

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO



**Uso de Microorganismos y Extractos Vegetales en el Manejo de la Marchitez en
Plantas de Chile (*Capsicum annuum* L.)**

Por:

GERMÁN ENRIQUEZ HERNÁNDEZ

Tesis

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN

Saltillo, Coahuila, México

Marzo, de 2013

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO

Uso de Microorganismos y Extractos Vegetales en el Manejo de la Marchitez en
Plantas de Chile (*Capsicum annuum* L.)

Por:

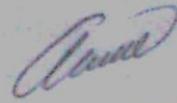
GERMÁN ENRIQUEZ HERNÁNDEZ

Tesis

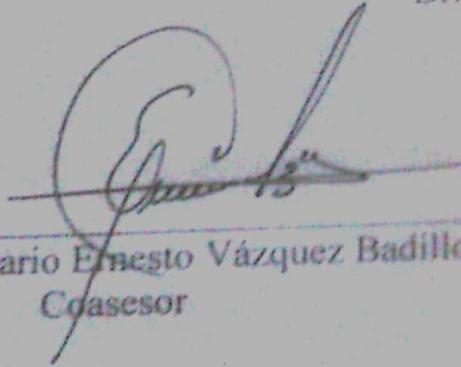
Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN

Aprobada



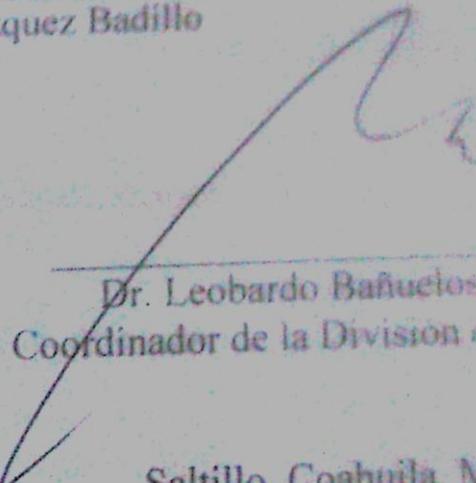
Dr. Alberto Flores Olivas
Asesor Principal



Dr. Mario Ernesto Vázquez Badillo
Coasesor



Dr. Rodolfo Velásquez
Coasesor



Dr. Leobardo Bañuelos Herrera
Coordinador de la División de Agronomía

Saltillo, Coahuila, México
Marzo, de 2013

INDICE

1.- Introducción	1
2.- Objetivos	4
3.- Hipotesis	5
4.- Revisión de literatura	6
4.1- Labores culturales para evitar la presencia de la enfermedad	6
4.2- Control químico de pudriciones de la raíz	7
4.3- El control biológico como una alternativa.....	7
5.- Hongos fitopatógenos asociados a secadera o marchitez del cultivo de chile.....	9
5.1- Marchitez o secadera por <i>Fusarium oxysporum</i> Schlechtend.....	9
5.2- Marchitez o secadera por <i>Rhizoctonia solani</i> Kühn.....	11
5.3.- Marchitez o secadera por <i>Phytophthora capsici</i> Leo.....	12
6.- Control biológico de fitopatógenos	14
6.1- <i>Trichoderma harzianum</i> Vuillemi.	14
6.2- <i>Bacillus subtilis</i>	15
6.3- <i>Heliopsis longipes</i> Gray Blake	16

6.4- <i>Glomus</i> sp.	17
7.- Materiales y métodos	19
7.1.- Obtención del material biológico.....	19
7.1.1- Hongos fitopatógenos	19
7.1.2- Microorganismos benéficos	20
7.2.- Preparación y cuantificación del inóculo fitopatógeno.....	20
7.2.1.- Preparación y cuantificación del inóculo benéfico	21
7.3- Establecimiento del ensayo (experimento).....	22
7.3.1.- Establecimiento de semillas en almacigo.	22
7.4- Establecimiento del experimento en invernadero.....	22
7.4.1.- Establecimiento del cultivo en invernadero.....	23
7.4.2.- Variables de respuesta en invernadero.....	25
Plantas totales	
Incidencia de la enfermedad	
Severidad de la enfermedad	
7.5.- Establecimiento del experimento en campo.....	27
7.5.1.- Variables de respuesta en campo.....	30

Plantas totales

Incidencia de la enfermedad

8.- Resultados33

8.1- Variables de respuesta en invernadero33

8.2-Variables de respuesta en campo.....46

9.- Discusión49

10.- Conclusiones51

Recomendación

11.- Revisión de literatura54

12.- Anexos61

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Tratamientos (numero de aplicaciones y concentraciones) establecidos en el invernadero de la UAAAN para el manejo de pudriciones de la raíz de chile.	22
Cuadro 2. Protocolo de aplicaciones en campo	29
Cuadro 3. Porcentajes de incidencia de pudrición de la raíz de chile en plantas inoculadas con diversos patógenos y tratadas con <i>B. subtilis</i>	33
Cuadro 4. Comparación de medias de incidencia de pudrición de la raíz en plantas de chile inoculadas con diferentes patógenos y <i>B subtilis</i> (Tukey 0.05%).....	36
Cuadro 5. Porcentaje de severidad de los tratamientos con respecto a la formula de Abott.....	37

Cuadro 6. Comparación de medias de severidad de pudrición de la raíz en plantas de chile inoculadas con diferentes patógenos y *B subtilis* (Tukey 0.05%).....39

Cuadro 7. Características de las epidemias de pudrición de la raíz en diferentes tratamientos con agentes de control biológico.40

Cuadro 8. Valores del área bajo la curva del desarrollo de la enfermedad en diferentes tratamientos de manejo de pudrición de la raíz.42

Cuadro 9. Plantas muertas en diferentes tratamientos con diferentes agentes de control biológico (valores transformados mediante la fórmula del el valor medio cuadrático)46

Cuadro 10. Número de plantas de chile muertas por *F. oxysporum* en parcelas tratadas con diferentes agentes de control biológico (Tukey 0.05%).47

Cuadro 11. Características agroclimáticas que se presentaron en el experimento de campo en Parras de la Fuente Coahuila.....48

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ejemplo del arreglo de las parcelas y sistema de riego de los
tratamientos establecidos en el invernadero.
.....24

Figura 2. Distribución de plantas y tratamientos para el manejo de pudriciones de
la raíz de chile en Parras de la Fuente, Coahuila.
.....28

Figura 3 Representación del área bajo la curva de desarrollo de la enfermedad
en plantas de chile tratadas con diferentes agentes de control biológico. x
Tratamientos: consultar (Cuadro
1).....45

DEDICATORIA

Gracias primero a Dios por darme la vida y el amor de esta mi familia. Papá Mamá nombres tan sencillos de pronunciar pero que siempre enaltecen de orgullo mi hablar. Con la mayor gratitud por los esfuerzos realizados para que lograra terminar mis estudios profesionales, siendo esta mi mejor herencia, a ustedes mis queridos hermanos por brindarme su apoyo incondicional. Gracias por guiar mi vida, ya que esto a hecho que sea lo que hoy día soy.

AGRADECIMIENTOS

Primeramente agradecer de todo corazón a la UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO, esta mi querida institución por brindarme lo mejor de sí y darme la oportunidad de ser uno de tus tantos egresados, de igual manera a todos los que forman parte de ella.

A mi asesor, el Dr. Alberto Flores Olivas por darme la oportunidad y la facilidad de trabajar al lado suyo, así mismo de realizar mi trabajo de investigación bajo su dirección y apoyo.

Al Dr. Rodolfo Velásquez Valle por tomarse el tiempo de revisar mi trabajo y de enriquecerlo durante el periodo de mis prácticas profesionales, ya que me brindo todo cuanto estuviese a su alcance.

Al Dr. Mario Ernesto Vázquez Badillo por colaborar ampliamente en la revisión de este trabajo de investigación

A la técnico académico Blanca Estela, por facilitarme y ayudarme con los procesos de laboratorio, siendo una de las personas que más trabajo al lado mío.

A todos mis compañeros que siempre estuvieron al pendiente de mi trabajo, que siempre me tendieron sus manos para ayudarme con los procesos a realizar en campo y que nunca dijeron no; gracias Juan Antonio Salazar, José Refugio Méndez, Josué David Ramírez. Gracias por su compañerismo y por no decir NO cuando necesitaba de su ayuda.

RESUMEN

En el Centro-Norte de México las pudriciones de la raíz en chile son el principal problema que enfrenta el cultivo. Zacatecas líder en la producción de chile para secado (*Capsicum annuum* L) en México; siendo el más importante debido a la derrama económica que genera para el sector agrícola. Por lo que el objetivo del presente trabajo consistió en evaluar el efecto antagónico de diferentes agentes de control biológico sobre hongos de suelo, causantes de la secadera o marchitez en plantas de chile, bajo condiciones de invernadero y campo observando el comportamiento de los diferentes agentes de control. Realizando monitoreos periódicos una vez presente la enfermedad, tomando lectura de los avances de la misma incidencia; plantas que presentaran síntomas incluyendo, defoliación, clorosis, rizado del follaje, daño en estructuras reproductivas, maduración irregular en frutos, pudriciones de la raíz entre otras, severidad; área o tejido dañado por la enfermedad. Los mejores tratamientos fueron las bacterias y las micorrizas bajo condiciones de invernadero y campo respectivamente.

INTRODUCCION

México es la región del mundo donde se produce el mayor volumen de chile en fresco y se cultiva el mayor número de variedades, adaptándose a las diferentes condiciones ambientales que prevalecen en el país (Pozo *et al.*, 1991).

La producción de chile para secado (*Capsicum annuum* L.) en el estado de Zacatecas es considerada la opción agrícola que ofrece mayores ingresos para el productor y la principal fuente de empleo en el medio rural de la entidad. Por cada hectárea plantada con esta hortaliza se requiere un mínimo de 150 jornales, además de los empleos que se generan a partir del corte de fruto como son el acarreado, apartado, deshidratado y empacado del producto (Parra, 2011).

En Zacatecas, esta hortaliza anualmente cubre aproximadamente 25% del área de riego y se cultiva principalmente en los municipios de la región central de la entidad; Calera de Víctor Rosales, Fresnillo, Villa de Cos, Enrique Estrada, Morelos, Veta Grande y Guadalupe. Anualmente en el estado se establecen un promedio de 35,000 hectáreas con chile, abarcando 37 de los 58 municipios en los que se divide el Estado. De esta superficie trasplantada se obtiene una producción de 288 mil toneladas de

chile, de las cuales 40 mil toneladas corresponden a chile para secado y 248 mil toneladas son de chile verde. La producción de chile para secado es la actividad económica más importante de la entidad, generando ingresos por más de 2'384,936 millones de pesos anuales que benefician a 4,000 productores y sus familias (Bravo *et al.*, 2002; SIAP 2010).

El chile del tipo mirasol es el más cultivado en Zacatecas, ya que aproximadamente el 80% de los productores lo trasplantan; la razón más importante de esto es por ser menos susceptible al ataque de la secadera o marchitez, enfermedad considerada como el factor limitante para este cultivo (Cabañas, 2002).

Se estima que cada año del 40 a 70 % de las plantas de chile mueren por efecto de esta enfermedad (Rincón y Velásquez, 1999).

La pudrición de la raíz, además de las pérdidas directas por la muerte de las plantas y la reducción en la calidad y cantidad en rendimiento, ocasiona un incremento en los costos de producción debido al empleo de fungicidas, frecuentemente de alto costo.

En muestreos de campo realizados en el año 2000 en los estados de Aguascalientes y Zacatecas se detectó a los hongos *Rhizoctonia spp.*, *Fusarium spp.*, *Phytophthora spp.*, *Verticillium spp.*, y *Pythium spp.*, asociados con plantas de chile que mostraban síntomas de la enfermedad; es común encontrar varios de estos patógenos en una sola planta, pero

usualmente uno de ellos es el responsable por la sintomatología que muestra la planta dañada (Velásquez-Valle *et al.*, 2001). Sin embargo, *Phytophthora capsici* L., ha sido señalado como el único agente causal de la secadera o marchitez de las plantas de chile en esta región de México (Durán-Ortiz *et al.*, 2001).

El combate de las enfermedades de la raíz de chile se ha llevado a cabo por medios químicos y culturales con resultados variables; ya que muchas ocasiones la recomendación es errónea debido a observaciones solamente visuales, esto aunado a que en la región se carece de laboratorios de diagnóstico; sin embargo, existen alternativas que afectan en menor proporción al ambiente y la salud humana. Estas alternativas incluyen el uso de microorganismos y extractos vegetales con eficiencia probada sobre otros patógenos y otros cultivos por lo que es necesario ensayar su eficiencia en condiciones de campo e invernadero en regiones como el sureste de Coahuila.

OBJETIVOS

El objetivo del presente trabajo consistió en evaluar la eficiencia biológica de bacterias promotoras del crecimiento de plantas, hongos antagonistas y extractos vegetales, en el control de *Fusarium oxysporum*, Sch., *Rhizoctonia solani* Kühn y *Phytophthora capsici*. Leo.

HIPOTESIS

Con el uso de agentes de control biológico es posible reducir la incidencia y severidad de la pudrición de la raíz del chile en condiciones de campo e invernadero.

REVISION DE LITERATURA

Los métodos tradicionales para el manejo de pudriciones de la raíz en Zacatecas son culturales, aunque actualmente el uso de fungicidas se ha vuelto muy frecuente; siendo entre estos últimos más utilizados los de carácter curativo que los preventivos. (Velásquez *et, al.*, 2002).

4.1.- Labores culturales para evitar la presencia de la enfermedad

- Seleccionar parcelas donde no haya sido trasplantado chile en los últimos cuatro o cinco años.
- Evitar el trasplante en parcelas donde otros cultivos como, frijol, tomate, calabaza o pepino hayan sido atacados severamente por estos hongos. Así como eliminar los residuos de cosechas anteriores
- Evitar el empleo de surcos de más de 100 metros de longitud, para prevenir que el agua de riego por gravedad o lluvia se estanque, debido a la mala nivelación del terreno.
- Mantener un nivel de humedad constante a través del ciclo del cultivo, puede evitar o retardar la aparición de la enfermedad.

- La aplicación de riego por goteo puede abatir la presencia de la enfermedad debido a que se tiene un mejor control de la lámina de riego.
- Utilización de semilla con alto porcentaje de germinación.
- Tener suelos ligeros y bien drenados (Galindo *et al.* 2006).

4.2.- Combate químico de pudrición de la raíz

Hasta hace pocos años no se contaba con un producto químico que se utilizara para el control de esta enfermedad, solo se recomendaba el uso de prácticas culturales como las descritas anteriormente. Recientemente se evaluó el efecto del Azoxystrobin, Metalaxyl, Propamocarb clorhidrato y 2 Tiofanometiltiobenzotiasol, siendo este último el que inhibió todos los aislamientos de *Phytophthora spp* mientras que Azoxystrobin, Metalaxyl y Propamocarb clorhidrato en diferente dosis redujeron su crecimiento micelial (Pérez *et al.*, 2005).

Otros estudios relacionados con el control químico muestran que el Thiabendazol y Metalaxyl aplicándolos de manera preventiva-curativa disminuyen la presencia de la marchitez del chile ya que el Thiabendazol está dirigido al control de *R. solani* y *Fusarium ssp* ; mientras que el Metalaxyl controla a *Phyitium spp* y *Phytophthora spp* (Chewet *al.* 2007).

4.3.- El control biológico como una alternativa.

Algunas de las ventajas del control biológico sobre otros tipos de control son: no causa contaminación alguna al medio ambiente ni disturbios ecológicos, no representa peligro para el hombre ni a la fauna, ya que no es tóxico, no causa resistencia y tiene un efecto prolongado de protección (Covarrubias y Frias, 1992).

Una alternativa es la utilización de bacterias antagónicas como las del género *Bacillus*, dada sus propiedades e inhibición de fitopatógenos de suelo y promoción de crecimiento en plantas (Podile y Laxmi, 1998; Waller, 1988).

Existen en el mercado productos formulados a partir de microorganismos con acción antagonista contra patógenos de la raíz siendo una alternativa para el control biológico. Las bacterias del género *B. subtilis* han dado resultados positivos para el control de algunas enfermedades de la raíz, por lo que se han realizado investigaciones para el control de la secadera o marchitez del chile con productos comerciales a base de *B. subtilis*, como el Alubion, B.s cepa Q11.

En este sentido, también existen reportes de tratamiento a semilla de chile en invernadero para control de *R. solani* y *Fusarium ssp* (Covarrubias y Frias, 1992).

En otros cultivos, *B. subtilis* ha tenido resultados eficientes para el control de enfermedades como el chancro del manzano (*Nectrica galligena* Bres), marchitez de la sandía (*F. oxysporum*) y otras enfermedades con origen en el suelo (Casarrubias, 1992). Sin embargo, el control biológico en cultivos de Chile ha tomado gran relevancia en los últimos años. Ya que el género *Bacillus*, independientemente de su ubicación taxonómica, se encuentra entre los agentes más adecuados para el control biológico debido a sus cualidades morfológicas y fisiológicas que permiten su ubicuidad en la naturaleza (Martin y Travers, 1989; Smith y Couche, 1991; Meadows *et al.*, 1992). Además este género ha tenido mucho éxito en la prevención de patologías vegetales causadas por hongos como *F. oxysporum* Sch. *R. solani* Kühn *P. capsici* L. (Morgan, 1963; Reedy y Rahe, 1989; Rytter *et al.*, 1989; Osburn *et al.*, 1995).

5.- Hongos fitopatógenos asociados a secadera o marchitez del cultivo de Chile.

Una característica importante de los hongos asociados a esta enfermedad es que producen esclerocios, oosporas y clamidosporas (*Rhizoctonia sp.*, *Phytophthora sp.* y *Fusarium sp.*, respectivamente) las cuales son estructuras de resistencia capaces de sobrevivir por largos periodos en el suelo, aún sin que se cultive Chile. (Velázquez –Valle y Medina – Aguilar, 2003).

5.1.- Marchitez o secadera por *Fusarium oxysporum* Sch.

Los vasos del xilema de las plantas infectadas por este hongo son bloqueados y destruidos, de manera que el transporte del agua y nutrientes se dificulta, lo que conduce al marchitamiento con frecuencia parcial de la planta. Externamente los síntomas comprenden una ligera decoloración de las hojas que toman un color amarillo y una marchitez en la parte superior las hojas permaneciendo adheridas a la planta. Interiormente puede observarse una coloración café o roja en los tejidos vasculares. (Messiaen, 1968)

El hongo *Fusarium* produce un micelio de rápido crecimiento aéreo siendo escaso al inicio de la colonización de un color blanco, posteriormete el centro del desarrollo micelial se torna de color purpura a violeta. Las microconidias se encuentran en los conidióforos ramificados, sin formar cadenas, ya que en su mayoría son septadas elipsoidales a cilíndricas, a menudo rectas o curvas, llegando a medir de 7 * 2.7 micras. Macroconidias tabicadas, fusiformes, hialinos, situados en la parte terminal de los conidióforos ramificados midiendo aproximadamente 46* 4.5 micras (Walker, 1965).

La enfermedad se inicia con el crecimiento de las hifas o con la germinación de las clamidosporas, que son estimuladas por los exudados secretados por las raíces de las plantas y raicillas de las semillas recién germinadas. Las hifas del hongo penetran directamente a la epidermis de la raíz, a través de

heridas mecánicas o causadas por nematodos. Una vez dentro de la planta, el patógeno se mueve hacia el tejido vascular colonizando los vasos del xilema por crecimiento del micelio o por medio del transporte pasivo de las microconidias, provocando una colonización rápida y discontinua.

La temperatura es el factor de mayor influencia en el desarrollo de la enfermedad y de la expresión de síntomas; la temperatura óptima para el desarrollo del patógeno fluctúa entre los 25 y los 30 °C con una temperatura mínima de 5 °C y una temperatura máxima de 37 °C. La temperatura define el desarrollo del patógeno (Messiaen, 1968).

Este hongo predomina en suelos relativamente cálidos donde es capaz de sobrevivir cinco a diez años como saprofito en el suelo. También produce abundantes clamidosporas que permanecen en el suelo latente por años. Otra especie de *Fusarium* denominada *F. annuum* que se encuentra reportada en diversos países como agente causal de esta enfermedad; en Chile no representa en realidad más que una invasión secundaria sobre las lesiones causadas por *P. capsici* L. (Messiaen, 1968).

5.2.- Marchitez o secadera por *Rhizoctonia solani* Kühn

Rhizoctonia spp es un hongo que se encuentra diseminado por todo el mundo, ataca a un gran número de cultivos y causa distintas enfermedades, una de las más importantes es la pudrición de la raíz.

Los síntomas de la enfermedad se manifiestan en la parte inferior de la planta, las lesiones son de tamaño variable de aspecto hundido, de color café canela o rojizo; el principal síntoma es la formación de la lesión en el tallo que provoca el estrangulamiento de la planta. *Rhizoctonia sp*, produce una toxina con efecto regulador del crecimiento, la cual puede ser responsable de las malformaciones en plantas de Chile (Ames, 1980).

Este patógeno produce hifas con células de color marrón claro o hialinas, de forma irregular, septadas, ramificadas angularmente (90°). Las células monilioides normalmente forman esclerocios de color marrón. Se reproduce sexual y asexualmente, sobrevive principalmente como micelio o esclerocios a diferencia de muchos hongos basidiomicetos.

Este hongo causa severos daños económicos solo en lugares frescos y suelos húmedos, ya que el hongo se propaga con la lluvia o el riego por inundación; las condiciones ambientales que favorecen el desarrollo del patógeno son bajas temperaturas en el suelo (aunque 18 °C se considera como temperatura óptima) y humedad alta; la falta de drenaje en los suelos tiende a favorecer al incremento de los esclerocios de este patógeno (Ames, 1980)

5.3.- Marchitez o secadera por *Phytophthora capsici* Leo.

P. capsici ataca a las plantas de Chile en cualquier estado de desarrollo, las primeras infecciones se observan en los almácigos o bien en plantas

adultas cuando los frutos comienzan aumentar de tamaño; es en esta etapa cuando la infección es más severa (Mendoza *et al.*, 1990).

Otros síntomas que se pueden observar en plantas infectadas son: marchitez, amarillamiento general y o parcial de la planta. Después de la floración, en el cuello del tallo y en la raíz se puede observar una necrosis severa en el tejido interno y externo que toma un color café oscuro. La planta reacciona emitiendo raicillas a nivel de cuello y teniendo una floración prematura (Mendoza *et al.*, 1990).

Los esporangios de *P. capsici* son elípticos, largos y a menudo triangulares o irregulares, claramente papilados, a menudo con 2-3 papilas por esporangio. Por otro lado, los esporangios y su contenido de zoosporas, se desprenden fácilmente. Al germinar las zoosporas penetran sobre la epidermis de la hoja, raíz o tallo; una vez dentro de ellas causan pudriciones del tejido formando micelio; a partir de esta estructura vegetativa se darán origen a la formación de los esporangios y oosporas. Las clamidosporas rara vez se forman pero son globosas con paredes gruesas (Mendoza *et al.*, 1990).

Las oosporas y clamidosporas son estructuras de conservación que se encuentran en rastrojos y maleza. Las oosporas con presencia de humedad germinan, desarrollan micelio y posteriormente forman esporangios que bajo las condiciones adecuadas de temperatura y agua libre liberan

zoosporas, las cuales a su vez, se dispersan aprovechando la capa de agua libre sobre el suelo e infectan el cuello de las plantas más próximas a la planta inicialmente enferma. *P. capsici* no necesita de heridas para ingresar a las células de la planta (Mendoza y López, 1990).

Esta alga fitopatógena se disemina con el agua de riego o de lluvias. *P. capsici* requiere de alta humedad y de temperaturas medias a altas, es favorecida por un mal drenaje del suelo. La temperatura óptima para su desarrollo es de 26 a 30 °C (Mendoza y López, 1990).

6.- Control biológico de fitopatógenos

El control biológico de fitopatógenos involucra el uso de los microorganismos también conocidos como rizobacterias promotoras del crecimiento en plantas; son bacterias que aparecen libres en el suelo, capaces de adaptarse, colonizar y persistir en la rizosfera de la planta favoreciendo el crecimiento o desarrollo de ésta con su actividad. Estos microorganismos rizosféricos son capaces de mejorar la estructura del suelo y proteger al vegetal frente a agresiones de diversos orígenes, los más comunes son de origen fitopatológico. Además, estos microorganismos son capaces de aportar formas asimilables de los nutrientes minerales (por lo que frecuentemente son llamados biofertilizantes), induciendo también a la producción de fitohormonas y proveen un buen estado sanitario de la planta,

siendo capaces de suprimir el crecimiento de patógenos en las raíces de la planta, fenómeno llamando antibiosis (Antoun y Prevost 2006).

6.1- *Trichoderma harzianum* Vuillemi

Es un hongo antagonista de patógenos vegetales que se encuentra en la mayoría de los suelos. Su crecimiento se ve favorecido por la presencia de raíces que coloniza rápidamente.

La aplicación de *T. harzianum* una vez formulado el producto es relativamente fácil; se puede añadir a la semilla o al suelo, en almácigos, en plantas listas para el trasplante, en plantas de maceta, etc. Este antagonista tiene excelentes propiedades para el control biológico, especialmente contra *Rhizoctonia sp*, *Fusarium sp* y *Phyitium*, a su vez es un excelente estimulador del crecimiento radicular (http://www.iabiotec.com/trichod_ficha.htm).

Algunas de las ventajas del uso de *T. harzianum*

Aumenta la capacidad de captar nutrientes y humedad, así como mejora rendimientos en condiciones de estrés hídrico.

- No requiere un equipo especial para su aplicación.
- No afecta su aplicación a semillas previamente tratadas con fungicidas químicos.

6.2- *Bacillus subtilis*

Esta bacteria no es fitopatógena, no produce endotoxinas pero elabora proteínas, algunas de ellas con propiedades antifúngicas, como la subtilina y otros antibióticos de la familia de las iturinas. La subtilina actúa sobre la pared celular de los hongos (Gonzalez y Fragoso, 2002), además es conocida por ser antagonista de muchos hongos fitopatógenos mostrando también un control efectivo de las enfermedades causadas por bacterias. Su modo de aplicación puede ser foliar o bien radicular teniendo un amplio espectro de control de enfermedades en diversos cultivos tales como: brócoli, cebolla, ajo, fresa, cucurbitáceas, lechuga, papa, jitomate, chile, vid, zanahoria, entre otras (Butt *et.al.*,1999).

Otros beneficios.

- Producto no es toxico para insectos.
- Producto con amplio espectro de acción.
- Estos organismos antagónicos crecen y se multiplican alrededor del área radicular de los cultivos compitiendo con patógenos que atacan a las nuevas raíces, reduciendo los riesgos de infección (Gonzalez y Fragoso, 2002).

6.3- Extractode *Heliopsis longipes* Gray Blake

Esta planta perteneciente a la familia de las Asteraceae utilizada en la medicina tradicional, se ha caracterizado por su alto contenido de alcaloides en sus raíces. Se encuentra ampliamente distribuida en el centro del país, en

las regiones de Guanajuato, San Luis Potosí y Querétaro. Por sus propiedades insecticidas fue una de las plantas empleada por los Estados Unidos durante la segunda guerra mundial, ya que se observó que los extractos de las raíces tienen el mismo grado de acción paralizante y tóxica que el piretro contra moscas y otros insectos (Little, 1948).

Las alcanidas son considerados compuestos bioactivos, esto es, una pequeña cantidad del compuesto provoca una respuesta notable en las células receptoras. *H. longipes* fue la primera especie en la que se determinó la presencia de una alcanida olefínica (Acree *et al.*, 1945). La afinima es la alcanida que se encuentra en gran cantidad en las raíces de esta planta.

6.4- Micorriza *Glomus sp.*

Las micorrizas son hongos benéficos para las plantas, ya que llevan a cabo una relación simbiótica; ambos participantes obtienen beneficios, en este caso, la planta recibe del hongo principalmente nutrientes, minerales y agua, y el hongo obtiene de la planta hidratos de carbono y vitaminas, que por sí mismo es incapaz de sintetizar. Las micorrizas son tan antiguas como las propias plantas pero solo se conoce su existencia desde hace poco más de cien años, estimándose que el 95% de las especies vegetales se establecen de forma natural (Hernández, 2001).

Las plantas infectadas con micorrizas son capaces de explotar más volumen de suelo de lo que alcanzan normalmente con sus raíces, al sumársele esta labor a las hifas del hongo, también captan con mayor facilidad ciertos elementos (fosforo, nitrógeno, calcio y potasio), así como el agua del suelo. La protección brindada por el hongo hace que la planta sea más resistente a los cambios de temperatura y acidificación del suelo, derivada de la presencia de azufre, magnesio y aluminio. Además estas micorrizas ayudan a que la raíz se mantenga activa por más tiempo y le brindan a la planta una protección contra los patógenos presentes en el suelo (Miller y Jastrow, 2000).

MATERIALES Y METODOS

La primera parte del trabajo se realizó en el invernadero de Parasitología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), en Saltillo, Coahuila, México. La segunda fase de la investigación se llevó a cabo bajo condiciones de campo en el municipio de Parras de la Fuente, Coahuila, México. El trabajo se estableció en ambas localidades en marzo del 2011.

7.1.- Obtención del material biológico.

7.1.1.- Hongos fitopatógenos: Aislamientos de *F. oxysporum* y *R. solani* fueron obtenidos de la colección de hongos fitopatógenos del laboratorio de parasitología molecular, del Departamento de Parasitología de la UAAAN. Para su reactivación se preparó medio de cultivo de Papa Dextrosa-Agar (PDA) según el protocolo propuesto por (Sosa-Moss *et al.*1997). Una vez que el medio solidificó se sembraron discos miceliales de *F. oxysporum* y *R. solani* respectivamente y se incubaron por tres días a una temperatura de 26 °C.

Para la obtención de inóculo de *P. capsici* se colectaron frutos de chile de plantas enfermas colectadas en un lote experimental de la UAAAN. Se preparó un medio de cultivo Agar-V8 con 200 mililitros de jugo V8 (Campbells) se centrifugó a 4000 rpm por 20 minutos. Una vez centrifugado

se pasó el sobrenadante a un matraz de un litro y se aforo a 1000 mililitros con agua destilada 10 gramos de agar bacteriológico, tres gramos de carbonato de calcio, y se esterilizaron por 15 minutos a 120 libras de presión. Luego del proceso de esterilización el medio de cultivo se transfirió a las cajas petri y se sembraron con los discos miceliales de *P. capsici* para ser incubadas en la oscuridad y a una temperatura ambiente de acuerdo con la metodología propuesta por Sosa-Moss *et al.* (1997).

7.1.2. - Microorganismos benéficos

La cepa de *B. subtilis* fue proporcionada de la colección de bacterias del departamento de Parasitología Agrícola de la UAAAN. Para reactivarla se preparó un caldo nutritivo (Schaad *et al.* 2001) mediante el siguiente procedimiento, se pesaron ocho gramos de agar bacteriológico y se disolvieron en 500 mililitros de agua destilada, se agitaron y se esterilizaron por 15 minutos a 120 libras de presión. Una vez frío el caldo nutritivo se inocularon 50 microlitos de una solución de 1×10^6 unidades formadoras de colonias (UFC) de *B. subtilis*. Los matraces inoculados se agitaron por 24 horas, una vez pasado este tiempo se pasaron a refrigeración para detener su desarrollo.

7. 2.- Preparación y cuantificación del inóculo fitopatógeno

Para obtener el inóculo de los hongos fitopatógenos, se permitió que llenaran toda el área de la caja y después de una semana se extrajo el

hongo, se licuó y aforó a un litro con agua destilada estéril y se mantuvo en el refrigerador para detener su desarrollo.

Se tomó un mililitro de una dilución 10^{-6} del inóculo licuado, que se colocó en la cámara de Neubauer para ser observada en el microscopio compuesto y contar el número de propágulos y contar la cantidad de microconidias, macroconidias, esporangios y esclerocios para *F. oxisporum* *P. capsici* *R. solani* respectivamente.

7.2.1.- Preparación y cuantificación del inóculo benéfico

Se tomó un mililitro de bacterias y se hicieron seis diluciones en tubos de ensaye. Se transfirió un mililitro de la solución original en nueve mililitros de agua destilada estéril y de esa primera solución se tomó un mililitro para pasarlo a otros nueve mililitros de agua destilada estéril, continuando de esta manera hasta completar seis diluciones; de la última solución se tomó un mililitro y se sembró en una caja Peri con agar bacteriológico dispersándolo en la totalidad de la superficie y se incubó por tres días, al término de los cuales se procedió a cuantificar las unidades formadoras de colonias (UFC) desarrolladas.

Para obtener el promedio de las colonias de dos cajas petri, se obtuvo el área de la superficie de las cajas y se multiplicó por el promedio de las unidades formadoras de colonias, el resultado se volvió a multiplicar por el

factor de disolución, obteniéndose el valor total de las UFC en un mililitro de solución madre.

7.3. - Establecimiento del ensayo (experimento)

7.3.1.- Establecimiento de semillas en almacigo; La semilla de chile mirasol se trato con Captan 50 PH y se sembró el día 2 de Enero del 2011 en almácigos que contaban con una mezcla de suelo común del lugar y una tercera parte de arena fina, estas capas previamente fueron cribadas con una arpilla para que las partículas fueran uniformes y formaran una mezcla homogénea; la cama de siembra contaba con un ancho de 1.20 metros por 10 metros de largo y el riego se realizó por gravedad.

7.4. - Establecimiento del experimento en invernadero (UAAAN)

Se eligió una parte del invernadero, donde las condiciones de humedad prevalecientes propiciarían la manifestación de la enfermedad. Los tratamientos establecidos en el invernadero de la UAAAN se mencionan en el Cuadro 1. Los tres diferentes hongos empleados se establecieron por separado en tres camas del invernadero agregando un testigo absoluto para cada agente en cada cama (Anexo 1).

Cuadro 1. Tratamientos (número de aplicaciones y concentraciones) establecidos en el invernadero de la UAAAN para el manejo de pudriciones de la raíz de chile.

Tratamientos	Concentración de los microorganismos	Número de aplicaciones del hongo	Número de aplicaciones de la bacteria	
1	<i>F. oxysporum.</i>	3.15x10 ⁷	1	–
2	<i>F. oxysporum + B. subtilis.</i>	3.15x10 ⁷ +1x10 ⁹	1	3
3	<i>F. oxysporum + B. subtilis.</i>	3.15x10 ⁷ +1x10 ⁷	1	3
4	<i>B. subtilis.</i>	1x10 ⁹	-	3
5	<i>B. subtilis.</i>	1x10 ⁷	-	3
6	Testigo absoluto.		-	-
7	<i>R. solani.</i>	3.15x10 ⁷	1	-
8	<i>R. solani + B. subtilis.</i>	3.15x10 ⁷ +1x10 ⁹	1	3
9	<i>R. solani+ B. subtilis.</i>	3.15x10 ⁷ +1x10 ⁷	1	3
10	<i>B. subtilis.</i>	1x10 ⁹		3
11	<i>B. subtilis.</i>	1x10 ⁷		3
12	Testigo absoluto.			
13	<i>P. capsici.</i>	3.15x10 ⁷	1	
14	<i>P. capsici. + B. subtilis.</i>	3.15x10 ⁷ +1x10 ⁹	1	3
15	<i>P. capsici. + B. subtilis.</i>	3.15x10 ⁷ +1x10 ⁷	1	3
16	<i>B. subtilis.</i>	1x10 ⁹		3
17	<i>B. subtilis.</i>	1x10 ⁷		3
18	Testigo absoluto.			

El cuadro 1 especifica la concentración de inóculo de los hongos patogénicos que se aplicó al drench (base de la planta) y el número de las aplicaciones que se realizaron para el control de los diferentes agentes patogénicos, la primera aplicación de bacterias se realizó el 1/04/11, 10 días después del trasplante (ddt). Para la segunda y tercera aplicación de estos organismos se permitió un periodo de 22 días entre cada aplicación. En el presente trabajo solamente se mostrarán los resultados de la interacción hongo-bacteria.

7.4.1.- Establecimiento del cultivo en invernadero.

El trasplante de las plántulas de Chile se efectuó el día 21 de marzo del 2011, con plántulas de 81 días de edad. El trasplante se realizó en tres camas del invernadero, el riego para este trabajo solamente fue aplicado por gravedad. En cada cama se establecieron cuatro líneas de plantas con irrigación al centro de las líneas trasplantadas (Figura 1).



Figura 1. Ejemplo del arreglo de las parcelas y sistema de riego de los tratamientos establecidos en el invernadero.

Se llevaron a cabo aplicaciones de insecticidas de acuerdo a un monitoreo específico para manejar las poblaciones de *Bactericera cockereli* Sulc que fue la única plaga que se presentó en el invernadero.

La evaluación de la efectividad biológica de los tratamientos se llevó a cabo mediante un diseño experimental de bloques completamente al azar con seis tratamientos, con tres repeticiones. Para determinar la efectividad biológica de los tratamientos se empleó la fórmula de Abbott:

$$\text{Abbott} = [Ta - T / Ta] * 100$$

Donde:

Ta= Numero de plantas enfermas del testigo absoluto.

T= Numero de plantas enfermas en el tratamiento

7.4.2.- Variables de respuesta en invernadero.

- Plantas totales iniciales
- Incidencia de la enfermedad: número de plantas con síntomas (partes de la planta) de pudrición de la raíz /número de plantas totales (%).
- Severidad de la enfermedad; proporción del área o tejido de la planta que está dañado.

Plantas totales iniciales ; Un mes después de realizado el trasplante se llevó a cabo el conteo total de plantas vivas y sanas que sobrevivieron al trasplante y a las altas temperaturas en el invernadero, el conteo se realizó cuando la planta tenía 20 centímetros de altura y antes de ser inoculadas con los hongos con el fin de que no influyera esto en el resultado final.

Incidencia de la enfermedad.

Se realizaron cuatro fechas de monitoreo donde se llevó a cabo el conteo de las plantas totales sanas y las plantas con sintomatología de pudrición de la raíz. Se tomó nota de las plantas que presentaban una sintomatología parcial tales como; daño en estructuras reproductivas, hojas enrolladas y perdida de turgencia de las hojas así como plantas totalmente secas.

Además se tomó nota de las lesiones provocadas en las estructuras reproductivas.

Severidad de la enfermedad

La severidad de la enfermedad se evaluó de acuerdo a la siguiente escala arbitraria de daño; 1: plantas con síntomas iniciales (marchitez temporal y clorosis ligera) 2: plantas con síntomas intermedios (clorosis marcada y marchitez temporal) 3: plantas con síntomas marcados (pérdida de las estructuras reproductivas, botones y flores) 4: planta con síntomas avanzados (necrosis de ramas o follaje, marchitez permanente y aborto de estructuras reproductivas y o de frutos en desarrollo) Anexo 3.

Los incrementos del desarrollo de la epidemia obtenidos de las cuatro fechas de monitoreo se emplearon para determinar el área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE) de acuerdo con la metodología propuesta por Galileo, (1996) y Velásquez *et. al.*, (2003) con el fin de poder someter los valores resultantes a un ANOVA que eventualmente permitiera la comparación de las medias de incidencia de cada tratamiento.

7.5.- Establecimiento del experimento en campo.

Para la localidad ubicada en Parras de la Fuente, Coahuila., se trasplantó el día 21 de marzo del 2011 con plantas de 81 días de edad. El trasplante se

realizó en una parcela que no contaba con antecedentes de pudrición de la raíz; se trasplantaron en cuatro camas a doble hilo, de dos y tres plantas por golpe con una línea regante en cada hilo de la cama, se utilizó un sistema de riego por goteo para la aplicación de fertilizantes.



Figura 2. Distribución de plantas y tratamientos para el manejo de pudriciones de la raíz de chile en Parras de la Fuente, Coahuila.

Dentro de las cuatro camas a doble hilo trasplantadas en campo se marcaron 24 parcelas útiles de 8.30 metros de largo cada una. El manejo agronómico de la parcela se realizó de acuerdo con el criterio del productor.

El experimento nos permitió evaluar los productos de control biológico en condiciones diferentes a las del invernadero.

En el cuadro 2 se muestran las fechas de aplicación, el tratamiento, la aplicación y dosis del agente de control así mismo el número de veces que se aplicaron los productos directamente a la base de las plantas para el manejo de pudriciones de la raíz de chile

En algunos de los tratamientos previamente establecidos en las aplicaciones subsiguientes, se hizo una combinación de dos agentes de control biológico, en tanto que otros fueron remplazados por otro producto; lo anterior para observar el efecto de las combinaciones de agentes de control.

Cuadro 2. Protocolo de aplicaciones realizadas en campo.

Tratamientos	Descripción de las aplicaciones		
	25/03/11	15/04/11	18/05/11
1. Testigo comercial	Vigold (fluoxastrobin) 1.5 l/ha vía suelo	Cobrezate (cymoxanil + mancozeb) 2 kg/ha vía suelo	
2. <i>B.subtilis</i> 1*10 ⁹	<i>B.subtilis</i> 1*10 ⁹ 1.5 l /ha vía suelo	<i>B.subtilis</i> 1*10 ⁹ 1.5 l /ha vía suelo	<i>B.subtilis</i> 1*10 ⁹ 1.5 l /ha vía foliar
3. <i>T.harzianum</i> 1*10 ⁹	<i>T. harzianum.</i> 1*10 ⁹ 1.5 l/ha vía suelo	<i>B.subtilis</i> 1*10 ⁹ 1.5 l/ha vía suelo	<i>H. longipes</i> 2 l/ha vía foliar

4. <i>B.subtillis</i> + <i>T.harzianum</i> $1*10^9$	<i>B. subtilis</i> + <i>T.</i> <i>harzianum</i> $1*10^9$ 1.5 l/ha vía suelo	<i>B.subtillis</i> $1*10^9$ 1.5 l /ha vía suelo	<i>H. longipes</i> 2 l/ha vía foliar
5. <i>H. longipes</i>	<i>H. longipes</i> 2 l/ha vía suelo	<i>H. longipes</i> 2 l/ha vía suelo	<i>H. longipes</i> 2 l/ha vía foliar
6. <i>Glomus sp.</i>	<i>Glomus sp</i> 3 kg/ha vía suelo	<i>B. subtilis</i> $1*10^9$ 1.5 l /ha vía suelo	<i>H. longipes</i> 2 l/ha vía foliar

Todas las plantas de Chile se inocularon con *F. oxysporum* aplicándose 15 mililitros en la base de las plantas empleando una solución de agua esterilizada y esporas del patógeno a una concentración de $3.75 * 10^7$ propágulos a los 15 ddt.

Las variables de respuesta se analizaron mediante un diseño experimental de bloques completamente al azar con seis tratamientos y cuatro repeticiones.

7.5.1.- Variables de respuesta en campo

- Plantas totales iniciales

- Incidencia de la enfermedad; número de plantas con síntomas/número de plantas sanas (%). Se consideró el número total de plantas presentes en cada parcela

Plantas totales iniciales: Se realizó el conteo total de plantas sanas y vivas que se sobrevivieron al traslado y a las temperaturas de 28 y 30 °C que se registraron en la etapa en que se estableció el experimento en campo. El conteo se realizó antes de que las plantas fueran inoculadas con *F. oxysporum* con el fin de que no influyera en el resultado final.

Incidencia de la enfermedad

Para las parcelas en campo se realizó una sola evaluación donde se llevó a cabo el conteo de las plantas con sintomatología de pudrición de la raíz tomando nota de las plantas que presentaban sintomatología media y avanzada tal como pérdida de las estructuras reproductivas, plantas parcialmente secas y maduración irregular de sus frutos.

Los datos recopilados de la incidencia de la enfermedad fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA) previa transformación del valor medio cuadrático del arco seno (Steel y Torrie, 1986); cuando los valores de F fueron significativos se aplicó la comparación de medias DMS al 0.05.

Para realizar el análisis estadístico de la incidencia y severidad de la enfermedad se procedió a dividir cada unidad experimental en dos porciones que se consideraron como repeticiones del tratamiento.

El diseño que se planteó para el análisis de las variables fue; Diseño en Bloques Completos con Tratamientos Aleatorizados; en este diseño el modelo lineal es el que a continuación se describe.

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \beta_j + E_{ij}$$

Y_{ij} = respuesta del tratamiento

μ = Es la media general la que es igual para todas las unidades experimentales

T_i = El efecto del tratamiento

β_j = Efecto del bloque

E_{ij} =Error experimental en el tratamiento

Comparación de medias

La estadística de prueba es $W_a = t_a \frac{\sqrt{C.M.E}}{n}$

Donde t_a proviene de la tabla de Tukey la cual considera el número de tratamientos del experimento y los grados de libertad de la suma de cuadrados del error, entonces si la diferencia de las medias es mayor que W_a resultan ser diferentes estadísticamente.

RESULTADOS

8.1 Variables de respuesta en invernadero

Plantas totales iniciales

El número de plantas sanas y vivas dentro de las parcela útiles varió de 11 a 13 aunque el promedio se ubicó en 12 plantas por parcela útil. Este número de plantas vivas fue la base para cuantificar la incidencia y manejo de la enfermedad.

Incidencia de la enfermedad

Seis meses después del trasplante se establecieron cuatro fechas de monitoreo donde se contó el número total de plantas sanas y vivas así como el de las plantas con sintomatología de pudrición de la raíz, tomando nota de las plantas que estaban total o parcialmente enfermas.

Cuadro 3. Porcentajes de incidencia de pudrición de la raíz de chile en plantas inoculadas con diversos patógenos y tratadas con *B. subtilis*

	Tratamientos	Incidencia (%)	% Control (formula Abbott)
1	<i>F. oxysporum.</i>	75	25
2	<i>F. oxysporum + B. subtilis</i> 1*10 ⁹ .	67	33

3	<i>F. oxysporum</i> + <i>B. subtilis</i> 1*10 ⁷ .	50	50
6	Testigo absoluto.	100	0
7	<i>R. solani</i> .	0	100
8	<i>R. solani</i> + <i>B. subtilis</i> 1*10 ⁹ .	9	91
9	<i>R. solani</i> + <i>B. subtilis</i> 1*10 ⁷ .	17	83
12	Testigo absoluto.	25	75
13	<i>P. capsici</i> .	25	75
14	<i>P. capsici</i> . + <i>B. subtilis</i> 1*10 ⁹ .	17	83
15	<i>P. capsici</i> . + <i>B. subtilis</i> 1*10 ⁷ .	0	100
18	Testigo absoluto.	34	66

* Incidencia final de la pudrición de la raíz

Plantas inoculadas con *F. oxysporum*. De acuerdo con el Cuadro 3 la mayor incidencia de plantas de chile con síntomas de la enfermedad se manifestó en el testigo absoluto (100%). No se encontró diferencia entre los tratamientos inoculados con la bacteria y el testigo inoculado con *F. oxysporum* 58, 49.5 y 74.5% respectivamente (Cuadro 3). Es posible que la cepa de la bacteria utilizada no sea patogénica contra esta cepa específica de *F. oxysporum*. Otra explicación pudiera encontrarse en el manejo de la cepa de *B. subtilis*, la cual se autodestruye bajo condiciones de almacenaje inapropiado (Ramos Hernández 2011), de manera que la cantidad efectiva de UFC haya sido muy inferior al número calculado previamente.

La presencia de sustrato mezclado con el suelo natural de esta cama propició que la humedad en el suelo fuera muy elevada durante el

estudio, lo que probablemente debilitó el sistema radicular de las plantas de Chile haciéndolas susceptibles a *F.oxysporum*, lo que se manifestó como una alta incidencia de la enfermedad en la mayoría de los tratamientos (Velásquez *et. al.*, 2001).

Plantas inoculadas con *R. solani*; El tratamiento de plantas inoculadas con *B. subtilis*, a una concentración de $1 \cdot 10^9$ resultó con el menor número de plantas con síntomas causados por ese patógeno. La media de incidencia de los tratamientos con *B. subtilis*, a $1 \cdot 10^7$, testigo inoculado y testigo absoluto resultaron estadísticamente similares (Cuadro 5).

La cepa utilizada mostró una virulencia moderada, ya que la temperatura del suelo se mantuvo sin cambios extremos. Por otro lado, la humedad del suelo se mantuvo cercana a la capacidad de campo del suelo, lo cual no favorece el desarrollo de *R. solani* (Romero, 1998; Abawi y Pastor-Corrales, 1990; Campos, 1991)

La menor incidencia de plantas dañadas por *P. capsici* se registró en la parcela inoculada con *B. subtilis* $1 \cdot 10^7$; no se encontró diferencia estadística entre las medias de incidencia de los tratamientos *B. subtilis* $1 \cdot 10^9$, testigo absoluto y testigo inoculado (Cuadro 5).

La virulencia de la cepa de *P. capsici* empleada en este estudio puede considerarse como muy agresiva, ya que a pesar de que la humedad del suelo se mantuvo relativamente baja, se registraron plantas muertas por la

enfermedad; es necesario recordar que este patógeno es favorecido por la alta humedad en el suelo (Mendoza y López, 1990).

Cuadro 4. Comparación de medias de incidencia de pudrición de la raíz en plantas de chile inoculadas con diferentes patógenos y *B. subtilis* (Tukey 0.05%).

Camas	Tratamientos			
<i>F. oxysporum</i>	T. absoluto 100 ^x a ^y	<i>F. oxysporum</i> (inoculado) 74.5ab	<i>B. subtilis</i> 1*10 ⁹ 58ab	<i>B. subtilis</i> 1*10 ⁷ 49.5ab
<i>R. solani.</i>	<i>R. solani</i> (inoculado) 33ab	T. absoluto 25ab	<i>B. subtilis</i> 1*10 ⁷ 16.5ab	<i>B. subtilis</i> 1*10 ⁹ 8b
<i>P. capsici</i>	T. absoluto 33ab	<i>B. subtilis</i> 1*10 ⁹ 25ab	<i>P. capsici</i> (inoculado) 24.5ab	<i>B. subtilis</i> 1*10 ⁷ 8b

^x porcentaje de incidencia de la enfermedad. ^y valores seguidos por la misma letra dentro de la misma fila son estadísticamente similares. El análisis se realizó por separado para cada hongo en específico.

Severidad de la enfermedad.

Al terminar de evaluar el uso de las bacterias como agentes antagonistas para patógenos de suelo, asociados a la marchitez del chile se determinó que *F. oxysporum*, *R. solani*, *P. capsici* presentaron de mayor a menor la tasa de severidad respectivamente (Cuadro 5).

Cuadro 5. Porcentaje de severidad de los tratamientos con respecto a la formula de Abott.

Tratamientos		Severidad %
1	<i>F. oxysporum</i> . (testigo inoculado)	16
2	<i>F. oxysporum</i> + <i>B. subtilis</i> ⁹ .	25
3	<i>F. oxysporum</i> + <i>B. subtilis</i> ⁷ .	8
6	Testigo absoluto.	91
7	<i>R. solani</i> .(testigo inoculado)	33
8	<i>R. solani</i> + <i>B. subtilis</i> ⁹ .	8
9	<i>R. solani</i> + <i>B. subtilis</i> ⁷ .	16
12	Testigo absoluto.	16
13	<i>P. capsici</i> .(testigo inoculado)	25
14	<i>P. capsici</i> . + <i>B. subtilis</i> ⁹ .	16
15	<i>P. capsici</i> . + <i>B. subtilis</i> ⁷ .	8
18	Testigo absoluto.	25

El mayor valor de la severidad de la enfermedad en plantas de chile inoculadas con *F. oxysporum* se manifestó en el testigo absoluto cuyo valor

de severidad fue de 3.05., En los tratamientos con las bacterias se encontró una diferencia significativa entre los valores de severidad de 1.23 y 1.15 que corresponden a los tratamientos con *B. subtilis* 1×10^9 y 1×10^7 respectivamente mientras que el valor de severidad para el testigo inoculado fue de 1.21 (Cuadro 6).

Plantas inoculadas con *R. solani* El tratamiento de plantas inoculadas con *B. subtilis* 1×10^9 resultó con el menor número de plantas con daños causados por la enfermedad. La media de la severidad en los tratamientos del testigo inoculado (0.65) y la bacteria a una concentración de 1×10^7 (0.50) no mostraron diferencias significativas DMS (Tukey0.05) respectivamente. El testigo inoculado mostro una severidad de 1.08 respecto a los demás tratamientos lo cual demostró que la cepa del patógeno utilizada fue altamente virulenta a las plantas de chile (Cuadro 6).

Para el caso de las plantas inoculadas con *P. capsici*, la menor severidad se reflejó en el tratamiento de *B. subtilis* 1×10^7 mientras que no se encontró una diferencia estadística significativa entre las medias de severidad de los tratamientos testigo absoluto *B. subtilis* 1×10^9 y el testigo inoculado respectivamente (Cuadro 6).

Durante las evaluaciones realizadas se manifestó una abundante caída de estructuras reproductivas, incluyendo frutos en pleno desarrollo. Por otra parte, los frutos de tamaño medio maduraron prematuramente; estos

síntomas concuerdan con los mencionados por (Velásquez-Valle *et. al.*, 2001). Las plantas inoculadas con *B. subtilis* mostraron una menor severidad que ambos testigos del tratamiento, lo cual sugeriría que para el manejo de las infecciones por *P. capsici*, el empleo de esa bacteria es promisorio (Cuadro 6).

Para comprobar lo antes descrito se realizó un análisis de varianza ANOVA bajo el diseño experimental de bloques completos al azar. Los resultados presentados a continuación están analizados por separados es decir que para cada hongo se realizó un análisis bajo el mismo diseño anteriormente mencionado

Cuadro 6. Comparación de medias de severidad de pudrición de la raíz en plantas de chile inoculadas con diferentes patógenos y *B. subtilis* (Tukey 0.05%).

Camas	Tratamientos			
<i>F. oxysporum.</i>	T. absoluto 3.05 ^{xy}	<i>B. subtilis</i> 1*10 ⁹ 1.23ab	<i>F. oxysporum</i> (inoculado) 1.21ab	<i>B. subtilis</i> 1*10 ⁷ 1.15ab
<i>R. solani.</i>	<i>R. solani</i> (inoculado) 1.08ab	T. absoluto .65b	<i>B. subtilis</i> 1*10 ⁷ .50b	<i>B. subtilis</i> 1*10 ⁹ .08b
	T. absoluto	<i>B. subtilis</i>	<i>P. capsici</i>	<i>B. subtilis</i>

<i>P. capsici</i>		1*10 ⁹	(inoculado)	1*10 ⁷
	.90ab	.65b	.58b	.25b

x porcentaje de severidad de la enfermedad. y valores seguidos por la misma letra dentro de la misma fila son estadísticamente similares

De acuerdo con el cuadro 7 las epidemias de pudrición de raíz pueden agruparse en dos categorías; aquellas en que la epidemia inicia y termina avanzado el ciclo y aquellas en las que el inicio y la fecha para alcanzar la máxima incidencia de la enfermedad es muy rápido; en el primer caso cabrían las epidemias de los tratamientos 3, 7, 8, 9, 12, 14, 15 y 16 mientras que en el segundo caso se incluirían los tratamientos 1, 2, 6 y 13. Generalmente el primer tipo de epidemia alcanzó los valores máximos de incidencia independientemente del tratamiento o patógeno (Cuadro 7).

Cuadro 7. Características de las epidemias de pudrición de la raíz en diferentes tratamientos con agentes de control biológico.

Tratamientos		Inicio de la epidemia (91ddt)	Tiempo a incidencia máxima (107 ddt)	Incidencia Máxima (%)
1	<i>F. oxysporum.</i>	1	3	66
2	<i>F. oxysporum + B. subtilis</i> 1*10 ⁹ .	1	4	58

3	<i>F. oxysporum</i> + <i>B. subtilis</i> 1*10 ⁷ .	2	3	50
6	Testigo absoluto.	1	3	100
7	<i>R. solani</i> .	3	4	33
8	<i>R. solani</i> + <i>B. subtilis</i> 1*10 ⁹ .	1	1	8
9	<i>R. solani</i> + <i>B. subtilis</i> 1*10 ⁷ .	3	3	16
12	Testigo absoluto.	1	2	16
13	<i>P. capsici</i> .	1	3	25
14	<i>P. capsici</i> + <i>B. subtilis</i> 1*10 ⁹ .	2	3	16
15	<i>P. capsici</i> + <i>B. subtilis</i> 1*10 ⁷ .	3	3	8
18	Testigo absoluto.	2	3	33

Análisis de la epidemia

El área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE) es una técnica de análisis muy recomendada cuando se quiere identificar las relaciones en cuanto al desarrollo de la enfermedad, así como el período de duración de la misma (Waggoner, 1986). Este método ha sido utilizado como una herramienta estadística más, en el análisis de la epidemiología comparada,

respecto al análisis comparativo con el uso de tasas relativas de incremento de la enfermedad.

Según los valores de ABCPE, en el cuadro 8 los tratamientos donde se involucró al hongo *Fusarium* alcanzaron los valores más altos en un rango de 4 a 24; para *Rhizoctonia*, estos mismos valores fluctuaron entre dos y ocho; para *P. capsici*, los valores de ABCPE oscilaron dos y ocho (Cuadro 8).

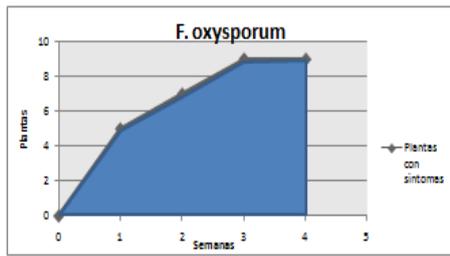
Cuadro 8. Valores del área bajo la curva del progreso de la enfermedad en diferentes tratamientos de manejo de pudrición de la raíz.

Tratamientos	ABCDE	Tratamientos	ABCDE
<i>F. oxysporum</i>	16	<i>B. subtilis</i> 1*10 ⁹	2
<i>F. oxysporum</i> + <i>B. subtilis</i> 1*10 ⁹ .	14	<i>B. subtilis</i> 1*10 ⁷	4
<i>F. oxysporum</i> + <i>B. subtilis</i> 1*10 ⁷ .	12	Testigo absoluto	4
<i>B. subtilis</i> 1*10 ⁹	4	<i>P. capsici</i> .	6
<i>B. subtilis</i> 1*10 ⁷	12	<i>P. capsici</i> . + <i>B. subtilis</i> 1*10 ⁹ .	4
Testigo absoluto	24	<i>P. capsici</i> . + <i>B. subtilis</i> 1*10 ⁷ .	2
<i>R. solani</i> .	8	<i>B. subtilis</i> 1*10 ⁹	2

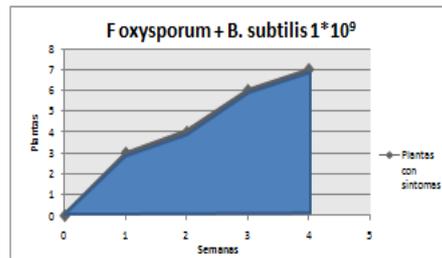
<i>R. solani</i> + <i>B. subtilis</i> 1*10 ⁹ .	2	<i>B. subtilis</i> 1*10 ⁷	2
<i>R. solani</i> + <i>B. subtilis</i> 1*10 ⁷ .	4	Testigo absoluto.	8

Estos valores de ABCPE representan la totalidad del área bajo la curva y pudieran ser diferentes si se toman períodos intermedios de muestreo, lo cual es una de las bondades de esta técnica.

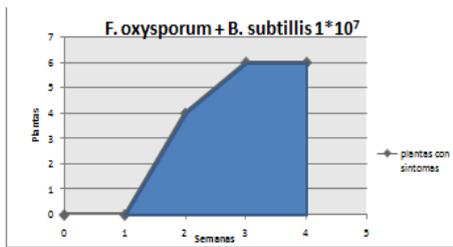
Las siguientes figuras detallan el área bajo la curva de las plantas con síntomas en diferentes etapas del desarrollo de la enfermedad.



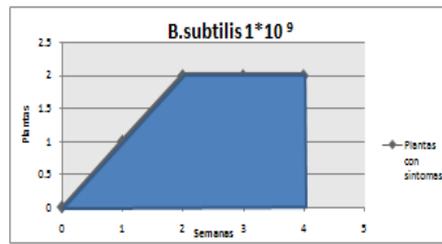
1^x



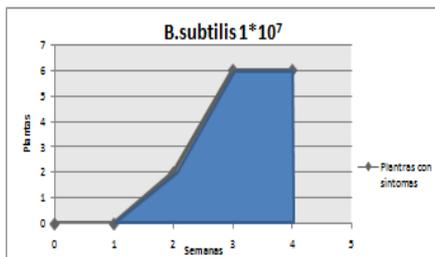
2



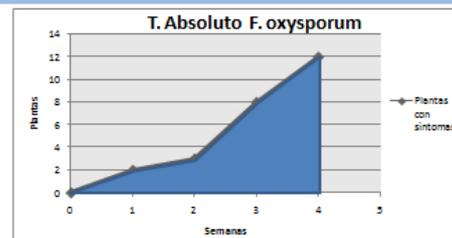
3



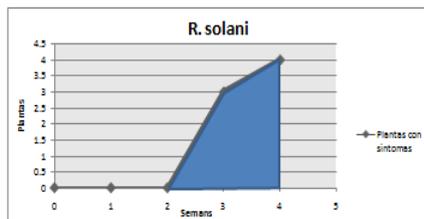
4



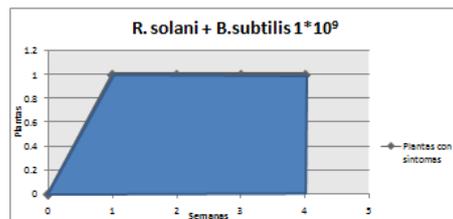
5



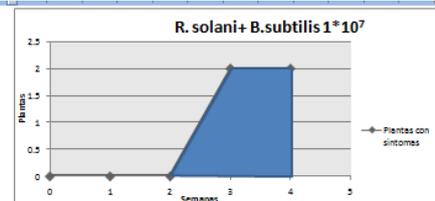
6



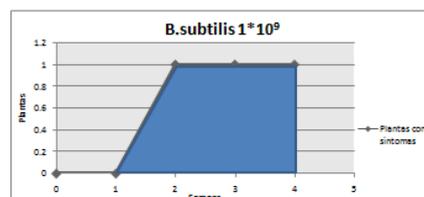
7



8



9



10

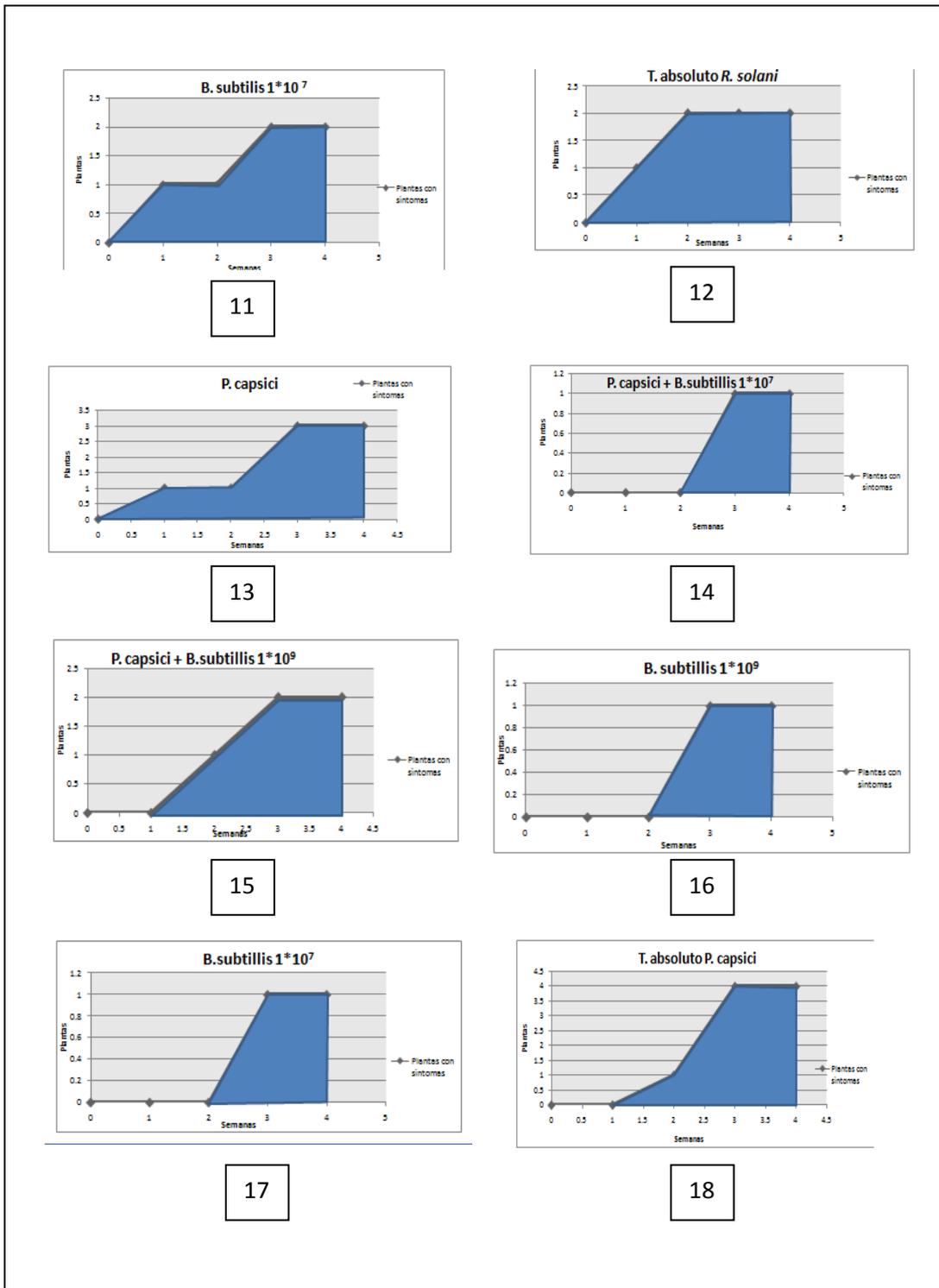


Figura 3. Representación del área bajo la curva del progreso de la enfermedad en plantas de Chile tratadas con diferentes agentes de control biológico.

× Tratamientos: consultar (Cuadro 1)

8.2.-Variables de respuesta en campo

Plantas totales finales

Seis meses después de haber sido trasplantadas y establecidos los tratamientos, se registró la tasa de mortalidad luego de la inoculación de *F. oxysporum*. En el cuadro 10 se explica el total de plantas muertas en cada tratamiento.

Cuadro 9. Plantas muertas en diferentes tratamientos con diferentes agentes de control biológico (valores transformados mediante la fórmula del el valor medio cuadrático)

Tratamientos	Repeticiones				Sumatoria	Promedios
	I	II	III	IV		
Testigo comercial	1.4	1.7	1.4	1.4	5.9	1.47
<i>B.subtilis</i> 1*10 ⁹	1.4	1.4	1.4	1	5.2	1.30
<i>T. harzianum</i> .	1.4	2	1.4	2.3	6.9	1.72
<i>B. subtilis</i> + <i>T. harzianum</i>	1.7	1.4	1	1.4	5.5	1.37
<i>H. longipes</i>	1.4	1	1.4	1.4	5.2	1.30
<i>Glomus. sp</i>	1.7	1	1	1.4	5.1	1.27

Se registraron más plantas con síntomas de pudrición de la raíz en las parcelas donde se estableció el tratamiento de *T. harzianum*, teniendo una sumatoria de 6.9 entre sus cuatro parcelas útiles con un promedio de 1.72 plantas enfermas, siendo el que menos control mostro sobre la enfermedad.

Para el caso de las plantas tratadas con *H. longipes* y *B. subtilis* se obtuvieron valores con una sumatoria de 5.2 entre sus cuatro parcelas útiles con un promedio de 1.30 plantas enfermas. Otro agente de control biológico que tuvo efecto similar a los anteriores fue el tratamiento con *Glomus spp.*, al tener una presencia de plantas con síntomas relativamente baja (5.1 total de la parcela) manteniendo un promedio de 1.27 plantas enfermas por parcela útil.

Incidencia de la enfermedad.

Los datos obtenidos se analizaron mediante un diseño experimental de bloques completos al azar (Cuadro 11); los resultados del ANOVA indican que no hubo diferencias en el número de plantas muertas por *F. oxysporum* independientemente del agente de control biológico empleado.

Cuadro 10. Número de plantas de chile muertas por *F. oxysporum* en parcelas tratadas con diferentes agentes de control biológico (Tukey 0.05%).

Tratamientos	Comparación de medias	Nivel de significancia
<i>T. harzianum</i>	1.76 ^x	a
Testigo comercial	1.49	a
<i>B. subtilis</i> + <i>T. harzianum</i>	1.38	a
<i>B. subtilis</i> 1*10 ⁹	1.30	a
<i>H. longipes</i>	1.30	a
<i>Glomusspp.</i>	1.28	a

x media de plantas de chile muertas por *F. oxysporum*

En el cuadro 11 se describen las condiciones de temperatura, humedad relativa y precipitación que se presentaron en campo durante el experimento. En general, las enfermedades de la raíz son más severas en condiciones de alta humedad en el suelo, por lo que en este experimento no se presentaron dichas condiciones, ya que el mes más lluvioso (Julio) apenas alcanzó 14.6 mm de precipitación.

Cuadro 11. Características agroclimáticas que se presentaron en el experimento de campo en Parras de la Fuente Coahuila.

Datos agroclimáticos del año 2011 en Parras de la Fuente Coahuila.				
Mes	Precipitación (mm)	Temperatura máxima (°C)	Temperatura mínima (°C)	Humedad relativa (%)
Marzo	+0	*27.6	*7.5	*28.4
Abril	.4	31.3	11.7	18.8
Mayo	.2	32	13.6	29.9
Junio	1.8	31.6	13.7	41
Julio	14.6	29.6	15.5	56.5
Agosto	9.2	31.1	15.2	50.6

+ mm Acumulados en el mes *promedios de los días del mes

DISCUSIÓN

De acuerdo con los estudios realizados en los últimos años se ha determinado que *P. capsici* es el único responsable de la marchitez en el cultivo de chile (Durán-Ortiz *et al.*, 2001)., aunque *F. oxysporum* y *R. solani* se manifiestan en la planta con una sintomatología muy parecida, sin embargo los resultados obtenidos por (Dominguez, 2002 y Guillen- Cruz, 2006) y en este trabajo muestran que *F. oxysporum* es el responsable bajo condiciones de invernadero, por ello se habla de una asociación de estos tres patógenos y se les vincula con la marchitez del chile para secado (Velásquez-Valle *et. al.*, 2001).

Al realizar pruebas en invernadero con *B. subtilis*, como agente antagónico a diferentes concentraciones contra tres patógenos asociados a esta enfermedad, se observó que esta bacteria a concentración de 1×10^9 mostró un control de 33.3 para *F. oxysporum*, 91.6 para *R. solani* y 83.3 % para *P. capsici*, siendo en los dos últimos donde se observa un mayor porcentaje de control. Por lo contrario, *B. subtilis* a una concentración de 1×10^7 alcanzó un 50, 83.3 , y 100 % de control respectivamente para plantas inoculadas con los patógenos mencionados anteriormente. Resultados similares han obtenido otros investigadores (Estela, 1993; Domínguez, 2002). Ambas

concentraciones obtuvieron resultados satisfactorios contra *R. solani* y *P. capsici*, aunque esta acción fue menos efectiva contra *F. oxysporum*. Con el resultado anterior se puede decir que esta bacteria tiene un potencial para ser usada como una alternativa más en el manejo de la marchitez del chile, la eficiencia de esta bacteria podría ser mucho mayor si se utilizara desde la producción de plántula, ya que tendría mucho mayor tiempo para colonizar las raíces de las plantas, antes de que el hongo pueda infectarlas.

En cuanto a los tratamientos que se establecieron en campo para la evaluación del efecto antagónico de las bacterias, hongos y extractos vegetales como agentes de control biológico, se determinó mediante un análisis de varianza que todos los tratamientos son estadísticamente iguales, probablemente la escasez de lluvias durante el ciclo de desarrollo del cultivo (Cuadro 12) contribuyó a que no se expresaran diferencias entre los tratamientos.

Los resultados anteriores apoyan la hipótesis propuesta en el sentido de que con el uso de hongos, bacterias y extractos vegetales se puede controlar el ataque de organismos fitopatógenos como los causantes de la pudrición de la raíz en el cultivo de chile, cumpliéndose con el objetivo planteado al inicio de la investigación.

CONCLUSIONES

Los tratamientos empleados en invernadero indicaron que *B. subtilis* demostró tener un efecto antagónico hacia aislamientos de *R. solani* y *P. capsici*; en cambio, su comportamiento hacia el aislamiento de *F. oxysporum* fue errático.

Respecto a los tratamientos empleados en campo para el control de *F. oxysporum*, la micorriza *Glomus sp*, mostró el mejor desempeño, seguido del extracto de *H. longipes* y de la bacteria *B. subtilis*.

RECOMENDACIONES

Se sugiere que se continúe investigando sobre el comportamiento de los agentes biológicos, tanto en campo como en invernadero en condiciones adversas al cultivo, con nuevas cepas de los patógenos y con nuevas variantes de los agentes de control biológico.

LITERATURA CITADA

- Abawi, G. S. and Pastor-Corrales, M. A. 1990 Root rots of beans in Latin America: Diagnosis, Research methodologies and management strategies. Centro Internacional de Agricultura Tropical. Cali, Colombia. 114p.
- Acree, F., Jacobson, M, and Haller.H. L. 1945. The estructura of affinin, the insecticidal amide from *e rigerumaffinis* D. C. Journal of Organic Chemistry.10:449-451
- Antoun H.and Presvost D. 2006.Ecology of Plant growth promoting rhizobacteria. *In* PGPR: biocontrol and biofertilization. Springer. Netherlands. pp 1-38.
- Bravo L., A. G. Cabañas B.C. Mena J. C. Velásquez V. R. Rubio D. S. Mojarro D. F. y Medina G. G. 2002. Guía para la producción de chile seco en el Altiplano de Zacatecas. Secretariade Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, INIFAP CEZAC. Calera de V. R. Zac., México. (Publicación técnica numero 1) pag.8-15

Butt, T. M., Harris, J. G., Powell, K. A. 1999. Microbial biopesticides: the European scene. In "biopesticides. Use and delivery". Eds. F. R. Hill and J. J. Menn. Humana Press, NJ. pag. 23-44.

Casarubias, C.U. 1992. Evaluación de la eficiencia de *B. subtilis* para el control de marchitamiento del chile (*Capsicum annuum* L.) en condiciones de invernadero pag: 38-40.

Casarrubias, U. y Frias, G. A. 1992. Evaluación de la eficiencia de *Bacillus subtilis* para el control de marchitez del chile en condiciones de invernadero. Memorias del XIX Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología. Saltillo, Coahuila., México. Ago 19-21. p. 165. DGSV, MEXICO

Cabañas C., B. 2002. New breeding lines of "Mirasol and Ancho" types peppers (*Capsicum annuum*) from Zacatecas, México. In: 16th International Pepper Conference. pp. 46-47.

Campos, A. J. 1991. Enfermedades del frijol. Ed Trillas. México. P. 154-167

Chew, M. Y. L., Gaytán, M. A. y Palomo R. M. 2007. Control químico de la marchitez del chile (*Capsicum annuum* L).

Durán Ortiz L.J., Pérez-Moreno, L. Sanchez-Pale. J.R. y Olalde- Portugal, V. 2001. Identificación de los hongos que ocasionan la "marchitez del chile en la región del Bajío. Memorias del

XXVIII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología. Querétaro, Querétaro, México. F-13.

Domínguez A. O. 2002. Evaluación de extractos vegetales y microbiológicos en el combate de microorganismos fitopatógenos del cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.) Tesis de licenciatura en Ingeniero Agrónomo Parasitólogo. UAAAN. Buenavista, Saltillo. Coahuila, México, p 62

Galileo, R. G. 1996. Descripción matemática de epidemias. Manejo integrado de plagas 40:35-39.

Galindo G., Mena C. J. y Cabañas C. B. 2006. Uso de tecnología en el cultivo de chile en Zacatecas, México, y factores que influyen en su aplicación. Revista Fitotecnia Mexicana.

González, V., Frago, S. 2002. *Bacillus subtilis*. (en línea). Disponible en www2.cbm.aum.es/microali/pdfs/Bsubtilis.pdf. pag. 20.

Guillen-Cruz R., Hernández Castillo F. D., Gallegos Morales G. 2006. *Bacillus spp* como biocontrol en suelo infestado con *F. oxysporum*, *R. solani*, *P. capsici* y su efecto en el desarrollo y rendimiento del cultivo de chile (*Capsicum annuum*). Revista Mexicana de Fitopatología pag.105

- Hernández, M. I. 2001. Las micorrizas arbusculares y las bacterias rizosfericas como complemento de la nutrición mineral del tomate (*Lycopersicum esculentum* Mill). Tesis de maestría INCA.
- Little, E. 1948. El chilcuague (*Heliopsis longipes*) Planta insecticida. Boletín de la Sociedad Botánica de México 7: 23-27.
- Messiaen, C.M. y Lafon, R. 1968. Enfermedades de las hortalizas. Oikos-Tau, S.A Barcelona p. 157.
- Martin, P.W. and Travers, R. S. 1989. Worldwide abundance and distribution of *Bacillus thuringiensis* isolates. Applied and Environmental Microbiology 55: 2437-2442.
- Morgan, F.L. 1963. Infection inhibition and germ-tube lysis of three cereal rusts by *Bacillus pumilus*. Journal of Bacteriology 53: 1346- 1348.
- Meadows, M.P., D.J. Ellis, J. Butt., P. Jarret y H.D. Burges (1992). Distribution, frequency, and diversity of *Bacillus thuringiensis* in animal feed mill. *Applied and Environmental Microbiology* 58: 1344- 1350.
- Mendoza Z. C. y López, A. G. 1990. Diagnostico de enfermedades fungosas de hortalizas. Departamento de Parasitología Universidad Autónoma Chapingo. Chapino, México. P. 85

- Miller, R. M. y Jastrow, J. D. 2000. Mycorrhizal fungi influence soil structure. En *Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function* (Y Kapulnik y DD Douds Jr, eds), Kluwer Academic Publishers. Printed in the Netherlands. p 3-18
- Osburn, R.M., J.L. Milner., E.S. Oplinger., R.S. Smith and Handelsman, J. 1995. Effect of *Bacillus cereus* UW85 on the yield of soybean at two field sites in Wisconsin. *Plant Disease* 79: 551-556.
- Parra González M. 2011 residente estatal de FIRA en Zacatecas. La red de valor del chile seco en Zacatecas. El economista.mx
- Pérez M. L., A.S. Casillas B. y R. Ramírez M. 2005. El cultivo del chile y su importancia económica en el norte de Guanajuato, México. Primera edición. Universidad de Guanajuato. Instituto de Ciencias Agrícolas. México pag: 109
- Pozo C., O.; S. Montes H. y E. Rendón J. 1991. Avances en el estudio de los recursos filogenéticos de México, Sociedad Mexicana de Fitogenética, AC. Chapingo, México
- Podile, A.R., and Laxmi, V.D.V. 1998. Seed bacterization with *Bacillus subtilis*. A Fi increases phenylalanine ammonialyase and reduces the incidence of fusarial wilt in pigeonpea. *Journal of Phytopathology* 146: 255-259

- Ramos Hernández M.M. 2011. *Bacillus subtilis* producción de fracciones péptidas antimicrobianas y promotoras de crecimiento vegetal de tomate. Tesis de Maestría UAAAN.
- Rincón, V. J. F. y Velásquez, V. R. 1999. Reacción de genotipos de chile (*Capsicum annum*L.) a pudriciones radicales en Zacatecas. Horticultura Mexicana 7:130.
- Reedy, M.S. y J.E. Rahe 1989. *Bacillus subtilis* B-2 and selected onion rhizobacteria in onion seedling rhizospheres: effects on seedling growth and indigenous rhizosphere microflora. *Soil Biology and Biochemistry* 21: 379-383.
- Romero, C. S. 1998. Hongos fitopatógenos. Universidad Autónoma de Chapingo. Chapingo, México.
- Rytter, J.I., F.L. Lukezic., R. Craig and G.W. Moorman 1989. Biological control of geranium rust by *Bacillus subtilis*. *Phytopathology* 79: 367-370.
- SIAP. 2010. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Anuario estadístico de la producción agrícola <http://www.siap.gob.mx>
- Sosa-Moss. C., Perdomo R. F., Chelston W.D. y Salazar Cruz J.J. 1997. Manual de técnicas para el diagnóstico de las enfermedades de las plantas/diagnostico fitosanitario II IICA/México. pag. 36-51

Schaad N.W., Jones J. B. and Chun W. 2001. Laboratory guide for identification of Plant pathogenic bacteria. pag. 250-256

Smith, R.A. and G.A. Couche (1991). The phylloplane as source of *Bacillus thuringiensis* variants. *Applied and Environmental Microbiology* 57: 311-315.

Steel, R. G.D. and Torrie, J. H. 1986. Bioestadística: principios y procedimientos. Mc Graw-Hill. México. pag: 622.

Velasquez-Valle. R., Medina-Aguilar, M. M., y Luna-Ruiz. J. J., 2001. Sintomatología y géneros de patógenos asociados con las pudriciones de la raíz del chile (*Capsicum annuum* L.) en el Norte-Centro de México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 19: 175-181

Velásquez–Valle, R. y Medina-Aguilar. M. M. 2003. Patogenicidad de aislamientos de *Rizhooctonia spp.* Sobre plántulas de chile (*Capsicum annuum* L.) y frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). *Revista Mexicana de Fitopatología* 21: 79-82.

Velásquez V. R., Bravo L., A. G.; B. Cabañas C.; J. Mena C.; R.; S. Rubio D.; F. Mojarro D. y G. Medina G. 2002. Guía para la producción de chile seco en el Altiplano de Zacatecas. SAGARPA. INIFAP CEZAC Calera de V. R. Zac., México. (Publicación técnica numero 1).

Velásquez-Valle. R., Medina-Aguilar. M. M. y Macías-Valdez. L. M. 2003.

Reacción de líneas avanzadas de chile (*Capsicum annuum* L)
provenientes de Zacatecas a enfermedades comunes en
Aguascalientes, México. Revista de Fitopatología 21: 71-74.

Waller, D.M. 1988. Biological control of soilborne plant pathogens in the
rhizosphere with bacteria. Phytopathology 26: 379-407.

Waggoner, E. 1986. Progress curves of foliar diseases: Their
interpretation and use. *In*: Plant diseases epidemiology (J.K.
Leonard and E.W. Fry, eds) McMillan Publishing, USA.

Walker, J. C. 1965. Patología vegetal. Omega. Barcelona p. 818

Anexos

Cuadro A. 1.- Croquis del invernadero

F.o

1 T.o	3*	5*	7 E	9°	11	13 Bs7	15	17	19	21	23E	25 Bs9	27E	29	31	33	35
2	4	6	8	10	12E	14E	16	18	20	22	24	26*	28	30	32E	34	36
71 Fus.	69E	67	65*	63	61*	59 F.Bs9	57	55	53E	51	49	47 F.Bs7	45	43E	41	39	37E
72*	70*	68	66E	64	62*	60	58E	56*	54*	52	50	48	46	44	42	40	38

R.s

1 Bs7 E	3°	5	7E	9*	11E	13 T.o	15	17	19	21	23E	25 Bs9	27	29E	31	33	35
2	4	6	8	10	12	14	16	18E	20	22	24	26	28E	30	32	34	36

71 R.Bs7	E 69	67	65	63	61	59 R.Bs9	57	55E	53	51	49E	47 Rhz.	45E	43	41	39	37
72	70	68	66	64	62E	60	58	56	54	52	50	48	46	44	42E	40	38

P.c

1 P.B.s9	3E	5	7	9	11	13 P.Bs7	E 15	17	19	21	23	25 Phy	27	29	31E	33	35
2	4	6	8	10E	12	14	16	18	20E	22	24	26	28	30*	32	34E	36

71 T.o	69E	67	65E	63	61	59 B.s7	57	55	53	51E	49	47E B.s9	45	43	41	39	37
72	70	68	66	64	62	60	58	56E	54	52	50	48	46	44	42E	40	38

Cuadro A. 2.- Croquis de campo

p6 r1 M. glomus sp.	p7 r2 B. subtilis	p18 r3 M. glomus sp.	p19 r4 T. commercial
p5 r1 T. comercial	p8 r2 B. subtilis + T. harzianum	p17 r3 T. harzianum	p20 r4 B. subtilis + T. harzianum
p4 r1 T. harzianum	p9 r2 M. glomus sp.	p16 r3 T. comercial	p21 r4 E. heliopsis
p3 r1 B. subtilis + T. harzianum	p10 r2 E. heliopsis	p15 r3 B. subtilis	p22 r4 M. glomus sp.
p2 r1 B. subtilis	p11 r2 T. comercial	p14 r3 B. subtilis + T. harzianum	p23 r4 T. harzianum
p1 r1 E. heliopsis	p12 r2 T. harzianum	p13 r3 E. heliopsis	p24 r4 B. subtilis

Cuadro A. 3.- Fotografías de la escala arbitraria para la evaluación de severidad

1; marchitez temporal y clorosis ligera



2; clorosis marcada y marchitez temporal



3; pérdida de estructuras reproductivas y maduración irregular de los frutos



4; marchitez total o parcial de las plantas

