

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
“ANTONIO NARRO”
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA



Microencapsulación de *Bacillus* y *Trichoderma* en Semilla de Cebolla y su Efecto en el Desarrollo y Producción del Cultivo.

Por:

OSBALDO FERNÁNDEZ ANAYA

TESIS

Presentada como Requisito Parcial para Obtener el Título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México

Noviembre de 2008

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
"ANTONIO NARRO"
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA**

Microencapsulación de *Bacillus* y *Trichoderma* en Semilla de Cebolla y su Efecto en el Desarrollo y Producción del Cultivo.

PRESENTADA POR:

OSBALDO FERNÁNDEZ ANAYA

TESIS

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


INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN

APROBADA

Presidente del Jurado




Dr. Francisco Daniel Hernández Castillo

Sinodal

Dr. Gabriel Gallegos Morales

Sinodal

M.C. Catalina Chávez Betancourt
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
"ANTONIO NARRO"

COORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE AGRONOMÍA


Dr. Mario Ernesto Vázquez Badillo

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México

Noviembre de 2008

División de Agronomía
Coordinación.

AGRADECIMIENTOS

A DIOS Y A LA VIRGEN SANTÍSIMA DE LA LUZ

Por darme la vida, por iluminarme y bendecirme siempre el camino y por la fortaleza que me concedieron para culminar esta etapa importante en mi vida.

A MI ALMA TERRA MATER

La **Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro”** por acogerme en su seno y formarme como profesionista, cambiar mi manera de pensar y la forma de ver la vida.

AL COMITÉ DE TESIS

Especialmente y con gran respeto al **Dr. Francisco Daniel Hernández Castillo** y al **Dr. Gabriel Gallegos Morales** por su importantísima intervención y asesoramiento en este trabajo, por sus consejos, comentarios y correcciones muchísimas gracias de todo corazón.

También a la **M.C. Catalina Chávez Betancourt** por aceptar en la colaboración del presente trabajo.

De una manera muy especial igualmente a la **Biol. Marcela Hernández Suarez** por su gran ayuda y asesoría para sacar adelante este trabajo de tesis.

A la **Lic. Sandra Roxana López Betancourt** por colaboración en la redacción y en el área de cómputo.

Al **Ing. Eduardo Osorio** por la ayuda, en la realización de los análisis estadísticos de este trabajo.

A MIS PROFESORES

Todos los que de alguna forma contribuyeron a mi formación académica durante mi estancia en la universidad, muchas gracias por sus consejos y enseñanzas.

A GREENCORP BIORGANIKS DE MÉXICO

Por su contribución con material biológico, instalaciones y financiamiento para la realización de esta investigación.

AL CONACYT

Por el apoyo económico brindado para que pudiese realizarse este trabajo.

DEDICATORIAS

A MIS PADRES

Fidencio Fernández Saldivar

María Anaya Romero

Por traerme a esta vida, por todo su amor y todo su apoyo incondicional siempre, por inculcarme lo mejor siempre y sus sabios consejos, con gran respeto y cariño les dedico este trabajo. Gracias por ser como son; los mejores padres del mundo. Los quiero muchísimo.

A MIS HERMANAS

Anabel, Neli, Abigail, Karen Janet, por que siempre están conmigo y por que me apoyan en todo. Las quiero muchísimo niñas.

A MIS TÍOS

Porfirio, Emigdio, Tomas, Dionisio, Julián; por su apoyo incondicional durante toda mi carrera profesional, por sus consejos de siempre a ellos y a sus esposas “mis tías” y a sus hijos. Gracias por todo, los quiero mucho.

A mi tía **Remedios** y su familia por su apoyo siempre durante toda la vida, los quiero mucho.

A mi tía **Rufina** y su familia por todo el apoyo que siempre me brindaron, especialmente a ti madrina gracias por tus bendiciones.

A MI ABUELO

Hilario Fernández Castillo, donde quiera que te encuentres gracias por tus enseñanzas y consejos jamás voy a olvidarte. Fuiste un gran hombre, mis respetos y todo mi cariño hasta donde estés abuelo.

A MI NOVIA NELLY

Por todo tu amor, paciencia y comprensión, tu eres mi inspiración siempre mi amor. Te Amo Pequeña.

A MIS AMIGOS

Todos los compañeros de generación y de dormitorio por todos los momentos felices que compartimos, durante mi estancia en la Narro.

INDICE DE CONTENIDO

	Páginas
AGRADECIMIENTOS -----	i
DEDICATORIAS -----	ii
ÍNDICE DE CONTENIDO -----	iii
ÍNDICE DE CUADROS -----	vi
ÍNDICE DE CUADROS DEL APENDICE -----	vii
ÍNDICE DE FIGURAS -----	ix
INTRODUCCION -----	1
Objetivo general -----	3
Hipótesis -----	3
REVISION DE LITERATURA -----	4
Cultivo de cebolla -----	4
Generalidades del Cultivo -----	4
Clasificación Taxonómica -----	4
Descripción Botánica -----	5
Raíz-----	5
Tallo Verdadero-----	5
Falso tallo -----	5
Bulbo-----	6
Tallo Floral -----	6
Hojas -----	6
Inflorescencia y Flor -----	6
Fruto -----	7
Semilla-----	7
Condiciones Climáticas que Favorecen al Cultivo -----	7
Requerimientos Edáficos del Cultivo -----	8
Microorganismos Fitopatógenos que Causan Pudriciones Radiculares en el cultivo de Cebolla-----	8
Pudrición de semillas y “Damping-off” por <i>Pythium</i> -----	8

Síntomas-----	8
Podredumbre de semillas y plántulas por <i>Rhizoctonia</i> -----	9
Síntomas -----	9
“Damping-off” por <i>Fusarium</i> -----	9
Síntomas -----	9
Podredumbre Basal por <i>Fusarium</i> -----	10
Síntomas -----	10
Raíz Rosada <i>Pyrenochaeta terrestris</i> -----	10
Síntomas -----	11
Podredumbre por <i>Sclerotinia</i> -----	11
Síntomas -----	11
Pudrición Sureña <i>Sclerotium rolfsii</i> -----	12
Síntomas -----	12
Pudrición Blanca <i>Sclerotium cepivorum</i> Berk.-----	12
Síntomas -----	13
Métodos de Control de Pudriciones Radiculares en el Cultivo de Cebolla-	13
Control cultural -----	13
Control Físico -----	14
Control Genético -----	14
Control Químico -----	14
Control Biológico -----	14
Antecedentes e importancia del Control Biológico -----	15
<i>Bacillus subtilis</i> -----	15
Habitad -----	15
Características Morfológicas -----	16
Formas de Inhibición de <i>B. subtilis</i> -----	16
Control Biológico con <i>Bacillus subtilis</i> -----	16
<i>Trichoderma</i> spp.-----	19
Habitad -----	19
Características Morfológicas-----	19

Modo de Acción de <i>Trichoderma</i> spp. -----	19
Micoparasitismo -----	20
Amensalismo -----	20
Predacion -----	20
Control Biológico con <i>Trichoderma</i> spp. -----	20
MATERIALES Y METODOS -----	22
Ubicación del Experimento-----	22
Microorganismos utilizados -----	22
Microencapsulación de Organismos Benéficos en la Semilla-----	22
1.-Lavado de semilla-----	22
2.- Microencapsulación de la semilla -----	23
Producción de Plàntula de Cebolla-----	23
Trasplante de Cebolla en Campo -----	24
Diseño Experimental -----	24
RESULTADOS Y DISCUSION -----	26
Microencapsulación de <i>Bacillus</i> y <i>Trichoderma</i> .-----	26
Efecto de la Inoculación de Cepas de <i>Bacillus</i> spp. y <i>Trichoderma</i> a las Semillas de Cebolla.-----	27
Efecto de la Inoculación de Diferentes Cepas de <i>Bacillus</i> y <i>Trichoderma</i> al Cultivo de Cebolla en la Incidencia y Severidad de Pudriciones Radiculares.-----	32
CONCLUSIONES -----	34
LITERATURA CITADA-----	35
RESUMEN -----	39
APENDICE-----	41

INDICE DE CUADROS

Cuadro		Páginas
1	Altura de planta de cebolla expresada en cm a los 45 días después de la siembra en semilla tratada con diferentes cepas de <i>Bacillus</i> y <i>Trichoderma</i> .-----	27
2	Diámetro de tallo expresado en mm a los 45 días después de la siembra en semilla tratada con diferentes cepas de <i>Bacillus</i> y <i>Trichoderma</i> .-----	28
3	Altura de planta de cebolla expresada en cm a los 30 días después del trasplante en semilla tratada con diferentes cepas de <i>Bacillus</i> y <i>Trichoderma</i> .-----	29
4	Diámetro de tallo de cebolla expresado en mm a los 30 días después del trasplante en semilla tratada con diferentes cepas de <i>Bacillus</i> y <i>Trichoderma</i> .-----	30
5	Altura de planta de cebolla y Diámetro de Tallo expresados en cm y en mm respectivamente, a los 60 días después del trasplante en semilla tratada con diferentes cepas de <i>Bacillus</i> y <i>Trichoderma</i> .-----	31
6	Peso Fresco de cebolla en cosecha expresado en g en un cultivo tratado con diferentes cepas de <i>Trichoderma</i> y <i>Bacillus</i> inoculadas a la semilla.-----	32

INDICE DE CUADROS DEL APENDICE

Cuadro		Paginas
1	Altura de planta de cebolla expresada en cm a los 45 días después de la siembra en semilla tratada con diferentes cepas de <i>Bacillus</i> y <i>Trichoderma</i> -----	42
2	Análisis de varianza de altura de planta de cebolla a los 45 días después de la siembra en semilla tratada con diferentes cepas de <i>Bacillus</i> y <i>Trichoderma</i> .-----	42
3	Diámetro de tallo expresado en mm a los 45 días después de la siembra en semilla tratada con diferentes cepas de <i>Bacillus</i> y <i>Trichoderma</i> .-----	43
4	Análisis de varianza de diámetro de tallo a los 45 días después de la siembra en semilla tratada con diferentes cepas de <i>Bacillus</i> y <i>Trichoderma</i> .-----	43
5	Altura de planta de cebolla expresada en cm a los 30 días después del trasplante en semilla tratada con diferentes cepas de <i>Bacillus</i> y <i>Trichoderma</i> .-----	44
6	Análisis de varianza de altura de planta de cebolla a los 30 días después del trasplante en semilla tratada con diferentes cepas de <i>Bacillus</i> y <i>Trichoderma</i> .-----	44
7	Diámetro de tallo de cebolla expresado en mm a los 30 días después del trasplante en semilla tratada con diferentes cepas de <i>Bacillus</i> y <i>Trichoderma</i> .-----	45
8	Análisis de varianza de Diámetro de tallo de cebolla a los 30 días después del trasplante en semilla tratada con diferentes cepas de <i>Bacillus</i> y <i>Trichoderma</i> .-----	45
9	Altura de planta de cebolla expresada en cm a los 60 días después del trasplante en semilla tratada con diferentes cepas de <i>Bacillus</i> y <i>Trichoderma</i> -----	46

10	Análisis de varianza de altura de planta de cebolla a los 60 días después del trasplante en semilla tratada con diferentes cepas de <i>Bacillus</i> y <i>Trichoderma</i> .-----	46
11	Diámetro de Tallo de cebolla expresada en mm a los 60 días después de trasplante en semillas tratadas con diferentes cepas de <i>Bacillus</i> y <i>Trichoderma</i> .-----	47
12	Análisis de varianza de Diámetro de Tallo de cebolla a los 60 días después de trasplante en semillas tratadas con diferentes cepas de <i>Bacillus</i> y <i>Trichoderma</i> .-----	47
13	Peso Fresco de cebolla en cosecha expresado en g en un cultivo tratado con diferentes cepas de <i>Trichoderma</i> y <i>Bacillus</i> inoculadas a la semilla.-----	48
14	Análisis de varianza de peso fresco de cebolla en cosecha en un cultivo tratado con diferentes cepas de <i>Trichoderma</i> y <i>Bacillus</i> inoculadas a la semilla.-----	48

INDICE DE FIGURAS

Figura		Páginas
1	Crecimiento bacteriano de la mezcla de <i>Bacillus</i> inoculada a la semilla de cebolla con el Biopolímero.	26
2	Crecimiento micelial de <i>Trichoderma</i> spp. inoculado a la semilla de cebolla con el Biopolímero.	26

INTRODUCCION

La cebolla (*Alium cepa* L.) de la familia de las Liliáceas, se considera originaria de las regiones secas de Asia; es un cultivo que se desarrolla bien en condiciones de baja humedad relativa, alta insolación y bajo suministro de agua. Se dice que este bulbo es cultivado en América desde 1630, y actualmente se produce en todo el continente. La cebolla se produce como hortaliza verde; de manojo o como bulbos para consumo fresco o para almacenamiento (Anónimo, 2008).

La superficie total plantada de cebolla en el mundo asciende a más de 2 millones de hectáreas, produciéndose 32.5 millones de toneladas. En México durante el 2007, se sembraron en el país 48,703.33 ha, de las cuales se cosecharon 48,137.83 ha, con una producción de 1,387,188.38 toneladas con un rendimiento promedio de 28.82 ton/ha, siendo las entidades más importantes: Baja California, Guanajuato, Chihuahua, Tamaulipas, Michoacán y Morelos. México cuenta con una de las mayores superficies de cultivo de cebolla en el mundo, superando incluso a Corea, Japón y China que se encuentran entre los principales productores de dicho cultivo. El cultivo de la cebolla es importante en México porque además de cubrir la demanda nacional genera divisas, producto de las exportaciones que realiza a otros países principalmente a los Estados Unidos de América (SIAP-SAGARPA, 2007).

La cebolla no se encuentra exenta de plagas y enfermedades los que se han venido controlando mediante el uso irracional de compuestos químicos, mismos que causan residualidad en los productos finales y ocasionando con esto problemas a la salud humana, además de contaminación ambiental, del suelo y mantos freáticos (De la Garza, 2005).

Para el caso particular de la cebolla, las enfermedades radiculares son importantes ya que son una de las principales causas de pérdidas en el rendimiento del cultivo de hasta el 90 % o más, sobresaliendo por su importancia la Pudrición Blanca causada por *Sclerotium cepivorum* (Redondo 1984, citado por Anaya y Romero 1999).

Debido a la necesidad de producir alimentos libres de residuos tóxicos y de calidad para la alimentación humana, es necesario cambiar la forma del manejo agronómico de los cultivos, incluido el control de enfermedades, particularmente las que causan pudriciones radiculares. Una de las alternativas racionales que son poco agresivas tanto para la salud de los consumidores como del ambiente es el control biológico mediante la utilización de microorganismos antagonistas, por ejemplo bacterias del género *Bacillus* y hongos como *Trichoderma* (De la Garza, 2005).

Virgen (1990), Brada *et al.* (1995) y Torres *et al.* (2001) coinciden en la utilización y efectividad de *Bacillus subtilis* sobre *Fusarium oxysporum* en distintos cultivos observando disminución en el desarrollo de la enfermedad causada por dicho hongo.

Por su parte, trabajos realizados en laboratorio y campo demostraron la eficacia en el efecto antagonista de *Trichoderma spp.* sobre *Rhizoctonia solani* a través de la desorganización de la pared celular o el enrollamiento de hifas de dicho patógeno inhibiendo de esta forma su desarrollo y sobrevivencia (Liu y Baker 1980) y (Senhamo y Chet, 1993).

Estudios de laboratorio demuestran que la inhibición de *Phytophthora capsici*, *Phytophthora cinnamomi* y *Fusarium oxysporum*, es efectiva bajo condiciones *in vitro* con diferentes cepas de *Trichoderma spp.* debido a diferentes formas de acción del antagonista (Hernandez *et al.*, 2008)

Dichos microorganismos además de funcionar como agentes de control biológico también promueven el crecimiento y desarrollo de plantas mediante mecanismos como: fijación de nitrógeno (Strenhoudt y Vanderleyden 2000), incremento en la disponibilidad de minerales principalmente fosforo (Idriss *et al.*, 2002), síntesis de compuestos reguladores del crecimiento como son: ácido indolacético (AIA), Giberelinas y Citocininas (Cassan *et al.*, 1993; Garcia *et al.*, 2001).

La microencapsulación de microorganismos ha sido considerada como una alternativa de inmovilización de células, a fin de que estas puedan ejercer sus funciones en forma gradual. Esta técnica puede ser considerada como una forma especial de empaquetar, en la que un material en particular puede ser cubierto de manera general para protegerlo del ambiente y de otros deterioros. En un sentido amplio, la microencapsulación provee un medio de envasar, separar y almacenar materiales en escala microscópica para su liberación posterior por acción de diferentes factores bióticos y abióticos (Bashan *et al.*, 2000).

Por lo anterior y bajo la tendencia de encontrar nuevas alternativas que funcionen eficazmente en la protección contra enfermedades y promover el desarrollo de cultivos, en este experimento se plantea el siguiente objetivo:

Objetivo general

Obtención de microencapsulados de semilla de cebolla conteniendo bacterias del género *Bacillus* y esporas del hongo *Trichoderma* para analizar su efecto en el desarrollo y producción del cultivo y la pudrición radicular de la planta.

Hipótesis

La microencapsulación de *Bacillus* y *Trichoderma* en semillas de cebolla producirá plantas con un mejor desarrollo y rendimiento y proveerá protección a protecciones radiculares.

Palabras clave: *Bacillus*, cebolla, *Trichoderma*, promoción de crecimiento, biocontrol.

REVISION DE LITERATURA

CULTIVO DE CEBOLLA

Generalidades del Cultivo

La cebolla (*Allium cepa* L.) es una planta hortícola, usada en la alimentación humana desde la antigüedad. Su cultivo se extiende por todas las regiones templadas del mundo, por su capacidad para el almacenamiento de sus bulbos maduros. La cebolla es una de las hortalizas de mayor importancia como alimento debido a sus cualidades nutritivas y sensoriales por lo que en México existe una demanda bastante alta encontrándose en los mercados durante todo el año. En la dieta de los mexicanos, puede ser consumida como condimento, fresca, deshidratada e incluso como uso medicinal (Rivera, 2006).

Clasificación Taxonómica

La clasificación taxonómica de la cebolla según Cronquist (1977), es la siguiente:

Reino.....Vegetal

Subreino.....Embruobionita

División..... Antophyta

Subdivisión..... Angiospermae

Clase..... Monocotyledoenae

Subclase.....Carolliferae

Orden.....Lilioflora

Familia..... Liliaceae

Genero..... *Allium*

Especie..... *cepa*

Descripción Botánica

La cebolla (*Allium cepa* L.) es una planta herbácea bianual, que completa su ciclo en dos años, pero se cultiva como anual para la obtención de bulbos (Castell y Diez, 2000).

Raíz

El sistema radicular es de tipo fasciculado, capaz de llegar hasta unos 60 cm de profundidad, aunque normalmente no pasa los 20 cm. Las raíces son tiernas, finas, poco divididas, bien provistas de pelos radicales en el tercio medio inferior de color blanco, con el típico olor a sulfuro de alilo que impregna toda la planta (Castell y Diez, 2000).

Tallo Verdadero

Es de carácter hipogeo, posición erecta consistencia herbácea y carnosa y con una duración anual; muere al finalizar el periodo vegetativo de la planta (Garza, 1985 citado por Pérez *et al.*, 1998).

El tallo esta representado por el disco subcónico, que presenta la base del bulbo, con entrenudos muy cortos, en el cual se inserta el sistema radicular fasciculado por la parte inferior y las hojas carnosas que forman el bulbo por la parte superior (Castell y Diez, 2000).

Falso Tallo

Tal como señala Garza (1985) citado por Pérez *et al.* (1998) la porción conocida como falso tallo se constituye por un conjunto de vainas cilíndricas que forman parte del follaje de la planta. Cuando una nueva hoja es generada esta pasa por la vaina de la hoja próxima anterior de manera tal que las vainas quedan una dentro de la otra y así sucesivamente hasta formar entre ellas el falso tallo.

Bulbo

El bulbo esta formado por hojas modificadas llamadas “escamas” cuyo tamaño, diámetro y desarrollo dependen específicamente del fotoperiodo y del cultivar que se trate (Valadez, 1997).

El inicio de la formación del bulbo esta influenciado por el fotoperiodo, aunque otros factores como la nutrición mineral, temperaturas y daños severos al follaje modifican el efecto del fotoperiodo. Por la condición de nuestro país los cultivares que en su mayoría se siembran son de día corto. (Anónimo, 2008).

Tallo Foral

Este generalmente es de color verde, posición erguida, de consistencia herbácea, lizo, ahuecado y con la porción del tercio inferior ensanchada; por lo común esta parte de la planta sobresale al follaje llegando a alcanzar una altura de 0.6 a 1.5 m (Garza 1985 citado por Pérez *et al.*, 1998).

Hojas

La hoja consta de dos partes bien diferenciadas: parte basal o vaina envolvente y parte superior (peciolo ensanchado sin verdadero limbo) redondeada y hueca (típico de *Allium cepa*) las hojas están dispuestas sobre el disco o tallo en disposición opuesta. Cada nueva hoja sale a través de un orificio que se abre en el punto de unión de la vaina y el limbo o filodio de la hoja anterior, de modo que cada vaina envuelve a todas las que nacen después (Castell y Diez, 2000).

Inflorescencia y Flor

La inflorescencia es una umbela simple que se forma al final del vástago o tallo floral. La umbela puede llegar a tener de 50 a 2000 flores, la polinización es realizada principalmente por insectos. Las flores son blanquecinas o violáceas poseen dos o tres brácteas y seis estambres; el ovario es trilocular, con dos óvulos en cada lóculo formando dos semillas en cada lóculo (Valadez, 1997).

Fruto

El fruto es una capsula globular (Valadez, 1997); el fruto esta constituido por una capsula tricarpelar de forma obtusa triangular (Garza 1985 citado por Pérez et al, 1998); en la que se pueden formar hasta seis semillas; en las fases tempranas la capsula es de color verde-pardo cuando las semillas alcanzan el inicio de maduración caracterizadas por un color como de cera se ponen de color verde amarillento y en plena madurez pardo-claro (Guenkov 1974 citado por Pérez *et al.*, 1998).

Semilla

Castell y Diez (2000) mencionan que estas son de forma irregular, de unos 3 mm con una superficie rugosa y de color negro. Maduran a los 45 días de la antesis. La semilla se deteriora rápidamente bajo los efectos de la humedad, por lo tanto debe almacenarse muy seca, su poder germinativo disminuye muy rápido pasando del 95 al 100% en el momento de la recolección al 50% a los dos años si se conserva en condiciones ambientales normales

De Mason (1990) citado por Rivera (2006) hace referencia al embrión en forma semicircular en espiral o rizado el cual se encuentra encerrado en el endospermo que es el tejido de reserva mas importante de las semillas.

Condiciones Climáticas que Favorecen el Desarrollo del Cultivo

Valadez (1997) indica que, la cebolla es una hortaliza bianual de clima frio, sin embargo, en México puede explotársele durante todo el año, esta planta es muy resistente al frio llegando a tolerar temperaturas de hasta -5°C en etapa adulta. El rango óptimo para la germinación de las semillas es de 18° a 25°C.

Se considera que las plantas pueden soportar temperaturas de hasta 33°C aunque al sobre pasar este limite dejan de crecer; sin embargo es posible que las temperaturas de los trópicos (40°C) solo retardan la formación del bulbo. En lo que se refiere a la formación y desarrollo del bulbo, este esta influenciado directamente

por el fotoperiodo (horas-luz) ya sea corto (10-12 h), intermedio (12-13 h) o largo (mayor de 14 h) (Valadez, 1997).

Requerimientos Edáficos del Cultivo

Esta hortaliza prefiere los suelos orgánicos, ligeros o arenosos, limosos o limo-arenosos. No se recomiendan los suelos arcillosos debido a que pueden deformar la parte comestible (bulbo) o retrasar su desarrollo. La cebolla esta clasificada como ligeramente tolerante a la acidez teniendo un rango de pH 6.0-6.8. Por lo que respecta a la salinidad la cebolla esta catalogada como medianamente tolerante con valores de 10 a 4 mmho (Valadez 1997).

Microorganismos Fitopatógenos que Causan Pudriciones Radiculares en el Cultivo de Cebolla

En cuanto a las enfermedades que se presentan en la raíz de la cebolla podemos mencionar las siguientes:

Pudrición de Semillas y “Damping-off” por *Pythium*

La pudrición de las semillas y el “Damping-off” en preemergencia y post-emergencia de las plántulas de cebolla es causada comúnmente por el alga *Pythium* spp., fitopatógeno que es muy común en suelos agrícolas donde se produce el cultivo de cebolla, ataca principalmente las raíces de dichas plántulas y por consecuencia ocasiona el colapso de las plántulas (Schwartz y Krishna, 1996).

Síntomas

Las semillas que han sido infectadas se vuelven blandas, empardecen, se contraen y finalmente se desintegran (Agrios, 2004).

Las raíces de las plántulas toman un color grisáceo inicialmente, después adquieren una apariencia aguanosa, finalmente colapsan y mueren. Cuando las

plantas son atacadas después de la etapa de plántula, las plantas no mueren pero se presenta un gran retraso en el crecimiento, y se manifiesta en las hojas que están afectadas las cuales presentan un amarillamiento en forma descendente; desde la punta de las hojas hasta la base. Es común que las hojas mas viejas sean las mas afectadas por causa de esta enfermedad (Schwartz y Krishna, 1996).

Podredumbre de Semillas y Plántulas por *Rhizoctonia*

La podredumbre de semillas y plántulas ocasionada por *Rhizoctonia* spp., ocurre en todos los suelos donde se cultiva la cebolla. En algunos brotes las perdidas son generalmente menores, pero a veces los patógenos pueden impedir un buen establecimiento del cultivo (Schwartz y Krishna, 1996).

Síntomas

Las semillas se pudren y las raíces infectadas de plántulas y plantas adultas sufren una decoloración (bronceado a marrón). Después que las raíces y tallos se han afectado demasiado estas se desintegran mientras que la planta se marchita y posteriormente muere (Schwartz y Krishna, 1996).

“Damping-off” por *Fusarium*

Schwartz y Krishna, (1996) afirman que *Fusarium* spp. es un hongo que comúnmente se encuentra en la mayoría de los suelos agrícolas y es el causante de “Damping-off” en el cultivo de cebolla, principalmente en semilleros y/o almácigos de dicho cultivo, o donde se cultiva de manera continua la cebolla.

Síntomas

Las semillas al germinar se cubren de un moho, que hace que las plántulas mueran antes de la emergencia. En preemergencia las raicillas se tornan de un color rosa al principio de la infección, pasando a una coloración rojo oscuro conforme avanza la infección, después adquieren el color negro, finalmente mueren y se desintegran. Cuando la planta es atacada en post-emergencia las plántulas expresan un vigor raquíptico y un lento crecimiento, además se pueden presentar

amarillamiento de las hojas, marchitamiento y colapso del sistema radicular que se desintegra finalmente, (Schwartz y Krishna, 1996).

Podredumbre Basal por *Fusarium*

La podredumbre basal de la cebolla por *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae* ocurre en todo el mundo. Pérdidas económicas significativas se han experimentado en muchos países entre ellos Italia, Japón, Sudáfrica y los Estados Unidos. Los bulbos de cebolla pueden ser infectados por el patógeno en cualquier momento durante su crecimiento en el terreno. Esta enfermedad ataca a otros cultivares del género *Allium* tales como el ajo, la cebolleta y chalote donde también se presentan pérdidas considerables (Schwartz y Krishna, 1996).

Síntomas

Los bulbos de la cebolla pueden llegar a ser infectados por el patógeno en cualquier momento durante su crecimiento en el campo. Los primeros síntomas de la enfermedad son hojas amarillentas y/o necrosis a partir de las puntas de las hojas, desarrollándose progresivamente hacia abajo. Los bulbos atacados pueden mostrarse descoloridos y al ser cortados los tejidos afectados muestran una tonalidad de color marrón y apariencia aguada. Las raíces se pudren eventualmente y aparece un micelio blanco en la base del tallo que después se convierte en una coloración marrón. Cuando la enfermedad se encuentra más avanzada, los bulbos que en la cosecha se observan como si aparentemente no hubieran sido atacados muchas de las veces se pudren durante el almacenamiento (Schwartz y Krishna, 1996).

Raíz Rosada *Pyrenochaeta terrestris*

Es una de las enfermedades más devastadoras de cebollas cultivadas en climas cálidos. La enfermedad se presenta en todo el mundo y es especialmente grave en cebollas cultivadas en condiciones tropicales y subtropicales. En ocasiones

la enfermedad puede ser confundida con la Pudrición Basal por *Fusarium*. Este hongo que forma picnidios y ataca únicamente a las raíces; primero las coloniza sin matarlas coloreándolas de una tonalidad que se torna a color rojo-vino a medida que estas se van secando (Schwartz y Krishna, 1996).

Este fitopatógeno no aniquila la producción de las especies productoras de bulbos pero la cosecha se reduce y la desecación es mas precoz (Miessiaen *et al.*, 1995).

Síntomas

Las raíces infectadas se encuentran en primera instancia de color rosa (a veces de color amarillo a amarillento marrón) y con el tiempo se convierten de un rosa fuerte a rojo y finalmente purpura oscuro en etapas avanzadas de la enfermedad. Conforme esta avanza, las raíces se aguadan para después secarse y por ultimo se desintegran. Las plantas infectadas gravemente aparentan tener síntomas de deficiencia de nutrientes o sequia. El numero y tamaño de las hojas se reduce, además la formación de bulbos se adelanta en las plantas infectadas (Schwartz y Krishna, 1996).

Podredumbre por *Sclerotinia*

La podredumbre por el hongo *Sclerotinia sclerotium*, (Lib.) de Bary, se ha observado con poca frecuencia en las cebollas almacenadas en California, Florida, Hawái, Idaho, Michigan, Ohio, Washington y West Virginia y el ajo en Taiwán. El agente patógeno es más común en lugares frescos y húmedos; *Sclerotinia* causa enfermedades en más de 360 especies de plantas suculentas, entre ellas crucíferas, cucurbitáceas, lechuga, leguminosas, tomate, flores, hierbas y arbustos (Schwartz y Krishna, 1996).

Síntomas

Los síntomas no se han descrito en cebollas. En otras hortalizas la enfermedad se caracteriza por una pudrición acuosa suave con un crecimiento de

moho algodonoso blanco, sobre la superficie de la lesión. Finalmente se forman grandes esclerocios negros que se producen en la superficie de la lesión o incrustados en los tejidos (Schwartz y Krishna, 1996).

Pudrición Sureña *Sclerotium rolfsii*

Schwartz y Krishna, (1996) reportan que la pudrición sureña es causada por el hongo fitopatógeno *Sclerotium rolfsii* Sacc., el que se observa raramente en regiones templadas, además es observado con poca frecuencia en cebollas del sur de Estados Unidos a menos que la cosecha de primavera se retrase.

Síntomas

El hongo ocasiona manchas blancas y lesiones en el exterior del cuello de la planta. En la parte interna se observa ablandecimiento de la zona carnosa, la que después se aguada. Una gruesa capa de micelio se forma en el bulbo y se extiende en el suelo adyacente a él y a la materia orgánica presente en el suelo. Después se forman esclerocios esféricos de color marrón en el bulbo, así como en el suelo y materia orgánica. Si los bulbos infectados no se secan adecuadamente, con el tiempo se desintegran completamente como en una masa acuosa (Schwartz y Krishna, 1996).

Pudrición Blanca *Sclerotium cepivorum* Berk.

La pudrición blanca es una de las enfermedades más importantes de las especies de *Allium*. Esta enfermedad puede ocurrir donde sea que se cultiven cebollas y otros cultivares del género *Allium*. Es una enfermedad causada por el hongo *Sclerotium cepivorum* Berk., que ocasiona una pudrición debido a que las raíces, el bulbo y el cuello de la planta se cubren de un moho blanco muy característico de la enfermedad, con el tiempo esta pudrición se torna color oscuro. Las manifestaciones externas pueden confundirse con la marchitez causada por nematodos. Esta enfermedad representa grandes pérdidas de cosecha; las que según Pinto *et al.* (1998) podrían llegar hasta el 100% en algunos casos.

En México el patógeno se encuentra en los estados de Morelos, Puebla, México, Tlaxcala Guanajuato y Guerrero. En Guanajuato, en 1984 se determinó que los daños de la enfermedad oscilaban del 1 al 90% (Redondo, 1984 citado por Anaya y Romero, 1999).

Síntomas

La enfermedad puede atacar a la planta en cualquier época de su ciclo vegetativo. Los síntomas se manifiestan con el amarillamiento, la decoloración y la muerte progresiva de las hojas que se inicia apicalmente y continua en sentido descendente. Las plantas jóvenes pueden marchitarse y morir rápidamente. Las raíces y las zonas basales de las escamas y el bulbo son atacadas por el hongo, que hace su aparición en forma de un micelio superficial, abundante, blanco y esponjoso. Una podredumbre semiacuosa destruye las raíces y las escamas. A partir del micelio algodonoso aparecen como embebidos en los tejidos en descomposición, esclerocios de color blanquecino, que luego se tornan cafés y finalmente negros (Anaya y Romero, 1999).

Métodos de Control de Pudriciones Radiculares en el Cultivo de Cebolla

Control Cultural

Algunos métodos para el control de las pudriciones radiculares en este cultivo son las que a continuación se enlistan:

Se recomienda realizar la rotación de cultivos por largos periodos cuando el terreno se encuentra muy infectado por los patógenos.

Para el caso de pudrición blanca por *Sclerotium* se recomienda sembrar en épocas cálidas, puesto que en condiciones frías se observa un incremento en la incidencia de la enfermedad, además se sugiere la extracción de plantas dañadas con todo y tierra circundante e incorporar materia orgánica (Anaya y Romero, 1999).

Evitar la plantación de cultivares del género *Allium* en los campos que se encuentren infestados por los patógenos (Schwartz y Krishna, 1996).

Control Físico

La solarización del suelo puede controlar en un grado considerable la pudrición blanca, mientras tanto para la semilla de ajo es bueno dar un tratamiento con agua caliente para reducir el potencial de propagación del inoculo (Schwartz y Krishna, 1996).

Control Genético

Para el caso específico del control genético, este ha tenido muy poco desarrollo debido a la falta de producción de materiales resistentes, por la falta de buenas fuentes de resistencia a la enfermedad (Schwartz y Krishna, 1996).

Control Químico

La utilización de fungicidas sintéticos como la Iprodiona ha dado resultados favorables en el control de la pudrición blanca de la cebolla, aunque en ocasiones la utilización desconsiderada de estos compuestos resulta contraproducente para el control de dicha enfermedad.

La fumigación del suelo con Bromuro de Metilo y metil isotiocianato puede proporcionar un control parcial, pero con las mismas limitaciones de los fungicidas y el costo de la aplicación.

Control Biológico

Los métodos de control biológico que se utilizan para proteger directamente a las plantas del ataque de los patógenos, incluyen la acción de microorganismos antagonicos en el sitio de infección antes o después de que ocurra la infección.

Cook (1985) define al control biológico como la reducción en la densidad del inoculo o de la actividad productora de la enfermedad de un patógeno en su estado activo o dormante por uno o mas organismos, realizado de manera natural o por la manipulación del medio ambiente, hospedero o antagonista.

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 los 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 micorrizicos y rizobacterias benéficas. La microflora del suelo se desarrolla alrededor de las raíces de las plantas, esta es estimulada por la presencia de exudados radicales y otros elementos que aporta el hospedante. El tratamiento de semillas como los cereales, maíz dulce y las zanahorias con suspensiones acuosas pastas o polvos que contienen a las bacterias *Bacillus subtilis* Cepa A13 o *Sterptomyces* sp., han protegido a las plantas contra los patógenos de la raíz y han dado como resultado un mejor crecimiento y producción de esos cultivos (Miller *et al.*, 1989).

Antecedentes e Importancia del Control Biológico

La necesidad de reducir el uso de fungicidas químicos y productos fitosanitarios de síntesis ha dado paso a la práctica de la inoculación. En efecto, la demanda impuesta por la sostenibilidad esta conduciendo al uso de estrategias que mantengan una protección del medio ambiente. En este contexto el uso de inoculos microbianos, incluyendo algunos que se han modificado genéticamente, esta cobrando nuevamente interés. Los microorganismos mas usados pertenecen a los géneros: *Rhizobium*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Trichoderma* y *Sterptomyces*, entre otros (Sid *et al.*, 2000).

Bacillus subtilis

Habitad

Bacillus subtilis es una bacteria habitante del heno, polvo, suelo y en el agua principalmente. Esta especie es fácil de aislar de la tierra y se encuentra entre los

organismos mas frecuentes que aparecen cuando se siembran muestras de tierra en placas de agar (Bryan *et al.*, 1981).

Características Morfológicas

La forma de *Bacillus subtilis* es de bastones rectos o curvos, con los extremos redondeados, su agrupamiento es aislado y algunas veces en cadenas cortas, su tamaño oscila entre 3 y 4 micras por 1 micra. Su formación de esporas es ecuatorial, dichas esporas son subterminales, ovals y germinan lateralmente, miden 1.2 micras por 0.6 micras. Son bacterias de tipo gram (+) y además no son acido resistentes; su flagelación es peritrica con ocho o doce flagelos (Bryan *et al.*, 1981).

Fisiología y Composición

La temperatura optima para el desarrollo de esta bacteria es de 37°C; es una bacteria aeróbica y anaeróbica facultativa, forman amoniacos, reducen los nitratos a nitritos, produce ácido pero no gas, en glucosa, maltosa y sacarosa, posee una producción baja de ácido sulfhídrico, no forma indol, sus esporas son capaces de resistir la ebullición durante horas (Bryan *et al.*, 1981).

Formas de Inhibición de *B. subtilis*

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

Control Biológico con *Bacillus subtilis*

Lazzarete *et al.* (1994) utilizaron *B. subtilis* para controlar la pudrición radicular del frijol, la cual se evaluó comparando diferentes sustratos determinando que en

condiciones de laboratorio el tratamiento con turba fue el mas eficaz mientras en condiciones de campo la formulación a base de pectina fue la mas eficaz.

Brada *et al.* (1995) evaluaron el efecto de *Bacillus* sp. sobre la germinación y el desarrollo de las semillas de tomate infestadas con *Fusarium oxysporum* var. *cubensis* y encontraron que *Bacillus* inhibe la acción patogénica de *Fusarium*, permitiendo el desarrollo favorable de las plantas.

Experimentos realizados por Castellanos *et al.* (1995) con *B. subtilis* para el control de *Alternaria porri* en plantas de cebolla, alternados con aplicaciones de los fungicidas zineb y oxiclورو de cobre, indican que los tratamientos que combinaban fungicidas sintéticos y biológicos mostraron mejor control que el resto de los tratamientos.

Torres *et al.* (2001) realizaron pruebas in vitro con *Pseudomonas* sp. y *B. subtilis* aislados de plátano y arroz respectivamente. Estos microorganismos mostraron la capacidad de inhibir el crecimiento de hongos fitopatógenos del suelo tales como *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, *Pythium ultimum*, *R. solani*, *Sclerotium rolfsii*, *Phytophthora nicotianae*, *Fusarium moniliforme* y *Fusarium solani*.

Virgen (1990) reporta que el marchitamiento de la sandia causado por *F. oxysporum* f. sp. *niveum* se redujo 74.6 % con la aplicación de *B. subtilis*.

Álvarez (2003) evaluó una cepa de *B. subtilis* para el control de *F. oxysporum* en chiles jalapeños bajo condiciones de campo y obtuvo un 85.7 % de control, contra un 28.5 % en el tratamiento químico.

Guillen *et al.* (2005) utilizaron cuatro aislados de *Bacillus* y la mezcla de estos (B1, B3, B9 y B13) en el desarrollo y rendimiento en cultivo de chile, así como, el biocontrol de la pudrición de raíz y la identificación de dichos aislamientos. Sobresaliendo en altura de planta las cepas B13 y B3 con respecto al testigo y al tratamiento tradicional.

Aguilar (2006) trabajo bajo condiciones de invernadero con el cultivo de chile utilizando tres cepas de *Bacillus*, codificadas como B1, B3 y B13 para observar la supresión de hongos fitopatógenos de suelo encontrando que las cepas B1 y B13 a los 60 días después de la inoculación estimularon el crecimiento del cultivo en un 43.81 y 60.82% respectivamente en comparación con el testigo absoluto.

Hernández *et al.* (2006) compararon en diferentes experimentos de laboratorio y campo la bioeficacia de cinco aislados de *Bacillus* (B1, B3, B9, B13 y B15), la mezcla dichas cepas, además de la mezcla de los bioproductos quitosan y extracto de *Larrea tridentata* así como de cinco fungicidas sintéticos clorotalonil, fluazinam, iprodiona, propiconazol y tiabendazol, contra el hongo *Alternaria dauci* en el cultivo de zanahoria, al mismo tiempo determinaron el efecto de estos compuestos en el crecimiento y rendimiento del mismo cultivo. En dicho trabajo el aislado de *Bacillus* B1 mostro un mayor efecto antifúngico *in vitro* con una inhibición de 53.44 % y fue estadísticamente superior que los demás.

Hernández *et al.* (2005) realizaron estudios *in vitro* con 57 cepas de bacterias esporuladas pertenecientes al genero *Bacillus* contra *Phytophthora capsici* de las cuales 11 mostraron niveles apreciables de antibiosis; estas cepas fueron confrontadas *in vitro* contra *F. oxysporum* y *R. solani* fitopatógenos asociados comúnmente a la marchitez del chile. Los resultados indican que algunas cepas de *Bacillus* inhiben el desarrollo de estos fitopatógenos además de promover un incremento de hasta 191% en el peso de la raíz, así como disminuciones significativas en la incidencia y severidad de la enfermedad causada por los patógenos.

Trichoderma sp.

Habitad

El género *Trichoderma* esta en el ambiente y especialmente en el suelo. Se encuentra en suelos abundantes en materia orgánica y por su relación con ella esta clasificado en el grupo de hongos hipogeos, lignolícolas y depredadores. Es aeróbico y pueden estar en los suelos con pH neutro hasta ácido (Moyea 1991).

Características Morfológicas

Trichoderma sp. es un hongo que presenta hifas estériles trepadoras, septadas originando un césped miceliar aplanado solido. Los conidióforos son erectos saliendo de ramas laterales cortas ramificadas, la ramificación es comúnmente opuesta sin el ápice hinchado y produciendo de manera terminal cabezuelas de conidios. Los conidios son pequeños, la mayoría globosos hialinos o de colores brillantes (Gilman, 1963).

Modo de Acción de *Trichoderma spp.*

Trichoderma esta asociado a la descomposición de la materia orgánica que hay en el suelo y actua como antagonista contra microorganismos patógenos a las plantas usando procesos de amensalismo, depredación, parasitismo, competición, y por su hiperparasitismo (Gilman, 1963).

Trichoderma participa en la biotransformación de celulosa, en la transformación de hemicelulosa, en la mineralización del nitrógeno y de algunas proteínas presentes en la degradación y en la descomposición de la lignina y del humus que al tener estructuras basadas en núcleos aromáticos son degradados por oxidación de cadenas laterales. Estos procesos biológicos de digerimiento favorecen el crecimiento de la planta, le ofrecen un mayor vigor germinativo a las semillas, un mejor desarrollo de la raíz y una mejor expresión fenotípica (Moyea 1991).

El principal beneficio de *Trichoderma* para la agricultura es el Antagonismo con microorganismos patógenos de las plantas por su capacidad para producir secreciones enzimáticas tóxicas extracelulares que causan desintegración y muerte en hongos fitopatógenos que habitan el suelo (Hashioka, 1973).

Micoparasitismo

Capacidad para producir secreciones enzimáticas toxicas extracelulares que causan desintegración y muerte de hongos fitopatógeno habitantes del suelo (Samuels, 1996).

Amensalismo

Mediante la producción de compuestos volátiles y antibióticos antifungales que inhiben gran cantidad de hongos fitopatógenos (Samuels, 1996).

Predación

A través de la desintegración de las paredes celulares de las hifas de hongos patogénicos; es la colonización directa del hongo por penetración hifal (Samuels, 1996).

Control Biológico con *Trichoderma sp.*

Liu y Baker (1980) mencionan que a nivel de laboratorio existe antagonismo de *Trichoderma harzianum* contra *R. solani* observando que las ramificaciones de *T. harzianum* son capaces de atacar y enrollarse alrededor de las hifas de este patógeno.

Senhamou y Chet (1993) estudiaron la interacción de *Trichoderma harzianum* y *Rhizoctonia solani* con el microscopio electrónico y encontraron que *T. harzianum* provoca una desorganización en la pared celular de *R. solani*.

Samaniego y Gámez (2000) evaluaron la emergencia y permanencia de plántulas de alfalfa, algodón, frijol, melón y tomate en residuos orgánicos o mezclas de estos en diferentes proporciones con arena, utilizando para ello turba, corteza de coco, corteza de coco tratada con calor y germinaza inoculada con *Trichoderma harzianum*, en algunos tratamientos utilizaron los residuos infestados con *Rhizoctonia solani* de igual manera las semillas se inocularon con dicho patógeno; los resultados indican que el tratamiento de germinaza con *Trichoderma harzianum* permitió un porcentaje de establecimiento de plántulas superior al testigo, este porcentaje fue de alrededor del 80%.

Hernández *et al.* (2008) confrontaron 31 cepas de *Trichoderma* sp. contra *Phytophthora capsici* y *Phytophthora cinnamomi* para determinar el antagonismo de este sobre los fitopatógenos y el efecto de los compuestos volátiles producidos por el mismo en condiciones *In vitro*. Determinando que 17 cepas de *Trichoderma* sobrecrecen el micelio de *P. capsici* y cubren la caja petri.

Ramos (2008) determino el efecto antagónico *In vitro* de 31 cepas de *Trichoderma* sp. sobre *Fusarium oxysporum*, observando la inhibición del patógeno en su crecimiento micelial, donde fue superior el diámetro de las colonias de *Trichoderma* sp. que oscilaban entre 3.68 cm y 6.93 cm contra los de *F. oxysporum* que fue de 3.43 cm y 4.15 cm.

MATERIALES Y METODOS

Ubicación del Experimento

La presente investigación se realizó en el laboratorio de Fitopatología y en el campo experimental de la Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro”, (UAAAN) ubicada en Buenavista, Saltillo, Coahuila, entre los paralelos 25° 22´ y 25° 21´ de latitud N y los meridianos 101° 01´ y 101° 03´ de longitud W.

Microorganismos Utilizados

Las cepas bacterianas de *Bacillus* spp. codificadas con las claves BCC1, M₂ y J₁ y el hongo antagonista *Trichoderma* fueron proporcionadas por el laboratorio del Centro de Microbiología Aplicada (CEMAP) de la empresa GreenCorp Biorganiks de México S.A. de C. V. con la finalidad de estudiar su comportamiento como microencapsulados en el cultivo de la cebolla.

Microencapsulación de Organismos Benéficos en la Semilla

La microencapsulación de los microorganismos señalados en el párrafo anterior se realizó con un biopolímero proporcionado por la empresa GreenCorp Biorganiks de México S.A. de C. V. la metodología empleada se menciona a continuación:

1.- Lavado de Semilla:

Este procedimiento se llevó a cabo con la finalidad de eliminar el tratamiento químico que contienen las semillas de cebolla, efectuándose de la siguiente manera:

- 1.- Las semillas se lavaron con 100 ml agua corriente contenidas en un matraz Erlenmeyer con un agitador magnético durante 10 min.
- 2.- Se decantó el agua y se adicionaron 5 ml de una solución de Tween 20 al 2% en 100 ml de agua manteniendo en agitación constante por 10 min.

3.- Se decanto el Tween 20 y se le adiciono una solución de Hipoclorito de Sodio (NaClO_3) al 3% manteniendo en agitación por 5 min.

4.- Se adiciono una solución de 100 ml de Tiosulfato de Sodio Pentahidratado al 2% para neutralizar el efecto del cloro manteniéndolas en agitación constante durante 5 min.

5.- Se decanto el Tiosulfato de Sodio Pentahidratado al 2% y se lavaron las semillas cinco veces con agua destilada estéril.

2.- Microencapsulación de la Semilla

El biopolímero fue diluido a una proporción de 1:10 en agua destilada y fue esterilizado a 120°C por 15 min. En seguida se tomo 1 ml del Biopolímero y se le adiciono a 50 ml de caldo nutritivo con la cepa de *Bacillus* correspondiente, a una concentración de 1×10^8 ufc/ml. Para el caso de *Trichoderma* se obtuvo una suspensión de 50 ml de esporas a una concentración de 1×10^8 esporas/ml y se le adiciono 1 ml del Biopolímero. Los matraces se agitaron por 1 min y se les agregaron a cada uno 600 semillas de cebolla (cv. Súper White Grano de la compañía Dessert) manteniéndolas en agitación durante 1h a 100 rpm en un agitador horizontal. Posteriormente se decanto el liquido y las semillas se depositaron en cajas petri (rotuladas con cada microorganismo) con papel filtro en su base hasta que estas se secan y se conservaron a temperatura ambiente hasta su siembra. Para verificar que los organismos se hayan adherido a la semilla microencapsulada con el biopolímero, se depositaron semillas de cebolla con las diferentes cepas de *Bacillus* y esporas de *Trichoderma* en cajas petri con medio de cultivo PDA y se incubaron durante 24 – 48 h a 28°C . Al término de este tiempo se observaron las cajas petri para determinar si había o no crecimiento de estos microorganismos en los medios de cultivo.

Producción de Plántula de Cebolla

La siembra de las semillas de cebolla previamente microencapsuladas con los microorganismos para la producción de plántula se realizo en el invernadero del

Departamento de Parasitología Agrícola de la UAAAN. Se utilizaron charolas de 200 cavidades con sustrato Peatmoss esterilizado en autoclave y se colocó una semilla por cavidad. Durante el tiempo que estuvieron en invernadero se regaron cada tercer día para mantener una humedad adecuada para el crecimiento de las plantas.

Trasplante de Cebolla en Campo

El trasplante se realizó con plántulas de 45 días. Las charolas se trasladaron con la plántula a campo y ahí se procedió a su trasplante. A los 30 días después del trasplante se realizó una aplicación de microorganismos que correspondían al tratamiento inicial al cuello de la planta en la superficie de suelo con soluciones de bacterias y hongo benéficos a una concentración de 1×10^8 esporas/ml. La aplicación se realizó con una aspersora manual de 10 L de capacidad.

Diseño experimental

El experimento de campo se evaluó bajo un diseño de Bloques al azar con siete tratamientos y tres repeticiones y la prueba de medias DMS con 5% de significancia; los tratamientos empleados son:

- 1.- Semilla microencapsulada con *Bacillus sp. Cepa BCC1*
- 2.- Semilla microencapsulada con *Bacillus sp. Cepa M₂*
- 3.- Semilla microencapsulada con *Bacillus sp. Cepa J₁*
- 4.- Semilla microencapsulada con mezcla de *Bacillus* (BCC1+ M₂+ J₁)
- 5.- Semilla microencapsulada con *Trichoderma sp.*
- 6.- Tratamiento químico (thiabendazol 1g/l).
- 7.- Testigo absoluto.

Cada parcela experimental consistió de cuatro surcos de 4m de largo y 0.92 m de ancho, siendo la parcela útil los dos surcos centrales; se dejó 1 m de separación entre las parcelas experimentales.

Los parámetros evaluados para determinar el efecto de los microorganismos fue la incidencia de la enfermedad (marchites de planta) en proporción al porcentaje de plantas enfermas y plantas sanas y la severidad de acuerdo a la escala de: Engelherd (1986), donde 0, ningún síntoma visible en la hoja; 1, clorosis o decoloración vascular o ambas en una o mas hojas; 2, clorosis o decoloración vascular o ambas, además daño en hojas o vástago o ambos; 3, síntoma de la hoja marchita; 4, síntoma de hoja marchita y crecimiento impedido de la planta; 5, muerte de la planta.

En cuanto a variables agronómicas y con la finalidad de determinar el efecto en la promoción de crecimiento se midió:

- a) Altura de planta.
- b) Diámetro de tallo
- c) Peso fresco

La altura de planta se tomo a los 45 días después de la siembra; aun en plántula en charolas, con la ayuda de una regla graduada a partir del ras del suelo hasta la punta de la hoja más grande. Así mismo se midió el Diámetro de Tallo con un vernier electrónico, para esta lectura se midió el cuello de la planta al ras del suelo donde se diferencia la parte subterránea de la parte aérea de la planta.

De igual manera a los 30 días después del trasplante se llevo a cabo una segunda medición de altura de planta y diámetro de tallo.

Al momento de la cosecha los bulbos de cebolla, se colocaron en bolsas de papel e inmediatamente se determino el Peso Fresco por tratamiento utilizando para ello una balanza granataria marca Torrey.

RESULTADOS Y DISCUSION

Microencapsulación de *Bacillus* y *Trichoderma*

Mediante la metodología aplicada fue posible encapsular las diferentes cepas de *Bacillus* y las esporas de *Trichoderma* en la semilla de cebolla con el biopolímero; no se detectó ningún efecto detrimento en los microorganismos empleados. Lo anterior se comprobó mediante la siembra de la semilla inoculada con los diferentes microorganismos en placas con medio de cultivo PDA, en ellas se pudo observar en un tiempo de 24 a 48 h el crecimiento de la masa bacteriana de *Bacillus* (Figura 1) y el crecimiento micelial para el caso de *Trichoderma* (Figura 2). De esta forma se pudo constatar que los microorganismos se encontraban adheridos a la semilla que sería sembrada posteriormente en charolas de germinación.



Fig. 1 Crecimiento bacteriano de la mezcla de *Bacillus* inoculada a la semilla de cebolla con el Biopolímero.



Fig. 2 Crecimiento micelial de *Trichoderma* spp. inoculado a la semilla de cebolla con el Biopolímero.

Efecto de la Inoculación de Cepas de *Bacillus* spp. y *Trichoderma* a las Semillas de Cebolla.

Altura de Planta (45 dds)

La altura de planta vario de 8.62 cm en el tratamiento con *Trichoderma* a 12.80 cm en el tratamiento con la mezcla de diferentes cepas de *Bacillus* (BCC1, J₂, M₁) (Cuadro 1), detectándose diferencia significativa entre tratamientos (Cuadro 2 del apéndice). La mezcla de *Bacillus*, el Tratamiento Químico y *Bacillus* BCC1 desarrollaron una altura superior estadísticamente a la observada en el Testigo (Cuadro 1). El análisis de varianza no detecto diferencias significativas entre la altura de las plantas del testigo y de los tratamientos con M₂, J₁ y *Trichoderma*.

Cuadro 1. Altura de planta de cebolla expresada en cm a los 45 días después de la siembra en semilla tratada con diferentes cepas de *Bacillus* y *Trichoderma*.

Tratamientos	Altura en cm.
Mezcla de <i>Bacillus</i>	12.80 a
Tratamiento Químico	12.10 ab
<i>Bacillus</i> BCC1	11.82 abc
<i>Bacillus</i> M ₂	10.51 bcd
Testigo	10.03 cd
<i>Bacillus</i> J ₁	9.08 d
<i>Trichoderma</i>	8.62 d

Diámetro de Tallo de Plántula (45 dds)

Con respecto a la variable diámetro de tallo, este oscilo desde 0.94 mm en el tratamiento con *Trichoderma*, a 1.58 mm en el tratamiento con la Mezcla de *Bacillus*

(Cuadro 2). El análisis de varianza detectó diferencias estadísticas entre los tratamientos (Cuadro 4 del apéndice). El tratamiento que presentó estadísticamente mayor diámetro de tallo que el testigo fue la mezcla de las cepas de *Bacillus* (Cuadro 2); mientras que los tratamientos con *Bacillus* J₁ y *Trichoderma* desarrollaron un diámetro inferior al testigo.

Cuadro 2. Diámetro de tallo expresado en mm a los 45 días después de la siembra en semilla tratada con diferentes cepas de *Bacillus* y *Trichoderma*.

Tratamientos	Diámetro de Tallo en mm.
Mezcla de <i>Bacillus</i>	1.58 a
<i>Bacillus</i> BCC1	1.29 b
Testigo	1.27 b
<i>Bacillus</i> M ₂	1.26 bc
Tratamiento Químico	1.12 bcd
<i>Bacillus</i> J ₁	1.02 cd
<i>Trichoderma</i>	0.94 d

Altura de Planta en Campo (30 ddt)

La altura de planta se expresó en valores que variaron desde 11.14 cm en el tratamiento con *Bacillus* J₁ a 14.14 cm en el tratamiento con la Mezcla de *Bacillus* (Cuadro 3). El análisis de varianza no detectó diferencias estadísticas entre los tratamientos (Cuadro 6 del apéndice). Sin embargo, los tratamientos con mayor altura de planta que el testigo fueron la Mezcla de *Bacillus* y *Bacillus* BCC1, tratamiento Químico y *Trichoderma*, con un 23.3, 22.6, 2.0 y 0.3% de incremento, respectivamente. Así mismo, es importante señalar que aunque no se detectaron diferencias estadísticas entre tratamientos, si se observó que bajo condiciones de campo los tratamientos con las diferentes cepas de *Bacillus*, la Mezcla de *Bacillus* y

Trichoderma mostraban mayor uniformidad en el desarrollo de la planta, contrariamente a lo manifestado en el Tratamiento Químico y en el Testigo en los que se observó una marcada irregularidad en el desarrollo de la planta. Esto indica que tanto las bacterias tipo *Bacillus* como el hongo *Trichoderma* tienen influencia positiva en el desarrollo del cultivo lo cual se ve reflejado en la uniformidad del mismo.

Cuadro 3. Altura de planta de cebolla expresada en cm a los 30 días después del trasplante en semilla tratada con diferentes cepas de *Bacillus* y *Trichoderma*.

Tratamientos	Altura de Planta en cm.
Mezcla de <i>Bacillus</i>	14.14 a
<i>Bacillus</i> BCC1	14.07 a
Tratamiento Químico	11.70 a
<i>Trichoderma</i>	11.51 a
Testigo	11.47 a
<i>Bacillus</i> M ₂	11.33 a
<i>Bacillus</i> J ₁	11.14 a

Diámetro de tallo en campo (30 ddt)

De la misma forma que como se hizo en estado de plántula, se determinó el Diámetro de Tallo a 30 días después del trasplante, el cual osciló de 1.60 mm en el tratamiento con *Trichoderma* hasta 2.39 con la cepa de *Bacillus* BCC1 (Cuadro 4). El análisis de varianza detectó diferencias estadísticas entre los tratamientos (Cuadro 8 del apéndice). El mayor diámetro de tallo se observó en los tratamientos con *Bacillus* BCC1, la Mezcla de *Bacillus* y el Tratamiento Químico los que son estadísticamente similares entre sí. Sin embargo el único que se diferenció significativamente del testigo fue el tratamiento con *Bacillus* BCC1, (Cuadro 4). El

aumento en el diámetro de tallo de la planta de cebolla se incrementa hasta en un 36.5% con BCC1 y 29.7% con la Mezcla de *Bacillus*.

Cuadro 4. Diámetro de tallo de cebolla expresado en mm a los 30 días después del trasplante en semilla tratada con diferentes cepas de *Bacillus* y *Trichoderma*.

Tratamientos	Diámetro de Tallo en mm
<i>Bacillus</i> BCC1	2.39 a
Mezcla de <i>Bacillus</i>	2.27 ab
Tratamiento Químico	1.89 abc
<i>Bacillus</i> J ₁	1.76 bc
Testigo	1.75 bc
<i>Bacillus</i> M ₂	1.74 bc
<i>Trichoderma</i>	1.60 c

Altura de Planta y Diámetro de Tallo en Campo (60 ddt)

La altura de planta para esta edad varió de 24.71 cm del Tratamiento con *Trichoderma* a 29.49 cm del tratamiento *Bacillus* J₁ (Tabla 5). El análisis de varianza no detecto ninguna diferencia estadística entre los tratamientos (Cuadro 10 del apéndice). Sin embargo los tratamientos que expresaron mayor altura que el testigo fueron *Bacillus* J₁, M₂ y BCC1.

El diámetro de tallo oscilo de 6.21 mm en el tratamiento con *Trichoderma* a 8.80 mm con el tratamiento de *Bacillus* BCC1 (Cuadro 5). El análisis de varianza no arrojó diferencias estadísticas entre tratamientos (Cuadro 12 del apéndice). Numéricamente el Tratamiento con la cepa *Bacillus* BCC1 presentó un diámetro de tallo 15% mayor que el testigo.

Cuadro 5. Altura de planta de cebolla y Diámetro de Tallo expresados en cm y en mm respectivamente, a los 60 días después del trasplante en semilla tratada con diferentes cepas de *Bacillus* y *Trichoderma*.

Tratamientos	Altura de planta en cm.	Diámetro de tallo en mm
<i>Bacillus</i> J ₁	29.49 a	7.23 a
<i>Bacillus</i> M ₂	28.84 a	7.74 a
<i>Bacillus</i> BCC1	28.50 a	8.80 a
Testigo	28.49 a	7.60 a
Tratamiento		
Químico	27.60 a	7.11 a
Mezcla de <i>Bacillus</i>	25.23 a	6.49 a
<i>Trichoderma</i>	24.71 a	6.21 a

Peso Fresco (115 ddt)

El Peso Fresco de la planta vario desde 204.7 g en el tratamiento con *Bacillus* M₂ a 484.0 g en el tratamiento con *Bacillus* BCC1 (Cuadro 6). El análisis de varianza demuestra que existen diferencias estadísticas entre tratamientos (Cuadro 14 del apéndice). Los tratamientos con *Bacillus* BCC₁ y J₁ mostraron un peso fresco estadísticamente superior al que expreso el tratamiento con *Bacillus* M₂, el resto de los tratamientos son estadísticamente similares entre si. Sin embargo los tratamientos con *Bacillus* BCC1 incrementan en 32% el peso total de las plantas *Bacillus* J₁ en 21.9% y la mezcla 11.2%.

Cuadro 6. Peso Fresco de cebolla en cosecha expresado en g en un cultivo tratado con diferentes cepas de *Trichoderma* y *Bacillus* inoculadas a la semilla.

Tratamientos	Peso Fresco en g
<i>Bacillus</i> BCC1	484.0 a
<i>Bacillus</i> J ₁	445.7 a
Mezcla de <i>Bacillus</i>	406.7 ab
Tratamiento Químico	388.3 ab
Testigo	365.7 ab
<i>Trichoderma</i>	354.7 ab
<i>Bacillus</i> M ₂	204.7 b

Efecto de la Inoculación de Diferentes Cepas de *Bacillus* y *Trichoderma* al Cultivo de Cebolla en la Incidencia y Severidad de Pudriciones Radiculares.

No fue posible determinar el efecto de los microorganismos en la incidencia y severidad de la enfermedad dado que durante el desarrollo del cultivo no se presentaron síntomas de pudriciones radiculares, por lo que no fue necesario medir el efecto antifúngico de *Bacillus* y *Trichoderma* sobre los fitopatógenos. Probablemente en el área de cultivo donde se estableció el experimento no se encontraba el inóculo suficiente para que se pudiese manifestar la enfermedad; también pudo deberse a que las parcelas experimentales fueron establecidas en una área donde en ciclo anterior se cultivo ajo y este recibió tratamientos químicos y biológicos motivando que la presencia del fitopatógeno fuera muy reducida o este no se presentara.

Durante el experimento se observó que el mayor efecto de los antagonistas en el cultivo de cebolla, se dio en los primeros días después del trasplante y durante el desarrollo de este hasta los 60 días. Posteriormente aunque no se aprecian diferencias estadísticas en altura de planta y diámetro de tallo si se reflejan

incrementos en el peso fresco de planta (biomasa) con el empleo de *Bacillus*; particularmente con las cepas *Bacillus* BCC1 y *Bacillus* J₁.

CONCLUSIONES

Bajo las condiciones experimentales en que se desarrollo esta investigación podemos concluir lo siguiente:

1.- El proceso de micro encapsulación con el biopolímero permite la adhesión de las bacterias del genero *Bacillus* y de las esporas hongo *Trichoderma* a la semilla, sin afectar la viabilidad de las semillas ni la de los microorganismos.

2.- Existe efecto significativo de promoción del crecimiento en el cultivo de cebolla por parte de *Bacillus* y *Trichoderma* durante los primeros 60 días después del trasplante.

3.- El efecto sinérgico de la mezcla de bacterias del tipo de *Bacillus* favorecen el desarrollo del cultivo significativamente respecto al efecto individual de cada bacteria.

LITERATURA CITADA

- Agrios G. N. 2004. Fitopatología. Ed. Limusa. 2da. Edición. México D.F. 838 p.
- Aguilar E. P. 2006. Supresión de Hongos Fitopatogenos de Suelo Mediante Agentes de Biocontrol en el Cultivo de Chile Bajo Condiciones de Invernadero. Tesis de Licenciatura UAAAN. Buenavista Saltillo Coahuila México. 63 p.
- Álvarez Z.R. 2003. El biocontrol con *Trichoderma* y *Bacillus* como un factor del manejo integrado de la marchitez vascular del chile. Memorias del XXX Congreso de la Sociedad Mexicana de Fitopatología. South Padre Island, Texas, USA. pp. 102.
- Anaya R. S. y Romero, N. J. 1999. Hortalizas plagas y enfermedades. Ed. Trillas. México. 544 p.
- Anónimo 2008. Primera Conferencia Internacional de Cebollas. Ed. Comunica y diseña. León, Guanajuato, México. 91p.
- Bashan Y., Hernandez J.P., Leyva L.A. and Bacilio M. 2000. Alginate microbeads as inoculant carrier for plant growth-promoting bacteria. *Biology and Fertility of Soils*. 35:359-368
- Brada I.E., Quintana E., Pelaya E., Araujo T. 1995. Efecto de *Bacillus* sp. Sobre la germinación y desarrollo de semillas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) infestadas con *Fusarium oxysporum* var. *cubensis*. Resúmenes Bioplaguicidas 95. La Habana, Cuba. pp. 11.
- Bryan A. J. 1981. Bacteriología Principios y Prácticas. Ed. C.E.C.S.A. Sexta Edición. México D. F. Pág. 162-163
- Cassan F., Botini R., Schneider G. and Piccoli P. 2001. *Azospirillum brasilense* and *Azospirillum lipoferum* hidroliz conjugates of GA20 and metabolize that resultant aglycones to GA1 in seedlings of rice dwarf mutants. *Plant Physiol*. 125:2053-2058.
- Castell V. y Diez M. J. 2000. Colección de semillas de cebolla del centro de conservación y mejora de la agrodiversidad valenciana. Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria. Madrid, España. 99p.
- Castellanos J. J., Oliva P., Izquierdo E. y Morales N. 1995. Evaluación de *Bacillus subtilis* como biocontrol del patogeno *Alternaria porri* (Ell). Cif en cebolla. In Bioplag 95. La Habana Cuba. INIFAT. P 21.

- Cook R. J. and Baker K. F. 1985. The nature and practice of biological control of plant pathogens. The American Phytopathological Society. 2da. Ed. St. Paul Minnesota. Pp 57-83.
- Conquist A. 1977. Introducción a la Botánica Sistemática. Editorial C.E.C.S.A. México D.F.
- Hernández C.F.D., Aguirre A. A., Lira S.R.H., Guerrero R.E. y Gallegos M.G. 2006. Bioeficacia de Productos Orgánicos, Biológicos y Químicos Contra *Alternaria dauci* Kühn y su efecto en el cultivo de zanahoria. International Journal Experimental Botany. 75:91-101.
- Hernández C.F.D., De la Garza R. R., Gallegos M.G., Padrón C. E., Sánchez A. A. y Lira S.R.H. 2005. Efectividad Biológica de Bacterias Rizosfericas Esporuladas sobre el Complejo de Hongos de la Marchitez del Chile. International Journal Experimental Botany. 74: 171-180.
- Hernández C.F.D., García J. C., Osorio E., Lara F. y Gallegos M.G. 2008. Antagonismo in vitro de 31 cepas de *Trichoderma* sobre *Phytophthora capsici*; agente causal de la Marchitez del Chile. Memorias del X Congreso Mundial de *Trichoderma* y *Gliocadium*. Del 21al 23 de Mayo. San José Costa Rica.
- Garcia de Salmone I. E., Ines R. K., and Nelson L. M. 200. Cytokinin production by plant growth promoting rhizobacteria and selected mutants. Can J. Microbiol. 47:404-411.
- Gilman J. C. 1963. Manual de los Hongos del Suelo. Cía. Editorial Continental S. A. México D. F. 572 p.
- Guillen C. R., Hernández C.F.D., Gallegos M.G., Rodriguez H.R., Aguilar G.C.N., Padron C.E. Reyes V.M.H. 2006. Bacillus spp. como Biocontrol en un suelo infestado con *Fusarium* sp., *Rhizoctonia solani* Kühn y *Phytophthora capsici* Leonian y su efecto en el desarrollo y rendimiento del chile (*Capsicum annum* L.). Revista Mexicana de Fitopatología 24:105-114.
- Gustafson. 1993. Technical Bolletin Kodiak , Plano Texas. E. U. A. 19 p.
- Hashyoca. Y. 1973. Mycoparasitism in relation to phytopathogens.. p. 179-190
- Idriss E. E., Makarewics O., Farouk A., Rosner K., Greiner R., Bochow H., Richter T. and Borris R. 2002. Extracellular phytase activity of *Bacillus amyloliquefaciens* FZB45 contributes to its plant-growth-promoting effect. Microbiology. 148:2097-2109.
- Lazzarete E., Menten J.O.M. y Bettiol W. 1994. *Bacillus subtilis* antagonicos aos principaes patógenos asociados a sementes de feijao e trigo. Fitopatologia Venezolana. 7:42-46.

- Liu S. and Baker R. 1980. Mechanism of biocontrol in soil y suppressive to *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology* 70 (5): 404-411.
- Miessiaen C. M., Blancard D., Rouxel F., y Lafon R. 1995. Enfermedades de las hortalizas. Ed. Mundi-Prensa. Madrid España. 576 p.
- Moyea S. 1991. Introducción a la microbiología del suelo. La Habana: Pueblo y Educación. pp.34
- Pérez G. M., Márquez S. F. y Peña L. A. 1998. Mejoramiento Genético de hortalizas. Ed. Mundi Prensa. 2da edición. México D. F. 380 p.
- Ramos M. M. 2008. Efecto Antagónico In vitro de Aislamientos de *Trichoderma* spp. sobre *Fusarium oxysporum*. Tesis de Licenciatura UAAAN. Buenavista Saltillo Coahuila México. 51 p.
- Rivera C. C. E. 2006. Efecto de la Productividad de Cebolla (*Allium cepa* L.) en Diferentes Edades de plántula a Trasplante en Tres Diferentes Condiciones de Fertilización. Tesis de Licenciatura. Buenavista Saltillo Coah. México. 83 p.
- Samaniego-Gaxiola J.A. y Gámez-Escobedo I.A. 2000 Evaluación de residuos para mantener la sanidad de semillas inoculadas con *Trichoderma* sp. en suelo infestado con *Rhizoctonia solani*. *Revista Mexicana de Fitopatología* 18:71-78.
- Samuels, G. J. 1996. *Trichoderma*: a review of biology and systematics of the genus. In: *Micological* 100:923-935
- Schwartz H. F. and Krishna M.S. 1996. Compendium of Onion and Garlic Diseases. APS Press. Second Printing. St. Paul Minnesota, USA. 87p.
- Servicio de Información y Agroalimentaria y Pesca (SIAP) SAGARPA. México 2007. <http://www.siap.sagarpa.gob.mx/>
- Sid Ahmed A., Perez-Sanchez C. y Candela M.E.2000. Evaluation of induction of systemic resistance in peper plants (*Capsicum annum* L.) to *Phytophthora capsici* using *Trichoderma harzianum* and its relation with capsidiol accumulation. *European J. of Plant Pathology*. 106:817-824
- Strenhoudt O. and Vanderleyden J. 2000. *Azospirillum*, a free-living nitrogen-fixing bacterium closely associated with grasses; biochemical and ecological aspects. *FEMS Microbiol. Rev.* 24:487-506.

- Torres L. A., Wong W., Miguel A., Fernandez A., Amat Z. 2001. Actividad antagónica de especies de *Bacillus* spp. contra *Rhizoctonia solani* y *Sclerotium rolfsii*. Revista Fitosanidad.
- Valadez L. A. 1997. Producción de Hortalizas. Grupo Noriega Editores. Sexta reimpresión. México D.F. 298 p.
- Virgen C.G. 1990. Control biológico de *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* con *Bacillus subtilis* en sandía bajo condiciones de campo. Tesis Maestría UAAAN. Buenavista Saltillo Coahuila, México. 63 p.

RESUMEN

El cultivo de cebolla en México es muy importante por los usos que a esta se le dan en la alimentación humana y las propiedades medicinales y sensoriales que presenta. La producción nacional en 2007 fue de 487,03.33 ha con un rendimiento de 28.82 ton/ha. Su producción se limita por el ataque de fitopatógenos causantes de pudriciones radiculares, que se controlan con productos químicos, sin embargo estos son nocivos para la salud de los consumidores además contaminan el ambiente, suelo y mantos freáticos. Por tal motivo es importante la utilización del control biológico, una alternativa eficaz en el manejo de fitopatógenos mediante la utilización de bacterias y hongos antagonistas promotores de crecimiento, produciéndose alimentos libres de residuos tóxicos.

Con la finalidad de observar el efecto de cepas de *Bacillus* y *Trichoderma* en el cultivo de cebolla se encapsularon estos microorganismos a la semilla de cebolla con un biopolímero, para su siembra en charolas de unisel con Peatmoss y su posterior trasplante en campo. Se realizó una aplicación de los mismos microorganismos a una concentración de 1×10^8 esporas/ml en campo después del trasplante de cebolla, estos tratamientos se compararon con un tratamiento químico (thiabendazol) y un testigo absoluto. Se midieron las variables altura de planta, diámetro de tallo y peso fresco. El experimento se evaluó bajo un diseño bloques al azar con siete tratamientos y tres repeticiones, la prueba de medias fue DMS al 5%.

Se logró encapsular a los microorganismos en la semilla de cebolla, observando su viabilidad mediante la siembra de estas en PDA, en el cual se observó crecimiento bacteriano y micelial de los organismos utilizados.

La altura de planta fue mayor en el tratamiento de Mezcla de *Bacillus* con 12.80 cm y el menor fue de 8.60 de *Trichoderma* a los 45 dds. Determinándose diferencias estadísticas entre los tratamientos. El mayor diámetro de tallo se obtuvo con la Mezcla de *Bacillus* con 1.58 mm y el menor fue *Trichoderma* con 0.94 mm.

A los 30 ddt la altura de planta fue mayor en la Mezcla de *Bacillus* con 14.14 cm y menor en *Bacillus* J₁ con 11.14 cm; mientras que el diámetro de tallo fue mayor en *Bacillus* BCC1 que expreso 2.39 mm y 1.60 mm en el tratamiento con *Trichoderma* que fue el menor.

El peso fresco en cosecha vario de 204.7 g en el tratamiento con *Bacillus* M₂ hasta 484.0 g en el tratamiento con *Bacillus* BCC1.

Los tratamientos biológicos demuestran uniformidad en el desarrollo del cultivo de cebolla durante las primeras etapas fenológicas, en contraste con el tratamiento químico y testigo que muestran una irregularidad marcada. La mezcla de cepas de *Bacillus* expresa mayor efecto estimulante en el desarrollo del cultivo con respecto a efecto individual de de cada bacteria.

APENDICE

Cuadro No. 1. Altura de planta de cebolla expresada en cm a los 45 días después de la siembra en semilla tratada con diferentes cepas de *Bacillus* y *Trichoderma*.

Tratamientos	Repeticiones										Σ	\bar{X}
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
BCC1	15.3	9.4	13.0	9.6	11.5	14.8	11.0	11.5	11.0	11.1	118.2	11.82
M ₂	12.9	10.3	9.5	10.0	12.0	11.0	10.4	10.6	9.5	9.0	105.2	10.52
J ₁	11.5	9.0	12.0	10.6	8.5	9.5	6.7	6.0	8.0	7.0	88.8	8.88
Mezcla de <i>Bacillus</i>	12.0	10.5	15.5	13.0	13.2	11.5	17.5	14.0	10.3	10.5	128.0	12.80
<i>Trichoderma</i> Tratamiento	11.5	8.0	8.0	7.9	9.5	7.5	10.5	7.0	5.8	10.5	86.2	8.62
Químico	12.0	11.5	11.4	15.0	14.0	12.8	11.5	11.0	11.0	11.2	121.4	12.14
Testigo	10.5	11.0	9.0	9.5	8.5	11.3	11.1	9.5	9.5	10.4	100.3	10.03

Cuadro No. 2. Análisis de varianza de altura de planta de cebolla a los 45 días después de la siembra en semilla tratada con diferentes cepas de *Bacillus* y *Trichoderma*.

FV	GL	SC	CM	F	P > F
Tratamientos	6	150.6804200	25.1134033	8.45	0.0001
Error	63	187.1388100	2.9704573		
Total	69	337.8192300			

C.V.= 16.09 %

Cuadro No. 3. Diámetro de tallo expresado en mm a los 45 días después de la siembra en semilla tratada con diferentes cepas de *Bacillus* y *Trichoderma*.

Tratamientos	Repeticiones										Σ	\bar{X}
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
BCC1	1.9	2.0	1.7	1.1	1.1	1.05	1.0	1.1	1.1	0.8	12.85	1.285
M ₂	1.7	0.9	1.0	1.0	1.3	1.0	1.1	1.9	1.6	1.1	12.6	1.26
J ₁	1.0	1.0	0.8	1.2	1.3	0.9	1.0	0.9	0.9	1.2	10.2	1.02
Mezcla de <i>Bacillus</i>	1.35	1.59	1.70	1.45	1.40	2.0	2.0	1.45	1.35	1.53	15.82	1.582
<i>Trichoderma</i>	1.0	0.9	0.9	0.8	1.1	0.9	1.0	0.8	1.0	1.0	9.4	0.94
Tratamiento Químico	1.0	1.5	1.40	1.2	1.05	1.1	1.2	0.9	0.9	1.0	11.25	1.125
Testigo	1.0	0.85	1.1	1.2	1.2	1.4	1.2	1.3	1.5	2.0	12.75	1.275

Cuadro No. 4. Análisis de varianza de diámetro de tallo a los 45 días después de la siembra en semilla tratada con diferentes cepas de *Bacillus* y *Trichoderma*.

FV	GL	SC	CM	F	P > F
Tratamientos	6	2.68454857	0.44742476	5.93	0.0001
Error	63	4.75051000	0.07540492		
Total	69	7.43505857			

C.V.= 22.62%

Cuadro No. 5. Altura de planta de cebolla expresada en cm a los 30 días después del trasplante en semilla tratada con diferentes cepas de *Bacillus* y *Trichoderma*.

Tratamientos	Repeticiones			Σ	\bar{X}
	1	2	3		
BCC1	15.99	13.13	13.10	42.22	14.07
M ₂	13.25	10.66	10.1	34.1	11.33
J ₁	13.16	12.8	7.46	33.42	11.14
Mezcla de					
<i>Bacillus</i>	15.08	14.66	12.68	42.42	14.14
<i>Trichoderma</i>	13.58	12.26	8.7	34.54	11.51
Tratamiento					
Químico	10.19	12.39	12.53	35.11	11.70
Testigo	11.25	12.76	10.14	34.15	11.38

Cuadro No. 6. Análisis de varianza de altura de planta de cebolla a los 30 días después del trasplante en semilla tratada con diferentes cepas de *Bacillus* y *Trichoderma*.

FV	GL	SC	CM	F	P> F
Tratamientos	6	31.17880000	5.19646667	1.35	0.0001
Error	14	53.86886667	3.84777619		
Total	20	85.04766667			

C.V.= 16.08%

Cuadro No. 7. Diámetro de tallo de cebolla expresado en mm a los 30 días después del trasplante en semilla tratada con diferentes cepas de *Bacillus* y *Trichoderma*.

Tratamientos	Repeticiones			Σ	\bar{X}
	1	2	3		
BCC1	2.792	2.308	2.072	7.172	2.390
M ₂	2.113	1.625	1.482	5.22	1.74
J ₁	2.042	1.914	1.338	5.294	1.76
Mezcla de					
<i>Bacillus</i>	2.348	2.226	2.259	6.833	2.277
<i>Trichoderma</i>	1.833	1.637	1.34	4.81	1.603
Tratamiento					
Químico	1.428	2.282	1.968	5.678	1.892
Testigo	1.507	1.973	1.794	5.274	1.758

Cuadro No. 8. Análisis de varianza de Diámetro de tallo de cebolla a los 30 días después del trasplante en semilla tratada con diferentes cepas de *Bacillus* y *Trichoderma*.

FV	GL	SC	CM	F	P> F
Tratamientos	6	1.59967724	0.26661287	2.70	0.0001
Error	14	1.38450933	0.09889352		
Total	20	2.98418657			

C. V. = 16.39

Cuadro No. 9. Altura de planta de cebolla expresada en cm a los 60 días después del trasplante en semilla tratada con diferentes cepas de *Bacillus* y *Trichoderma*

Tratamientos	Repeticiones			Σ	\bar{X}
	1	2	3		
BCC1	26.84	30.62	28.05	85.51	28.50
M ₂	25.47	31.57	29.5	86.54	28.84
J ₁	22.91	30.17	35.39	88.47	29.49
Mezcla de					
<i>Bacillus</i>	26.44	17.34	31.93	75.71	25.23
<i>Trichoderma</i>	22.75	21.34	30.05	74.14	24.71
Tratamiento					
Químico	24.0	25.23	33.57	82.8	27.6
Testigo	25.26	29.42	30.8	85.48	28.49

Cuadro No. 10. Análisis de varianza de altura de planta de cebolla a los 60 días después del trasplante en semilla tratada con diferentes cepas de *Bacillus* y *Trichoderma*.

FV	GL	SC	CM	F	P> F
Tratamientos	6	61.9325905	10.3220984	0.44	0.8402
Error	14	328.4383333	23.4598810		
Total	20	390.			

C. V. = 17.57%

Cuadro No. 11. Diámetro de Tallo de cebolla expresada en mm a los 60 días después de trasplante en semillas tratadas con diferentes cepas de *Bacillus* y *Trichoderma*.

Tratamientos	Repeticiones			Σ	\bar{X}
	1	2	3		
BCC1	7.661	10.495	8.263	26.419	8.80
M ₂	7.502	8.179	7.555	23.236	7.74
J ₁	5.685	8.114	7.898	21.697	7.232
Mezcla de					
<i>Bacillus</i>	6.036	4.523	8.932	19.491	6.497
<i>Trichoderma</i>	5.702	5.111	7.839	18.652	6.207
Tratamiento					
Químico	6.314	6.209	8.814	21.337	7.112
Testigo	5.337	8.41	9.054	22.801	7.600

Cuadro No. 12. Análisis de varianza de Diámetro de Tallo de cebolla a los 60 días después de trasplante en semillas tratadas con diferentes cepas de *Bacillus* y *Trichoderma*.

FV	GL	SC	CM	F	P> F
Tratamientos	6	13.23772657	2.20628776	0.89	0.5286
Error	14	34.75495600	2.48249686		
Total	20	47.99268257			

C. V. = 21.53

Cuadro No. 13. Peso Fresco de cebolla en cosecha expresado en g en un cultivo tratado con diferentes cepas de *Trichoderma* y *Bacillus* inoculadas a la semilla.

Tratamientos	Repeticiones			Σ	\bar{X}
	1	2	3		
BCC1	636	383	433	1452	484.0
M ₂	330	180	104	614	204.6
J ₁	305	452	580	1337	445.6
Mezcla de					
<i>Bacillus</i>	465	224	531	1220	406.7
<i>Trichoderma</i>	351	446	267	1064	354.7
Tratamiento					
Químico	234	386	545	1165	388.3
Testigo	258	408	431	1097	365.7

Cuadro No. 14. Análisis de varianza de peso fresco de cebolla en cosecha en un cultivo tratado con diferentes cepas de *Trichoderma* y *Bacillus* inoculadas a la semilla.

FV	GL	SC	CM	F	P > F
Tratamientos	6	142447.2381	23741.2063	1.42	0.2757
Error	14	234520.0000	16751.4286		
Total	20	376967.2381			

C. V. = 34.19%