flagelación es peritrica con ocho o dos flagelos. (Bryan *et al.*, 1974).

Fisiología y Composición

La temperatura óptima para el desarrollo de esta bacteria es de 37°C, es aeróbica y anaeróbica facultativa, posee una producción baja de ácido sulfhídrico, no forma indol, sus esporas son capaces de resistir la ebullición durante horas. Crecen en amplio rango de pH, temperatura y NaCl (Gustafson, 1993).

Bacillus subtilis realiza la fermentación 2,3 Butanediol, también produce glicerol como un producto de la fermentación.

Desarrollo de *B. subtilis* en Diferentes Medios de Cultivo

Agar Nutritivo

Forma colonias pequeñas, de color grisáceas, con un centro más oscuro, rodeado de un halo más claro con un borde espeso. Se emulsiona difícilmente y la superficie es finamente granulosa.

PDA

Desarrollo exagerado, blanco amarillento, cremoso, que se torna de color rosa, con vesículas sobre la superficie, posteriormente se vuelve seco y harinoso.

Caldo Nutritivo

Desarrollo turbio que termina aclarándose, con desarrollo superficial coherente.

Formas de Inhibición de *B. subtilis*

B. subtilis produce su efecto inhibitorio sobre los fitopatógenos, por lo menos por dos procesos. El primero de estos es llamado ocupación de un nicho, teóricamente por la presencia de *B. subtilis* en la superficie de la raíz, metabolizando los exudados que pueden ser utilizados por los patógenos, lo que hace que sea suficiente para inhibir el ataque de los patógenos. El segundo proceso por el que *B. subtilis* puede inhibir el ataque de fitopatógenos, es una extensión del primer proceso. Como *B. subtilis* crece en las superficies de las raíces, esto puede producir sustancias químicas que inhiben el desarrollo de fitopatógenos (Gustafson, 1993).

Antibióticos Producidos por *B. subtilis*

Estas bacterias producen por lo general muchas enzimas hidrolíticas extracelulares que descomponen polisacáridos, ácidos nucleicos y lípidos. También producen antibióticos como por ejemplo la bacitracina, polimixina, tirodicina etc. El antibiótico es producido cuando el cultivo entra en la fase estacionaria de crecimiento y después se efectúa la esporulación. poner el de la pagina (Douville y Boland, 1992).

Bacillus al ser enfrentado en la placa de *Rhizoctonia solani* reduce el crecimiento micelial e inhibe la formación de esclerocios por antibiosis.

Se ha obtiene de una cepa de *B. subtilis* una sustancia denominada *subtilina* uno de los 32 péptido aminoácidos con actividad antimicrobial, encontrando que también la *nisina*, un péptido con propiedades similares. Se ha investigado sobre la producción del antibiótico *iturina*, un péptido con efectos antifungicidas y efectivo en la supresión de

fitopatógenos, usando residuos de soya en condiciones controladas de luz, temperatura y humedad para tener una producción eficiente (Ohno et al., 1993). La *iturina A* y la *surfactina* son dos polipéptidos producidas por algunas cepas de *B. subtilis*. La *iturina A* posee propiedades antibióticas, mientras que la *surfactina* es un agente surfactante (Magent et al., 1993).

Se han descrito varios mecanismos de acción para controlar el desarrollo de patógenos. Entre ellos encontramos la inducción de resistencia, pero fundamentalmente el biocontrol se basa en la antibiosis y competencia por el espacio o por los nutrientes y en las interacciones directas con el patógeno: micoparasitismo y lisis enzimática. Un ejemplo de control biológico de una enfermedad, utilizando microorganismos antagonista, es el caso de la “tristeza” del pimiento causada por el oomiceto patógeno *Phytophthora capsici*. (Ezziyani et al., 2004).

Mecanismos de los Microorganismos Antagónicos.

Los mecanismos por los que los microorganismos afectan a las poblaciones de patógenos no siempre son claros, pero en general se atribuyen a uno de cuatro efectos.

1. Parasitismo directo y muerte del patógeno.
2. Competencia con el patógeno por el alimento.
3. Efectos tóxicos directos sobre el patógeno por medio de sustancias antibióticas liberadas por el antagonista y
4. El efecto toxico indirecto sobre el patógeno por sustancias volátiles como el etileno, liberadas por las actividades metabólicas del organismo antagonista.

Efectos del Control Biológico de *Bacillus* spp

Se tiene reportes que *B. subtilis* protege plantaciones de cebada contra el tizón causado por *Helminthosporium avenae* en campo (Comedla y Chang, 1975); y de *Helminthosporium sativum* en trigo (Stackman y Harrar, 1968).

B. subtilis es usado en el control biológico de *Uromyces appendiculatus* con aplicaciones de dos a 120 hr, antes de la inoculación de las uredosporas de la roya, evitándose la formación de las plántulas en frijol; también existe evidencia de que *B. subtilis* tiene efecto antifungico en la marchitez de la sandia (Virgen, 1991).

La bacterización de tubérculos de papa con *B. subtilis* y *B. licheniformis*, promovió el crecimiento de las plantas en invernadero y controló *Pseudomonas solanacearum* (De la Garza, 1996).

Bacillus amyloliquefaciens se ha reportado como bacteria antagónica a varios fitopatógenos; *Bacillus licheniformis* está reportado como un fungicida preventivo y curativo y *Bacillus subtilis* es de los más estudiados y reportados como promotor de crecimiento y antagónico a una gran variedad de fitopatógenos. Los resultados muestran que el uso de rizobacterias del género *Bacillus* puede ser una alternativa favorable para disminuir los avances de la marchitez y pudrición de raíz del chile bajo condiciones de campo (Guillen, 2005).

MATERIALES Y METODOS

Ubicación del Experimento.

El presente estudio se realizó en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro ubicada en Buenavista, Saltillo, Coahuila, en el Laboratorio de Fitopatología del Departamento de Parasitología Agrícola, el Invernadero y Macrotúnel del mismo Departamento.

Establecimiento de Almácigos.

El almácigo consistió en la desinfección de charolas para colocar peat-moss y semilla de chile jalapeño variedad tampiqueño 74 en cada cavidad de la charola para su germinación. Finalmente fueron puestas en el macrotúnel donde hasta el momento del trasplante.

Material Biológico

Las bacterias identificadas como *Bacillus* spp. clave B1, B3 y B13 empleadas, fueron proporcionadas por el laboratorio de Fitopatología, del Departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

Activación de las Bacterias Antagónicas *Bacillus* spp.

Se sembró *Bacillus* sp. clave B1, B3 y B13 en placas petri con agar nutritivo, mediante la técnica de estría en placa. Para comprobar la pureza del cultivo se volvió a sembrar las bacterias en placas y se incubaron durante 48 hr a 28°C.

Preparación del Caldo Nutritivo

Se preparó en matraces Erlenmeyer, aforándose con 100 ml de agua destilada y se le agregó 0.8 g de caldo nutritivo, se esterilizaron en autoclave a 120 lb de presión, en

seguida se inoculo el caldo nutritivo con su respectiva bacteria para incubárlos a 150 rpm por 48 hr a 28 °C.

Incremento de la Bacteria para Inoculación en Planta.

Se utilizaron frascos de 2 litros; a cada uno se le agrego 8 g de agar nutritivo aforando 250 ml de agua y se esterilizaron en autoclave a 120 lb de presión. Para el incremento de las cepas de *Bacillus* sp. se inocularon los frascos con 1000 µl de la suspensión bacteriana correspondiente, se colocaron en la estufa a una temperatura de 28° C por un periodo de siete días. Transcurrido este tiempo se determino si la bacteria estaba esporulada.

Conteo de Esporas

Una vez que las bacterias esporularon se recupero el incremento bacteriano. Para el conteo de esporas se utilizo la cámara de Newbauer a diluciones de 1×10^{-3} . Al final se obtuvo la concentración requerida de 1×10^8 esporas/ ml.

Diseño Experimental

Se utilizo un diseño experimental completamente al azar, donde se evaluaron los tratamientos a base de *Bacillus* B1, B3, B13, se incluyo un testigo comercial y un testigo absoluto; cada uno con 10 repeticiones. La unidad experimental fue una maceta, teniéndose 10 macetas por tratamiento las cuales se llenaron de suelo extraído del bajío de la misma Universidad, el cual estaba infestado por agentes causantes de la marchitez de chile, donde prácticamente se observo marchitez durante el ciclo agronómico 2004.

Los datos fueron sometidos a análisis de varianza para detectar diferencias significativas entre los tratamiento y la comparación múltiple entre medias se utilizo la prueba de Tukey al 5%.

Parámetros a Evaluar

Se realizó un muestreo en las 10 plantas de cada tratamiento a los 20, 40, 60 y 70 ddt para determinar su efecto en el desarrollo, las variables evaluadas fueron: altura de planta, número de flores y número de amarre de frutos. Los cortes de chile se realizaron a los 100 y 110 días ddt, las variables a evaluar fueron: peso fresco en cada corte. Se evaluó longitud de raíz, peso seco de raíz y la incidencia y severidad de la enfermedad al final del cultivo.

La incidencia se determinó en cada corte de chile, considerando el porcentaje de plantas enfermas que se presentaron en las 10 plantas de cada tratamiento. La evaluación de severidad se realizó al final del cultivo, para lo cual, se extrajeron las 10 plantas y se utilizaron las escalas para la marchitez (Ayvar, 1998) modificado por Higuera (2000), considerando la pudrición de raíz o marchitez de la planta como complejo de los patógenos involucrados (Cuadro 1).

Cuadro 1. Escala utilizada para evaluar el grado de desarrollo de la marchitez (Ayvar, 1998).

Tipo	Descripción de síntomas
0	Planta sin infección. No se presentan síntomas en el follaje
1	Planta con infección leve. Se observa aclaramiento de nervaduras, amarillamiento y epinastia en 1 a 30 % de las hojas. Estos síntomas inician en la base de la planta
2	Planta con infección moderada. Se observa amarillamiento y epinastia en el 30 a 60 % de las hojas y marchitez incipiente de las mismas
3	Planta con infección severa. Se observa amarillamiento y marchitez de toda la planta
4	Planta con infección muy severa. La planta se marchita, se seca y muere

Tratamientos

Los tratamientos realizados en el ensayo se pueden observar en el cuadro 2.

Cuadro 2. Tratamientos empleados para estudiar la efectividad de bacterias esporuladas en el cultivo de chile.

Tratamiento	Dosis	No aplicaciones	Intervalo de aplicación
TI = B ₁	1 x 10 ⁸ ufc/ml.	3	1 ^{era} al transplante 2 ^{da} 20 ddt 3 ^{era} 40 ddt
T2 = B ₃	1 x 10 ⁸ ufc/ml	3	1 ^{era} al transplante 2 ^{da} 20 ddt 3 ^{era} 40 ddt
T3 = B ₁₃	1 x 10 ⁸ ufc/ml	3	1 ^{era} al transplante 2 ^{da} 20 ddt 3 ^{era} 40 ddt
T4 Testigo comercial (Tiabendazol)	1 g / L	3	1 ^{era} al transplante 2 ^{da} 20 ddt 3 ^{era} 40 ddt
Testigo absoluto			

Transplante de Plántula

Primer Tratamiento

Al momento del transplante se inocularon las plantas con las bacterias antagónicas; esto consistió en sumergir las plantas en un recipiente con una solución bacteriana (B1, B3 y B13, según correspondiera el tratamiento) a una concentración de 1 x 10⁸ por 15 min; el Tiabendazol se aplicó a la dosis comercial (Cuadro 1). Se realizó una segunda y tercera aplicación con las mismas dosis a cada uno de los tratamientos a los 20 y 40 días después del transplante (ddt) y con ayuda de una bomba Truper modelo Fut-1 se inoculó a la parte baja del tallo de la planta.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto de Inocular a *Bacillus* spp. sobre Raíz y Suelo en el Cultivo de Chile

Altura de planta a los 20 ddt.

La altura de planta vario de 14.40 cm en el testigo a 21.8 cm en el tratamiento con *Bacillus* B13 (Figura 1). El análisis de varianza detecto diferencias estadísticas en tratamientos (Cuadro 2 del apéndice). La prueba de medias indica que los tratamientos a la raíz y suelo con *Bacillus* B13 y B3 inducen significativamente mayor altura de planta que el testigo absoluto y el testigo comercial (Figura 1). Las plantas en el tratamiento químico (Tiabendazol) muestran un incremento estadísticamente similar al testigo.

Como se observa en la figura 1 los tratamientos con bacterias de *Bacillus* spp. incrementan al menos 32.64 % la altura de la plantas tratadas y un máximo de 51.39 %, mientras que el testigo comercial lo incrementa en solo un 9.72 %.

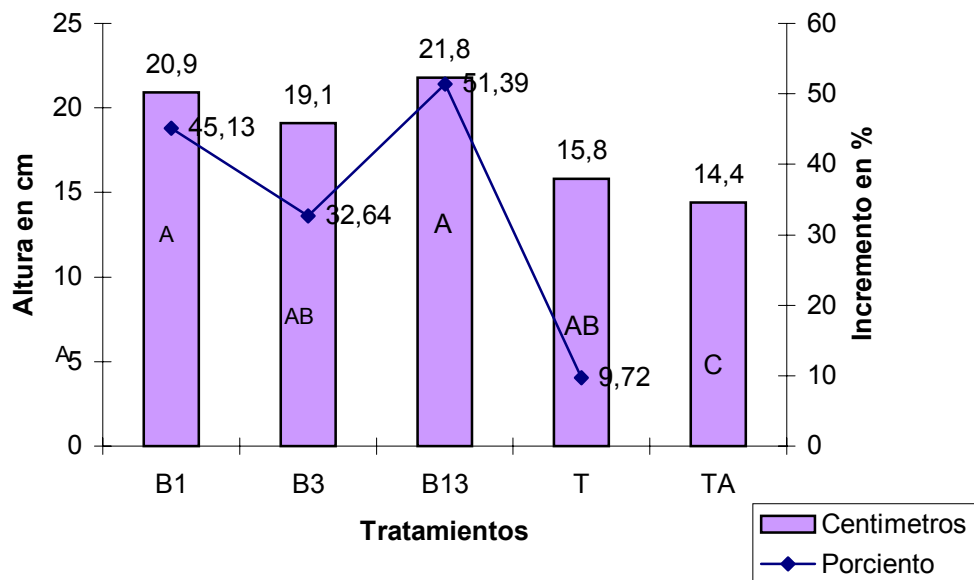


Figura 1. Altura de planta en Chile a los 20 días después de la inoculación con *Bacillus* spp.

Altura de planta a los 40 ddt.

La altura de planta vario de 15.90 cm en el testigo a 26.30 cm en el tratamiento con *Bacillus* B13 (Figura 2).

El análisis de varianza detecto diferencias significativas entre tratamientos (Cuadro 4 del apéndice). Las pruebas de medias indicaron que *Bacillus* B13 tubo mayor efectividad al estimular el desarrollo vegetativo del chile con un incremento del 65.41% relativamente similar al *Bacillus* B1 con un desarrollo de 59.12%, estadisticamente difieren con el tratamiento químico y el testigo absoluto (Figura 2).

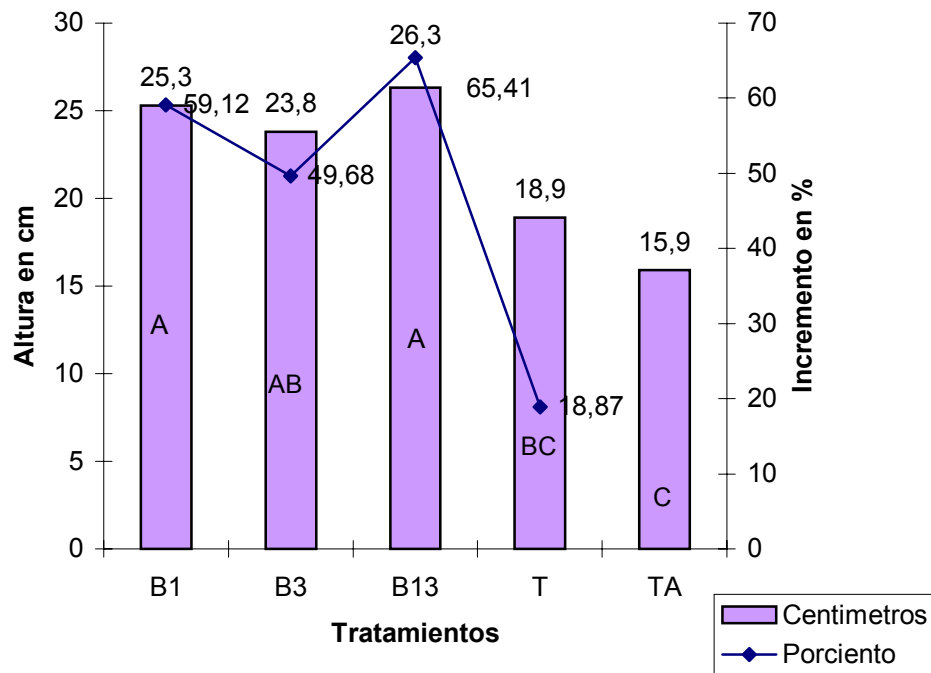


Figura 2. Altura de planta de chile a los 40 días después de la inoculación con *Bacillus* spp.

Altura de planta a los 60 ddt.

En la tercer evaluación, la altura de planta en el testigo es de 19.40 cm, el tratamiento con *Bacillus* B13 mostró mayor altura siendo esta de 31.20 cm (Figura 3).

El análisis de varianza presenta diferencias estadísticas en los tratamientos (Cuadro 6 del apéndice). La tabla de medias indica que la inoculación a la base del tallo con *Bacillus* B13 y *Bacillus* B1 inducen significativamente mayor altura de planta. El tratamiento con Tiabendazol no difiere estadísticamente a la altura obtenida en el testigo. Como se observa en a figura 3, los tratamientos con bacterias del genero *Bacillus* spp. incrementan al menos un 39.69 % la altura de las plantas tratadas y un máximo de 60.82 %.

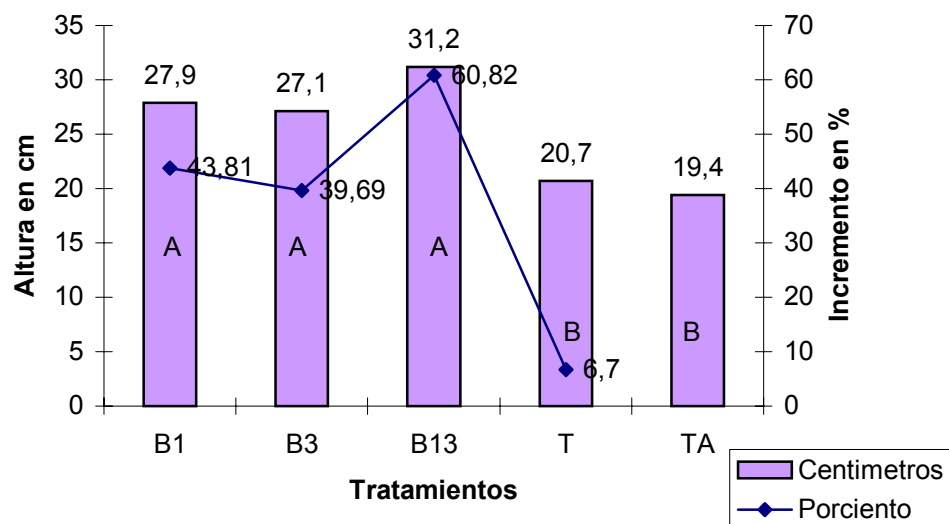


Figura 3. Altura de planta de chile a los 60 días después de la inoculación con *Bacillus* spp.

Se observaron diferencias significativas entre los tratamientos a los 20, 40 y 60 días después de la inoculación con las rizobacterias. Las plantas inoculadas con los aislados B13 y B1 (Figura 1,2 y 3) presentaron mayor altura de planta que el testigo y el producto comercial con un incremento del 65.41% y un mínimo del 32.64% utilizando a *Bacillus* spp. como agentes promotoras de crecimiento.

El mayor efecto se observó con *Bacillus* B 13 lo que indicó que esta bacteria fue capaz de estimular el desarrollo de las plantas.

La aplicación de bacterias esporuladas antagónicas y promotoras del tipo *Bacillus* spp en el crecimiento de plantas tienen un efecto promotor sobre la misma en invernadero, con respecto a los testigo sin aplicación. Nuestros resultados son similares a los reportado por Aguirre 2005 al utilizar los aislados de *Bacillus* B1, B3, B9 y B13 en el cultivo de zanahoria.

Numero de Flores a los 40 ddt

El numero de flores por planta en promedio es de 0.80 y en el testigo de 3.20 en el tratamiento con *Bacillus* B13 (Figura 4). El análisis de varianza detecta diferencias altamente significativas en tratamientos (Cuadro 9 del apéndice). La prueba de medias indica que los tratamientos a la raíz y suelo con *Bacillus* B13 y B3 inducen significativamente mayor producción de flores por planta. El tratamiento químico (Tiabendazol) no difiere en numero de flores obtenidas en el testigo.

Como se observa en la figura 4 los tratamientos con bacterias de *Bacillus* spp. incrementan al menos 312.5 % la producción de flores por planta tratadas y un máximo de 400 %

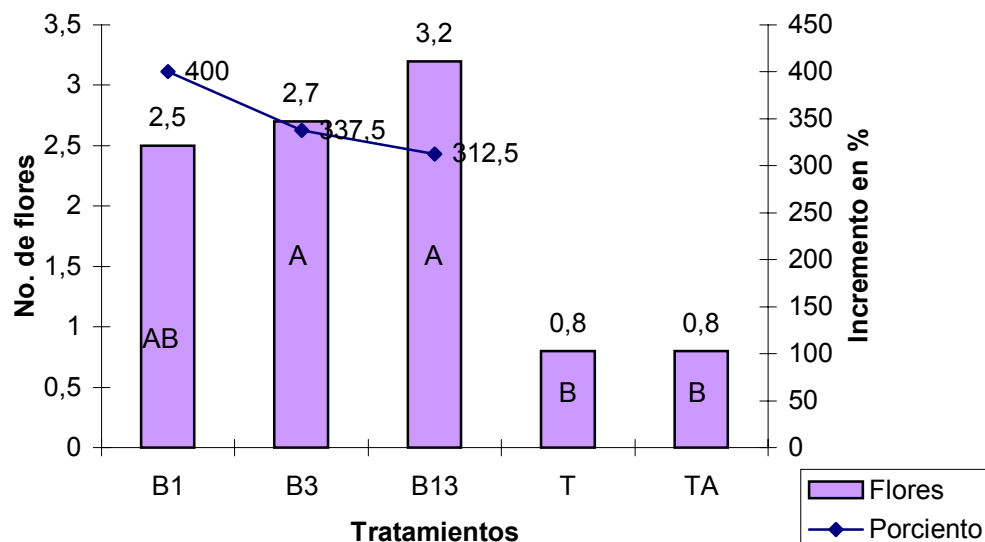


Figura 4. Conteo de flores en chile sujeto a la inoculación de *Bacillus* spp. a los 40 ddt.

Numero de Flores a los 70 ddt

En el segundo conteo de flores, el testigo reporta 0.7 flores por planta en promedio, mientras que el tratamiento con *Bacillus* B3 es de 4.1 (Figura 5). El análisis de varianza detecta diferencias altamente significativas en tratamientos (Cuadro 11 del apéndice). La prueba de medias indica que los tratamientos a la raíz y suelo con *Bacillus* B3 y B13 inducen significativamente mayor producción de flores por planta. El tratamiento químico (Tiabendazol) no difiere en esta variable con el testigo.

Como se observa en la figura 5 los tratamientos con bacterias de *Bacillus* spp. incrementan al menos 328.57 % la producción de flores por planta tratadas y un máximo de 585.71 %.

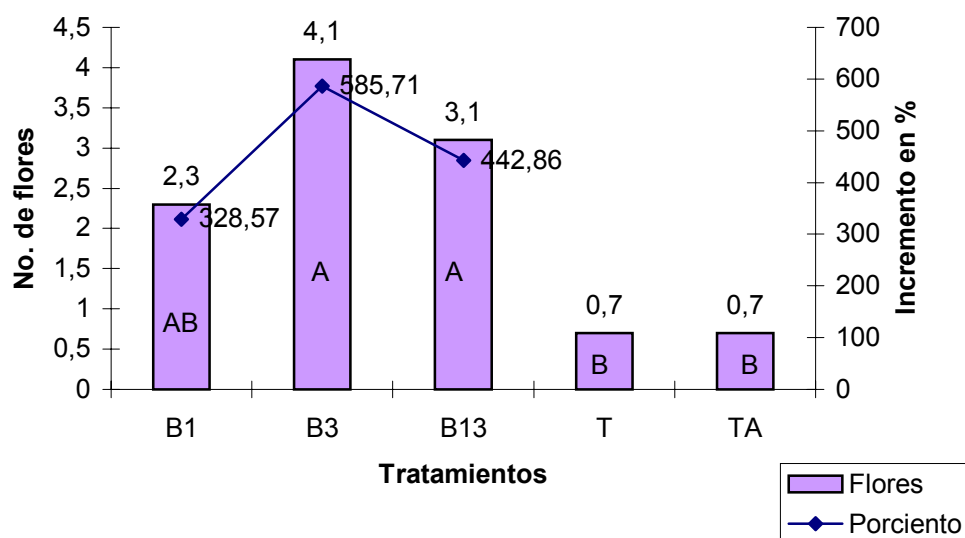


Figura 5. Numero de flores en plantas de chile a los 70 dias despues de la inoculacion con *Bacillus* spp.

Los resultados indican que existen diferencias significativas entre los tratamientos para la evaluación de numero de flores. A los 70 ddt *Baccillus* B1 y B13 presentan mayor producción de flores mientras que el producto comercial y el testigo absoluto no difieren significativamente entre si. A los 100 ddt *Bacillus* B3 y B13 presentan mayor producción de flores; además se puede observar que *Bacillus* B13 permanece constante en las dos evaluaciones, el producto comercial y el testigo absoluto no difieren significativamente.

Los resultados obtenidos permiten inducir que los tratamientos con *Bacillus* empleados en este ensayo, la producción de flores en el cultivo de chile en comparación al tratamiento químico. Lo anterior puede ser debido a que algunas bacterias del genero *Bacillus* inducen diferentes mecanismos relacionados con la promoción de crecimiento en las plantas, ya sea que, proporcionen directamente nutrientes, participen en la fijación de nitrógeno, fósforo y potasio, la solubilización de fosfato y otros nutrientes; así como la movilización de los mismos, o bien, que las plantas sean capaces de producir hormonas vegetales como auxinas, giberelinas, citoquininas, etileno y sustancias promotoras de crecimiento de las plantas como el ácido indolacético o por la producción de sideróforos o antibióticos para la supresión de la microflora dañina a esta (Hallamann *et al.*, 1997; Kloepper, 1980 y Van Veen *et al.*, 1997).

Numero de Frutos a los 70 ddt.

El número de frutos por planta varía de 0.60 en el testigo a 5.8 en el tratamiento con *Bacillus* B3 (Figura 6).

En el conteo de número de frutos por planta el análisis de varianza detecta diferencias significativas entre tratamientos (Cuadro 18 del apéndice). Las pruebas de medias indican que *Bacillus* B3 tubo mayor número de frutos al estimular el desarrollo vegetativo del chile con un incremento del 966.66 % y *Bacillus* B13 con un incremento de frutos del 733.33 %, estadísticamente difieren con el tratamiento químico y el testigo absoluto.

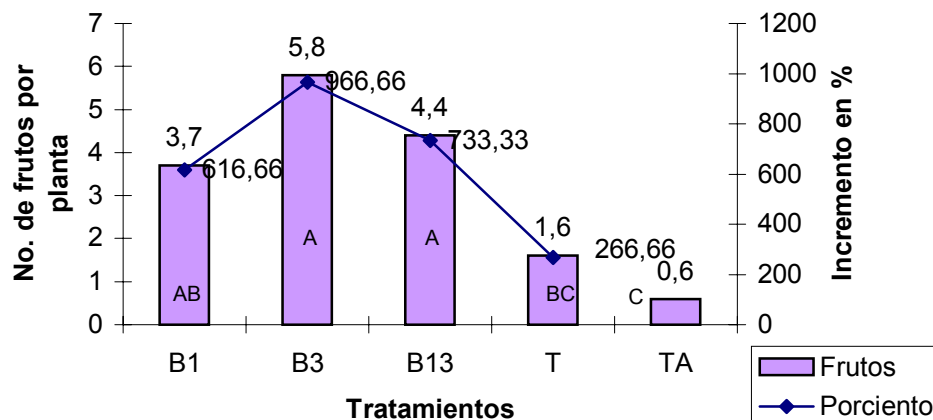


Figura 6. Número de frutos en plantas de chile a los 70 días después de la inoculación con *Bacillus* spp.

Numero de Frutos a los 100 ddt (Primer Corte)

El numero de frutos cosechados al primer corte por planta varia de .20 en el testigo a 2.6 en el tratamiento con *Bacillus* B13 (Figura 7).

El análisis de varianza detecta diferencias estadísticas en tratamientos (Cuadro 16 del apéndice). La prueba de medias indica que los tratamientos a la raíz y suelo con *Bacillus* B13 inducen significativamente mayor rendimiento por planta (Figura 7). El tratamiento químico (Tiabendazol) no difiere significativamente a la producción obtenida al testigo.

Como se observa en la figura 7 los tratamientos con bacterias de *Bacillus* spp. incrementan al menos el 900% el rendimiento de la producción en plantas tratadas y un máximo de 1300%.

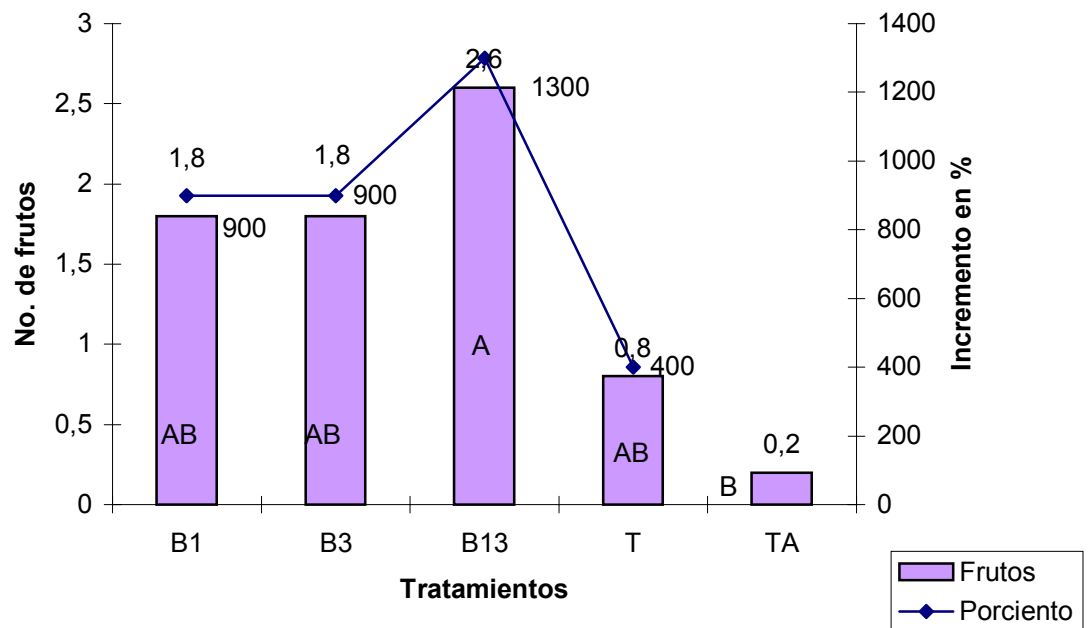


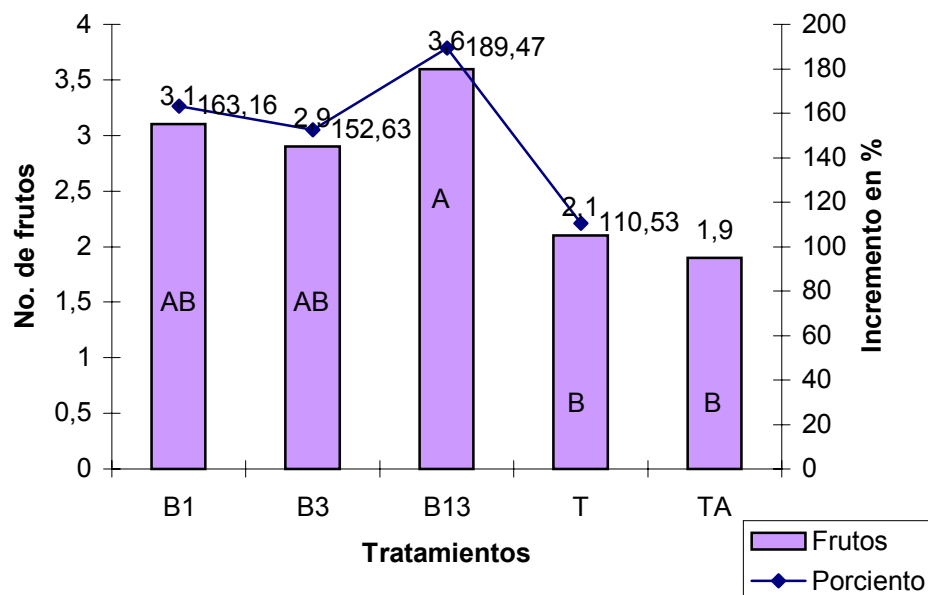
Figura 7. Numero de frutos en plantas de chile a los 100 dias despues de la inoculacion con *Bacillus* spp.

Numero de Frutos a los 110 ddt (Segundo Corte).

El numero de frutos cosechados al segundo corte por planta varia de 1.90 en el testigo a 3.6 en el tratamiento con *Bacillus* B13 (Figura 8).

El análisis de varianza detecta diferencias estadísticas en tratamientos (Cuadro 18 del apéndice). La prueba de medias indica que los tratamientos a la raíz y suelo con *Bacillus* B13 inducen significativamente mayor rendimiento por planta (Figura 8). El tratamiento químico (Tiabendazol) no difiere significativamente a la producción obtenida al testigo.

Como se observa en la grafica 8 los tratamientos con bacterias de *Bacillus* spp. incrementan al menos el 152.63 % el rendimiento de la producción en plantas tratadas y un máximo de 189.47 %.



Grafica 8. Numero de frutos en plantas de chile a los 110 dias despues de la inoculacion con *Bacillus* spp

Peso en Gramos de la Producción Cosechada por Planta (100 ddt)

El peso en gramos de frutos cosechados al primer corte por planta varia de 1.75 g en el testigo a 38 g en el tratamiento con *Bacillus* B1 (Figura 9).

El análisis de varianza detecta diferencias estadísticas en tratamientos (Cuadro 21 del apéndice). La prueba de medias indica que los tratamientos a la raíz y suelo con *Bacillus* B13 inducen significativamente mayor rendimiento por planta (Figura 9). El tratamiento químico (Tiabendazol) no difiere significativamente a la producción obtenida al testigo.

Como se observa en la Figura 9 los tratamientos con bacterias de *Bacillus* spp. incrementan al menos el 1405.71% el rendimiento en producción en plantas tratadas y un máximo de 2171.42 %..

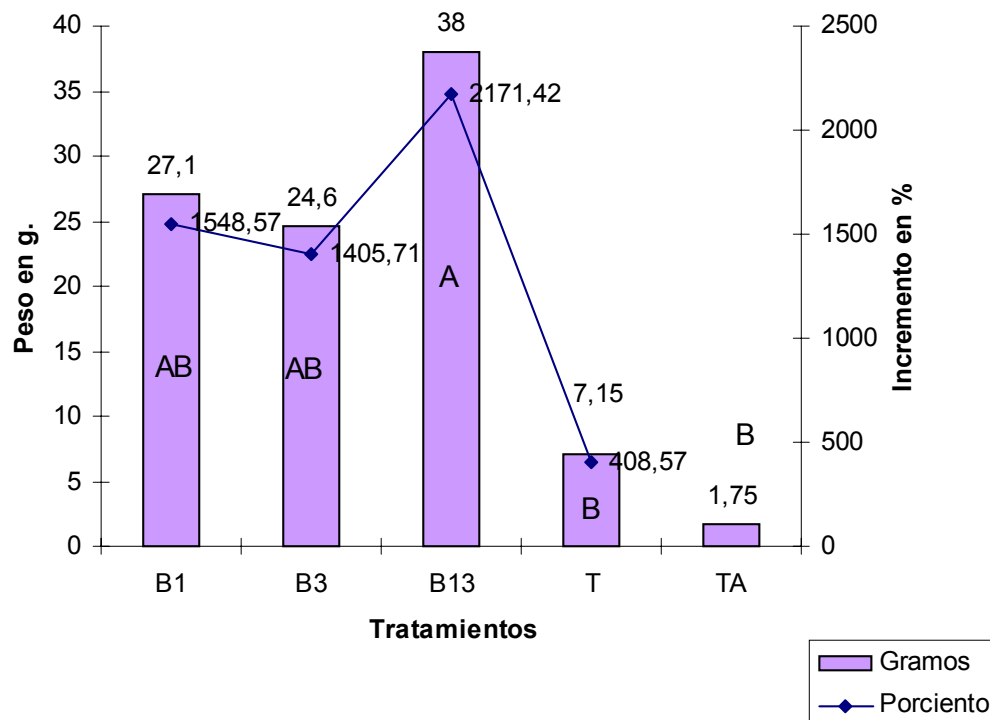


Figura 9. Primer corte de chile a los 100 días después de la inoculación con *Bacillus* spp.

Peso en Gramos de la Producción Cosechada por Planta (110 ddt).

El peso en gramos de frutos cosechados al segundo corte por planta varia de 9.50 g en el testigo a 32 g en el tratamiento con *Bacillus* B13 (Figura 10).

El análisis de varianza detecta diferencias estadísticas en tratamientos (Cuadro 24 del apéndice). La prueba de medias indica que los tratamientos a la raíz y suelo con *Bacillus* B13 inducen significativamente mayor rendimiento por planta (Figura 10). El tratamiento químico (Tiabendazol) no difiere significativamente a la producción obtenida al testigo.

Como se observa en la Figura 10 los tratamientos con bacterias de *Bacillus* spp. incrementan al menos el 212.64 % el rendimiento en producción en plantas tratadas y un máximo de 340 %.

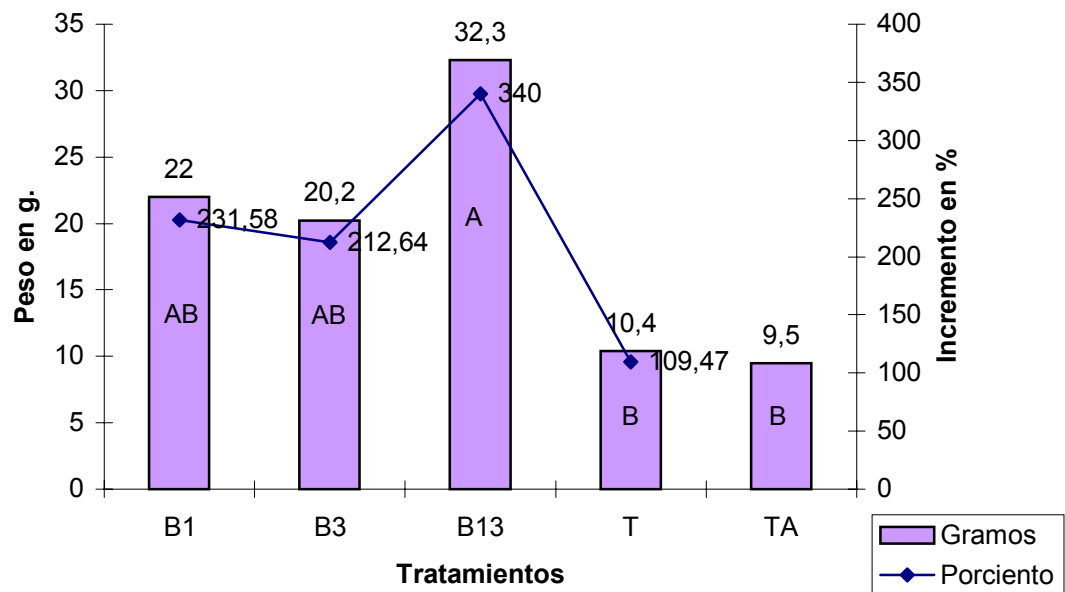


Figura 10. Segundo corte en plantas de chile a los 110 días después de la inoculación con *Bacillus* spp.

Los tratamientos con *Bacillus* B13 y B1 obtuvieron en el primer corte el mayor rendimiento con un 1121.82 % más, en comparación con el producto comercial y 1415.45 % más en comparación con el testigo absoluto; el tratamiento con *Bacillus* B3 presenta un

porcentaje similar al *Bacillus* B1 y supera al tratamiento químico y el testigo absoluto (Figura 9).

En el segundo corte el mayor rendimiento fue nuevamente con *Bacillus* B13 y supero al tratamiento comercial y el testigo absoluto con un 250.53 % , estos últimos no tuvieron diferencias significativas. *Bacillus* B1 y B3 no presentaron diferencias significativas entre ellas, superando al tratamiento químico y el testigo absoluto.

En un estudio realizado por Guillén *et al.* (2005) en Dolores Hidalgo Guanajuato reporta a *Bacillus* B1 como el mejor tratamiento obteniéndose mayor rendimiento en cosecha, en segundo lugar fue el tratamiento con *Bacillus* B13, en nuestro ensayo B13 presento los mayores rendimientos. Dado lo anterior los mecanismos por los que las bacterias actúan son variados y no completamente conocidos, además, pueden incidir factores como la edad de la planta, tipo de suelo, humedad del suelo, temperatura, atmósfera del suelo, fertilidad, luz, efectos foliares y la actividad microbiana (García y Vázquez, 2002).

Por otra parte García *et al.*, (2004) reporta que los tratamientos con *Bacillus subtilis*, no tiene diferencias significativas con los demás tratamientos, mientras que *Bacillus pumilu* muestra estadísticamente mayores rendimientos en el primer, segundo y tercer corte, probablemente esto se deba a lo mencionado en el párrafo anterior.

Longitud de Raíz al Corte Final

La longitud de la raíz en el testigo es de 20.60 cm, el tratamiento con *Bacillus* B13 mostró mayor longitud de raíz siendo esta de 43.30 cm (Figura 11).

El análisis de varianza detecta diferencias estadísticas en tratamientos (Cuadro 26 del apéndice). La prueba de medias indica que los tratamientos a la raíz y suelo con *Bacillus* B13 inducen significativamente mayor longitud de raíz por planta (Figura 11). El tratamiento químico (Tiabendazol) no difiere significativamente a la longitud de raíz obtenida al testigo.

Como se observa en la figura 11 los tratamientos con bacterias de *Bacillus* spp. incrementan al menos el 198.54 % la longitud de raíz en plantas tratadas y un máximo de 211.64 %.

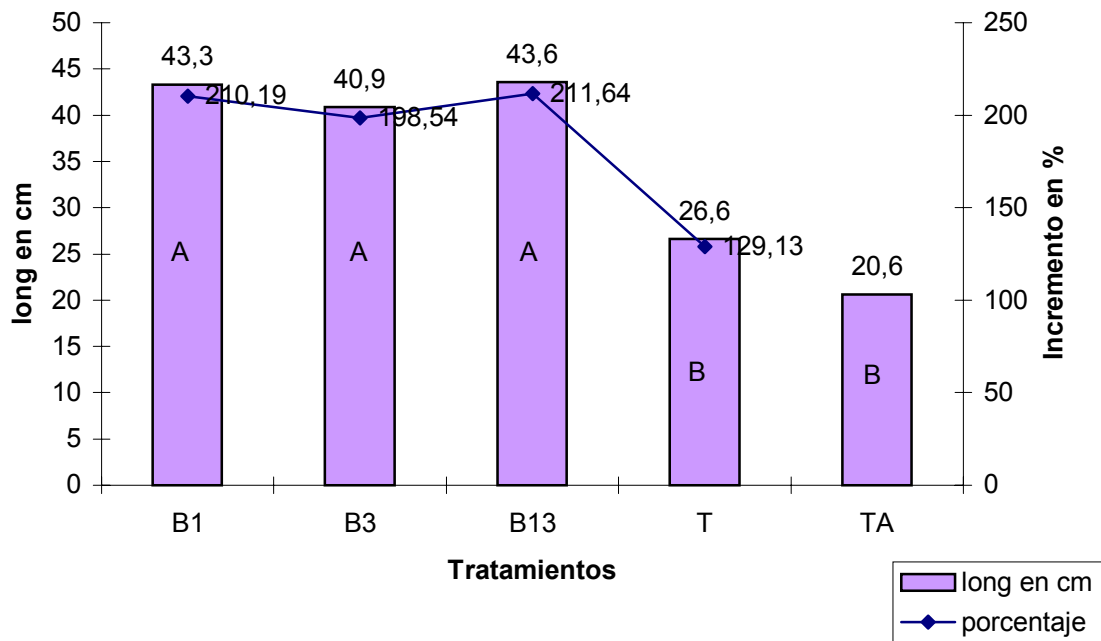


Figura 11. Longitud de raíz como resultado de los diferentes tratamientos

Peso Seco de la Raíz

El peso seco de la raíz en el testigo es de 0.41g el tratamiento con *Bacillus* B13 mostró mayor peso seco de raíz siendo este de 2.9 g (Figura 12).

El análisis de varianza detecta diferencias estadísticas en tratamientos (Cuadro 28 del apéndice). La prueba de medias indica que los tratamientos a la raíz y suelo con *Bacillus* B13 inducen significativamente mayor peso seco de raíz por planta (Figura 12). El tratamiento químico (Tiabendazol) difiere en una proporción pequeña en peso seco de raíz con la del testigo.

Como se observa en la figura 12 los tratamientos con bacterias de *Bacillus* spp. incrementan al menos el 402.44 % el peso seco de la raíz en plantas tratadas y un máximo de 560 %.

Aguirre (2005) utilizo aislados de *Bacillus* B1, B3, B9 y B13 en el cultivo de zanahoria, señala que todos los tratamientos con *Bacillus* son promotores de crecimiento en altura de planta, diámetro y longitud de raíz.

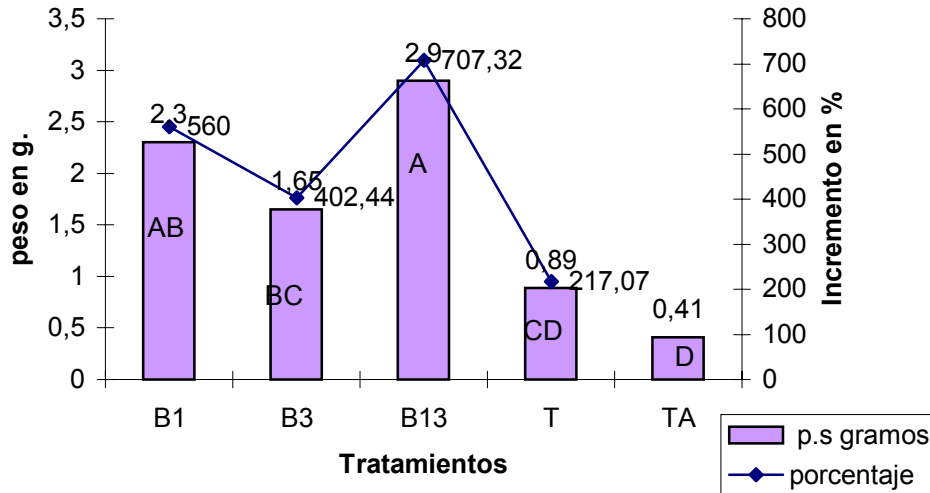


Figura 12. Peso seco de raíz del chile al momento del corte final

Efecto de las Cepas de *Bacillus* spp. en la Incidencia y Severidad de la Enfermedad.

Al final del cultivo la incidencia de las plantas enfermas fue menor en el tratamiento con *Bacillus* B1 (Figura 13), obteniéndose una incidencia mínima del cero por ciento; el resto de los aislados se comportaron de manera similar al testigo comercial; sin embargo el testigo absoluto presento mayor incidencia de la enfermedad con un 60 %.

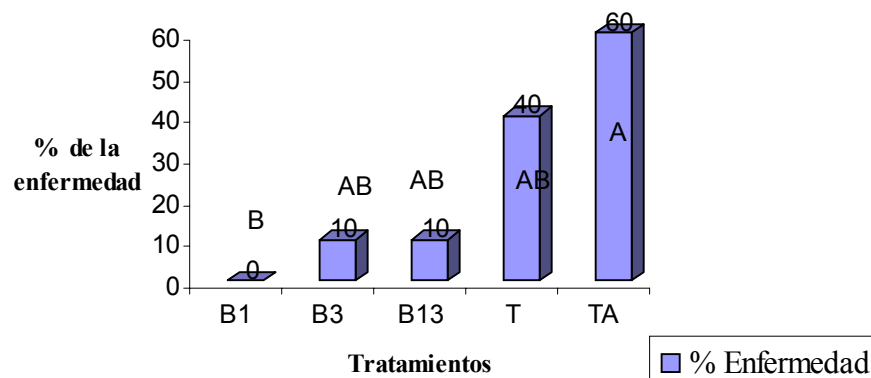
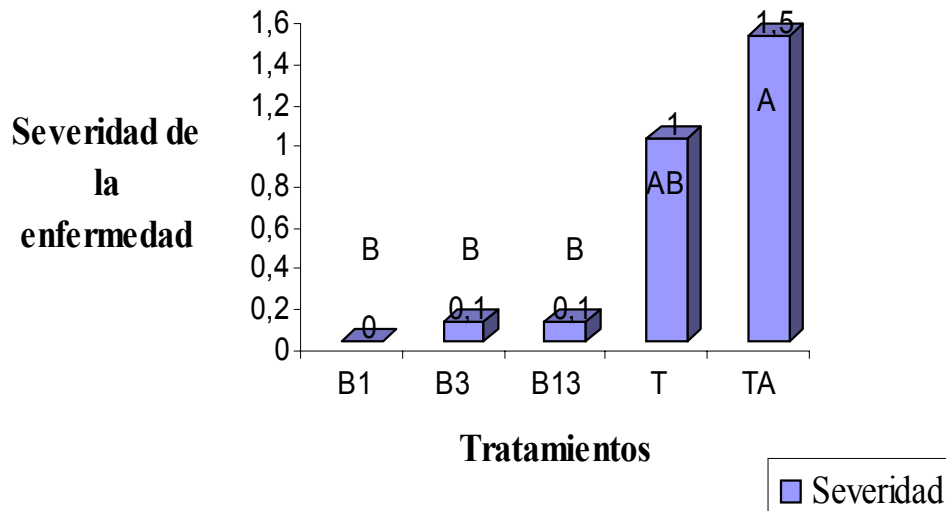


Fig. 13 Incidencia de la enfermedad al final del cultivo

La severidad de la marchitez en las plantas de chile fue menor en todos los tratamientos con *Bacillus* spp. que la obtenida al tratamiento comercial; mientras que el testigo absoluto presento una infección moderada por lo menos en seis plantas (Figura 14).



Severidad de la enfermedad al final del cultivo

Los resultados muestran que el uso de rizobacteria del genero *Bacillus* pueden ser una alternativa favorable para disminuir con la incidencia y severidad de la marchitez de chile. Este hecho ha sido también demostrado por De la Garza (2005) al reportar la inhibición *in vitro* sobre fitopatogenos asociados a la marchitez de chile. El aislado *Bacillus* B1 con 41.1 por ciento de inhibición contra *P. capsici* y 29 por ciento contra *F. oxysporum*, García (2004) señala a *Bacillus* B1 con la mejor actividad antagonica *in vitro* sobre cuatro cepas de *Colletotrichum coccodes*, agente causal del paño de la papa y alcanzo hasta un 61.8 por ciento de inhibición hacia el patógeno.

Cuantificación de Propagulos de los Hongos de Suelo en el Experimento

Para cuantifica la población inicial y final de propagulos se peso un gramo de suelo homogenizado, el cual se agrego en un tubo con agua destilada, obteniéndose así una disolución 10^{-1} , para obtener preferentemente disoluciones de 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} y 10^{-5} . De la ultima dilución preparada se tomo una gota y se deposito en el medio de cultivo (PDA).

Posteriormente los medio de cultivo fueron colocados en la incubadora a 28 °C, realizándose el conteo de propagulos a las 72 hr (Figura 13).

Figura 15. Población inicial y final de propagulos en un g. de suelo empleado en el experimento

Tratamientos	<i>Fusarium oxysporum</i>		<i>Rhizoctonia solani</i>		<i>Phytophthora capsici</i>	
	P.inicial	P.final	P. inicial	P. final	P. inicial	P. final
B1	260	8	100	5	55	0
B3	260	15	100	8	55	12
B13	260	10	100	7	55	5
T	260	50	100	20	55	25
TA	260	190	100	80	55	40

Las especies del genero *Bacillus* se han reportada como promotoras del crecimiento en algunos cultivos (Van Veen *et al.*, 1997). *Bacillus amyloquefaciens* se ha reportado como una especie con actividad antifungica a *Colletotrichum demativum*, *Colletotrichum lagenarium*, *Rosellinia necatri*, *Pyricularia oryzae*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Xanthomonas campestris pv. campestris* y *Xanthomonas campestris pv. vesicatoria* in vitro e in vivo (Yoshida *et al.*, 2001; Wulff *et al.*, 2002; Nava Diaz *et al.*, 2004) antagónica a *Botrytis elliptica* bajo condiciones de invernadero (Chiou y Wu, 2001); antagónica a *Botrytis cinerea* en postcosecha (Mari *et al.*, 1996); en el control biológico de *Rhizoctonia solani*, *Fusarium spp* y *Pythium spp* en el cultivo de chile (Harris y Adkins, 1999); así como en la inducción de mecanismos de resistencias a CMV en tomate (Zehnder *et al.*, 2000). *Bacillus licheniformis* esta reportado como un biofungicida en una variedad de fitopategnos, tanto como método preventivo y curativo especialmente en manchas foliares y tizones; así como una bacteria promotora de crecimiento con la probable producción de giberelinas (Lucas *et al.*, 2004). Finalmente *Bacillus subtilis* es de las mas estudiadas y reportadas como promotoras de crecimiento y antagónicas a una gran variedad de fitopatogenos tales como *Phytophthora cactorum*, *Sclerotium cepivorum*, *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, *Alternaria carthami*, *P. capsici*, *F. solani*, entre otros en distintos cultivos y evaluados in vitro, en invernadero y campo (Virgen *et al.*, 1997; García y Díaz, 1991 y Yuen *et al.*, 1985). Por lo que puede ser utilizado como una alternativa en el control biológico.

CONCLUSIONES

La eficiencia antagonica de los aislados evaluados en la investigación para la disminución de incidencia y severidad de la enfermedad mostró que todos los tratamientos con *Bacillus* al final del cultivo fueron lo de menor incidencia y no rebaso el 10 por ciento mientras que el tratamiento tradicional alcanzo un 40 por ciento. *Bacillus* B1 presento nula severidad en marchitez en comparación con el testigo comercial y testigo absoluto que tuvieron una infección moderada y clorosis en la planta.

El efecto de los aislados de *Bacillus* en el desarrollo y rendimiento del cultivo de chile demostró que a los 60 días después de la inoculación *Bacillus* B1 y B13 estimularon el crecimiento de las plantas en un 43.81 y 60.82 por ciento en comparación al testigo absoluto; por otro lado B13 incremento el rendimiento del cultivo en los dos cortes realizados lo que al final del cultivo fue equivalente a 3 veces mayor producción en comparación con el tratamiento químico; mientras que el tratamiento absoluto fue muy bajo en este cavida ante este parámetro.

Al termino de este experimento se concluye que :

Bacillus B1 es el mejor aislado para disminuir la incidencia y severidad del síndrome de la marchitez de chile.

Bacillus B13 presento mayor eficiencia para promover altura de planta e incremento en rendimiento en el cultivo de chile.

RESUMEN

En México se considera que la enfermedad de la marchitez de chile es la más importante de este cultivo (Redondo, 1974; García *et al.*, 2000; Guigon y González, 2001). En condiciones favorables puede causar pérdidas económicas devastadoras al afectar del 60 al 100% de la superficie cultivada. De los fungicidas disponibles en el mercado, además de su elevado costo su baja efectividad trae como consecuencia el desarrollo de resistencia en los fitopatógenos, y problemas de contaminación y toxicidad, siendo el biocotrol hoy en día una alternativa que podría sustituir el control tradicional.

La presente investigación se realizó con el objeto de determinar el efecto de biocontrol sobre la marchitez de chile y la promoción de crecimiento vegetativo que resulta de inocular los aislados de *Bacillus* B1, B3 y B13.

Para el incremento de *Bacillus* spp, se preparó caldo nutritivo y este fue inoculado por cada aislado, al cuarto día se tomó 1 ml y se colocaron en agar nutritivo a 28° C por 7 días; posteriormente se hizo el conteo y cálculo de unidades formadoras de colonias por mililitro (ufc/ml) para obtener una suspensión de 1×10^8 . Al momento del trasplante las raíces fueron inoculadas en charolas con la dosis mencionada por espacio de 15 min, se realizó una segunda y tercera inoculación a la base del tallo a los 20 y 40 días después del trasplante (ddt) respectivamente.

La aplicación de *Bacillus* spp. arrojó resultados favorables en los parámetros de altura de planta, producción de flores, rendimiento en producción, longitud y peso seco de la raíz en comparación con el testigo comercial y absoluto.

Los aislados B3 y B13 presentaron mayor altura de planta a los 20, 30 y 60 días después de la inoculación; reportando diferencias significativas entre el testigo comercial y el testigo absoluto, estos últimos fueron estadísticamente iguales. A los 40 y 70 días después de la inoculación las plantas tratadas con *Bacillus* B3 y B13 presentaron mayor producción de flores con respecto al testigo comercial y absoluto.

Se obtuvo mayor producción de frutos con el aislado B13; mientras que B1 y B3 estadísticamente son iguales, sin embargo el Tiabendazol y el testigo absoluto presentaron similitud en la comparación de medias, ambos superados por *Bacillus* B13.

En el primer y segundo corte el mayor rendimiento lo presentó *Bacillus* B13; mientras que B1 y B3 estadísticamente fueron iguales; el tratamiento químico y el testigo absoluto fueron superados por los aislados de *Bacillus* spp.

Al término de la cosecha se sacaron las raíces del suelo, mostrando *Bacillus* B13, B3 y B1 mayor longitud de raíz en comparación con el Tiabendazol y el testigo absoluto, mientras que estos no reportaron diferencias estadísticas. Para el parámetro peso seco de raíz el aislado de *Bacillus* B13 ocupó el primer nivel, seguido de B1 y B3 respectivamente; el testigo absoluto fue superado por el tratamiento tradicional y este por los aislados de *Bacillus* spp.

Por otro lado se redujo la incidencia y severidad del síndrome de la marchitez de chile respecto al testigo comercial y absoluto. Para determinar la población inicial de los fitopatógenos causantes de dicha enfermedad se tomó un gramo de suelo homogenizado sembrándose en PDA bajo condiciones asépticas, al término de la investigación se realizó el conteo de la población final de los fitopatógenos y *Bacillus* B13 redujo en mayor cantidad los propagulos de *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani* y *Phytophthora capsici*; mientras que B1 y B3 lo hicieron en menor cantidad; el tratamiento químico fue superado por los aislados de *Bacillus* spp. y el testigo absoluto incrementó su población.

LITERATURA CITADA

- Agrios, G. N. 1998. Fitopatología: Ed. Limusa. 3 Ed. Mexico. 838 p.
- Aguirre-Aguirre, A. 2005. Bioficacia de productos orgánicos, biológicos y químicos contra *Alternaria dauci* Kuhn y su efecto en el cultivo de zanahoria. Tesis de Maestro en Ciencias en Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. 90 p.
- Alexopoulos, C. J. , Mims, y C. W., y Blackwell, M. 1996. Introductory mycology. 4th edition. Editorial John Willey y Sons New York. 869 p.
- Anaya, R.S. y Romero, N. J. 1999. Hortalizas plagas y enfermedades. Ed. Trillas.1ª Ed. México. 440 p.
- Bryan, A.J. 1974. Bacteriología, principios y practicas. Ed. CECSA. 6ª Ed. México, D.F. p 235-236.
- Cárdenas, Ch. I.E. y Chan, C. J.L. 1987. Fecha y métodos de siembra y protección contra el frío en almacigos de chile jalapeño. Campo Agrícola experimental, CIANOC-INIA-SARH, San Luis Potosí. p.26
- Cásseres, E. 1984. Producción de Hortalizas. Tercera Ed., Primera reimpresión. Ed. II Ca. San Jose Costa Rica. p 89.
- Chanway, C.P., R.K. Hynes y L.M. Nelson. 1989. Plant growthpromoting rhizobacteria: Effects on growth and nitrogen fixation of lentil (*Lens esculenta* Moench.) and pea (*Pisum sativum* L.). Soil Biol. Biochem. 21: 511-517.
- Chet, I y Baker R. 1980. Induction of supressiveness to *Rhizoctonia solani* in soil. Phytopatology 70:994-998.
- Chiou, A.L. y Wu, W.S. 2001. Isolation, identification and evaluation of bacterial antagonists against *Botrytis elliptica* on Lily. Journal of Phytopathology 149:319-324.
- De la Garza. 1996. Fitopatología General. Universidad Autónoma de Nuevo León. Facultad de Agronomía. Marin, N.L. Pp. 515.
- Douville, Y. y Boland, G.J. 1992. A note on the antibiotic properties of *Bacillus subtilis* against *Colletotrichum trifolii*. Biol. Abstr 94:12-1017.
- Duran-Ortiz L.J.,. Pérez-Moreno, L. Sánchez-Pale, J.R.. 2001. Identificación de los hongos que ocasionan la marchitez del chile en la región del bajo. XXVIII Congreso Nacional de Fitopatología. Querétaro, Qro. p.13.
- Edmon, L.D. 1976. Principios de Horticultura. Ed. SECSA. Tercera ed, Mexico. P. 492.

- Espinoza-López L.L., C. Mendoza-Zamora. 2001. Etiología, de la pudrición de raíz y cuello del chile el Valle del mezquital. XXVIII Congreso Nacional de Fitopatología. Querétaro, Qro, México. p 157.
- Ezziyyani, C. M., Pérez-Sánchez, Requena, M^a E., Sid Ahmed A y Candela M^a E. 2004. Evaluación del biocontrol de *Phytophthora capsici* en pimiento (*Capsicum annuum* L.) por tratamiento con *Burkholderia cepacia*. Análisis de biología, 26: 61 – 68 .
- Flores O., A. y Frias T. G. 1992. El triste del cultivo del chile en Ramos Arizpe, Coahuila. Folleto informativo UAAAN. Buenavista, Saltillo, Coahuila. México. p 10.
- Galindo, J.A. 1960. La marchitez de las plantas de chile en México y su agente causal *Phytophthora capsici* Leo. p. 56
- García, C.J. y A. Diaz P. 1991. *Bacillus subtilis* como antagonistas de *Fusarium oxysporium* f. Sp *nivum* y su eficiencia en invernadero. Memoria del Congreso Nacional de Fitopatología, Puebla de los Angeles, México. 128 p.
- García-Licon, N. 2004. Efecto estimulante de bacterias esporuladas promotoras del crecimiento sobre el desarrollo y producción del chile jalapeño (*Capsicum annuum*) en invernadero y campo. Tesis de Licenciatura Ingeniero Agrónomo Parasitólogo. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo Coahuila. 61 p.
- García R. S., Juárez C., Carrillo J.A., Allende R. Marquéz I. y Muy- Rangel M.D. 2000. Marchitez Bacteriana en Chile Bell Causada por *Erwinia carotovora* subsp. *Carotovora*. Revista Mexicana de Fitopatología. 18(2): 120-124.
- Gonzalez, C. 1997. Introducción a la fitopatología. Universidad de Costa Rica. 148 p.
- Guerrero-Aguilar B.Z., Sánchez-Delgadillo F., Guevara-Olvera L., Guevara- González R.G., Torres -Pacheco I. y González-Chavira M.M. 2001. Caracterización de aislados mexicanos de *Rhizoctonia solani* (Kühn). XXVIII Congreso Nacional de Fitopatología. Querétaro, Qro. p 136.
- Guigón-López, C., González-González, P.A. 2001. Estudio regional de las enfermedades del chile (*Capsicum annuum* L.) y su comportamiento temporal en el Sur de Chihuahua, México. Revista Mexicana de Fitopatología 19: 49-56.
- Guillén, C.R. 2005. Rizobacterias y su efecto en el desarrollo y rendimiento del cultivo de chile (*Capsicum annuum* L.) en suelo infestado con *Fusarium* spp., *Rhizoctonia solani* y *Phytophthora capsici* en Dolores Hidalgo, Guanajuato, México. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila. México. 74 p.
- Gustafon. 1993. Technical Bolletin Kodiak, plano, Texas. E.UA. 19 p.
- Hallmann, J., Quadt-Hallmann, A., Mahafee, W.F. y Kloepper, J.W. 1997. Bacterial endophytes in agricultural crops. Canadian Journal of Microbiology 43:895-914.

- Harris, A.R. y Adkins, P.G. 1999. Biological control of Damping-off disease caused by *Rhizoctonia solani* and *Pythium* spp. *Biological control*. 15:10-18.
- Janick, J. 1965. *Horticultura Científica e Industrial*. Editorial Acriba. Zaragoza, España. 210 p.
- komedla, T. y Chang, M.I.P. 1975. Biocontrol of corn root infection in the field by seed treatment with antagonistic. *Phytopathology*. 65: 296-300.
- Krupa y Dommergues. 1981. *Ecology of Root Pathogens*; 2 edición; Elsevier Scientific Publishing Company; USA
- Kloepper, J.W., Schroth, M.N., Miller, T.D. 1980. Effects of Rhizosphere Colonization by Plant Growth Promoting Rhizobacteria on Potato Plant Development and Yield *Phytopathology* 70:1078-1082.
- Laborde, C. J. A. y Pozo, C. O. 1984. *Presente y Pasado del Chile en México*. SARH-INIFAP. México. 75 p.
- Lagunas-Lagunas, J., Zavaleta-Mejia, E., Osada-Kawasoe, S., Aranda-Ocampo, S., Luna-Romero, L., y Vaquera-Huerta, H. 2001. *Bacillus firmus* como agente de control biológico de *Phytophthora capsici* Leo. en jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Revista Mexicana de Fitopatología* 19 :57-65.
- Lucas- Garcia, J.A., Probanza, A., Ramos B., Ruiz-Palomino y Gutierrez-Mañero, F.J. 2004. Effect of inoculation of *Bacillus licheniformis* on tomato and pepper. *Agronomic* 24 :169-176.
- Macias-Valdez., L.M., Velasquez-Valle, R., Cabañas- Cruz, B. 2005. Evaluación de cultivares de chile (*Capsicum annum* L.) de los tipos ancho y mirasol en Aguascalientes, Mexico. Segunda Convencion Mundial del Chile. Zacatecas, Zacatecas, Mexico.
- Magen- Dana..Thimon. L., Peypoux F. y Ptak. M 1993. Sulfactin-iturin a interaction man explain the synergistic effect of surfactin on the biological properties of iturin A. *Biol. Abstr.* 95 (11):224.
- Manners J. G. 1986. *Introducción a la Fitopatología*. Ed. Limusa. México 130 p.
- Mari, M., Guizzardi, M. y Pratella, G.C. 1966. Biological control of Gray Mold in pears by antagonistic bacteria. *Biological Control*. 7:30-37.
- Mendoza, Z.C. y Pinto, C. B. 1985. *Principios de Fitopatología y Enfermedades Causadas por Hongos*. Universidad Autónoma de Chapingo. Departamento de Parasitología Agrícola. 310 p.
- Messiaen, C.M., Blancard, D., Rouxel, F., Lafon, R. 1995. *Enfermedades de las Hortalizas*. Ediciones Mundi Prensa. Madrid, España. 576 p.

- Nava-Diaz, C., Kleinhenz, M.D., Doohan, D. J., Lewis, M.L. y Miller, S.A. 1994. *Bacillus* spp. with potencial as biological control agents. *Phytopathology* 94:74-70
- Ocampo J. O., Jiménez D. R. Salas G. M.E. Mena V. H.G. Virgen C G., Flores O. A. y Olalde P. V. 2005. Uso de Microorganismos Rizosféricos en Solanáceas. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN U. Irapuato Depto. Biotecnología y Bioquímica.
- Ohno A., A. Takashi and S. Makoto. 1993. Production of the antifungal pepticie antibiotic iturin by *Bacillus subtilis* NB22 in solid states fermentation (SSF). *Biol. Abstr.* 95(8):401.
- Perez, M.G., Marquez S.F. y Peña L. A. 1997. Mejoramiento genetico de hortalizas. Universidad Autonoma de Chapingo. P 222.
- Podile, A.R. y Laxmi, V.D.V. 1998. Seed bacterization with *Bacillus subtilis* AF1 increases phenylalanine ammonia lyase and reduces the incidence of fusarial wilt in pigeonpea. *Journal of Phytopathology* 146:255-259.
- Pozo, C. O y Laborde, C. J. A.. 1984. Presente y Pasado del Chile en México. SARH-INIFAP. México. p 35
- Redondo, E. 1974. Estudio Preliminar en la Obtención de Posibles Plantas Diferenciales Para Agrupar Las Razas Patogénicas del Hongo *Phytophthora capsici* Leonian. Tesis de Maestría. Escuela Nacional de Agricultura. Colegio de Postgraduados. Chapingo, México. p 60
- Rico, G.L., Guerrero, A. B.Z., López, V A., Muñoz, S.C.I., Guevara, O. L., Guevara, G R.G., Torres, P I. y González, C. M.M. 2001. Búsqueda de resistencia natural en plantas de chile (*Capsicum* spp.) contra aislados del complejo fúngico que causa pudrición de raíz. XXVIII Congreso Nacional de Fitopatología.. Querétaro, Qro. p. F-134
- Robertes, D. A. y Boothroyd, C. W. 1978. Fundamentos de Patología Vegetal. Editorial Acriba. 392 p.
- Romero, C. S. 1988. Hongos fitopatógenos, UACH: Chapingo, México. Pp. 347.
- Romero, C. S. 1993. Hongos fitopagenos, primera reimpresión en español. Dirección del patronato Universidad, UACH: México . 347 p.
- S.A.R.H. 1994. Sistema producto-chile. In: Datos básicos. Secretaria de agricultura y recursos hidráulicos. Subsecretaria de agricultura. Dirección General de Política agrícola. Pp 21-32.
- S.A.R.H. 2001. Sistema producto chile In: Datos básicos. Secretaria de agricultura y recursos hidráulicos. Subsecretaria de agricultura. Dirección General de Política agrícola. Pp 13.

- Valdez, L.A. 1989. Producción de hortalizas. Primera edición. Editorial Limusa, México. Pp 45.
- Sarasola, A.A. 1975. Fitopatología. Tomo II. Hemisferio Sur. México. 361p.
- Sid Ahmed A., Pérez-sánchez C, y Candela M.E. Evaluation of induction of systemic resistance in pepper plants (*Capsicum annuum* L.) to *Phytophthora capsici* using *Trichoderma harzianum* and its relation with capsidiol accumulation. *European J. of Plant Pathology*, 106: 817- 824 (2000).
- Smith, I. M., J. Danez, D. H. Phillips, R. A. Lelliort y S.A. Archer. 1992. Manual de enfermedades de las plantas. Edición. Mundi prensa. España .671 p.
- Stackman, E. C. and Harrar, J. G. 1968. Principios de Patologia Vegetal. Universitaria Eudeba. 603 p.
- Van Veen, J. A., Van Oberbeek, L.S. y Van Elsas, J.D. 1997. fate and activity of microorganisms introduced into soil. *Microbiology Molecular Review* 61:121-135.
- Valadez, L. A. 1996. Producción de Hortalizas. UTHEA. Editores. México. 297 p.
- Velásquez-Valle, R. 2001. Nematodos agalladores afectando hortalizas y otros cultivos en el norte centro de México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 19:107-109
- Vilmorin, P.F. 1977. El Cultivo del Pimiento tipo Bell. Editorial Diana, Mexico. p 63.
- Virgen, C. G. 1990. Control biológico de *Fusarium oxysporum f.sp. niveum* (E. F. Smith y Hans) con *Bacillus subtilis* en sandía bajo condiciones de campo. Tesis de Maestría Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista Saltillo, Coahuila. 63 p.
- Virgen-Calleros, G., Vazquez- Vazquez, J.L. Antiguo-Ruvalcaba, G.L., Olalde-Portugal, V y Hernández Delgadillo, R. 1997. Aislamiento de bacterias de la rizosfera de *Capsicum annuum* L. Antagónicas al desarrollo de *Phytophthora capsici* Leo. *Revista Mexicana de Fitopatologia* 15:43-47.
- Wulff, E.G., Mguni C.M., Mansfeld-Giese K., Fels, J., Lubeck, M., Hockenhull, J. 2002. Biochemical and molecular characterization of *Bacillus amyloquefaciens*, *B. subtilis* and *B. pumilus* isolates with distinct antagonistic potential against *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* . *Plant Pathology* 51:574-584.
- Yoshida, S., Hiradate, S., Tsukamoto, T., Hatakeda, K. Y Shirata, A. 2001. Antimicrobial activity of culture filtrate of *Bacillus amyloliquefaciens* RC-2 isolated from mulberry leaves. *Phytopathology* 91:181-187.
- Zender, G.W., Yao, C., Murphy, J.F., Sikora, E.R. y Kloepper, J.W. 2000. Induction of resistance in tomato against cucumber mosaic cucumovirus by plant growth-promoting rhizobacterias. *Biocontrol* 45:127-137.

APENDICE

Cuadro No. 1 Altura de planta en el cultivo de chile en cm a los 20 días después de la inoculación con *Bacillus* spp.

Tratamientos										
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
1	23.00	22.00	22.00	21.00	22.00	16.00	16.00	20.00	23.00	24.00
2	11.00	19.00	18.00	24.00	21.00	21.00	24.00	21.00	16.00	16.00
3	19.00	21.00	24.00	23.00	24.00	17.00	21.00	22.00	24.00	23.00
4	13.00	14.00	16.00	18.00	17.00	12.00	20.00	22.00	15.00	11.00
5	14.00	18.00	16.00	17.00	11.00	13.00	13.00	14.00	12.00	16.00

Cuadro No. 2 Análisis de varianza, de la altura de planta en el cultivo de chile a los 20 días después de la inoculación con *Bacillus* spp

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamientos	4	410.601563	102.650391	11.5990	0.000
Error	36	318.597656	8.849935		
Total	49	834.000000			

C.V. = 16.17%

Cuadro No. 3 Altura de planta en el cultivo de chile en cm a los 40 de la inoculación con *Bacillus* spp.

Tratamientos										
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
1	28.00	28.00	27.00	27.00	20.00	23.00	20.00	24.00	26.00	30.00
2	13.00	23.00	25.00	23.00	27.00	28.00	28.00	23.00	25.00	23.00
3	28.00	27.00	25.00	25.00	26.00	25.00	27.00	25.00	27.00	28.00
4	13.00	21.00	21.00	19.00	20.00	18.00	22.00	25.00	16.00	14.00
5	20.00	20.00	18.00	13.00	0.00	14.00	17.00	19.00	17.00	21.00

Cuadro No. 4 Análisis de varianza, de la altura de planta en el cultivo chile a los 40 días después de la inoculación con *Bacillus* spp

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamientos	4	794.318359	198.579590	11.1826	0.000
Error	36	639.285156	17.757921		
Total	49	1547.919922			

C.V. = 19.12%

Cuadro No. 5 Altura de planta en el cultivo de chile a los 60 días depuse de la inoculación con *Bacillus* spp.

Tratamientos										
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
1	31.00	31.00	32.00	28.00	24.00	25.00	21.00	27.00	28.00	32.00
2	16.00	26.00	29.00	27.00	31.00	29.00	29.00	26.00	29.00	29.00
3	35.00	33.00	26.00	26.00	31.00	33.00	35.00	35.00	27.00	31.00
4	13.00	23.00	22.00	19.00	22.00	20.00	23.00	28.00	21.00	16.00
5	25.00	21.00	20.00	17.00	0.00	23.00	21.00	21.00	21.00	25.00

Cuadro No. 6 Análisis de varianza, de la altura de planta en el cultivo chile a los 60 días después de la inoculación con *Bacillus* spp

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamientos	4	1007.720703	251.930176	10.2564	0.000
Error	36	884.279297	24.563314		
Total	49	2033.619141			

C.V. = 19.62%

Cuadro No. 7 Conteo de flores en chile sujeto a la inoculación de *Bacillus* spp. a los 40 ddt.

Tratamientos										
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
1	3.00	4.00	2.00	2.00	0.00	3.00	2.00	2.00	4.00	3.00
2	0.00	0.00	3.00	3.00	3.00	5.00	6.00	4.00	2.00	1.00
3	3.00	2.00	4.00	2.00	5.00	3.00	3.00	4.00	2.00	4.00
4	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	1.00	2.00	4.00	0.00	0.00
5	2.00	2.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	2.00	1.00

Cuadro No 8. Datos transformados por long x + 1 en el conteo de flores a los 40 ddt.

Tratamientos										
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
1	1.38	1.61	1.09	1.09	0.69	1.61	1.38	1.38	1.79	1.61
2	0.69	0.69	1.61	1.61	1.61	1.95	2.00	1.61	1.09	0.69
3	1.38	1.09	1.69	1.09	1.09	1.09	1.79	1.39	1.39	1.61
4	0.00	0.00	0.69	0.00	0.00	0.69	1.09	1.61	0.00	0.00
5	1.09	1.09	0.00	0.00	0.00	0.00	0.69	0.00	1.09	0.69

Cuadro 9. Análisis de varianza, del conteo de flores en chile sujeto a la inoculación de *Bacillus* spp. a los 40 ddt

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamientos	4	10.302280	2.575570	12.2495	0.000
Error	36	7.569359	0.210260		
Total	49	19.878605			

C.V. = 46.22%

Cuadro No. 10 Conteo de flores en chile sujeto a la inoculación de *Bacillus* spp. a los 70 ddt.

Tratamientos										
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
1	1.00	2.00	2.00	0.00	0.00	6.00	3.00	3.00	3.00	3.00
2	3.00	5.00	4.00	4.00	6.00	1.00	4.00	3.00	4.00	7.00
3	2.00	5.00	3.00	0.00	1.00	6.00	7.00	0.00	0.00	7.00
4	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	1.00	2.00	0.00	1.00	2.00
5	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	3.00	0.00	2.00	0.00

Cuadro No.11 Análisis de varianza, del conteo de flores en chile sujeto a la inoculación de *Bacillus* spp. a los 70 ddt

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamientos	4	89.280029	22.320007	8.3422	0.000
Error	36	96.319946	2.675554		
Total	49	235.380005			

C.V. = 41.44%

Cuadro No. 12 Conteo de frutos en el cultivo del chile sujeto al efecto de *Bacillus* spp. a los 70 ddt.

Tratamientos										
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
1	3.00	5.00	3.00	2.00	1.00	5.00	3.00	3.00	7.00	5.00
2	5.00	7.00	7.00	5.00	6.00	4.00	10.00	6.00	5.00	3.00
3	5.00	2.00	6.00	1.00	6.00	7.00	8.00	4.00	1.00	4.00
4	0.00	0.00	0.00	1.00	1.00	1.00	3.00	7.00	0.00	3.00
5	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	3.00	1.00

Cuadro No. 13 Análisis de varianza, del conteo de frutos en chile sujeto a la inoculación de *Bacillus* spp. a los 70 ddt

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamientos	4	177.679993	44.419998	11.6622	0.000
Error	36	137.119995	3.808889		
Total	49	346.580017			

C.V. = 42.25%

Cuadro No. 14 Numero de frutos al primer corte del chile a los 100 ddt.

Tratamientos										
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
1	1.00	3.00	1.00	2.00	1.00	1.00	2.00	1.00	3.00	3.00
2	2.00	1.00	1.00	2.00	2.00	2.00	4.00	2.00	1.00	1.00
3	4.00	1.00	1.00	1.00	3.00	1.00	2.00	1.00	2.00	10.00
4	1.00	0.00	0.00	0.00	1.00	1.00	2.00	2.00	0.00	1.00
5	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00

Cuadro No 15. Datos transformados por log x+1 en el numero de frutos a los 100 ddt.

Tratamientos										
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
1	0.30	0.60	0.30	0.48	0.30	0.30	0.48	0.30	0.60	0.60
2	0.48	0.30	0.30	0.48	0.48	0.48	0.69	0.48	0.30	0.30
3	0.69	0.30	0.30	0.30	0.60	0.30	0.48	0.30	0.48	1.04
4	0.30	0.00	0.00	0.00	0.30	0.30	0.48	0.48	0.00	0.30
5	0.30	0.00	0.00	0.00	0.00	0.30	0.00	0.00	0.00	0.00

Cuadro No. 16 Análisis de varianza del conteo de frutos al primer corte en el cultivo del chile sujeto al efecto de *Bacillus* spp. a los 100 ddt.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamientos	4	1.267939	0.316985	11.3175	0.000
Error	36	1.008304	0.028008		
Total	49	2.624002			

C.V. = 41.97%

Cuadro 17. Numero de chiles al segundo corte a los 110 días después de la inoculación con *Bacillus* spp.

Tratamientos	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
1	2.00	1.00	4.00	1.00	1.00	3.00	2.00	3.00	2.00	2.00
2	3.00	2.00	1.00	3.00	2.00	1.00	2.00	2.00	2.00	1.00
3	4.00	1.00	3.00	1.00	1.00	4.00	6.00	2.00	1.00	3.00
4	0.00	0.00	0.00	1.00	2.00	1.00	2.00	3.00	0.00	2.00
5	2.00	1.00	0.00	1.00	0.00	2.00	2.00	0.00	1.00	0.00

Cuadro 18. Análisis de varianza para el numero de chile en el segundo corte a los 110 días después de la inoculación con *Bacillus* spp.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamientos	4	20.079987	5.019997	4.1526	0.007
Error	36	43.520020	1.208889		
Total	49	78.079987			

C.V. = 40.42%

Cuadro No. 19 Peso en gramos por cada planta cosechada al primer corte del chile, a los 100 ddt.

Tratamientos										
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
1	15.00	45.00	16.00	26.00	17.00	17.00	27.00	18.00	48.00	42.00
2	32.00	16.00	13.00	28.00	27.00	58.00	30.00	15.00	13.00	14.00
3	29.00	14.00	17.00	18.00	48.00	19.00	28.00	18.00	33.00	156.00
4	10.00	0.00	0.00	0.00	13.00	8.50	15.00	9.00	0.00	16.00
5	11.00	0.00	0.00	0.00	0.00	6.50	0.00	0.00	0.00	0.00

Cuadro No.20 Datos transformados por $\log x+1$ en la produccion obtenida a los 100 ddt.

Tratamientos										
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
1	1.20	1.66	1.23	1.43	1.25	1.25	1.45	1.46	1.69	1.63
2	1.52	1.23	1.15	1.46	1.45	1.77	1.49	1.20	1.15	1.18
3	1.48	1.18	1.25	1.28	1.69	1.30	1.46	1.28	1.53	2.19
4	1.04	0.00	0.00	0.00	1.15	0.98	1.20	0.00	0.00	1.23
5	1.08	0.00	0.00	0.00	0.00	0.87	0.00	0.00	0.00	0.00

Cuadro No. 21 Análisis de varianza del peso en gramos por cada planta de chile cosechada al primer corte a los 100 ddt.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamientos	4	13.671436	3.417859	24.6506	0.000
Error	45	6.239338	0.138652		
Total	49	19.910774			

C.V. = 37.21 %

Cuadro 22. Segundo corte en plantas de chile a los 110 días después de la inoculación con *Bacillus* spp.

Tratamientos										
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
1	23.00	10.00	40.00	10.00	13.00	25.00	23.00	25.00	22.00	20.00
2	26.00	25.00	10.00	28.00	20.00	10.00	22.00	20.00	21.00	10.00
3	50.00	15.00	40.00	16.00	15.00	38.00	57.00	28.00	15.00	39.00
4	0.00	0.00	0.00	9.00	18.00	10.00	18.00	20.00	0.00	19.00
5	19.00	10.00	0.00	9.00	0.00	18.00	19.00	0.00	10.00	0.00

Cuadro No. 23 Datos transformados por $\log x+1$ en el segundo corte de chile a los 110 días después de la inoculación con *Bacillus* spp.

Tratamientos										
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
1	1.30	1.04	1.61	1.04	1.15	1.40	1.38	1.14	1.36	1.32
2	1.43	1.41	1.04	1.46	1.32	1.04	1.36	1.32	1.34	1.04
3	1.71	1.20	1.61	1.23	1.20	1.59	1.76	1.46	1.20	1.60
4	0.00	0.00	0.00	1.00	1.28	1.04	1.28	1.32	0.00	1.30
5	1.30	1.04	0.00	1.00	0.00	1.28	1.30	0.00	1.04	0.00

Cuadro No.24. Análisis de varianza para el Segundo corte de chile a los 110 días después de la inoculación con *Bacillus* spp

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamientos	4	4.929340	1.232335	6.9903	0.000
Error	45	7.933102	0.176291		
Total	49	12.862442			

C.V. = 38.70 %

Cuadro No 25. Longitud de raíz del chile al final de la cosecha.

Tratamientos										
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
1	47.00	56.00	38.00	41.00	42.00	47.00	58.00	41.00	45.00	18.00
2	48.00	43.00	45.00	41.00	54.00	41.00	45.00	30.00	25.00	37.00
3	49.00	44.00	35.00	35.00	36.00	50.00	42.00	38.00	53.00	54.00
4	35.00	30.00	35.00	34.00	23.00	33.00	35.00	12.00	0.00	29.00
5	28.00	13.00	25.00	30.00	0.00	25.00	14.00	30.00	17.00	24.00

Cuadro No 26. Análisis de varianza de la longitud de la raíz del chile al final de la cosecha.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamientos	4	4555.804688	1138.951172	11.8923	0.000
Error	36	3447.796875	95.772133		
Total	49	8876.000000			

C.V. = 27.96%

Cuadro No 27. Peso seco de la raíz del chile al final de la cosecha

Tratamientos										
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
1	3.00	2.50	1.00	1.50	4.50	1.50	3.00	2.00	1.50	2.50
2	0.50	3.00	2.00	2.00	1.50	1.00	1.50	2.00	1.50	1.50
3	6.50	4.00	2.50	4.00	2.00	1.50	1.50	2.50	2.00	2.50
4	1.00	1.00	0.70	1.30	0.50	0.70	1.30	1.40	0.00	1.00
5	0.50	0.60	0.30	0.40	0.00	0.60	0.50	0.40	0.30	0.50

Cuadro No 28. Análisis de varianza del peso seco de la raíz del chile al final de la cosecha.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamientos	4	40.981979	10.245495	12.7599	0.000
Error	36	28.906052	0.802946		
Total	49	77.944992			

C.V. = 44.97%

Cuadro No. 29 Incidencia de la enfermedad en las plantas de chile.

Tratamientos										
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
2	0.00	0.00	0.00	100.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	100.00	0.00	0.00
4	0.00	100.00	0.00	100.00	0.00	100.00	0.00	0.00	100.00	0.00
5	100.00	0.00	100.00	0.00	100.00	100.00	0.00	100.00	0.00	100.00

Cuadro No. 30 Datos transformados por Arcoseno en la incidencia de la enfermedad en las plantas de chile.

Tratamientos										
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
2	0.00	0.00	0.00	90.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	90.00	0.00	0.00
4	0.00	90.00	0.00	90.00	0.00	90.00	0.00	0.00	90.00	0.00
5	90.00	0.00	90.00	0.00	90.00	90.00	0.00	90.00	0.00	90.00

Cuadro No. 31 Análisis de varianza para la incidencia de la enfermedad en las plantas de chile.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamientos	4	20412.000000	5103.000000	4.2955	0.005
Error	45	53460.000000	1188.000000		
Total	49	73872.000000			

C.V. = 99.57 %

Cuadro No 32. Severidad en marchitez de planta de chile al final del cultivo.

Tratamientos										
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
2	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00
4	0.00	1.00	0.00	3.00	0.00	2.00	0.00	0.00	4.00	0.00
5	1.00	0.00	2.00	0.00	4.00	3.00	0.00	3.00	0.00	2.00

Cuadro No 33. Datos transformado por Arcoseno en la severidad de la marchitez de chile al final del cultivo.

Tratamientos										
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
2	0.00	0.00	0.00	1.81	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.81	0.00	0.00
4	0.00	1.81	0.00	3.14	0.00	2.56	0.00	0.00	3.63	0.00
5	1.80	0.00	2.56	0.00	3.63	3.14	0.00	3.14	0.00	2.56

Cuadro No 34. Análisis de varianza de severidad en la marchitez de plantas de chile al final del cultivo

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamientos	4	21.452545	5.363136	5.1051	0.002
Error	45	47.274059	1.050535		
Total	49	68.726604			

C.V. = 102.18 %

