

**UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO**

SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO

**USO DE RIZOBACTERIAS PARA EL CONTROL DE HONGOS
FITOPATÓGENOS Y PROMOCION DE DESARROLLO EN PLANTAS**

TESIS

POR

CATALINA CHAVEZ BETANCOURT

**Elaborado bajo la supervisión del comité particular de asesoría y
aprobada como requisito parcial para obtener el grado de:**

**MAESTRO EN CIENCIAS
EN PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA**

COMITE PARTICULAR

Asesor principal: _____
Dr. Alberto Flores Olivas

Asesor: _____
Mc. Abiel Sánchez Arizpe

Asesor: _____
Dr. Víctor Olalde Portugal

Dr. Jerónimo Landeros Flores
Subdirector de Postgrado
Buenavista, Saltillo, Coahuila, 2005.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro por recibirme y brindarme la oportunidad de formarme profesionalmente en esta maestría

A mi comité de asesores por su apoyo incondicional durante el desarrollo de esta investigación

Especialmente al Dr. Alberto Flores Olivas, Dr. Victor Olalde Portugal por su gran ayuda y disponibilidad brindada para la culminación de la tesis.

Al Dr. Francisco Daniel Hernández por su amistad y apoyo recibido.

A mis amigos Raquel Guillen, Valentín Santiago, Lilia Cruz, Artemiza Bernal, Blanquita y Cristo por su amistad y apoyo incondicional durante mi estancia en el posgrado.

DEDICATORIA

A Dios por brindarme la oportunidad de vivir y darme su bendición donde quiera que me encuentre.

A mis padres Clara Betancourt de Chávez y Fabio Chávez Sarmiento por su apoyo, cariño y confianza brindada durante toda mi vida.

A mis hermanos Ana Maria y Juan Carlos por su cariño, apoyo y comprensión a pesar de estar tan lejos y por el hecho de ser mis hermanos.

A mi cuñada Doris Janeth por su amistad, apoyo y consejos brindados y por ser la mejor amiga que tengo.

A mis sobrinas Natalia y Valentina por ser la luz de la familia.

A mi esposo Adalberto por su amor, apoyo, paciencia y motivación brindado para alcanzar este logro.

A la niña mas hermosa, mi hija Mariana, por ser la luz que ilumina mi vida.

COMPENDIO

Uso De Rizobacterias Para El Control De Hongos Fitopatógenos Y Promoción De Desarrollo En Plantas POR

CATALINA CHAVEZ BETANCOURT

MAESTRIA EN PARASITOLOGIA AGRÍCOLA, UNIVERSIDAD AUTONOMA
AGRARIA ANTONIO NARRO; BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA.
JULIO 2005

Dr. Alberto Flores Olivas -Asesor-

Palabras claves: Biocontrol, *Bacillus subtilis*, Rizosfera.

Gran número de microorganismos tienen un efecto benéfico en el control de patógenos y en el desarrollo de las plantas cuando son incorporados al suelo. Es por esto que el presente trabajo consistió en caracterizar, identificar, evaluar la actividad antifúngica y promoción de crecimiento de plantas con dos cepas de aisladas de la rizósfera de vainilla y manzano. La identificación bioquímica y molecular de estas dos cepas determinaron que se trataba de *Bacillus subtilis* ; la caracterización de estas cepas mediante una curva de crecimiento en dos medios infusión papa agar (IPA) e Infusión papa agar sacarosa (IPAS) mostró que en IPAS obtuvo una tasa de crecimiento mas rápida que en IPA, además, el tiempo de generación fue mas corto en IPAS. En el antibiograma realizado a estas bacterias se observo resistencia y sensibilidad a diferentes antibióticos. Se determino que estas cepas de *B. subtilis* presentan una actividad enzimática tales como proteasas, amilasas y caseína. En cuanto a el o los compuestos responsables de la actividad antagonica mediante la cromatografía en capa fina (TLC) se observo que las bandas obtenidas mostraron un 39.42 % de inhibición frente a *Fusarium* sp.,

Se determino la presencia de sideróforos en las dos cepas de *B. subtilis* , el cual es uno de los mecanismos de acción que poseen estas bacterias para el control de fitopatógenos. Los resultados obtenidos para la actividad antifúngica de las cepas de *B. subtilis* alcanzaron un promedio de 26.51 % de inhibición del crecimiento por ambas cepas contra *Fusarium* sp., *Verticillium* sp., *Cephalosporium* sp. y *Dematophora* sp., siendo la cepa LPM1 la que logro un 39.3 % de inhibición frente a estos hongos. Además, en las pruebas para evaluar la promoción de crecimiento en plantas de sorgo y frijol se observo una estimulación en el desarrollo de estas plantas con las dos cepas de *B. subtilis* ya que éstas alcanzaron mayor grosor, longitud y peso, con respecto al testigo. La cepa *B. subtilis* (LPM1) estimuló en mayor grado el crecimiento de Sorgo y frijol, ya que mostró valores superiores en longitud, peso de la raíz y peso fresco, aunque se comportó estadísticamente similar al tratamiento con *B. Subtilis* LPM2.

COMPENDIUM

USE OF RHIZOBACTERIA FOR THE CONTROL OF PATHOGEN FUNGI AND PLANT GROWTH PROMOTION.

BY

CATALINA CHAVEZ BETANCOURT

MASTERSHIP IN AGRICULTURE PARASITOLOGY, UNIVERSIDAD
AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO; BUENAVISTA, SALTILLO,
COAHUILA.

JULY 2005

Dr. Alberto Flores Olivas -Asesor-

Key words: Biocontrol, *Bacillus subtilis*, Rhizosphere.

Considering the beneficial effects some microorganisms have controlling plant pathogens, the present work was aimed to identify, characterize and evaluate the antifungal activity and plant growth stimulation by using two bacterial strains isolated from vanilla and apple. Biochemical and molecular analysis applied to these strains identified specifically *Bacillus subtilis* as the organism isolated from these crops. A growth rate curve was developed to characterize the two strains of *B. subtilis* by using Potato Agar Infusion (PAI) and Potato Sacharose Agar Infusion (PSAI). It was observed that the growth rate in PSAI was faster than in PAI for both strains, additionally en PSAI the generation timing was shorter than the latter one. Results from an antibiogram made to these strains revealed resistance and sensitivity to different antibiotics. It was determined these *B. subtilis* strains showed enzymatic activity by using proteases, amylases and caseinases.

Regarding the putative antagonistic activity of the strains, it was observed on bands from Thin Layer Chromatography (TLC) that 39.42% of *Fusarium* spp. was inhibited. Sidephores presence, an indicator of a mechanism action against phytopathogens, was detected on both strains. Antifungal activity in both strains of *B. subtilis* had an average of 26.51% of inhibitory activity against strains of *Fusarium* spp., *Verticillium* spp., *Cephalosporium* spp and *Dematophora* spp. The strain LPM1 developed 39.3% of inhibitory activity against these fungi. Tests were done to evaluate growth stimulus on beans and sorghum plants. Wider and longer stems, and heavier weight comparing with the checking plants were observed when applying both *B. subtilis* strains. The strain LPM1 stimulated the plants in higher growing rate than the other strain tested. The evaluation resulted in higher scores of stem length, root weight and fresh weight, yet LPM1 was statistically similar to the *B. subtilis* LPM2 strain.

CONTENIDO	Pag
INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVOS	4
REVISIÓN DE LITERATURA	5
Historia e importancia del control biológico	5
Control Biológico	6
Ventajas y desventajas del control biológico	7
Ecología de las bacterias	8
Uso de las comunidades microbianas del suelo y la rizosfera	8
Agentes de control biológico	11
Bacillus subtilis	12
Características morfológicas	13
Características fisiológicas	13
Mecanismos de acción del control biológico	13
Competencia	14
Parasitismo	14
Antibiósis	15
Factores que afectan el control biológico	15
Cinéticas de crecimiento	17
Fases de crecimiento	18
Factores limitantes y favorables a la microbiota del suelo	21
Asociación planta-microorganismo	22
Características de las PGPR	23
Mecanismos de acción de las PGPR	23
Promoción indirecta del crecimiento de plantas	24
Promoción directa del crecimiento de plantas	25
Colonización de las PGPR	26
Reguladores de crecimiento producidos por PGPR	27
Producción de auxinas por PGPR y su efecto en el desarrollo del sistema radicular.	28
ARTICULO	30
CONCLUSIONES GENERALES	52
LITERATURA CITADA	54
APÉNDICE	65

INTRODUCCIÓN

Las causas más comunes en la baja producción agrícola son el crecimiento deficiente de plantas y la destrucción de cosechas por factores bióticos y abióticos. Entre las causas más de origen biológico se encuentran las malas hierbas, plagas de insectos y microorganismos fitopatógenos. Cada año las enfermedades de plantas ocasionadas por patógenos tales como hongos, bacterias, nematodos o virus disminuyen la producción en los cultivos en todas las áreas del mundo, por lo que las pérdidas económicas derivadas de la agresión biológica a los cultivos agrícolas son considerables y su prevención y erradicación son una tarea prioritaria.

Existen diversos métodos para lograr el control de las enfermedades de las plantas, sin embargo, los plaguicidas y otros químicos agrícolas son ahora ampliamente usados por todo el mundo con la intención de mejorar la producción de cultivos (Kreewsk y col., 1982), estimando que tan sólo en el control químico de insectos y hongos fitopatógenos se invierten 8.7 billones de dólares anualmente (Shah, 1995).

El empleo de los plaguicidas va acompañado de ciertas desventajas que han sido evaluadas, éstas incluyen los riesgos de intoxicación para cualquiera que este involucrado en la cadena de distribución y utilización del producto, además de la toxicidad del compuesto hacia organismos no involucrados. Con relación a este punto, se han realizado diversos estudios que reflejan dicho efecto (EPA, 1999., Krieger y Ross, 1992., Mushak y Piver, 1992. Por ejemplo en Poison Center Children's Hospital de Omaha se reporto que los plaguicidas usados en el sector agrícola son los responsables del 4.6 % de los accidentes reportados por exposición a los mismos (Schulze y col., 1997). Otra desventaja es la contaminación del agua, las EPA ha detectado más de 132 compuestos relacionados con plaguicidas en depósitos de agua en por lo menos 42 estados

de los estados Unidos (Umsted y Spalt,1999). Además, el uso de estos productos tienen una efectividad limitada y en el caso particular de los funguicidas se ha detectado el desarrollo de aislados patógenos con resistencia a uno o más funguicidas *e.g* cepas de *Botrytis cinerea* son resistentes a benzimidazol y dicarboximida, funguicidas comúnmente usados para el control de las enfermedades causadas por este hongo (Korsten y col., 1995, Moorman y Lease, 1992). Otra de las maneras que se pueden utilizar para el control de las enfermedades es el control biológico, el cual parece ser que logra disminuir o reducir el uso de agroquímicos, además, es una alternativa más económica y menos impactante ecológicamente. Así mismo, el biocontrol se ha desarrollado con el interés de abatir los efectos tóxicos intrínsecamente relacionados con el uso de plaguicidas (Erceg y col., 1990).

A pesar de la gran cantidad de información existente en torno al problema del control biológico de plagas agrícolas, existen enfoques que no han sido estudiados a profundidad , como ejemplo, el conocimiento y papel de ,os determinantes antagónicos , el conocimiento de las mejores condiciones de crecimiento del agente antagónico, así como la caracterización de los mismos. Es por todo esto que este trabajo va enfocado a obtener información sobre la efectividad biócontroladora de cepas de *B. subtilis*, caracterización de las mismas.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Detectar el potencial de control biológico y promoción de desarrollo en plantas de bacterias de la rizosfera.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

Identificar 2 cepas bacterianas aisladas de la rizosfera de manzano y vainilla.

Caracterizar fisiológicamente las cepas bacterianas aisladas.

Evaluar las cepas bacterianas contra los microorganismos fitopatógenos de manzano.

Evaluar la capacidad promotora de crecimiento de las cepas bacterianas aisladas en frijol y sorgo.

REVISIÓN DE LITERATURA

Historia e Importancia del Control Biológico

El control biológico ha surgido en las últimas décadas como una alternativa para controlar fitopatógenos y principalmente han sido orientadas principalmente al control de patógenos habitantes del suelo (rizósfera). El control biológico de fitopatógenos se ha enfocado mediante antagonistas residentes o nativos y mediante la introducción de antagonistas (Andrew,1992). Algunos ejemplos son: *Agrobacterium radiobacter*, *Phlebia gigantea*, *Trichoderma sp.*, *Chondrostereum purpureum*, *Endothia parasitica*, *Pseudomonas fluorescens*, *Verticillium malthoseiu*, y *Pythium oligandrum* (Zavaleta *et al.*, 1992). En México son muy pocas las investigaciones que se han realizado sobre control biológico de fitopatógenos mediante microorganismos antagonistas. La mayoría de estas investigaciones han sido efectuadas en laboratorio o invernadero y muy pocos en campo. En la mayoría de los casos el modo de acción de los microorganismos con actividad de biocontrol ha sido la producción de metabolitos con actividad antibiótica, entre ellos, el genero *Bacillus* es un promisorio candidato, ya que se caracteriza por sintetizar péptidos con actividad antibacteriana y antifúngica. Una de las alternativas es el uso de bacterias como agentes de control biológico dada la diversidad genética de *Bacillus*, tanto en el suelo como en la rizósfera, se les considera como colonizadores eficaces (Kin *et al.*,1997). Uno de los usos de *B. subtilis* como agente de control biológico es mediante el tratamiento de semillas. Su efecto benéfico cuando se aplica junto a las semillas o en forma individual no se debe exclusivamente al antagonismo con los patógenos sino que influye positivamente en la germinación, desarrollo y rendimiento del cultivo debido a la producción de sustancias promotoras del crecimiento y al mejoramiento de la nutrición de las plantas.

Control Biológico.

Debido a que la rizósfera ofrece la primera línea de defensa contra el ataque de patógenos, se considera que los microorganismos que crecen ahí son excelentes para usarse en programas de control biológico, pues el amplio espectro de actividad antagónica de varios microorganismos contra patógenos de plantas hacen que estas especies sean buenos candidatos (Podile and Prakash, 1996).

El control biológico de fitopatógenos se puede definir de acuerdo a Cook (1985) como la reducción en la densidad del inóculo o de la actividad productora de la enfermedad de un patógeno en su estado activo o dormante por uno o más organismos, realizado de manera natural o por la manipulación del medio ambiente, hospedero o antagonista.

La producción de actividad de la enfermedad involucra crecimiento, infectividad, agresividad, virulencia y otras cualidades del patógeno o procesos que determinan la infección, desarrollo de síntomas y reproducción. Los microorganismos incluyen individuos avirulentos o hipovirulentos, plantas manipuladas genéticamente, por prácticas de cultivo o con microorganismos más efectivos a resistencia contra patógenos y antagonistas del patógeno.

Ventajas y desventajas del control biológico.

El empleo del control biológico ofrece ciertas ventajas en comparación con la aplicación de químicos. Los métodos de control biológico pueden ser empleados como parte de programas de manejo integrado para reducir el uso de químicos, así como lograr una reducción del daño ambiental y mejora de la calidad del agua, incrementando la seguridad de la salud pública. La aplicación coordinada de agentes de control biológico con plaguicidas puede reducir las acciones deletéreas de microorganismos competitivos y puede además aumentar la producción de cultivos debido al posible efecto de promotores de crecimiento de los biocontroladores. Estudios con *Brassica napus* tratadas con bacterias tolerantes a fungicidas químicos combinadas con

estos, aumentaron la emergencia de plántulas en presencia de *Rhizoctonia solani*; este efecto puede ser debido a los efectos aditivos de promotores de crecimiento y el control de la enfermedad (Taylor and Harman, 1990; Zablotowicz *et al.*, 1992). En *Pisum sativum*, una combinación de *Bacillus subtilis* más Carboxin y Thiran provee un control superior de *R. Solani* comparado con el control químico o biológico actuando por si solos (Mathre *et al.*, 1995).

Con el uso de biocontroladores, otros organismos útiles, animales o personas no resultan afectados, logrando que estos presenten un peligro menor en el impacto ambiental y la calidad del agua. Sin embargo, también se presentan ciertas limitantes en el uso del control biológico, ya que este requiere de mayor investigación. La propiedad de especificidad del biocontrol puede a su vez ser considerada como una desventaja (Lark, 1995).

Ecología de las bacterias

La densidad bacteriana en la rizosfera es enorme. Los cálculos por método en placa sobre medio de cultivo con frecuencia proporcionan valores mayores de 10^9 por gramo de suelo de la rizosfera. Las bacterias que reaccionan a la presencia de las raíces pertenecen a varios grupos taxonómicos, fisiológicos y morfológicos claramente diferentes, los que responden mas marcadamente son los bacilos cortos gram-negativos, que, casi invariable ocupan el mayor porcentaje de la rizosfera comparado con la flora normal del suelo. Mientras que el porcentaje de incidencia de los cocobacillos y *Bacillus* spp disminuye ligeramente (Martín., 1980).

Uso de las comunidades microbianas del suelo y la rizosfera.

El suelo es un componente crítico en la estructura y función de los agroecosistemas, por lo tanto, su estabilidad depende en gran parte del manejo apropiado de la comunidad microbiana. Un desbalance puede significar un incremento de enfermedades causadas por patógenos presentes en el suelo como *Fusarium* spp., *Phytophthora* spp., *Pythium* spp., *Rhizoctonia solani*, *Verticillium* spp. Las principales fuentes de control biológico conocidas en la microbiota del suelo son *Trichoderma* spp. y *Gliocladium* spp., así como los hongos micorrízicos y las rizobacterias benéficas.

La microflora del suelo se desarrolla alrededor de las raíces de las plantas, ésta es estimulada por la presencia de exudados radicales y otros elementos que aporta el hospedante. Los sistemas radicales de las plantas son los responsables de la microflora presente en el suelo (Miller *et al.* 1989). Dada la naturaleza heterotrófica de los microorganismos, la planta se constituye en la principal fuente de materia prima del sistema suelo-planta. La actividad microbiana, en el ámbito de la rizosfera, desempeña un papel muy importante en el desarrollo de una serie de actividades que repercuten en el crecimiento de la planta; gracias al establecimiento de estos organismos existe la disponibilidad de elementos minerales, relaciones simbióticas benéficas y el control biológico natural de organismos plaga habitantes del suelo (Ferrera-Cerrato 1995).

En este microcosmos encontramos una serie de entes vivientes que interactúan entre sí como es el caso de los actinomicetos, organismos patógenos (hongos, bacterias, nematodos) bacterias solubilizadoras de fosfatos y organismos fijadores de nitrógeno, entre otros. Las interacciones que se producen entre estos organismos serán determinantes para la calidad de los agroecosistemas y la colonización de organismos parásitos y simbiotes (Lynch and Bragg 1985, Smil 1991).

Uno de estos simbiotes, la micorriza, ocurre entre el micelio de un hongo y la raíz de una planta. Esta simbiosis desempeña un papel trascendental en la

nutrición vegetal, la absorción de agua, la tolerancia a condiciones de estrés y a patógenos edáficos (Azcón and Barea 1996).

Las interacciones bióticas con estos simbioses del suelo, tanto positivas como negativas, ejercen una influencia preponderante sobre la dinámica del ecosistema. Así, por ejemplo, los consumidores macroinvertebrados tienen un efecto positivo neto sobre los hongos e indirectamente afectan la producción primaria, como vectores de sus esporas (Rabatin and Stinner 1989).

A las bacterias de la rizosfera que colonizan las raíces se les conoce como "rizobacterias" (Schroth and Hancock 1982). Las rizobacterias pueden ejercer uno de los siguientes tipos de efectos en la planta hospedante: nocivo, neutral o benéfico. Los efectos generales de las rizobacterias benéficas son de dos tipos: promoción del crecimiento de la planta y como agentes de control biológico (Kloepper and Schroth 1981).

Las rizobacterias, además de promover el crecimiento de la planta, reducen la actividad de los hongos y bacterias patógenos en el rizoplasma. Tal promoción indirecta del crecimiento puede ser considerada como control biológico, aún cuando esto no necesariamente está asociado con control de patógenos parásitos de la planta (Kloepper and Schroth 1981).

El análisis de la información disponible sobre el control biológico de patógenos de la raíz, llevaron a Gilbert *et al.* (1994) a introducir la idea de un mecanismo de escape al patógeno mediante el "camuflaje de la raíz". El fundamento es que cuando la población microbiana (*Bacillus cereus*) de la rizosfera es similar a la del suelo, la raíz es menos atractiva para los patógenos. Este fenómeno se presentó en los cultivares resistentes.

Si en la producción y uso de compost no solo se procura el mejoramiento de las condiciones del suelo, sino también es proporcionar un vehículo de control

biológico de los patógenos más importantes presentes en la microflora, se deben considerar dos condiciones esenciales: la naturaleza del sustrato usado y el enriquecimiento del compost con agentes de control biológico, una vez que este alcanza la fase de curado y la temperatura es menor de 40°C (Hoitink *et al.* 1997, Hoitink and Boehm 1999).

Agentes de control biológico.

Aunque los agentes microbiológicos incluyen virtualmente todas las clases de organismos (hongos, bacterias, nematodos, protozoarios y virus) las bacterias y hongos son los que han sido utilizados principalmente para el control biológico. Diversos trabajos han demostrado el efecto de la supresión de la enfermedad con agentes antagónicos contra hongos fitopatógenos, sin embargo son pocos los agentes que resultan ser exitosos para el biocontrol al ser transferidos del laboratorio al campo o ambientes post-cosecha y por lo tanto no pueden ser comercializados. El primer éxito en la comercialización de una bacteria antagónica ocurrió a principios de los 70 s con la aplicación de *Agrobacterium radiobacter* K-84, la cual es efectiva contra la agalla de la corona producida por *Agrobacterium tumefaciens*. Otro ejemplo, es la aplicación de cepa de *B. subtilis* A-13, la cual fue aislada de micelio lisado de *Scletium rolfsii*, dicha preparación mostró capacidad inhibitoria contra ciertos fitopatógenos además de actuar como promotora de crecimiento para muchas especies de plantas (Séller, 1988). Aproximadamente 20 géneros bacterianos han mostrado su potencial antagónico contra numerosos fitopatógenos (Baker and Cook, 1974).

Bacillus subtilis

Este tipo de bacterias son fácilmente encontradas en suelo, en la filosfera de las plantas, en agua dulce, heno y polvo (Kim *et al.*, 1997).

Características Morfológicas

La célula tiene forma 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 μ por 1 μ , poseen flagelación períttrica, forma endosporas ecuatoriales, sub terminales, ovaes, con dimensiones de 1.2 μ por 0.6 μ , que germinan lateralmente y son tolerantes a la ebullición (Alexander., 1980).

Características Fisiológicas

La temperatura óptima para su desarrollo es de 37° C, es aeróbica y anaeróbica facultativa, capacidad baja de producción de ácido sulfhídrico, no forma indol, dependiendo del sustrato, produce una diversidad de compuestos antibióticos y aminoácidos (Bryan., 1974). Esta especie se encuentra entre los organismos más frecuentes que aparecen cuando se siembran muestras de tierra en placas de agar que contienen varios nutrientes. Son formadores de esporas termoestables. Estas bacterias producen por lo general muchas enzimas hidrolíticas extracelulares que descomponen polisacáridos, ácidos nucleicos y lípidos. También producen antibióticos como 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

Mecanismos de acción del control biológico.

El conocimiento en los modos de acción y fisiología del antagonista es importante ya que podría ayudar a explicar porque las actividades del biocontrol pueden ser considerables y como llegar a justificar su utilización. De acuerdo a los modos de acción por los cuales opera el control biológico, se proponen de manera general tres mecanismos: competencia, parasitismo y antibiosis (Chet *et al.*, 1990).

Competencia.

La competencia entre organismos por nutrientes o por elementos esenciales, puede resultar en el desplazamiento del patógeno (Show and Paulitz, 1993), ejemplo de ello es la presencia de sideróforos. Kloepper, (1980), fue el primero en demostrar la importancia de los sideróforos en el mecanismo de control biológico. Estos compuestos median la cantidad de hierro (Fe^{+3}) en la rizosfera privando de este ion al patógeno y de esta manera suprimen su crecimiento. Muchos reportes han sido publicados mostrando el papel de los sideróforos en la supresión de diversos fitopatógenos (Chet *et al.*, 1990, Guerinot, 1994, Neiland, 1984).

Parasitismo.

Un segundo modo de acción del control biológico lo constituye el parasitismo, el cual opera por la acción de enzimas extracelulares degradativas tales como quitinasas (Chrning *et al.*, 1995, Gay 1992) y glucanasas (Fridlender, 1993), Microorganismos capaces de lisar a otros, juegan un papel importante en el equilibrio microbiológico del suelo y sirven como una herramienta poderosa para el control biológico.

La participación de la actividad quitinolítica en el proceso antagónico, fue demostrada por la pérdida en la eficacia del biocontrol por mutantes de *Serratia marcescens*, en las cuales el gen ChiA había sido inactivado; así mismo, una recombinante de *Escherichia coli* expresando el gen ChiA de *S. marcescens* fue efectiva en la reducción de la incidencia de las enfermedades causadas por los hongos *S. rolfsii* y *R. Solani* (Oppenheim and Chet, 1992).

Antibiosis.

Se ha observado que la antibiosis está involucrada en la supresión de enfermedades de plantas. El papel que desempeñan los antibióticos es el de conferir una ventaja competitiva a los microorganismos que los producen suprimiendo el crecimiento de otros microorganismos. El papel de los antibióticos en el biocontrol ha sido estudiado por la generación de mutantes deficientes en la producción de estos. Rothrock y Gottlieb (1984) suprimen el crecimiento de *R. solani* en el suelo con aplicación de geldanomicina purificada, un antibiótico producido por *Streptomyces hygrosopicus* var. *Geldonus*.

Cabe mencionar que la actividad antagonista no está restringida a un solo tipo de mecanismo, así un agente biocontrolador puede afectar al patógeno por la combinación de mecanismos.

Factores que afectan el control biológico.

Intentos para identificar el determinante antagonista en microorganismos, no han contemplado el efecto de factores que influyan en su producción. Se ha observado que los factores abióticos están indirectamente involucrados en el control biológico, ya que los microorganismos implicados como candidatos de biocontrol crecen en ambientes físicos y químicos de amplia variedad. Así, su crecimiento y actividad fisiológica son una respuesta de las características fisicoquímicas del medio ambiente en el que viven, es decir, los microorganismos crecen y/o producen algún metabolito en mayor abundancia como reflejo de su capacidad para responder o enfrentar las restricciones de su medio ambiente. Por lo tanto, el crecimiento y producción de metabolitos está influenciado por el tipo de concentración de fuente de carbono, nitrógeno, tensión de oxígeno, presión osmótica, pH y temperatura, entre otros factores. Cada uno de estos factores varía gradualmente en tiempo y espacio (Cook, 1985). Upadhyay (1991) reporta la actividad de *P. cepacia* contra *T. viridae* puede ser afectada por factores o condiciones ambientales, observando que el antagonismo por *P. cepacia* difiere cuando esta cepa crece en medio papa dextrosa agar (PDA) en donde se detectó una actividad mínima comparado con

la actividad que se presento en el medio agar miel de maíz (CMA) indicando es afectado por factores nutricionales.

Pocos son los estudios fisiológicos de agentes antagónicos que se han realizado utilizando diferentes fuentes de carbono adicionadas al medio de crecimiento, de la misma manera puede evaluarse la influencia de diversas fuentes de nitrógeno, así como el efecto del pH y temperatura sobre el comportamiento fisiológico de los microorganismos o bien el efecto que estos mismos provocan sobre la producción del terminante antagónico.

El efecto que tiene la presencia de diferentes fuentes de carbono en el medio de cultivo sobre la actividad antagónica depende en gran parte del tipo de carbohidrato adicionado, del agente antagónico así como del microorganismo fitopatógeno. Upadhyay *et al.* (1991) demuestran la variación en el grado de inhibición de *P. cepacia* sobre *T. viridae* cuando se utilizaron diferentes fuentes de carbono. Observaron que la xilosa y trealosa conformaron el grupo mas efectivo en la actividad antagónica contra *T. viridae* mostrando hasta un 90% de inhibición, mientras que el manitol y la glucosa fue el grupo menos efectivo con una actividad menor del 40% de inhibición. En caso contrario, Yuan and Crawford (1995), reportan que *Streptomyces lydicus* WYEC108 mostró mayor actividad de inhibición contra *Phytium* cuando se utilizo glucosa y L-sorbitol en el medio de cultivo.

La evaluación del pH y la temperatura también fue evaluada presentándose mayor actividad antagónica en el limite ácido (4-6.5) y con el incremento de la temperatura de 37 °C (Upadhyay *et al.*, (1991).

Cinéticas de crecimiento

Dichas cinéticas describen el crecimiento de microorganismos, la formación de productos y el consumo de nutrientes no sólo de aquellos que crecen

activamente sino también de las células en estado pasivo y de las que están muriendo.

En el ambiente natural las bacterias rara vez encuentran condiciones que les permiten un crecimiento balanceado y continuo, cuando los nutrientes son abundantes, las bacterias pueden mantener tasas de crecimiento relativamente rápidas, por lo que las poblaciones bacterianas pueden usar los nutrientes eficientemente para generar incrementos rápidos en su biomasa significando que éstas pueden mantenerse viables sin nutrientes por mucho tiempo (Kolter y col., 1993).

Las condiciones del laboratorio no reflejan exactamente lo que la bacteria encuentra en la naturaleza, sin embargo uno puede estimular periodos largos de disponibilidad de nutrientes y prolongar periodos de crecimiento para su estudio.

Las células bacterianas tienen esencialmente una maquinaria capaz para duplicarse así mismos. Los procesos sintéticos de crecimiento bacteriano involucran aproximadamente 2000 reacciones químicas de amplia variedad de tipos. Algunas de estas reacciones involucran la transformación de energía, biosíntesis de pequeñas moléculas para la construcción de bloques macromoleculares, así como de varios cofactores y coenzimas. Sin, embargo, las principales reacciones de la síntesis celular son las reacciones de polimerización, como síntesis de DNA, RNA y proteínas (Brock., 1997).

Fases de crecimiento

Las poblaciones microbianas muestran un patrón de crecimiento característico, en donde el número de células se duplica por unidad de tiempo detectándose las siguientes etapas de crecimiento:

Fase de adaptación (lag), la cual puede ser larga o corta o en su caso no existir dependiendo del medio del cual proviene la cepa, las condiciones del medio y la etapa de desarrollo de la población. En esta fase aunque no se presenta aumento en el número de células, si existe un incremento en el tamaño y actividad celular, provocando con esto un aumento en la síntesis de macromoléculas, aumentando primero el RNA y poco tiempo después la síntesis de DNA y proteínas. Esta diferencia en la síntesis de macromoléculas durante el periodo inicial se conoce como crecimiento desbalanceado.

Fase de crecimiento (log), las células se duplican en número y masa cada vez que transcurre cierto tiempo. La velocidad de crecimiento exponencial depende de las características genéticas de los microorganismos, de las condiciones y del medio de cultivo. En cualquier caso la velocidad de crecimiento se mantiene constante durante esta fase, produciéndose los llamados metabolitos primarios. Debido a que durante el crecimiento exponencial todos los constituyentes bioquímicos se están sintetizando más o menos a la misma velocidad se conoce como crecimiento balanceado. La tasa de crecimiento está influenciada por condiciones ambientales, así como por las características genéticas del mismo organismo.

Fase estacionaria, la cual se presenta en un sistema cerrado y es debida principalmente a que un nutriente esencial del medio de cultivo se terminó o a que un producto de desecho del microorganismo en crecimiento es inhibitorio para él mismo; también se puede producir por que la población no puede seguir creciendo debido a que no existe espacio físico para que esto ocurra. En esta fase, el número de microorganismos se mantiene constante en un estado al que se le conoce como crecimiento crítico y aunque generalmente el crecimiento no ocurren muchas funciones celulares pueden continuar, incluyendo el metabolismo energético y algunos procesos biosintéticos, al mismo tiempo se producen ciertos metabolitos celulares llamados metabolitos secundarios como lo son antibióticos y pigmentos.

Estudios con *E. coli* han identificado ciertos genes que son necesarios para la sobrevivencia de las células que han estado en fase estacionaria. Algunos de estos genes tienen aún funciones desconocidas, pero mutaciones de estos genes conducen a una muerte celular rápida cuando las células entran a la fase estacionaria (Kolter y col., 1993).

Fase de muerte, si la incubación continúa después de que la población alcanza la fase estacionaria, las células pueden seguir viviendo y continuar su metabolismo, pero también pueden morir. Si esto último ocurre, se dice que la población está en fase de muerte, en algunos casos la muerte va acompañada de lisis celular, esta fase es una función exponencial, sin embargo, en muchos casos la tasa de muerte celular es mucho más lenta que la tasa de crecimiento. Durante estas etapas se involucra una serie de reacciones bioquímicas, como son las reacciones de transformación de energía, biosíntesis de moléculas, cofactores, coenzimas, RNA, DNA, proteínas, metabolitos primarios y secundarios.

Factores limitantes y favorables a la microbiota del suelo

Las poblaciones microbianas del suelo pueden ser afectadas por la manera en que el hombre cuida este recurso. Las actividades agrícolas, como la utilización de gran cantidad de insumos sintéticos (fertilizantes, plaguicidas, entre otros), eliminación de malezas con o sin herbicidas (cultivo en suelos desnudos) y la no rotación de cultivos, pueden afectar nocivamente a la biodiversidad de los procesos ecológicos del suelo (Zelles *et al.* 1994, Kennedy and Smith 1995). Se ha demostrado que en suelos donde predomina el monocultivo y se utiliza gran cantidad de productos químicos, la comunidad microbiana y la macrofauna asociada es significativamente menor que en suelos donde ha predominado una rotación de cultivos (Filser *et al.* 1995).

Los suelos orgánicos o supresivos poseen una buena diversidad y abundancia de microorganismos, con la presencia de antagonistas que disminuyen o

regulan la existencia de organismos patógenos (Nelson and Thornton 1997, Hointink and Boehm 1999). La diversidad de organismos presentes en el suelo es la responsable de la calidad y sostenibilidad de los suelos agrícolas. La calidad involucra la combinación de aspectos físicos, químicos y biológicos, los cuales dependen en gran medida de la actividad microbiana (Kennedy and Smith. 1995).

La presencia de compuestos antifúngicos, resultantes de la incorporación de residuos de repollo y la solarización del suelo, demuestra la generación de un amplio rango de compuestos volátiles, como alcoholes, aldehídos, ácido sulfídrico e isotiocianatos, los cuales redujeron el número de propágulos de patógenos como *Pythium ultimum* y *Sclerotium rolfsii*, sin causar mayor daño a otros componentes de la microbiota. Este estudio mostró que, además de la actividad biológica de los microorganismos, existe la física de la solarización e igualmente la presencia de componentes volátiles que actúan como fungicidas (Gamliel and Stapleton 1993).

Asociación planta-microorganismo.

Los microorganismos que proveen algún beneficio en el crecimiento y desarrollo de la planta generalmente son de dos tipos:

- 1) Las que establecen una relación simbiótica en la planta formando estructuras especializadas, por ejemplo, arbusculos en el caso de hongos micorrícicos o nódulos en las raíces de las plantas como ocurre en la asociación con el género *Rhizobium* y *Frankia*, los cuales han sido estudiados extensivamente.
- 2) El segundo grupo, lo constituyen las bacterias de vida libre, generalmente referidas como rizobacterias promotoras del crecimiento de plantas, denotadas como (PGPR) por su acrónimo en inglés Promoting Growth Plant Rhizobacteria, definidas por Kloepper en 1978 y

se acepta para describir a las bacterias colonizadoras de raíz (rizobacterias) teniendo un efecto positivo y significativo sobre el crecimiento de plantas, las cuales como grupo cumplen ciertas características (Glick, 1995; Schippers *et al.*, 1987).

Características de las PGPR.

De manera general, las características de las PGPR son las siguientes:

- 1) no requieren de invasión interna de tejidos de plantas ni de la formación de estructuras especializadas.
- 2) Presentan la capacidad de persistir en el suelo después de la inoculación, ya que una población que disminuye rápidamente en la rizósfera tiene una baja capacidad competitiva con la microflora nativa del suelo.
- 3) Quizá, la característica mas importante considerada en la literatura, es que este tipo de bacterias presenten una capacidad de colonización efectiva en la superficie de la raíz para tener un efecto significativo sobre el crecimiento de la planta (Smith and Goodman, 1999; Yoram, 1999).

Mecanismos de acción de las PGPR.

Conceptualmente y de acuerdo a Kloepper *et al.* (1989), las bacterias promotoras del crecimiento pueden tener un impacto favorable sobre el crecimiento y desarrollo de las plantas por dos vías diferentes: indirectas y directas (Bloemberg and Lugternberg, 2001).

Promoción indirecta del crecimiento de plantas.

La promoción indirecta del crecimiento de plantas ocurre cuando las PGPR previenen, disminuyen o eliminan el efecto deletéreo de uno o mas organismos

fitopatógenos a través de diferentes mecanismos que involucran aspectos de control biológico (Hernández and Charlloux, 2001; Glick *et al.*, 1999^a), los cuales son:

- 1) Secreción de sideróforos.
- 2) Síntesis de antibióticos.
- 3) Capacidad de algunas cepa, especialmente del genero *Pseudomonas* para sintetizar cianidina.
- 4) Ha sido demostrado que diferentes grupos de microorganismos son capaces de hidrolizar el ácido fusárico, factor responsable del daño en plantas que ocurre en la infección por *Fusarium*.
- 5) Síntesis de enzimas que hidrolizan las paredes celulares de hongos fitopatógenos, tales como quitinasas y β -1.3-glucanasas.
- 6) Competencia por nutrientes.
- 7) Las PGPR activan mecanismos de defensa en plantas que son fenotípicamente similares a la inducción de resistencia mediada por patógenos referida como indicción de resistencia sistémica, la cual a sido demostrada en muchas especies de plantas, e.g. frijol, clavel, pepino, rábano, tabaco, tomate y *Arabidopsis* y ha sido reportada como un mecanismo efectivo contra un amplio grupo de patógenos, incluyendo hongos, bacterias y virus (Van Loon *et al.*, 1998).

Promoción directa del crecimiento de plantas.

La promoción directa del crecimiento de plantas, ocurre cuando las PGPR proveen a la planta de compuestos que son sintetizados por las bacterias o bien facilitan la disponibilidad de nutrientes presentes en el suelo a través de diferentes mecanismos:

- 1) Fijación de nitrógeno (Strenhoudt and Vanderleyden, 2000).
- 2) Incremento en la disponibilidad de minerales, principalmente fósforo (Idriss *et al.*, 2002).

- 3) Síntesis de compuestos reguladores del crecimiento; ácido indolacético (AIA), gibberelinas y citocininas (Bari and Okin, 1993; Cassan *et al.*, 2001; Garcia *et al.*, 2001).
- 4) Síntesis de compuestos de bajo peso molecular menos caracterizados que modulan el crecimiento y desarrollo de las plantas, por ejemplo, compuestos volátiles (Ryu *et al.*, 2003).
- 5) Ha sido sugerido que la secreción de Ácido succínico y láctico por cepas del genero *Pseudomonas* pueden actuar directamente estimulando el crecimiento de plantas de espárrago (Burd, 2000).
- 6) Regulación de los niveles de etileno por acción de la enzima 1-aminociclopropano-1-carboxilato desaminasa (Shah *et al.*, 1998; Belimov *et al.*, 2002).

Una bacteria en particular puede promover el crecimiento y desarrollo de la planta, usando uno o mas de estos mecanismos. Además, puede utilizar diferentes mecanismos en diferentes tiempos durante el ciclo de vida de la planta. La mayoría de las investigaciones en el ámbito de estimulación del crecimiento de plantas se han enfocado a la elucidación de mecanismos involucrados en el control biológico y relativamente las bacterias que actúan por estimulación directa han recibido menos atención, sin destacar la idea de que éstas representan un enorme potencial para la agricultura.

Colonización de las PGPR.

Enfocando la atención en los mecanismos directos de estimulación del crecimiento de plantas, se asume que como prerrequisito es necesaria la adhesión de la bacteria a la semilla o a la raíz de la planta, mostrando la capacidad de las diferentes cepas de PGPR para colonizar al superficie de la raíz y rizósfera. Por ejemplo, estudios de microscopia electrónica de raíces de plántulas de canola, creciendo bajo condiciones axénicas en presencia de la cepa *Pseudomonas putida* GR12-2, indican que la adherencia de la bacteria a la superficie de la semilla fue suficiente para aumentar la elongación de la raíz

durante los primeros días de desarrollo de las plántulas (Hong *et al.*, 1991). De igual modo, el estudio realizado por Pesello-Cartieanux *et al.*, (2001), indican que la colonización de la rizósfera de *Arabidopsis thaliana* por cepas de *Pseudomonas* tienen la capacidad de inducir cambios morfológicos en la raíz promoviendo de esta manera su desarrollo. Sin embargo, el proceso de colonización puede variar notablemente debido a factores que modifican la interacción planta-PGPR. De modo que, la estructura del suelo, el contenido de humedad, aeración, pH, genotipo de la planta, actividades y composición de la microflora nativa del suelo pueden influir y afectar en magnitud y dirección la respuesta del crecimiento de la planta posterior a la inoculación con cepas PGPR (Buyer *et al.*, 1999; Pillay and Nowak, 1997).

Reguladores de crecimiento producidos por PGPR

La evaluación del efecto promotor por acción de cepas PGPR, es medido en la mayoría de los casos por un incremento en la magnitud de diferentes parámetros biométricos, por ejemplo; peso seco del follaje, raíz y fruto, área foliar, número de hojas, altura de planta entre otros, observando una rápida germinación de la semilla, mejor emergencia de la plántula, aceleramiento en su desarrollo e incremento en el rendimiento del cultivo (Cattelan *et al.*, 1998; Lazarovits and Nowak, 1997). El mecanismo que ha sido con mayor frecuencia involucrado para explicar los efectos de las PGPR antes mencionados, es la producción de fitohormonas, enfocando la atención en la capacidad de diferentes cepas de PGPR para modular los niveles de etileno en plantas y de producir auxinas, funcionando como reguladores de crecimiento y desarrollo en plantas.

Producción de auxinas por PGPR y su efecto en el desarrollo del sistema radicular.

Las auxinas promueven la diferenciación de tejido vascular, división y elongación celular, elongación de tallos y raíz e iniciación de raíces adventicias y laterales. En plantas, la auxina más abundante es el ácido indolacético (AIA), este compuesto principalmente se sintetiza a partir del triptofano en el meristemo apical y en hojas jóvenes de donde se transporta a través del floema al resto de los tejidos vegetales (Glick *et al.*, 1999b). La concentración de auxinas es crítica para la respuesta fisiológica, además de los factores que influyen en los niveles endógenos de auxinas, como es la síntesis de *novo*, degradación, hidrólisis y formación de conjugados, las auxinas secretadas por cepas PGPR pueden funcionar como fuente exógena para la planta. Es reconocido que cepas de PGPR de los géneros *Azotobacter*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Enterobacter* y *Azospirillum* sintetizan AIA y su efecto en plantas mimetiza los efectos de AIA exógeno. Por otra parte, como se mencionó con anterioridad, la promoción del crecimiento de la raíz es una de los principales marcadores por el cual el efecto benéfico de las PGPR es medido. Dos diferentes pruebas han sido realizadas para ensayar el efecto del AIA producido por PGPR sobre el crecimiento de plantas; un método compara los efectos de la inoculación de raíces con mutantes de bacterias que producen niveles alterados de auxinas. Una segunda prueba varía la cantidad del inóculo de una sola cepa, asumiendo que una alta densidad de inóculo significa mayor disponibilidad del AIA para la planta. Un ejemplo claro, es la aplicación de tipo silvestre de *Pseudomonas putida* GR12-2 en semillas de canola, que estimula de dos a tres veces la elongación de la raíz primaria comparada con el control no inoculado, una mutante sobreproductora de AIA de esta bacteria estimula extensivamente el desarrollo de raíces laterales en plántulas de canola (Xie, y Col., 1996) y de raíces adventicias en frijol (Mayak and col., 1997). Otro ejemplo, de la influencia positiva en el desarrollo del sistema radicular es la aplicación de la cepa de *Azospirillum brasilense* que incrementa el número y longitud de raíces laterales en tigo (Barbieri and Galli, 1993).

Estos reportes nos indican que la producción de AIA por bacterias PGPR es la rizósfera es importante para determinar el efecto de éstas sobre la morfología de la raíz, asociado a la especie de la planta y al estado de desarrollo del sistema radicular.

CONCLUSIONES GENERALES

Las bacteria aislada de la rizosfera de vainilla (LPM2) y manzano (LPM1) se identificaron como *Bacillus subtilis*.

Las cepas de *B. subtilis* LPM1 y LPM2 mostraron un crecimiento superior en medio con sacarosa (IPAS) como única fuente de carbono, al igual que el tiempo de generación se redujo en este medio.

Las dos cepas de *B. subtilis* tienen la capacidad de producir sideróforos como uno de los tanto mecanismos de acción contra *Fusarium* sp.

Los compuestos responsables de la actividad antifúngica se encuentra en compuestos que contienen grupo amino y otros cuya naturaleza no es peptídica.

Los compuestos antagónicos son estables a temperaturas altas de 60 °C.

Las cepas de *B. subtilis* producen enzimas como proteasas, amilasas; las cuales posiblemente utilizan también como otro mecanismo de acción.

Las cepas de *B. subtilis* son sensibles a gentamicina y otros antibióticos.

Las cepas de *B. subtilis* tuvieron la capacidad de utilizar ACC como única fuente de nitrógeno, lo que refleja la actividad de la enzima ACC deaminasa.

Las cepas de *B. subtilis*, presentaron el mayor efecto en el crecimiento del sorgo y frijol frente al testigo con las variables peso fresco planta, raíz, tallo y Longitud de raíz y tallo.

LITERATURA CITADA

- Alejandro Ponce González, Abelardo Alfonso Sáenz Torres (Resumen de la Tesis Profesional que presentan los dos primeros autores como requisito para obtener el Título de Licenciado en Comercio Internacional de Productos Agropecuarios en la UACH. Chapingo, México.) *ECONOMÍA Y ADMINISTRACIÓN AGROPECUARIA* Número 6, Diciembre de 2000. p 143.
- Alexander M. 1980. *Introducción a la Microbiología del Suelo*. AGT editor, México.
- Andrews, JH. 1992. Biological control in the phyllosphere. *Annual Review of Phytopathology* 30:603-635.
- Azcón Aguilar, C; Barea, JM. 1996. Applying mycorrhiza biotechnology to horticulture: significance and potentials. *Scientia Horticulturae* 68: 1-24.
- Baker, K. F. And R. J. Cook. 1974. *Biological control of plant pathogens*. San Francisco. W.H. Freeman. 433 pp.
- Baker, KR; Cook, JR. 1974. *Biological control of plant pathogens*. San Francisco, Freeman. 442 p.
- Barbieri P., Galli E. 1993. Effect on wheat root development of inoculation with an *Azospirillum brasilense* mutant with altered indole-3-acetic acid production. *Res. Microbiol.* 144:69-75.
- Bari T., Okin Y. 1993. Tryp conversion to indole-3-acetic acid via indole-3-acetamida in *Azospirillum brasilense* Sp7. *Can. J. Microbiol.* 39:81-86.

- Belimov A A., Safronova V., Minura T. 2002. Response of spring rape (*Brassica napus* var. *olifera* L.) to inoculation with plant growth promoting rhizobacteria containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase depends on nutrient status of the plant. *Can. J. Microbiol.* 48:189-199.
- Bloemberg G V., Lugtenberg B J J. 2001. Molecular basis of plant growth promotion and biocontrol by rhizobacteria. *Curr. Opin. Plant Biol.* 4:343-350.
- Burd G I. 2000. Plant growth-promoting bacteria that decrease heavy metal toxicity in plants. *Can. J. Microbiol.* 46:237-245.
- Buyer J S., Roberts D P., Russek-Cohen E. 1999. Microbial community structure and function in the spermosphere as affected by soil and seed, type. *Can. J. Microbiol.* 45:138-144.
- Cassan F., Bottini R., Schneider G., Piccoli P. 2001. *Azospirillum brasilense* and *Azospirillum lipoferum* hydrolyze conjugates of GA₂₀ and metabolize that resultant aglycones to GA₁ in seedlings of rice dwarf mutants. *Plant Physiol.* 125:2053-2058.
- Cattelan A J., Harlet R G., Fuhrmann J J. 1998. Screening for plant growth-promoting rhizobacteria to promote early soybean growth. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 63:1670-1680.
- Chernin, L., Z. Ismailov y S. Haran. 1995. Chitinolytic *Enterobacter agglomerans* antagonistic to fungal plant pathogens. *Appl. Environ. Microbiol.* 61:1720-1726.
- Chet, I., R. Ordentlich, R. shapira y A. Oppenheim. 1990. Mechanism of biological of soil-borne plant pathogens by rhizobacteria. *Plant and Soil.* 129:85-92.

- Cook, R. J. y K. F. Baker. 1985. The nature and practice of biological control of plant pathogens. The American Phytopathological Society, 2^o ed. St. Paul Minesota. Pp. 57-83.
- Cruz A. M. 2002. Pudrición de cuello, corona y raíces en árboles frutales. Informativo Agropecuario Bioleche- INIA Quilamapu. Chile. Boletín 74. P 3.
- Ferrera-Cerrato, R. 1995. Efecto de rizosfera. In Ferrera-Cerrato, R. ;. Pérez-Moreno, J. Eds. Agromicrobiología, elemento útil en la agricultura sustentable. Montecillo, México, Colegio de Posgraduados en Ciencias Agrícolas. p. 36-53.
- Filser, J; Fromm, H; Nagel, RF; Winter, K. 1995. Effects of previous intensive agricultural management on microorganism and the biodiversity of soil fauna. Plant and Soil 170:123-129.
- Fridlender, M. 1993. Biological control of soilborne plant pathogens by β -(1,3)-glucanase producing *Pseudomonas cepacia*. Soil Biol. Biochem. 25:1211-1221.
- Gamliel, A; Stapleton, JJ. 1993. Characterization of antifungal volatile compounds evolved from solarized soil amended with cabbage residues. Phytopathology 83:899-905.
- García de Salamone I E., Inés R K., Nelson L M. 2001. Cytokinin production by plant growth promoting rhizobacteria and selected mutants. Can J. Microbiol. 47:404-411.
- García R. J. 1999. Identificación, Incidencia y distribución de hongos asociados a la pudrición radical del manzano, (*Malus pumila* L.) en la sierra de Arteaga, Coahuila, México. Tesis de licenciatura. UAAAN. Buenavista, Saltillo, México. Pp 45-46.

- Gay, P.A. 1992. Antagonistic effect of chitinolytic bacteria against toxin producing fungi. *Phytopathology*. 82:1074.
- Gilbert, GS; Handelsman, J; Parke, L. 1994. Root camouflage and disease control. *Phytopathology* 84:222-225.
- Glick B. R. 1995. the enhancement of plant growth by free-living bacteria. *Can. J. Microbiol.* 41:109-117.
- Glick B. R., Patten C. L., Holguin O., Penrose D. M. 1999 (a). biocontrol mechanism. Chapter 7. in: *Biochemical and genetic mechanism used by plant growth promoting bacteria*. Ontario Canada. Imperial Collage Press. pp. 215-248.
- Glick B. R., Patten C. L., Holguin O., Penrose D. M. 1999 (b). Auxin production. Chapter 4. in: *Biochemical and genetic mechanism used by plant growth promoting bacteria*. Ontario Canada. Imperial Collage Press. pp. 215-248.
- Hernández D. M., Charlloux M. L. 2001. la nutrición y la biofertilización en el cultivo del tomate (*Lycopersicom esculentum* Mill). *Temas de ciencia y tecnología* 5:11-27.
- Hoitink, HAJ; Boehm, MJ. 1999. Biocontrol within the context of soil microbial communities: a substrate-dependent phenomenon. *Annual Review of Phytophathology* 37:427-446.
- Hoitink, HAJ; Stone, AG; Han, DY. 1997. Supresión de enfermedades mediante el uso de compost. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* 43:31-39.
- Hong Y. Glick B. R., Pasternak J. J. 1991. Plant-microbial interaction under gnotobiotic condition: A scanning electron microscope study. *Current Microbiol.* 23:111-114.

- Idriss E. E., Makarewicz O., Farouk A., Rosner K., Greiner R., Bochow H., Richter T., Borris R. 2002. Extracellular phytase activity of *Bacillus amyloliquefaciens* FZB45 contributes to its plant-growth-promoting effect. *Microbiology*. 148:2097-2109.
- Kennedy, AC.; Smith, K.L. 1995. Soil microbial diversity and the sustainability of agricultural soils. *Plant Soil* 170:75-86.
- Kim, DS, Cook, RJ, Weller, DM. 1997. *Bacillus* sp. L324-92 for biological control of three root disease of wheat grown with reduced tillage. *Phytopathology* 87:551-558.
- Kim, H., Yoon, B. D.; Lee, C. H.; Suh, H. H.; Oh, H. M.; Katsuragi, T. and Tani, Y. 1997. Production and properties of a lipopeptide biosurfactant from *Bacillus subtilis* C9. *J. Ferment. Bioeng.* 84: 41-46.
- Kloepper J. W., Lifshitz R., Zablotowicz M. 1989. Free-living bacterial inocula for enhancing crop productivity. *Trends Biotechnol.* 7:39-44.
- Kloepper, JW; Schroth, MN. 1981. Plant growth-promoting rhizobacteria and plant growth under gnotobio conditions. *Phytopathology* 71:642-644.
- Kloepper, JW; Schroth, MN; Miller, TD. 1980. Effects of rhizosphere colonization by plant growth-promoting rhizobacteria on potato plant development and yield. *Phytopathology*, 70:1078-1082.
- Lark, R. P. 1999. Plant disease and biocontrol FAQ.
- Lazarovits G., Nowak J. 1997. Rhizobacteria for improvement of plant growth and establishment. *Hort Science*. 32:188-197.
- Martin, A. 1980. Introducción a la microbiología del suelo. 2ª edición; AGT Editor, S.A.

- Martin, JP; Abbott, EV; Hughes, CG. 1961. Sugarcane diseases of the world. New York, Elsevier. 542 p.
- Mathre, D. E., R. H. Johnston, N. W. Callan., S. K. Mohan, J. M. Martin, y J. B. Miller. 1995. Combined biological and diseases of Sh 2 sweet corn. Plant. Dis. 79:1145-1148.
- Mayak S., Tirosh T., Glick B. R. 1999. Effect of wilt-type and mutant plant growth-promoting rhizobacteria the rooting of mung bean cuttings. J. Plant Growth Regul. 18:49-53.
- Miller, H; Henken, HJ; Van Veen, J.A. 1989. Variations and composition of bacterial populations in the rhizosphere of maize, wheat and grass cultivars. Can. J. Microbiol. 35:656-660.
- Nelson, E; Thornton, M. 1997. Microbiología de suelos. In Taller Internacional de Suelos (1997, Tegucigalpa, Honduras). Memoria. El Zamorano p.15-19.
- Oppenheim, A. B. e I. Chet. 1992. Cloned chitinases in fungal plant pathogen control strategies. Trends Biotechnol. 10:392-394.
- Pillay V. H., Howak J. 1997: Inoculum density, temperature and genotype affects on in vitro growth promotion and apiphytic and endophytic colonization of tomato (*Lycopersicon esculentum* L) seedling inoculated with a pseudomonas bacterium. Can. J. Microbiol. 43:354-361.
- Podile, A. R. Y A. P. Prakash. 1996. Lysis and biological control of aspergillus niger by Bacillus subtilis AF-1. Can. J. Microbiol. 42:533-538.

- Rabatin, SC; Stinner, BR. 1989. The significance of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungal-soil macroinvertebrate interactions in agroecosystems. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 27:195-204.
- Rose, D. H. 1924. Leather rot of strawberries. *J. Agric. Res.* 28:357-376.
- Rotrock, C. S. y Goltieb. 1984. Role of antibiosis in antagonism of *Streptomyces hygroscopicum* var. *geldanus* to *Rhizoctonia solani* in soil. *Can. J. Microbiol.* 30:1446-1447.
- Ryu C. M., Farag M. A., Hu C., Reddy M. S., Wei H. X., Paré P. W., Kloepper J. W. 2003. Bacterial volatiles promote growth in *Arabidopsis*. *P. Nati. Acad. Sci. USA.* 100:4927-4932.
- Schippers B., Bakker A. W., Bakker M. 1987. Interactions of deleterious and beneficial rhizosphere microorganism and effect of cropping practices. *Ann. Rev. Phytopathol.* 25:339-358.
- Schroth, MN; Hancock, JG.. 1982. Disease-suppressive soil and root-colonizing bacteria. *Science.* 216:1376-1381.
- Shah S., Li J., Moffatt B. A., Glick B. R. 1998. Isolation and characterization of ACC deaminase genes from two different plant growth promoting growth rhizobacteria. *Can. J. Microbiol.* 44:833-843.
- Smil, V. 1991. *General Energetics: Energy in the biosphere and civilization.* New York J. Wiley&Sons.sp.
- Smith K. P., Goodman R. M. 1999. Host variation for interactions with beneficial plant-associated microbes. *Ann. Rev. Phytopathol.* 37:473-491.

- Strenhoudt O., Vanderleyden J. 2000. Azospirillum, a free-living nitrogen-fixing bacterium closely associated with grasses; biochemical and ecological aspects. FEMS Microbiol. Rev. 24:487-506.
- Upadhyay, R. S., L. Visitin y P. K. Jayaswal. 1991. Environmental factors affecting the antagonism of *Pseudomonas cepacia* against *Trichoderma veridae*. Can. J. Microbiol. 37:880-884.
- Xie H., Pasternak J. J., Glick B. R. 1996. Isolation and characterization of mutants of the plant growth-promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR12-2 that overproduce indolacetic acid. Curr. Microbiol. 32:67-71.
- Zablotowicz, R. M., C. M. Press, N. Lyng, G. L. Brown y J. W. Kloepper. 1992. Compatibility of plant growth promoting rhizobacterial strain with agrochemicals applied to seed. Can. J. Microbiol. 38:45-50.
- Zavaleta-Mejía, E. y Ochoa M.D.L. 1992. Control Biológico de Fitopatógenos. Memorias XIX Congreso Nacional de Fitopatología. Buenavista Saltillo, Coahuila.140p.
- Zelles, LQ; Gai, Y; MA, RX; Rackwitz, R; Winter, K; Beese, F. 1994. Microbial biomass, metabolic activity and nutritional status determined from fatty acid patterns and poly-hydroxybutyrate in agricultural-managed soils. Soils Biol. Biochem. 26-439-446.

APENDICES

Promedio de inhibición de las bacterias antagonistas frente a *Dematophora* sp.

BACTERIA	MEDIA	RAZÓN
<i>B. subtilis</i> DN	25.2	A
<i>B. subtilis</i> Bs	24.12	A
<i>B. subtilis</i> LPM2	19.85	AB
<i>B. subtilis</i> LPM1	15.25	B
<i>P. putida</i>	13.47	B
Testigo	0.00	C

Promedio de inhibición de las bacterias antagonistas frente a *Fusarium* sp.

BACTERIA	MEDIA	RAZÓN
<i>B. subtilis</i> Bs	28.45	A
<i>B. subtilis</i> DN	25.57	A
<i>B. subtilis</i> LPM2	16.32	B
<i>B. subtilis</i> LPM1	13.25	BC
<i>P. putida</i>	8.9	C
Testigo	0.00	D

Promedio de inhibición de las bacterias antagonistas frente a *Cephalosporium* sp.

BACTERIA	MEDIA	RAZÓN
<i>B. subtilis</i> Bs	26.27	A
<i>B. subtilis</i> LPM2	25.55	A
<i>B. subtilis</i> DN	24.12	A
<i>B. subtilis</i> LPM1	21.25	A
<i>P. putida</i>	7.82	B
Testigo	0.00	C

Promedio de inhibición de las bacterias antagonistas frente a *Verticillium* sp.

BACTERIA	MEDIA	RAZÓN
<i>B. subtilis</i> LPM1	39.3	A
<i>B. subtilis</i> DN	38.2	A
<i>B. subtilis</i> Bs	37.2	A
<i>B. subtilis</i> LPM2	27.02	B
<i>P. putida</i>	7.97	C
Testigo	0.00	D

APENDICE 5. Efecto de cepas de *B. subtilis* LPM1 y LPM2 en el peso fresco de plantas de fríjol.

TRATAMIENTOS	R1	R2	R3	R4	R5
LPM1	8.7	8.5	9.4	8.9	8.6
LPM2	8.0	7.9	8.1	8.3	7.8
TEST. ABS	5.3	5.5	5.7	6.0	5.1

ANALISIS DE VARIANZA

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	2	29.633240	14.816620	155.4133	0.000
ERROR	12	1.144043	0.095337		
TOTAL	14	30.777283			

C.V. = 4.14 %

RESULTADOS DE LA COMPARACION DE MEDIAS

TRATAMIENTO	MEDIA
1. LPM1	8.8200 A
2. LPM2	8.0200 B
3. TEST.	5.5200 C

NIVEL DE SIGNIFICANCIA = 0.05

APENDICE 6. Efecto de cepas de *B. subtilis* LPM1 y LPM2 en el peso fresco de raíz de frijol.

TRATAMIENTOS	R1	R2	R3	R4	R5
LPM1	4.9	5.0	5.3	4.8	5.0

LPM2	4.0	3.8	3.6	3.9	3.4
TEST. ABS	2.6	2.7	2.9	2.5	2.2

ANALISIS DE VARIANZA

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	2	14.649307	7.324654	137.3308	0.000
ERROR	12	0.640030	0.053336		
TOTAL	14	15.289337			

C.V. = 6.12 %

RESULTADOS DE LA COMPARACION DE MEDIAS

TRATAMIENTO	MEDIA
1. LPM1	5.0000 A
2. LPM2	3.7400 B
3. TEST	2.5800 C

NIVEL DE SIGNIFICANCIA = 0.05

APENDICE. Efecto de cepas de *B. subtilis* LPM1 y LPM2 en el peso fresco de Tallo de fríjol.

TRATAMIENTOS	R1	R2	R3	R4	R5
LPM1	3.8	3.5	4.1	4.1	3.6
LPM2	4.0	3.9	4.5	4.4	4.0
TEST. ABS	2.7	2.8	2.8	3.5	2.9

ANALISIS DE VARIANZA

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	2	3.963989	1.981995	23.5024	0.000
ERROR	12	1.011978	0.084332		
TOTAL	14	4.975967			

C.V. = 7.98 %

RESULTADOS DE LA COMPARACION DE MEDIAS

TRATAMIENTO	MEDIA
1. LPM 2	4.1600 A
2. LPM 1	3.8200 A
3. TEST	2.9400 B

NIVEL DE SIGNIFICANCIA = 0.05

APENDICE. Efecto de cepas de *B. subtilis* LPM1 y LPM2 en la longitud de raíz de fríjol.

TRATAMIENTOS	R1	R2	R3	R4	R5
LPM1	30.0	32.3	35.4	33.2	35.0
LPM2	28.0	25.7	29.2	26.3	28.5
TEST. ABS	20.0	22.0	23.0	21.0	19.3

ANALISIS DE VARIANZA

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	2	367.825195	183.912598	59.9495	0.000
ERROR	12	36.813477	3.067790		
TOTAL	14	404.638672			

C.V. = 6.43 %

RESULTADOS DE LA COMPARACION DE MEDIAS

TRATAMIENTO	MEDIA
1. LPM1	33.1800 A
2. LPM2	27.5400 B
3. TEST	21.0600 C

NIVEL DE SIGNIFICANCIA = 0.05

APENDICE. Efecto de cepas de *B. subtilis* LPM1 y LPM2 en la longitud de Tallo de fríjol.

TRATAMIENTOS	R1	R2	R3	R4	R5
LPM1	21.0	25.0	24.0	19.0	20.0
LPM2	37.0	39.0	36.0	42.0	40.0
TEST. ABS	30.0	27.0	25.0	31.0	24.0

ANALISIS DE VARIANZA

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	2	750.533203	375.266602	51.8803	0.000
ERROR	12	86.799805	7.233317		
TOTAL	14	837.333008			

C.V. = 9.17 %

RESULTADOS DE LA COMPARACION DE MEDIAS

TRATAMIENTO	MEDIA
2 LPM2	38.8000 A
3 TEST	27.4000 B
1 LPM1	21.8000 C

NIVEL DE SIGNIFICANCIA = 0.05

APENDICE. Efecto de cepas de *B. subtilis* LPM1 y LPM2 en el peso seco de planta de frijol.

TRATAMIENTOS	R1	R2	R3	R4	R5
LPM1	1.2	2.5	1.6	0.5	0.6
LPM2	0.85	0.6	0.4	1.3	1.0
TEST. ABS	1.2	0.9	0.6	1.0	0.7

ANALISIS DE VARIANZA

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	2	0.592000	0.296000	1.0347	0.387
ERROR	12	3.433000	0.286083		
TOTAL	14	4.025000			

C.V. = 53.49 %

APENDICE. Efecto de cepas de *B. subtilis* LPM1 y LPM2 en el peso seco tallo de frijol.

TRATAMIENTOS	R1	R2	R3	R4	R5
--------------	----	----	----	----	----

LPM1	0.9	1.8	1.0	0.3	0.36
LPM2	0.42	0.29	0.23	0.40	0.45
TEST. ABS	0.40	0.23	0.19	0.40	0.24

ANALISIS DE VARIANZA

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	2	1.008253	0.504127	3.9205	0.048
ERROR	12	1.543039	0.128587		
TOTAL	14	2.551293			

C.V. = 70.68 %

RESULTADOS DE LA COMPARACION DE MEDIAS

TRATAMIENTO	MEDIA
1	0.8720 A
2	0.3580 B
3	0.2920 B

NIVEL DE SIGNIFICANCIA = 0.05

APENDICE. Efecto de cepas de *B. subtilis* LPM1 y LPM2 en el peso seco raíz de frijol.

TRATAMIENTOS	R1	R2	R3	R4	R5
LPM1	0.3	0.7	0.6	0.2	0.24
LPM2	0.43	0.31	0.17	0.95	0.55
TEST. ABS	0.80	0.67	0.41	0.60	0.46

ANALISIS DE VARIANZA

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	2	0.081853	0.040927	0.7459	0.501

ERROR	12	0.658440	0.054870
TOTAL	14	0.740293	

C.V. = 47.55 %

APENDICE. Efecto de cepas de *B. subtilis* LPM1 y LPM2 en el peso fresco de plantas de Sorgo.

TRATAMIENTOS	R1	R2	R3	R4	R5
LPM2	1.6	1.2	2.5	1.7	1.8
LPM1	10.5	9.80	9.4	7.2	6.8
TEST. ABS	4.20	4.0	3.8	3.5	3.2

ANALISIS DE VARIANZA

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	2	129.222260	64.611130	62.9376	0.000
ERROR	12	12.319092	1.026591		
TOTAL	14	141.541351			

C.V. = 21.34 %

RESULTADOS DE LA COMPARACION DE MEDIAS

TRATAMIENTO	MEDIA
2 LPM1	8.7400 A
3 TEST	3.7400 B
1 LPM2	1.7660 C

NIVEL DE SIGNIFICANCIA = 0.05

APENDICE. Efecto de cepas de *B. subtilis* LPM1 y LPM2 en el peso fresco de Raíz de Sorgo.

TRATAMIENTOS	R1	R2	R3	R4	R5
LPM2	0.7	0.7	1.2	0.8	0.9
LPM1	7.0	6.3	5.2	4.1	4.0
TEST. ABS	2.3	1.9	2.1	1.7	1.8

ANALISIS DE VARIANZA

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	2	53.724991	26.862495	43.4785	0.000
ERROR	12	7.414001	0.617833		
TOTAL	14	61.138992			

C.V. = 28.90 %

RESULTADOS DE LA COMPARACION DE MEDIAS

TRATAMIENTO	MEDIA
2 LPM1	5.3200 A
3 TEST	1.9700 B
1 LPM2	0.8700 C

NIVEL DE SIGNIFICANCIA = 0.05

APENDICE. Efecto de cepas de *B. subtilis* LPM1 y LPM2 en el peso fresco de Tallo de Sorgo.

TRATAMIENTOS	R1	R2	R3	R4	R5
LPM2	3.5	3.5	4.2	3.1	2.8
LPM1	0.9	0.5	1.3	0.9	0.8
TEST. ABS	1.9	2.1	1.7	1.7	1.4

ANALISIS DE VARIANZA

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	2	16.428249	8.214125	58.1076	0.000
ERROR	12	1.696327	0.141361		
TOTAL	14	18.124577			

C.V. = 18.53 %

RESULTADOS DE LA COMPARACION DE MEDIAS

TRATAMIENTO	MEDIA
2 LPM1	3.4200 A
3 TEST	1.7700 B
1 LPM2	0.8960 C

NIVEL DE SIGNIFICANCIA = 0.05

APENDICE. Efecto de cepas de *B. subtilis* LPM1 y LPM2 en la longitud de raíz de Sorgo.

TRATAMIENTOS	R1	R2	R3	R4	R5
LPM2	60.0	50.0	51.0	40.0	38.0
LPM1	30.0	29.0	32.0	27.0	27.5
TEST. ABS	30.0	31.0	35.0	37.0	42.0

ANALISIS DE VARIANZA

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	2	913.900391	456.950195	12.7225	0.001
ERROR	12	431.000000	35.916668		
TOTAL	14	1344.900391			

C.V. = 16.07 %

RESULTADOS DE LA COMPARACION DE MEDIAS

TRATAMIENTO	MEDIA
2 LPM1	47.8000 A
3 TEST	35.0000 B
1 LPM2	29.1000 B

NIVEL DE SIGNIFICANCIA = 0.05

APENDICE. Efecto de cepas de *B. subtilis* LPM1 y LPM2 en la longitud de Tallo de Sorgo.

TRATAMIENTOS	R1	R2	R3	R4	R5
LPM2	36.0	34.0	37.0	33.0	32.5
LPM1	50.0	45.0	42.0	38.0	34.0

TEST. ABS	40.0	45.0	47.0	42.0	50.0
-----------	------	------	------	------	------

ANALISIS DE VARIANZA

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	2	280.632813	140.316406	7.3018	0.009
ERROR	12	230.599609	19.216635		
TOTAL	14	511.232422			

C.V. = 10.86 %

RESULTADOS DE LA COMPARACION DE MEDIAS

TRATAMIENTO	MEDIA
3 TEST	44.8000 A
2 LPM1	41.8000 A
1 LPM2	34.5000 B

NIVEL DE SIGNIFICANCIA = 0.05

APENDICE. Efecto de cepas de *B. subtilis* LPM1 y LPM2 en el peso seco de planta de Sorgo.

TRATAMIENTOS	R1	R2	R3	R4	R5
LPM2	0.40	0.4	0.59	0.47	0.5
LPM1	1.8	1.6	1.5	1.3	1.0
TEST. ABS	0.9	0.8	0.8	0.7	0.

ANALISIS DE VARIANZA

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	2	2.525881	1.262940	33.1568	0.000
ERROR	12	0.457079	0.038090		
TOTAL	14	2.982960			

C.V. = 21.83 %

RESULTADOS DE LA COMPARACION DE MEDIAS

TRATAMIENTO	MEDIA
2 LPM1	1.4500 A
3 TEST	0.7600 B
1 LPM2	0.4720 C

NIVEL DE SIGNIFICANCIA = 0.05

APENDICE. Efecto de cepas de *B. subtilis* LPM1 y LPM2 en el peso seco de Raíz de Sorgo.

TRATAMIENTOS	R1	R2	R3	R4	R5
LPM2	0.17	0.16	0.19	0.26	0.18
LPM1	0.7	0.63	0.65	0.5	0.35
TEST. ABS	0.3	0.31	0.32	0.27	0.20

ANALISIS DE VARIANZA

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	2	0.382360	0.191180	23.9473	0.000
ERROR	12	0.095800	0.007983		
TOTAL	14	0.478160			

C.V. = 25.82 %

RESULTADOS DE LA COMPARACION DE MEDIAS

TRATAMIENTO	MEDIA
2 LPM1	0.5660 A
3 TEST	0.2800 B
1 LPM2	0.1920 B

NIVEL DE SIGNIFICANCIA = 0.05

APENDICE. Efecto de cepas de *B. subtilis* LPM1 y LPM2 en el peso seco de Tallo de Sorgo.

TRATAMIENTOS	R1	R2	R3	R4	R5
LPM2	0.23	0.2	0.4	0.21	0.32

LPM1	1.1	0.97	0.9	0.8	0.65
TEST. ABS	0.6	0.49	0.48	0.43	0.4

ANALISIS DE VARIANZA

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	2	0.968374	0.484187	34.3802	0.000
ERROR	12	0.169000	0.014083		
TOTAL	14	1.137374			

C.V. = 21.76 %

RESULTADOS DE LA COMPARACION DE MEDIAS

TRATAMIENTO	MEDIA
2 LPM1	0.8840 A
3 TEST	0.4800 B
1 LPM2	0.2720 C

NIVEL DE SIGNIFICANCIA = 0.05

APENDICE. Efecto de cepas de *B. subtilis* LPM1 y LPM2 en el peso seco de Tallo de Sorgo.

TRATAMIENTOS	R1	R2	R3	R4	R5
LPM2	0.23	0.2	0.4	0.21	0.32
LPM1	1.1	0.97	0.9	0.8	0.65
TEST. ABS	0.6	0.49	0.48	0.43	0.4

