

**EFFECTIVIDAD BIOLÓGICA DE BACTERIAS
RIZOFERICAS ESPORULADAS SOBRE EL COMPLEJO
DE HONGOS DE LA MARCHITEZ DEL CHILE**

ROMMEL DE LA GARZA RODRÍGUEZ

TESIS

**Presentada como requisito parcial
Para obtener el grado de
Maestro en Ciencias
en Parasitología Agrícola**

**Universidad Autónoma Agraria
Antonio Narro**



PROGRAMA DE GRADUADOS

Buenavista, Saltillo, Coahuila
Diciembre de 2004

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO**

SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO

**EFFECTIVIDAD BIOLÓGICA DE BACTERIAS RIZOFERICAS ESPORULADAS
SOBRE EL COMPLEJO DE HONGOS DE LA MARCHITEZ DEL CHILE**

TESIS

POR

ROMMEL DE LA GARZA RODRÍGUEZ

Elaborada bajo la supervisión del comité particular de asesoría y aprobada
como requisito parcial para optar al grado de:

**MAESTRO EN CIENCIAS
EN PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA**

COMITÉ PARTICULAR

Asesor Principal:

Dr. Francisco Daniel Hernández Castillo

Asesor:

Dr. Gabriel Gallegos Morales

Asesor:

M.C. Abiel Sánchez Arizpe

Asesor:

M.C. Emilio Padrón Corral

Asesor:

Dr. Ricardo Hugo Lira Saldívar

DR. JERÓNIMO LANDEROS FLORES
SUBDIRECTOR DE POSTGRADO

Buenavista, Saltillo, Coahuila. Diciembre de 2004.

AGRADECIMIENTOS

A MI ALMA MATER, por acogerme en su seno y permitirme culminar con mis estudios de postgrado

AL CONACYT, por el apoyo económico brindado para realizar una maestría

AL DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGIA, por contribuir en mi formación personal y profesional

AL COMITÉ ASESOR, por todo su apoyo en la realización y revisión del presente trabajo

A TODOS MIS AMIGOS, con los que compartí momentos inolvidables durante el tiempo de estudiantes y mas sin embargo los recordare toda la vida

A LAS SECRETARIAS, TECNICAS LABORATORISTAS, PERSONAL DE ALMACEN Y DE INTENDENCIA DEL DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGIA, ya que muchas veces necesité de su ayuda y nunca se negaron

A TODAS LAS PERSONAS que involuntariamente omití y que de alguna u otra manera me apoyaron

DEDICATORIA

CON TODO MI AMOR A MI ESPOSA KARINA

Por apoyarme siempre en todos mis proyectos, por estar a mi lado y trasmitirme siempre esa fuerza para seguir adelante, además de darme la gracia de ser padre

Gracias Viejita

A MI HIJO ROMMEL

Por ser el ángel que el cielo me mando mandó cuando mas lo necesitaba

Gracias Dios

CON RESPETO Y CARINO A MIS PADRES HAYDEE Y ROMMEL

Por brindarme la dicha de crecer en el seno de la mejor familia del mundo, por inculcarme la importancia de los valores mas elementales, los de la familia.

Gracias Madre

Gracias Jefe

A MIS HERMANAS HAYDEE, ADRIANA Y GISELA

Por ayudarme siempre en todo lo que requerí, por ser tan buenas con migo, por entenderme.

COMPENDIO

Efectividad biológica de bacterias rizoféricas esporuladas sobre el complejo de hongos de la marchitez del chile.

POR

ROMMEL DE LA GARZA RORDRIGUEZ

MAESTRIA EN PARASITOLOGIA AGRÍCOLA

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA. DICIEMBRE DE 2004

Dr. Francisco Daniel Hernández Castillo - Asesor -

Palabras Clave: Control biológico; *Phytophthora capsici*; *Rhizoctonia solni*; *Fusarium oxysporum*; Antibiosis.

Esta investigación se realizó con la finalidad de recuperar cepas bacterianas esporuladas de la rizósfera de plantas de chile de diferentes localidades productoras del noreste mexicano y evaluar su actividad biológica a *Phytophthora capsici*, *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia solani* in vitro y en plantas de chile establecidas en invernadero.

Se realizó un recorrido en lotes comerciales de chile en Cadereyta, N.L., Villa Hidalgo, Villa González y Cd. Mante, Tamps. y Ebano SLP. y se recolectó en total 22 muestras de suelo de la rizósfera de plantas sanas de chile, de cada muestra se tomaron 10 g de suelo y se mezclaron en 90 ml de solución salina al 0.85 %, se realizaron diluciones seriadas hasta 10^{-4} , posteriormente se colocaron en baño maría a 70° C por 15 min. Se tomó 0.1 ml de la suspensión y se difundió en cajas Petri con agar nutritivo mas 1 % de almidón, las cajas se

incubaron a 40° C por 48 h, se diferenciaron colonias por su morfología y se les realizaron frotis para comprobar la formación de endospora, se aislaron un total de 57 cepas de bacterias esporuladas pertenecientes al género *Bacillus*, se les asignaron claves y se realizó una prueba rápida de antagonismo *in vitro* contra *P. capsici*, solo 11 mostraron niveles apreciables de antibiosis, estas cepas nativas junto con una cepa comercial de *Bacillus subtilis* fueron confrontadas *in vitro* con *P. capsici*, *F. oxysporum* y *R. solani*, fitopatógenos asociados comúnmente a la marchitez del chile. Contra *P. capsici*, los niveles de inhibición fueron de 25.46 a 41.1 %, el testigo comercial mostró un 40.17 %, para *R. solani*, los niveles de inhibición fueron del 19.56 al 38.31 %, contra 36.38 % del testigo comercial, y finalmente contra *F. oxysporum*, los porcentos de inhibición variaron entre 31.83 y 14.47, la cepa comercial inhibió 28.87 %.

Con las tres cepas que mostraron los mayores porcentos de inhibición a cada patógeno, se realizó una mezcla y se aplicó a plantas de chile en invernadero junto con los tres patógenos, se obtuvieron incrementos en todas las variables evaluadas de hasta 191 % en el peso de raíz, así como disminuciones significativas en la incidencia y severidad del ataque de los patógenos.

Existen bacterias esporuladas en la rizósfera de plantas de chile que inhiben el desarrollo *in vitro* y disminuyen la incidencia y severidad en invernadero de la enfermedad ocasionada por *P. capsici*, *R. solani* y *F. oxysporum*, además de estimular el crecimiento y desarrollo de las plantas de chile.

ABSTRACT.**Biological effectiveness of rhizoferic sporulated bacteria against pathogens associated to pepper withering**

BY

ROMMEL DE LA GARZA RORDRIGUEZ

MASTER IN SCIENCES

AGRICULTURAL PARASITHOLOGY

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA. DECEMBER 2004

Dr. Francisco Daniel Hernández Castillo - Advisor –

Keywords: Biological control; *Phytophthora capsici*, *Rhizoctonia solani*; *Fusarium oxysporum*; Antibiosis

This research was done with the purpose of recover rhizospheric sporulated strains from pepper plants collected at different localities from northeast Mexico, and to evaluate its biological activity *in vitro* on *Phytophthora capsici*, *Fusarium oxysporum* and *Rhizoctonia solani* and *in vivo*, on pepper plants under greenhouse conditions.

A field trip was realized to commercial plantations located in Cadereyta N. L., Villa Hidalgo, Villa González and Cd. Mante, Tamps., and Ebano S. L. P., where we collected a total of 22 soil samples from the rhizosphere of healthy chili plants, from each sample 10 g of soil were taken and mixed in 90 ml of a saline solution at 0.85 percent; serial dilutions were performed to obtain 10^{-4} , after that were placed in a water bath at 70°C during 15 min. We took 0.1 ml of

the suspension and was diluted on Petri dishes with nutrient agar plus 1 percent starch, Petri plates were incubated at 40°C during 48 h, colonies were differentiated by its morphology and frotis were realized to corroborate endospores formation. A total of 57 sporulated strains were isolated which belonged to *Bacillus* genera, we assignee a distinctive number to each one and it was realized a quick *in vitro* antagonistic test against *P. capsici*. Only 11 strains showed clear antibiosis levels, these native strains along with the commercial strain *Bacillus subtilis* were confronted *in vitro* against *P. capsici*, *F. oxysporum* and *R. solani*, plant pathogens commonly associated to chili withering. Inhibition levels against *P. capsici* were from 25.46 at 41.1 percent, commercial control shown 40.17 percent, on *R. solani* inhibition levels were in the range of 19.56 to 36.38 percent of commercial control, finally, inhibition percentages against *F. oxysporum* varied from 31.83 to 14.47 percent, the commercial strain inhibited at 28.87 percent.

With the three strains that showed the highest inhibition percentages to each pathogen, a mixture was realized and was applied under greenhouse conditions to chili plants along with the plant pathogens, we detected increases on all evaluated variables to a maximum of 191 percent on root weight, as well significant reductions on disease incidence and severity to pathogens attack.

The sporulated rhizospheric bacteria, can be effective as biological control agents against pathogens associated to pepper withering, and also can stimulate pepper crop development and yield.

INDICE DE CONTENIDO

INTRODUCCION.....	1
Objetivos.....	3
REVISION DE LITERATURA.....	4
Marchitez del Chile.....	4
Concepto de marchitamiento.....	4
Importancia.....	4
Organismos causales.....	4
Marchitez Causada por <i>Phytophthora capsici</i>	5
Distribución.....	5
Importancia.....	5
Ubicación taxonómica.....	6
Síntomas.....	6
Etiología.....	7
Epifitiología.....	7
Infección.....	8
Marchitez Causada por <i>Fusarium oxysporum</i>	8
Distribución.....	8
Importancia.....	8
Ubicación taxonómica.....	9
Síntomas.....	9
Etiología.....	10
Epifitiología.....	10
Infección.....	11
Marchitez Causada por <i>Rhizoctonia solani</i>	12
Distribución.....	12
Importancia.....	12
Ubicación taxonómica.....	12
Síntomas.....	13
Etiología.....	13
Epifitiología.....	14
Infección.....	14
Control de la Marchitez del Mhile.....	14
Control genético.....	14
Control químico.....	15
El Ecosistema del Suelo.....	16

Tipos de interacción entre los microorganismos	
Del suelo.....	17
Clasificación de los microorganismos del suelo	17
Microorganismos benéficos del suelo.....	18
Agentes de control biológico.....	18
<i>Bacillus subtilis</i>	19
Hábitat.....	19
Características morfológicas.....	19
Características fisiológicas.....	20
Formas de acción.....	20
Antibióticos producidos.....	20
Antecedentes de control biológico	
Con <i>Bacillus subtilis</i>	21
ARTÍCULO CIENTÍFICO	
EFFECTIVIDAD BIOLÓGICA DE BACTERIAS RIZOFERICAS	
ESPORULADAS SOBRE EL COMPLEJO DE HONGOS DE	
LA MARCHITEZ DEL CHILE.....	23
CONCLUSIONES GENERALES.....	39
LITERATURA CITADA.....	40

INTRODUCCIÓN

El género *Capsicum* es originario de América del Sur, *C. annum* se aclimató en México y es donde actualmente existe la mayor diversidad de chiles (Vavilov, 1951).

El chile es el cultivo hortícola mas importante en México y el de mayor consumo popular, especialmente en estado fresco, aunque también se consume procesado en forma de salsas, polvo o encurtidos. En México existe una gran diversidad de chiles de diferentes tipos en cuanto a forma, sabor, color, tamaño y pungencia, en 1978 se reportó un consumo per cápita anual de 7.24 kg, siendo aproximadamente el 75 % de chile fresco (Valadez, 1993).

La importancia de este cultivo radica principalmente en la superficie sembrada, reportándose 153,500 ha y una producción de 2'016,219 ton en el 2001, siendo México el principal proveedor de esta hortaliza a los Estados Unidos de Norteamérica y Canadá, otra característica de este cultivo, es el impacto social, ya que durante todo el ciclo demanda de 120 a 150 jornales por ha (Bravo *et al.*, 2002).

La planta de chile se comporta como un cultivo anual en zonas templadas y perenne en regiones tropicales. Tiene tallos erectos, herbáceos y ramificados de color verde oscuro. El sistema radical alcanza una profundidad de 1.2 m y una expansion lateral de 1 m, pero la mayoría de las raíces

funcionales se encuentran entre los 5 y los 40 cm. La altura media de la planta es de 60 cm, pero varía según el tipo o especie de que se trate. Las hojas son planas, simples y de forma ovoide. Las flores son perfectas, formándose en las axilas de las ramas; son de color blanco y a veces púrpura. El fruto es una baya-vaina, en algunas variedades se hace curvo cuando se acerca a la madurez; el color verde de los frutos se debe a la alta cantidad de clorofila acumulada en las capas del pericarpio. Los frutos maduros toman color rojo o amarillo, debido a los pigmentos licoperisina, xantofila y caroteno, la pungencia es debida al pigmento capsicina (Guenco, 1983; Valadez, 1993).

El cultivo del chile se ve mermado grandemente por enfermedades ocasionadas por hongos, bacterias, nemátodos y virus. Dentro de las enfermedades fungosas, sobresalen los hongos que ocasionan marchiteces. Originalmente se relacionaba únicamente a *Phytophthora capsici* Leo. como causal de esta enfermedad (Romero, 1988), pero en fechas recientes se ha demostrado en varias partes productoras de chile del país, que también se encuentran involucrados los hongos *Rhizoctonia solani* y *Fusarium oxysporum*, por lo que ahora se maneja el término de complejo o síndrome de la marchitez o tristeza del chile (Velazquez *et al.*, 2003).

Los patógenos asociados a este complejo, pertenecen a reinos y órdenes diferentes, por lo que el control químico tiene que ser con una mezcla de fungicidas, lo que incrementa el costo, además de que no ofrece un control satisfactorio.

Investigaciones en laboratorio, invernadero y campo, realizadas con bacterias del género *Bacillus*, han mostrado resultados alentadores hacia los

diferentes patógenos asociados a la marchitez del chile (Alvarez, 1993; García y Virgen, 1991; Kloepper, 1999; Thirumalachar and O'brian, 1977 y Virgen *et al*, 2001).

Este género de bacterias, posee características que le dan ventajas para ser utilizadas como agente de control biológico, la producción de antibióticos, surfactantes, aminoácidos y hormonas; forma endosporas que le otorgan tolerancia a condiciones desfavorables y además, es un exitoso colonizador de la rizósfera de las plantas (Stainer y Doudoroff, 1977; Fravel, 1988; Schippers *et al.*, 1987; Weller, 1988).

Muchos proyectos de control biológico muestran resultados inconsistentes entre los obtenidos en laboratorio y en campo, esto obedece a la poca o nula adaptabilidad del agente de control a las condiciones del entorno donde es introducido (Alexander, 1980 y Weller, 1988). Por lo anterior en éste trabajo se plantearon como objetivos:

- Aislar cepas bacterianas esporuladas de la rizósfera de plantas de chile cultivadas en el noreste de México y evaluar *in vitro* su efectividad biológica contra el complejo de hongos de la marchitez del chile.
- Observar el efecto benéfico en plantas de chile bajo condiciones de invernadero, a la aplicación de una mezcla de cepas nativas.

REVISION DE LITERATURA

Marchitez del Chile

Concepto de marchitamiento.

Se le denomina marchitamiento, a la etapa en la que las plantas pierden vigor y sus tejidos, hojas, tallos o frutos pierden la turgencia normal (García, 1984), por su naturaleza, puede ser de origen fisiológico, el cual es ocasionado por condiciones de escasa humedad en el suelo o exceso de evapotranspiración y de origen patológico, el cual principalmente es caracterizado por una necrosis del sistema radical o del cuello de las plantas (Chavez *et al.*, 1994), este tipo marchitamientos por lo general es irreversible.

Importancia.

Las marchiteces se pueden presentar en cualquier etapa fenológica del cultivo, sin embargo el mayor daño se presenta en las etapas de floración y fructificación; las plantas afectadas se marchitan y secan rápidamente. Si no se toman medidas precautorias como fechas de siembra, tipo de suelo, aplicación de fungicidas y manejo racional del agua de riego, las pérdidas ocasionadas pueden alcanzar el 100 % (Ayvar *et al.*, 1994).

Organismos causales.

Dentro de los fitopatógenos asociados mas comúnmente a la marchitez del chile, están los hongos *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani* y *Verticillium*

spp., los Stramenopilas *Phytophthora capsici* y *Pythium spp* y la bacteria *Ralstonia solanacearum* (Virgen *et al.*, 2001), sin embargo en México, Ayvar *et al.* (1994) mencionan que la marchitez del chile es ocasionada por *F. oxysporum*, *R. solani* y *P. capsici* principalmente.

Marchitez Causada por *P. capsici*

Distribución.

Este patógeno tiene una extensa distribución en el suelo, en asociación con otros cultivos como berenjena, tomate y cucurbitáceas (Leonian, 1922), es muy común atacando al cultivo de chile, sobre todo cuando los factores climáticos y edáficos son propicios para su desarrollo y en ocasiones provoca grandes pérdidas. En México fue descubierto por el Dr. Galindo en 1956, atacando plantas de chile en los campos de la E N A, Chapingo, México y pueblos aledaños; por su sintomatología típica, este mismo autor llamó a la enfermedad "Marchitez del chile"(Romero, 1988)

Importancia.

Ayvar *et al.* (1994), reportan a *P. capsici* como el principal causante de la muerte de plantas en pre floración, floración y llenado de frutos; a nivel nacional se estima una disminución en la densidad de plantación de entre el 10 y el 60 % (Pérez *et al.*, 1990); pérdidas del 80% en los estados de San Luis Potosí y Aguascalientes (Mendoza y Pinto, 1983) y de hasta el 100 % de mortalidad en zonas como el Bajío y Puebla (Chávez *et al.*, 1994)

Ubicación taxonómica.

Alexopoulos *et al* (1996) clasifican a este patógeno de la siguiente manera:

Reino.....Stramenophyla

Phyllum.....Oomycota

Clase.....Oomycetes

Orden.....Peronosporales

Familia.....Pythiaceae

Género.....*Phytophthora*

Especie.....*capsici*

Síntomas.

La enfermedad puede presentarse en cualquier estado fenológico del cultivo y todas las partes de la planta son susceptibles al ataque. La pudrición del cuello y la marchitez en general son los síntomas mas comunes, caracterizados por una coloración café oscuro del tallo, la cual se extiende del suelo hacia arriba, acompañada por una marchitez súbita de la planta, sin que el follaje se torne Amarillo; el agua salpicada por la lluvia o el riego, es la responsable de acarrear el inóculo a la parte superior de la planta, provocando pudrición de tallos y frutos, además de manchas foliares (Lowell *et al.*, 1993).

Las lesiones en la parte superior del tallo son de color café oscuro y se presentan principalmente en las ramas, causando la muerte de la parte superior de donde se presentó la lesión, en las hojas se forman áreas circulares o

irregulares verde oscuro, de consistencia acuosa, que con el tiempo se tornan de color castaño claro. El daño en frutos, se manifiesta inicialmente con puntos aguanosos de coloración oscura, que rápidamente invaden al fruto en su totalidad (Leonian, 1922); Weber (1932), agrega a lo anterior, que la semilla de los frutos también se ve afectada y que al abrirlos se puede observar el micelio sobre éstas, además de manchas de coloración parda en la cutícula.

Etiología.

P. capsici es una especie heterotálica; produce micelio hialino, cenocítico, muy ramificado y toruloso cuando es joven, al envejecer se vuelve liso y las colonias crecen en forma radial. Los esporangióforos simples o ramificados irregularmente, son gruesos, robustos, con un ligero hinchamiento cerca de la base del esporangio.

Los esporangios pueden ser globosos, oval-alargados o elípticos, algunos tienen vacuola central, miden $28-123 \mu \times 21-50 \mu$, la relación longitud por anchura es 1.7:1.0; presentan papila prominente, a veces desviada, frecuentemente hay esporangios con dos papilas. Las clamidiosporas son raras o ausentes (Alexopoulos y Mims, 1979).

Esta especie produce oosporas heterotálicamente. La oosporas son apleróticas, miden 31.5μ de diámetro, son lisas, producidas en oogonios esféricos, lisos, fertilizados por anteridios anfíginos (Romero, 1988)

Epifitología.

Este patógeno afecta plantas de Chile en cualquier estado fenológico, las condiciones favorables para su diseminación son: alta humedad en el suelo y

temperaturas oscilantes entre 15 y 20° C, los cultivos regados por gravedad son mas afectados, ya que los propágulos se diseminan através del agua de riego (Ayvar *et al.*, 1994)

Los propágulos pueden trasmitirse por medio de los implementos utilizados en las prácticas culturales y por medio de la semilla (Flores y Frías, 1992).

Infección.

La oospora, que representa la fuente de inóculo primario, germina y da lugar a una esporangia, la cual puede germinar directamente o dar lugar a zoosporas; las zoosporas se enquistan en la superficie de las raíces o de las hojas y el tubo germinativo produce un apresorio, el cual se fija a la superficie y ejerce presión física, en pocos minutos las hifas inician su crecimiento en las células de la epidermis del hospedero (Alexopoulos y Mims, 1979)

Marchitez Causada por *F. oxysporum*.

Distribución.

F. oxysporum es uno de los fitopatógenos nativos del suelo mas ampliamente distribuidos y de mayor importancia, sin duda, la especie *oxysporum* es la de mayor distribución y la que posee mayor número de hospederos (Romero, 1988).

Importancia.

En México esta especie fue identificada por Crispín *et al.*, (citado por Virgen, 1990), quienes lo reportan como el principal problema patológico del

cultivo del chile en las zonas productoras de Durango y Zacatecas, donde ocasiona pérdidas de hasta el 60 %; Alvarez (2003), considera que en el estado de Sinaloa, sin un programa de manejo adecuado, las pérdidas pueden superar el 90 %.

Ubicación Taxonómica.

Alexopoulos y Mims (1979) clasifican a este hongo de la siguiente manera:

Reino.....Mycetae

División.....Amastigomycota

Subdivisión.....Deuteromycotina

Clase.....Deuteromycetes

Sub Clase.....Hyphomycetidae

Orden.....Moniliales

Familia.....Tuberculariaceae

Género*Fusarium*

Especie.....*oxysporum*

Síntomas.

La marchitez clásica por *F. oxysporum* empieza con una ligera clorosis del follaje superior, que progresa en pocos días a una marchitez permanente con las hojas adheridas, para cuando estos síntomas son visibles, el sistema vascular de la planta se encuentra irremediablemente dañado, particularmente el tallo inferior y las raíces primarias, el tejido cortical permanece intacto. Generalmente, la enfermedad aparece en áreas del campo donde un alto

porcentaje de las plantas mueren, aunque también se pueden presentar plantas dispersas (Ayvar *et al.*, 1994).

Al realizar un corte transversal, principalmente en la parte baja del tallo, se puede observar una coloración café oscura del tejido vascular, las plantas en éstas condiciones presentan un achaparramiento, las hojas se marchitan, mueren y caen al suelo, puede producir algunos frutos, aunque de mala calidad y finalmente la planta muere (Mendoza, 1996).

Etiología.

Este hongo forma hifas hialinas, septadas y ramificadas; produce tres tipos de esporas asexuales. Los microconidios son hialinos, elipsoides, uni o bicelulares. Los macroconidios son hialinos, falcados, con tres a cinco septas, pueden ser producidos en esporodoquios. Las clamidiosporas son de pared gruesa, redondas, de forma intercalar o terminalmente en el micelio mas viejo o en los macroconidios del hongo (Romero, 1988).

Epifitiología

Fusarium se encuentra naturalmente en el suelo en forma de clamidiospora, micelio asociado a fragmentos de tejidos vegetales o a partículas de humus. Las clamidiosporas representan la fuente de inóculo primario (Alvarez, 2003)

Muerto el hospedero, desarrolla micelio algodonoso que esporula sobre la superficie del tejido, donde produce una gran cantidad de microconidias, macroconidias y clamidiosporas, especialmente en tiempo húmedo (León, 1982).

El organismo requiere para su desarrollo óptimo, en medio de cultivo 27° C, y para la infección de 20 a 30° C, la enfermedad declina apreciablemente arriba de 30 ° C.

F. oxysporum tiene la capacidad de invernar sobre residuos orgánicos o como organismo de vida libre en el suelo, de esta forma puede sobrevivir en el hasta 16 años, aun en ausencia de plantas susceptibles (Huang y Sun, 1978).

El hongo puede ser introducido a áreas libres por semillas, plántulas para trasplante, arados, rastras, el hombre, ganado, etc. (Walker, 1952)

Infección.

El hongo infecta al hospedero por la penetración de la hifa a través de las raíces de las plantas, principalmente por la zona meristemática y por la epidermis de la zona de elongación y maduración de la raíz, también a través de heridas causadas por factores físicos y biológicos (Dixon, 1981). El micelio progresa intracelularmente, para luego entrar en los tubos del xilema, dentro del cual el patógeno puede diseminarse en el tallo; en plantas adultas los vasos se llenan con micelio y goma densa, además de un gran número de tilosas, provocando un taponeamiento de los tejidos conductores (Melhus y Kent, 1979)

Marchitez Causada por *R. solani*.

Distribución.

Este hongo se encuentra ampliamente distribuido en los suelos agrícolas del mundo, afectando a una amplia gama de cultivos, entre ellos al chile (Schwartz y Gálvez, 1980).

Importancia.

De las diversas especies del género *Rhizoctonia*, destaca por su importancia fitopatológica *R. solani*, ya que probablemente ocasiona mas tipos diferentes de enfermedades a una variedad mas amplia de plantas, en la mayor parte del mundo y bajo mas diversas condiciones que cualquier otra especie de hongo (Gormely, 1980).

Agrios (1985), menciona que este hongo produce enfermedad en todo el mundo, ocasionando pérdidas en la mayoría de las plantas anuales, incluyendo a las malas hierbas, casi a todas las hortalizas, árboles forestales, cultivos mayores, plantas perennes, arbustos y árboles frutales.

Ubicación taxonómica.

Alexopoulos y Mims (1979) clasifican a este microorganismo de la siguiente manera:

Reino.....Mycetae

División.....Amasigomycota

Subdivisión.....Deuteromycota

Clase.....Deuteromycetes

Orden.....Aganomyetales

Género.....*Rhizoctonia*

Especie.....*solani*

Sintomas.

R. solani causa una marchitez típica de plantas en semilleros, cuyos síntomas no se distinguen fácilmente de los causados por *Pythium* en algunos momentos, sin embargo, los tallos de las plántulas infectadas por *R. solani* son de color pardo, mas oscuro que los tallos de color paja de las plántulas infectadas por *Pythium* (Roberts y Boothroyd, 1978).

Los síntomas pueden variar dependiendo del cultivo o incluso entre plantas de la misma especie, dependiendo de la etapa fenológica y de las condiciones climáticas (Agrios, 1985).

En las fases iniciales de infección de las raíces, pueden formarse chancros circulares u oblongos, deprimidos y limitados por márgenes de color café, al avanzar la infección los chancros aumentan de tamaño y se vuelven rojizos de textura seca y el crecimiento de la planta se retarda (Christon, 1962).

Las plantas con pudriciones radicales muestran varios síntomas, como el amarillamiento y muerte de las hojas inferiores; a medida que el tiempo transcurre, este amarillamiento se generaliza en toda la planta (Gallegos, 1978).

Etiología.

Hooker (1990), señala que una de las características mas típicas de *R. solani* son sus ramificaciones en ángulo recto (90 grados), con ligeras constricciones en el punto de origen de la ramificación, formación de un septo en la rama cercana a su origen, el micelio es casi siempre de color café o castaño oscuro. Las hifas son algo gruesas y cuando jóvenes tienen sus células multinucleadas y se ramifican cerca de la septa distal de la célula.

Epifitiología.

El inóculo de *R. solani* consiste de esclerocios y micelio que sobrevive como saprófito en el suelo, su diseminación es a través del agua de riego, el viento, material vegetal, semillas contaminadas y por implementos agrícolas (Bolkan, 1980).

Cuando *R. solani* se encuentra creciendo como saprófito, es estimulado a infectar hipocotilos y raíces jóvenes por exudados que secretan las semillas en germinación y las raíces de plantas hospederas (Martinson, 1965).

Infección.

El hongo penetra a través de la cutícula y epidermis en forma mecánica, inicialmente produce un cojinete de infección a partir del cual emite clavijas de infección o mediante hifas individuales; además puede penetrar por aberturas naturales de la raíz o por heridas (Campos, 1987)

Control de la Marchitez del Chile.

Control Genético.

Este tipo de control implica el aprovechamiento de la resistencia heredada, como parte del manejo de determinada enfermedad.

Romero (1988), fue el primero en desarrollar una variedad de chile “criollos de Morelos” con alta resistencia a *P. capsici* y buena compatibilidad con las variedades comerciales de poblano, mulato y ancho, a diferencia del chile pasilla, que aunque posee buena resistencia, no es compatible con las variedades comerciales.

Hernández (1990) reportó el rompimiento de la resistencia de la variedad Ancho 86-266, cuando ésta es atacada por el nemátodo *Nacobbus aberrans*.

Control Químico.

Dado que los patógenos pertenecen a reinos y órdenes diferentes, el control químico resulta complicado para la elección del fungicida, existen trabajos sobre cada patógeno por separado.

Chávez *et al.* (1994) evaluaron diversos fungicidas y abonos orgánicos, determinando que para la región de Puebla, la incorporación de gallinaza y la aplicación de Fosetil-AI, presentan los resultados mas alentadores en el control de *P. capsici*.

Romero (1988) recomienda para prevención de *P. capsici*, la inmersión de la raíz de las plántulas para trasplante en una solución de 1,000 ppm de Metalaxil.

Pérez *et al.* (2003) evaluaron la sensibilidad de cepas de *P. capsici*, aisladas de plantas de chile del estado de Guanajuato, a los fungicidas Azoxystrobin, Metalaxyl, Propamocarb y 2tiocianometil benzotiazol (TCMTB) y encontraron que este último inhibe completamente el crecimiento micelial, no así los otros tres productos.

Mendoza (1996) recomienda para el control de *R. solani*, aplicaciones dirigidas al cuello de la planta con Captán o Quintoseno, a partir de la aparición de los botones florales o inyección de Pencycurón, cuando se observen las primeras plantas afectadas.

Satija y Hooda (1987), evaluaron diferentes fungicidas bajo condiciones de invernadero para el control de *F. oxysporum* y obtuvieron los mejores resultados con aplicaciones de Captafol y Oxycloreuro de Cobre

Mendoza (1996), sugiere para la prevención de *F. oxysporum*, la inmersión de la raíz de las plántulas para trasplante, en una solución de 2,000 ppm de Thiabendazol o Benomyl, los cuales aportan un período de protección de 30 días, después de los cuales hay que realizar aplicaciones dirigidas a la base del tallo o inyectado al sistema de riego presurizado.

El Ecosistema del Suelo.

En el suelo existen infinidad de microorganismos interactuando entre si y con los animales, plantas y algas que en el se desarrollan, son sistemas dinámicos en constante cambio y autorregulables. Los suelos agrícolas son un caso aparte, dado que estos han sido modificados por el cambio de uso del mismo y las especies vegetales nativas, que son el inicio de la cadena alimenticia, han desaparecido para ceder su lugar a especies introducidas por el hombre; esto ocasiona un desequilibrio total en el suelo, ya que donde antes existía variedad de especies vegetales, ahora solo se establecerá una.

En todos los suelos existen especies de parásitos a las plantas, solo que en equilibrio con sus depredadores o parásitos, al eliminar la diversidad vegetal solo van a sobrevivir los que mejor se adapten al nuevo ecosistema y al tener poca presencia de sus depredadores o parásitos, las poblaciones de estos se disparan.

Tipos de Interacción entre los Microorganismos del Suelo

Las relaciones que se dan entre microorganismos en el suelo, son las siguientes: **a) Neutralismo**, es cuando dos microorganismos llevan vidas completamente independientes; **b) simbiosis**, es cuando los organismos involucrados resultan beneficiados de la relación; **c) protocooperación o mutualismo**, es la asociación benéfica entre dos especies, en la que ambas resultan beneficiadas, pero sin que ésta sea obligada; **d) Comensalismo**, es cuando una de las especies resulta beneficiada, sin que la otra se vea afectada; **e) Competición**, es cuando una especie se ve suprimida por otra, debido a una cantidad limitada de alimento, espacio o algún otro requerimiento; **f) Amensalismo**, esta relación es cuando una especie es suprimida por otra, sin que la otra se vea beneficiada, muy común por la producción de toxinas de ciertos organismos; **g) Parasitismo y predación**, es el ataque directo de un organismo a otro (Bowen y Rovira, 1976; Alexander, 1980).

Clasificación de los microorganismos de la rizósfera.

La rizósfera es la parte del suelo influenciada química, física y biológicamente por la presencia de las raíces.

Desde el punto de vista agrícola, los microorganismos de la rizósfera se clasifican como; benéficos, dañinos y/o sin efecto sobre las plantas, la relación entre estos diferentes grupos de organismos influye en el crecimiento y rendimiento de los cultivos (Schippers *et al.*, 1987).

Microorganismos benéficos del suelo.

Estos benefician a las plantas por diferentes mecanismos: desdoblado formas insolubles de iones en el suelo y facilitando su absorción por las raíces

de las plantas, produciendo sustancias promotoras del crecimiento de las plantas como citocininas y auxinas, la supresión de microorganismos nocivos ya sea por competición o por antibiosis. Dentro de estos microorganismos se incluye a los simbioses (*Rhizobium*, hongos micorrízicos y algunos actinomicetos) y de vida libre.

Actualmente hay mas interés en las posibilidades del uso de control biológico de los patógenos. En el sentido amplio del término, todo método de control que no involucra medios físicos o químicos, puede considerarse como control biológico. En el sentido restringido, el término significa el control por medio de parásitos, depredadores o antagonistas específicos. Algunos patógenos del suelo se controlan en cierto grado, enterrando abono verde o agregando otros materiales orgánicos, que favorecen el crecimiento de microorganismos del suelo que compiten con el patógeno o son antagónicos a el (Badii *et al.*, 2000).

Agentes de Control Biológico.

Los agentes factibles para usarse en control biológico de patógenos en la rizósfera, lo constituyen principalmente las rizobacterias y actinomicetos. Entre las rizobacterias que se han probado por sus efectos de control biológico, se encuentran: *Actinoplanes*, *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Amorphosporangium*, *Arthrobacter*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Cellulomonas*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Micromonospora*, *Pseudomonas*, *Pasteuria*, *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Serratia*, *Streptomyces* y *Xantomonas* (Weller, 1988).

Dentro de los hongos mas estudiados por su efecto de control biológico, se encuentran *Penicillium*, *Trichoderma* y *Aspergillus*. Se han observado hongos micorrízicos que protegen a las plantas de infecciones por patógenos del suelo; entre los principales están: *Bolletus bovinus*, *B. subtumentosus* y *Lactarius deliciosus* como micorrizas ectofíticas; *Psilotum* y *Pisolitus* como micorrizas endofíticas (Harley, 1965).

Las bacterias promotoras del crecimiento son las de mayor interés, ya que además de inhibir el desarrollo de patógenos, estimulan el crecimiento e incrementan el rendimiento de los cultivos (Kloepper, 1999).

Bacillus subtilis

Hábitat.

Este tipo de bacterias son fácilmente encontradas en el suelo, en la filosfera de las plantas, en el agua dulce, el 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 peritrica, forma endosporas ecuatoriales, sub terminales, ovales, 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).

Formas de Acción.

Las formas en las que actúa sobre los fitopatógenos, son por lo menos dos, el primero es llamado ocupación de un nicho, la sola presencia de colonias de la bacteria en el rizoplaneo, metabolizan los exudados que son utilizados por los patógenos para la infección inicial; estos últimos no encuentran la fuente de energía suficiente para continuar la invasión.

El segundo proceso, es una extensión del primero, las bacterias que se encuentran en el rizoplaneo producen sustancias que inhiben el desarrollo de los fitopatógenos, lo que puede ser demostrado fácilmente *in vitro* (Weller, 1988).

Antibióticos Producidos.

Stessel *et al.* (1953), identificaron una sustancia denominada toximycin como el principal antibiótico producido por *B. subtilis* aislado de suelo, Nandi and Sen (1953), purificaron los compuestos bacilomycin, micosubtilin y fungistatin, fermentando cepas de *B. subtilis* a temperaturas de 30° C en medio de extracto de sacarosa.

Con respecto a *B. subtilis*, se ha estudiado la liberación de compuestos con propiedades antifúngicas como la subtilina y otros antibióticos de la familia

de las iturinas, estas últimas son polipéptidos que actúan sobre la pared celular de los hongos (Orieta, 2001).

Douville y Boland (1992) identificaron un compuesto de la familia del iturin (iturin D), el cual mostró efecto supresivo a *Colletotrichum trifolii* en el cultivo de alfalfa. Ohno *et al.* (1993), conociendo las propiedades antibióticas de los compuestos relacionados al iturin, usaron como sustrato residuos de soya en condiciones controladas de luz, temperatura y humedad, obteniendo incrementos en la producción de estos.

Chan (1992) obtuvo a partir de una cepa de *B. subtilis*, una substancia denominada subtilin, uno de los 32 péptido aminoácidos con actividad antimicrobial, encontrando que también el nisin es un péptido con propiedades similares.

Maget-Dana *et al.* (1993), identificaron al iturin A y a surfactin como polipéptidos producidos por algunas cepas de *B. subtilis*, al iturin A le han encontrado propiedades antibióticas, mientras que el surfactin es un agente surfactante utilizado actualmente en la industria de los detergentes para ropa.

Antecedentes de control biológico con *B. subtilis*.

La inoculación de la semilla de maíz con *B. subtilis*, controló la muerte de plántulas causada por *F. graminearum* en campo, los resultados fueron tan efectivos como el tratamiento de la semilla con captán o thiram (Broadbent *et al.*, 1971).

García y Virgen (1991) reportan que el marchitamiento de la sandía, causado por *F. oxysporum* f. sp. *niveum*, se redujo 74.6 % con la aplicación de *B. subtilis*.

Dickinson (1987) demostró que asperjando una solución de *B. subtilis* en el otoño, a la caída de las hojas del manzano, esta bacteria se establece en el área de abscisión y evita que *Nectria galligena* penetre a través de la herida, evitando la infección.

Rytter *et al.* (1989) reportan tres razas de *B. subtilis* aisladas de una infección de roya del geranio, inhibiendo y reduciendo la germinación de esporas y la incidencia de pústulas de roya en hojas inoculadas bajo condiciones de invernadero.

Una cepa de *B. subtilis* y una de *B. polymyxa*, aisladas de la rizósfera de plantas de ajonjolí, mostraron antibiosis *in vitro* y campo a *R. solani* y *F. oxysporum* (Shin *et al.*, 1987).

Utkhede (1989) evaluó *in vitro* 21 aislamientos de *B. subtilis* contra cuatro hongos que afectan al manzano y encontró que 19 de ellos mostraron inhibición.

Alvarez (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 % del tratamiento químico.

Aplicaciones foliares de *B. subtilis* en árboles de mango redujeron significativamente la incidencia y severidad de la antracnosis (*Colletotrichum gloeosporoides*), superando al tratamiento químico (Carrillo *et al.*, 2003).

Efectividad biológica de bacterias rizosféricas esporuladas sobre el complejo de hongos de la marchitez del chile

Rommel de la Garza-Rodríguez¹, FD Hernández-Castillo¹, G Gallegos-Morales¹, E Padrón-Corral², A Sánchez-Arizpe¹, RH Lira-Saldivar³.

¹Departamento de Parasitología, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. CP 25315. Correspondencia: rommeldelagarza@hotmail.com

²Centro de Investigación en Matemáticas Aplicadas, Universidad Autónoma de Coahuila, Unidad Camporredondo. Saltillo, Coahuila, México. CP 25280.

³Centro de Investigación en Química Aplicada. Saltillo, Coahuila, México. CP 25100.

Resumen. La efectividad biológica *in vitro* de 57 cepas del género *Bacillus* aisladas de muestras de la rizósfera de plantas de chile en cinco localidades del noreste de México fueron evaluadas contra el hongo fitopatógeno *Phytophthora capsici*. Once cepas mostraron efectos antagonicos en el laboratorio, mismas que fueron utilizadas para un segundo estudio incluyendo a una cepa comercial de *Bacillus subtilis* contra *P. capsici*, *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia solani*; patógenos que están claramente asociados a la marchitez del chile que afecta diversas regiones de México. Los resultados obtenidos mostraron porcentajes de inhibición de 25.46 % (B-13) a 41.1 % (B-1) contra *P. capsici*; de 19.56 % (B-8) a 38.31 % (B-5) contra *R. solani* y de 14.47 % (B-11) a 31.83 % (B-12) contra *F. oxysporum*. En otro estudio realizado bajo condiciones de invernadero, plantas de chile jalapeño cv. Mitla fueron inoculadas con los hongos antes mencionados y una mezcla de las tres cepas que mostraron el mayor efecto antifúngico. La efectividad biológica de las cepas bacterianas contra los tres hongos y en la sanidad de las plantas se reflejó en la longitud de raíz, peso seco de raíz, altura de planta y peso de planta; ya que estas variables se

incrementaron hasta en 191 % con la mezcla de bacterias y hasta un 60.21 % con la cepa comercial utilizada; la incidencia y severidad de la marchitez del chile también se vio reducida significativamente con el tratamiento de la mezcla de bacterias y con la cepa comercial de *Bacillus*.

Palabras clave: Control biológico; *Phytophthora capsici*; *Rhizoctonia solani*; *Fusarium oxysporum*; *Bacillus*; antibiosis.

La estabilidad de las comunidades microbianas de la rizósfera depende de su diversidad metabólica y de sus interacciones en el ecosistema del suelo. En este nicho ecológico se encuentran fitopatógenos que afectan tanto por los metabolitos que producen como por la invasión y destrucción de las raíces, pero existen también microorganismos benéficos que incrementan la disponibilidad de nutrientes, producen sustancias que favorecen el desarrollo de las plantas y suprimen organismos fitopatógenos (5). Las bacterias son los microorganismos más abundante en el suelo; dentro de ellas el género *Bacillus* es uno de los más estudiados y utilizado como agente de biocontrol, dada su amplia distribución en el suelo y el agua, además de ser tolerante a las condiciones desfavorables gracias a la formación de endosporas que pueden permanecer latentes por más de 50 años e incluso soportan la ebullición, además de producir una amplia gama de antibióticos (20, 9, 17, 25). *B. subtilis* se ha empleado como agente de control en el manejo de *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici* en Chile (2), y para inhibir el crecimiento micelial de hongos fitopatógenos como *Macrophomina phaseoli*, *Botryodiplodia solani-tuberosi*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*, *F. oxysporum* f. sp. *niveum*, *Rhizoctonia solani* y *Alternaria spp.* (21, 8, 11, 6, 26). También ha demostrado su eficiencia para reducir infecciones de campo en papa contra *Rhizoctonia solani* (24); en melón contra *F. oxysporum* f.sp. *niveum* (12) y en tomate contra *F. oxysporum* (10). Otras especies como *B. cereus* y *B. pumilus* han sido empleadas para inocular plantas de fresa habiendo mostrado que incrementan el rendimiento, además de reducir el tiempo de cosecha en 15 días (19).

En México el cultivo de chile es la hortaliza más importante y de mayor consumo popular, la superficie sembrada con las diferentes clases de chile en el año 2001 fue de 153,500 ha, con una producción de 2,016,219 toneladas (4). Entre los principales factores bióticos que limitan la producción y reducen la productividad de este cultivo se encuentran las enfermedades vasculares que infectan a las plantas desde la emergencia hasta que se encuentran en plena producción; a esta enfermedad se encuentran asociados comúnmente los hongos *P. capsici*, *R. solani* y *F. oxysporum* (3, 14, 16, 23), Las estrategias comúnmente usadas para el manejo de esta enfermedad son las prácticas culturales y el uso de funguicidas sintéticos. En la búsqueda de nuevas alternativas para el control de enfermedades destaca la implementación de sistemas de producción integrado, los cuales combinan prácticas culturales, tales como modificación de las fechas de siembra, adición de residuos orgánicos, rotación de cultivos y métodos biológicos (24). Considerando la importancia económica y social del cultivo del chile en México y el impacto adverso de las enfermedades vasculares, así como el efecto benéfico que proporcionan las bacterias del genero *Bacillus* en la rizosfera, y ante la necesidad de buscar alternativas biológicas para el control de fitopatógenos, el objetivo de este trabajo fue aislar cepas bacterianas del genero *Bacillus* nativas de la rizosfera del chile y estudiar su efectividad inhibitoria *in vitro* contra *P. capsici*, *F. oxysporum* y *R. Solani*, y su efecto benéfico en plantas de chile bajo condiciones de invernadero.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestreo del suelo y aislamiento de las bacterias. Se tomaron muestras de suelo de 500 g de la rizósfera de plantas de chile sanas de lotes comerciales en Cadereyta, N. L., Villa Hidalgo, Mante y González, del estado de Tamaulipas y Ébano, S. L. P., mismas que se depositaron en bolsas de plástico etiquetadas y se trasladaron al Laboratorio de Fitopatología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, donde se mantuvieron en refrigeración a 5°C. Para realizar el aislamiento de bacterias esporuladas se tomaron 10 g de cada

muestra de suelo previamente homogeneizada, los cuales se mezclaron en 90 ml de solución salina estéril al 0.85%, se realizaron diluciones seriadas hasta 10^{-4} , y posteriormente se colocaron en baño maría a 70°C por 15 minutos (20). De cada tubo de ensayo se tomó 0.1 ml de la suspensión, la cual se depositó y difundió en cajas Petri con agar nutritivo suplementado con 1% de almidón. Las cajas Petri fueron incubadas a $40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 48 h, hasta que se diferenciaron las colonias bacterianas por su morfología y color, seleccionando solo las colonias de bacterias con forma bacilar y presencia de endospora. Las colonias se purificaron, se les asignaron claves, se transfirieron a tubos de ensayo con agar nutritivo y se conservaron en refrigeración a una temperatura de 5°C.

Aislamiento e identificación de los hongos fitopatógenos. Raíces de plantas con síntomas de marchitez se lavaron con agua corriente y se secaron sobre papel estroza. Se cortaron porciones de tejido sano y enfermo, se desinfectaron externamente con hipoclorito de sodio al 3%; lavándose tres veces consecutivas con agua destilada estéril para eliminar el exceso de cloro, posteriormente se colocaron en papel estroza estéril para secar. Los trozos desinfectados fueron sembrados en medio V8 agar + 400 ppm penicilina + 200 ppm colimicin + 400 ppm nistatina + 20 ppm colesterol para el aislamiento de *P. capsici*, y en medio de cultivo papa-dextrosa-agar para aislar a *R. solani*, incubándose después a 30°C y 22°C respectivamente. Los hongos fueron identificados por sus características morfológicas y de color (7, 18). La cepa de *F. oxysporum* fue aislada de plantas de chile provenientes de una siembra comercial que presentaban síntomas claros de marchitez; la cepa fue identificada y facilitada por personal del Instituto de Ciencias Agrícolas de Irapuato, Guanajuato.

Determinación de antagonismo *in vitro*. Pruebas de inhibición confrontando cepas bacterianas y *P. capsici* se efectuaron con la finalidad de seleccionar los aislados bacterianos que manifestaron actividad inhibitoria contra los hongos fitopatógenos. Este bioensayo consistió en colocar al centro de una placa de

PDA un explante del crecimiento activo del fitopatógeno y en cada punto cardinal, una asada de cada aislado, evaluando de esta manera cuatro cepas por placa, incubándose a 22°C por 48 h. Se seleccionaron las cepas que inhibieron el crecimiento del hongo; se realizó una segunda prueba contra *P. capsici*, *R. solani* y *F. oxysporum* bajo el mismo procedimiento pero con la diferencia que la misma bacteria se sembró en los cuatro puntos de la placa, se usó una cepa comercial de *Bacillus subtilis* como testigo de control y placas individuales de cada fitopatógeno sin antagonista como testigos absolutos. Se realizaron lecturas del crecimiento diametral del micelio con la ayuda de un vernier cada 24 h durante el tiempo en que el testigo absoluto llenó con su crecimiento micelial la placa de cultivo. Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con cuatro repeticiones en donde cada cepa bacteriana fue un tratamiento. Para seleccionar las cepas mas activas se realizó un análisis de varianza, transformando los datos de porcentaje de inhibición por la formula de arcoseno $\sqrt{(X+0.5)/100}$; la comparación de medias se realizó mediante la prueba de Tukey (P = 0.01) (15).

Producción de plántulas de chile. Se utilizaron semillas de chile jalapeño cv. Mitla, sembradas en charolas de 128 cavidades y desinfectadas con una solución de cloro al 5%. Se utilizó como sustrato una mezcla compuesta de peatmoss, vermiculita y perlita (50:25:25) esterilizada en autoclave, una vez que se sembraron las charolas se llevaron al invernadero de clima controlado en donde la temperatura promedio fue 25°C. Las charolas se regaron diariamente con una regadera manual, 10 días después de la aparición del primer par de hojas verdaderas se inició la aplicación de fertilizante foliar, con la formula 05-10-05 a razón de 20 ml/L de agua, efectuando 2 aplicaciones mas cada 10 días. El trasplante se realizó 40 días después de la siembra, cuando la planta tuvo una altura promedio de 20 cm. Las plantas de chile se sembraron en suelo esterilizado previamente con bromuro de metilo, el cual se colocó en bolsas de plástico negro de 10 L de capacidad, perforando la base de estas para permitir

el drenaje y dejando un espacio en la parte superior de alrededor de 10 cm para permitir espacio para el agua de riego.

Obtención de inóculo bacteriano. Se seleccionaron las tres cepas que mostraron mayor actividad inhibidora *in vitro* contra cada uno de los fitopatógenos estudiados, estas cepas se incrementaron sembrándolas mediante un estriado en el medio de cultivo agar nutritivo adicionado con 1% de almidón y se incubaron a 35°C por 7 días. Posteriormente se les agregó agua destilada estéril y se realizó un raspado del crecimiento con la ayuda de una asa Digalki de vidrio; la suspensión bacteriana de cada una de las cepas fue colocada en matraces estériles de 250 ml, realizando un conteo de esporas con hemacitometro y ajustando las concentraciones a 1×10^8 unidades formadoras de colonia (ufc)/ml. Para obtener la mezcla de cepas bacterianas (MB), se tomaron 100 ml de cada suspensión bacteriana, se mezclaron en un matraz de 1000 ml estéril y se mantuvo en refrigeración para su posterior aplicación, el mismo procedimiento de cultivo y la misma concentración fue empleada para la cepa comercial (CC).

Inóculo de fitopatógenos. Para el caso de *P. capsici*, se colocó al centro de las placas de PDA un explante de crecimiento micelial tomado del margen de crecimiento del patógeno y se incubó a temperatura ambiente $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante siete días. Para inducir la formación de esporas se tomaron explantes de 4 mm de crecimiento micelial que fueron colocados en cajas Petri con 20 ml agua destilada estéril y se les adicionó 10 semillas de chile jalapeño desinfectadas con hipoclorito de sodio al 1% y lavadas con agua destilada estéril, se incubaron a temperatura ambiente y a luz continua durante 7 días. El contenido de las cajas Petri se vertió en un matraz estéril, se le agregaron 10 gotas de Tween 20 y se agitaron durante 60 minutos para posteriormente hacer el conteo de esporas con hematocimetro, obteniendo una suspensión con concentración de 743,333 esporas/ml. Para *R. solani* el inóculo se obtuvo de cajas Petri con crecimiento micelial de cuatro días en PDA mantenido a temperatura ambiente; con la ayuda de un bisturí estéril se fragmento el medio

de cultivo y se depositó en un matraz de 250 ml con 175 ml de agua destilada estéril, se le agregó 10 gotas de tween 20 y se agitó por 60 min para desprender el micelio. El inóculo de *F. oxysporum* fue obtenido de un medio de cultivo de cinco días en PDA mantenido a temperatura ambiente. Se tomaron cinco explantes de 4 mm de diámetro los cuales se depositaron en un matraz de 250 ml con 175 ml de agua destilada estéril, se le agregaron 10 gotas de tween 20 y se agitaron durante 60 min, para posteriormente hacer un conteo de conidias en un hematocimetro, obteniendo una suspensión conidial de 555,000 esporas/ml. Los tres concentrados de los patógenos fueron mezclados (MF) en un matraz estéril y se mantuvieron en refrigeración a 5°C.

Efecto biológico de bacterias esporuladas en plantas de chile. A partir de la suspensión bacteriana obtenida (MB) así como de la suspensión de cepa comercial (CC), a una concentración de 1×10^8 ufc/ml, se inoculó cada planta por inmersión de la raíz al momento del trasplante por un lapso de tres minutos, se sembraron dos plantas por maceta con suelo húmedo; cinco días después del trasplante se realizó una segunda inoculación con 10 ml de la suspensión bacteriana correspondiente dirigida al cuello de la planta; 10 días después del trasplante se hizo la inoculación de fitopatógenos (MF), para lo cual se descubrió parte de las raíces de las plantas y se les aplicó 5 ml de la solución previamente preparada, los tratamientos fueron: T1: MB + MF, T2: MB, T3:CC + MF, T4: CC, T5: MF (testigo con fitopatógenos), T6: testigo absoluto. Los parámetros evaluados en esta etapa fueron incidencia y severidad de la enfermedad ocasionada por *P. capsici*, *R. solani* y *F. oxysporum*, utilizando una escala visual numérica, donde: 0 = raíces sanas, 1 = lesiones en raíces secundarias, 2 = raíces secundarias muertas o lesiones en raíces primarias, 3 = raíces primarias muertas y 4 = sistema radical colapsado, planta muerta; así como también altura de planta, longitud de raíz, peso fresco y seco de la raíz, y peso seco de la planta. Los tratamientos en donde se aplicó la mezcla de fitopatógenos fueron comparados contra el testigo con mezcla de fitopatógenos, mientras que en donde se aplicaron solo bacterias se compararon contra el

testigo absoluto. Este trabajo se estableció bajo un diseño experimental completamente al azar con cinco repeticiones, los resultados fueron analizados por análisis de varianza en donde los datos fueron transformados por \sqrt{X} para peso de planta y peso seco de raíz, la comparación de medias fue por la prueba de Tukey ($P = 0.01$); para la variable de respuesta severidad, por tratarse de valores no paramétricos, se utilizó la prueba de Kruskal y Wallis ($P = 0.01$)

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Aislamiento y caracterización de las bacterias. De las 22 muestras de suelo colectadas en cinco localidades productoras de chile del noreste de México se aislaron 57 cepas bacterianas esporuladas. Las cepas aisladas presentaron forma bacilar, tinción de Gram positiva, forma elipsoide de endospora, crecimiento aeróbico, utilización de glucosa y manitol, pero no arabinosa y xylosa. Con base en lo anterior las cepas se identificaron como pertenecientes al género *Bacillus*, según las características descritas para este género por Stainer y Deudoroff (20). Solo 11 cepas de *Bacillus* aisladas y sometidas a la prueba rápida de antagonismo mostraron rangos de inhibición apreciables; estas fueron seleccionadas para llevar a cabo la segunda prueba de antibiosis que incluía al testigo comercial.

Inhibición del crecimiento *in vitro* de *P. capsici*, *R. solani* y *F. oxysporum* con aislamientos de *Bacillus*. Las 11 cepas de *Bacillus* redujeron significativamente ($P = 0.05$) el crecimiento micelial de los fitopatógenos estudiados (Cuadro 1). Contra *P. Capsici* el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial varió de 41.1% (B1) a 25.46% (B13); los mejores resultados de antibiosis se obtuvieron con las cepas B1 (41.1 %) y BS (40.17%) (Fig. 1), los que resultaron ser estadísticamente similares entre si y diferentes al resto de los tratamientos; sin embargo, se observó que ocho días después de que se suspendió la toma de datos, el crecimiento micelial de *P. capsici* en el tratamiento BS se activó nuevamente, llenando la caja Petri (Fig. 2), mientras que con B1 no sucedió esto, lo anterior coincide con lo reportes previos (25), ya

que la volatilidad de los metabolitos producidos por los microorganismos de la rizósfera difiere de un aislamiento a otro, perdiendo con esto su efecto fungistático; resultados similares se presentaron con las cepas B12 y B13, aunque el grado de inhibición fue menor (33.52% y 34.7% respectivamente).

Los efectos obtenidos en *R. solani* muestran que el porcentaje de inhibición varió de 38.31% (B5) a 19.56% (B8); mientras que las cepas B5 (38.31%), B3 (37.94%) y B12 (37.58%) reportaron los índices de inhibición mas altos (Fig. 1), resultando ser estadísticamente iguales entre si y diferentes al resto de los tratamientos. En este caso se observó que el comportamiento de BS fue similar contra *P. capsici*; ya que retardó el crecimiento micelial, pero posteriormente se activó, esta situación no se presentó con las cepas B5, B3 y B12, las que inhibieron totalmente al patógeno. En el caso del hongo *F. oxysporum* el crecimiento micelial fue inhibido por las cepas bacterianas en 31.83% por (B12), 14.47 % (B11), 31.83% (B12), 31.49% (B9), 31.33% (B4) y 31.33% por B13 (Fig. 1). Estas cepas mostraron el mayor grado de antibiosis y resultaron ser estadísticamente iguales entre si pero diferentes al resto de las cepas. El comportamiento de la inhibición de BS fue similar contra los patógenos anteriores, ya que retrasaron el crecimiento micelial, pero el crecimiento se volvió a activar poco tiempo después. Se debe destacar el comportamiento de las cepas sobre los diferentes fitopatógenos, ya que algunas resultaron ser sobresalientes por su efecto antifúngico contra algún hongo, pero no tuvieron ese mismo efecto contra otros, como la cepa B1 que inhibió 41.1% a *P. capsici* y solo 29% a *F. oxysporum*, o la cepa B13 que inhibió 35.1% a *R. solani* y 25.46% a *P. capsici*. Estos resultados sugieren la variabilidad existente entre cepas, aunque algunos autores (17) reportan la especificidad de los antibióticos producidos por las bacterias de la rizósfera.

Efecto biológico de *Bacillus* spp. en plantas de chile. La aplicación de la mezcla de cepas nativas de *Bacillus* muestra efectos significativos ($p = 0.05$) sobre la incidencia y severidad de la marchitez del chile, así como en las

variables agronómicas evaluadas (Cuadro 2). Las plantas inoculadas con la mezcla de bacterias (MB) presentan un 40% de disminución en la incidencia de la enfermedad que fue del 100% en el testigo comercial y en el testigo absoluto; la severidad en el tratamiento de MB obtuvo una media de 0.6, y 1.8 en el testigo comercial, la media del testigo con fitopatógenos fue de 2.8; las plantas inoculadas con MB y MF presentaron mayor altura y biomasa (Fig. 3), siendo estas 87% más altas y 113.9% más pesadas que el testigo con MF, el testigo comercial aumentó 23.25% la altura y 36.05% el peso de la planta, por su parte los tratamientos sin MF y con MB mostraron un incremento de 8.35% en la altura y 22.87 % en el peso seco de las plantas, mientras que el testigo comercial sin MF disminuyó 32.3 % la altura de las planta y estas fueron 30.6 % menos pesadas que las del tratamiento testigo.

Es posible que el aumento en altura y peso observado se debió a un desarrollo más vigoroso de raíces, ya que en el tratamiento con MF y MB las raíces fueron 144.5 % más largas y su peso seco fue 191.4 % mayor con respecto al testigo, mientras que el testigo comercial solo aumentó 37.27 % la longitud de las raíces y 60.21 % su peso seco; cuando se compararon estos parámetros en los tratamientos sin MF, se detectó que los valores disminuyen drásticamente, mientras que el tratamiento con MB aumentó 36.4% la longitud de raíz y 22.6% el peso seco de la misma; dicho comportamiento pudo deberse a que algunas bacterias pierden o reducen la capacidad de producir antibióticos al extraerse de su medio, ya que no son estimulados por otros microorganismos competidores (9, 13). El efecto benéfico de la mezcla de bacterias en el incremento de los parámetros evaluados pudiera deberse la adaptabilidad de dichas bacterias o una parte de ellas, a las condiciones físico-químicas del suelo utilizado en el estudio y al tipo de cultivo, ya que estas cepas fueron obtenidas de varias localidades productoras de Chile del noreste mexicano, mientras que la cepa comercial fue importada y posiblemente no está bien adaptada a las condiciones de los suelos del noreste de México. En relación con este supuesto existen reportes (1) que indican que las bacterias y los

hongos no nativos mueren rápidamente cuando son agregados a un suelo y los cambios resultantes por la introducción del organismo extraño son siempre transitorios, esto coincide con otra información (25), la cual señala que muchos de los intentos de control biológico fracasan o son inconsistentes por la poca adaptabilidad del agente utilizado a las condiciones del entorno.

Cuadro 1. Promedio del crecimiento micelial *in vitro* de *Phytophthora capsici*, *Rhizoctonia solani* y *Fusarium oxysporum* y porcentajes de inhibición debido al efecto de las cepas nativas de *Bacillus* spp.

Cepa	<i>P. capsici</i>		<i>R. solani</i>		<i>F. oxysporum</i>	
	Diámetro de colonia (cm)	Inhibición (%)	Diámetro de colonia (cm)	Inhibición (%)	Diámetro de colonia (cm)	Inhibición (%)
B1	5.24	41.10 a	6.14	32.00 g	6.48	29.00 b
BS	5.42	40.17 a	5.48	36.68 cd	6.54	28.87 b
B3	6.30	33.88 c	5.36	37.94 ab	6.78	27.22 c
B4	6.66	31.17 de	5.84	34.23 f	6.24	31.33 a
B5	5.86	37.04 b	5.28	38.31 a	6.60	28.52 bc
B6	7.10	27.70 g	7.54	19.87 i	7.72	17.90 d
Test	8.50	00.00 i	8.50	00.00 j	8.50	00.00 f
B8	7.12	27.70 g	7.20	23.39 h	7.86	16.55 d
B9	6.86	29.69 ef	5.48	37.04 bcd	6.20	31.49 a
B10	7.00	28.52 fg	5.58	35.97 de	6.50	29.34 b
B11	6.60	31.82 d	7.58	19.56 i	8.00	14.47 e
B12	6.86	29.67 ef	5.38	37.58 abc	6.16	31.83 a
B13	7.36	25.46 h	5.74	35.10 ef	6.24	31.33 a
C.V.		4.32%		2.78%		3.52%

Tukey P=0.05

Cuadro 2. Promedios de los diferentes parámetros evaluados en plantas de chile jalapeño cv. Mitla bajo condiciones de invernadero e incidencia y severidad de la marchitez del chile.

	Longitud de raíz	%	Peso seco de raíz	%	Altura de planta	%	Peso de planta	%	Incidencia	%	Severidad
T1*	53.79 a	144.50	2.71 a	191.40	40.4 a	87.90	8.90 a	113.90	60%	- 40%	0.6 a
T2**	46.40 a	36.40	2.49 a	22.60	37.6 a	8.35	8.38 a	22.87	0%	-	0.0
T3*	30.20 b	37.27	1.49 b	60.21	26.5 b	23.25	5.66 b	36.05	100%	-	1.8 b
T4**	26.60c	-22.00	1.11 c	-45.30	23.5 b	-32.30	4.73 c	-30.60	0%	-	0.0
T5	22.00 c	-	0.93 c	-	21.5 c	-	4.16 c	-	100%	-	2.8 c
T6	34.00 b	-	2.03 b	-	34.7 ab	-	6.82 b	-	0%	-	0.0

* Comparados contra el testigo con fitopatógenos

** Comparados contra el testigo sin fitopatógenos



Figura 1. Antibiosis *in vitro* de cepas nativas hacia *P. capsici*, *R. solani* y *F. oxysporum*

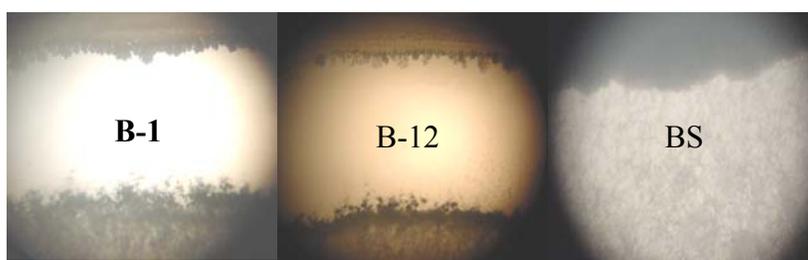


Figura 2. Areas de inhibición vistas al microscopio donde se puede apreciar crecimiento micelial cuando se confrontó con la cepa comercial



Figura 3. Vista general de los tratamientos y de las masas radicales donde se puede apreciar el mayor desarrollo cuando se inocularon las cepas bacterianas nativas

LITERATURA CITADA

1. Alexander M, Introduction to soil microbiology. Ed. John Wiley and Sons Inc. 4a. ed. (1980) p 425
2. Alvarez ZR, Memorias del XXX Congreso de la Sociedad Mexicana de Fitopatología. South Padre Island, Texas, USA (1993) p 102
3. Ayvar SS, M Sosa-Moss, R Rosas, GL Villarreal, Vol. 1. SARH. Serie Sanidad Vegetal. (1994) p 229
4. Bravo LA, CB Cabañas, CJ Mena, VR Velásquez, DS Rubio, DF Mojarro, GG Medina, INIFAP Campo Experimental Zacatecas, Publicación Técnica No 1 (2002) p 38
5. Cook RJ. Making Greater use of Introduced Microorganisms for Biological Control of Plant Pathogens *Ann Rev Phytopathol* 31 (1993): 53
6. Diaz PA Tesis UAAAN Buenavista, Saltillo Coahuila, México (1990) p 34
7. Erwin DC, OK Ribeiro, The American Phytopathological Society. APS Press. St. Paul, Mn, USA. (1995) p 562
8. Filippi C, G Bagnoli, M Volterrani, G Picci, *Plant and Soil* 80 (1984): 119
9. Frabel DR, *Ann Rev. Phytopathol* 26 (1988): 75
10. García CJ, G Virgen, Memorias del XIV Congreso Nacional de Control Biológico. Buenavista, Saltillo, Coahuila. México. (1991) p 164
11. Herrera CM, A Herrera-Campi, *Fitofilo* 39 (1963): 37
12. Kloepper WJ, Memoria del IX Congreso Nacional de Productores de Papa. León, Gto. México. (1999) p 125
13. Lagunas LJ, E Zavaleta, KS Osada, OS Aranda, *Rev Mex de Fitopatol* 19 (2001): 57
14. MacNab AA, AF Sherf, JK Springer, The Pennsylvania State University Press. (1983) p 98
15. Martínez GA, Editorial Trillas. México, DF (1988) p 756

16. Mendoza ZC, Universidad Autónoma Chapingo, Departamento de Parasitología Agrícola (1996) p 87
17. Schippers BA, W Bakker, AH Bakke, *Ann Rev Phytopathol* 25 (1987): 339
18. Sneh B, Burpee L, A Ogoshi, The American Phytopathological Society. APS Press. St. Paul, Mn, USA. (1991) p 133
19. Sobero M, L Gasoni, J Cozzi, Proceedings of the V International Workshop on PGPR. Córdoba, Argentina. (2000) P. 78.
20. Stanier R, M Doudoroff, Editorial Aguilar SA, Barcelona España. (1977) p 467
21. Thirumalachar MJ, MJ O'Brian, *Plant Disease* 61 (1977):543
22. Valadez LA, Editorial UTEHA. México, D. F. (1993) p 287
23. Velásquez VR, AM Medina, RJ Luna, *Rev Mex de Fitopatol* 19 (2001): 175
24. Virgen CG, AA Bernal, RA López, J Ramírez. Memorias del I curso sobre manejo integrado de plagas y enfermedades en tomate, chile y papa. (2001) p 98, Saltillo, Coahuila, México.
25. Weller DM, *Annu Rev Phytopathol* 26 (1988): 379
26. Yuen GY, *Plant Disease* 69 (1985): 1071

CONCLUSIONES GENERALES

En la rizósfera de las plantas de Chile en el noreste de México existen gran variedad de bacterias esporuladas con actividad biológica *in vitro* a *P. capsici*, *R. solani* y *F. oxysporum*, con potencial para ser utilizadas en campo, como agentes de control biológico.

El mezclar cepas que demuestran altos porcentajes de inhibición *in vitro*, además de disminuir la incidencia y severidad de *P. capsici*, *R. solani* y *F. oxysporum* bajo condiciones de invernadero, estimulan el crecimiento y vigor de las plantas.

La aplicación de una mezcla de cepas nativas de la rizósfera de Chile aumenta la probabilidad de éxito en la colonización de las raíces, como se puede observar al comparar con el testigo comercial importado.

LITERATURA CITADA

- Agrios, N.G. 1985. Fitopatología. 4a. edición. LIMUSA. México, D F. 756 p.
- Alexander, M. 1980. Introduction to soil microbiology. Ed. John Wiley and Sons Inc. 4th ed. USA. Pgs. 425-459.
- Alexopoulos, C.J., Mims, C.W. and Blackwell, M. 1996. Introductory Mycology. Ed. John Wiley and Sons Inc. 4th ed. USA. 756 p.
- Alexopoulos, C.J. y Mims, C.W. 1979. Introductory Mycology. Ed. John Wiley and Sons Inc. 3rd ed.. 639 p.
- Alvarez, 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. p. 102.
- Ayvar, S. S., Sosa-Moss, M., Rosas R. y Villarreal, G. L. 1994. Compendio de enfermedades de algunos cultivos de México. Vol. 1. SARH. Serie Sanidad Vegetal. México, D F. 229 p.
- Badii, M.H., Flores, A.E. y Galán, W.L. 2000. Fundamentos y perspectivas de control biológico. 1a. edición. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, N.L. México. 462 p.
- Baker, K.F. 1987. Envolving concepts of biological control of plant pathogens. Ann. Rev. Phytopath. 25: 67-85.
- Bolkan, A.H. 1980. Las pudriciones radicales. Centro Internacional de Agricultura Tropical. Cali, Colombia. 310 p.
- Bowen, G.D. and Rovira, A.D. 1976. Microbial colonization of plant roots. Ann. Rev. Phytopath. 63 121: 144.
- Broadbent, P., Baker, K.F. and Waterworth, Y. 1971. Bacteria and actinomycete antagonistic to fungal root pathogens in Australian soil. Austral. Journ. Biol. Sci. 24: 925:944.

- Bryan, A.H. 1974. Bacteriología, Principios y Prácticas. Ed. CECSA. 6a. Edición. México, D.F. 356 p.
- Campos, A.J. 1987. Enfermedades del frijol. Editorial Trillas. México, D.F. 132 p.
- Carrillo, F., Allende, M.A., García, E. y Carrillo, H.R. 2003. Control biológico de antracnosis del mango ocasionada por *Colletotrichum gloeosporoides* Penz. Memorias del XXX Congreso de la Sociedad Mexicana de Fitopatología. South Padre Island, Texas, U S A. p. 103.
- Chan, T.Y. (1992). Peptides with antifungal properties produced by bacteria. Biol. Abstr. 94 (6): 512.
- Chávez, A.J.J., Zavaleta, M.E., Téliz, O.D. y Juárez, P.C. 1994. Control integrado de la marchitez del chile (*Capsicum annum* L) ocasionada por *Phytophthora capsici* en la region de Valsequillo, Puebla. Memorias del XXI Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología, A.C. Cuernavaca, Morelos, México. p. 26.
- Christon, T.A. 1962. Penetration and hostparasite relationship of *R. solani* in the bean plant. Phytopathology 52: 381-389.
- Dickinson, C.H. 1987. Patología vegetal y patógenos de las plantas. 1a. edición. Limusa. México, D F. 312 p.
- Dixon, G. R. 1981. Vegetable crop diseases. AVI. Publishing Co. Conn. U S A. 404 p.
- Douville, Y.T. and Boland, G.J. 1992. A note of the antibiotic properties of *Bacillus subtilis* against *Colletotrichum trifolli*. Biol. Abstr. 94 (12):1027-1028.
- Flores, O.A. y Frías, G.A. 1992. El triste del cultivo del chile en Ramos Arizpe, Coahuila. Folleto informativo. U A A A N. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. 15 p.
- Frael, D. R. 1988. Role of antibiosis in the biocontrol of plant diseases. Annu. Rev. Phytopath. 26:75-91.
- Gallegos, L.M. 1978. enfermedades de los cultivos en el estado de Sinaloa. CIAPAN. 123 p.
- García, C. J. y Virgen, C.G. 1991. Control de *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* con *Bacillus subtilis* en condiciones de campo. Memorias del XIV Congreso Nacional de Control Biológico. Buenavista, Saltillo, Coahuila. México. p. 164-169.

- Gormely, J.P. 1980. Determinación de la patogenicidad de dos cepas de *Rhizoctonia solani* en cuatro hospederos bajo condiciones de laboratorio durante la primavera, verano y otoño. Tesis I.T.E.S.M. Monterrey, N.L. México. 68 p.
- Guenko, G.G. 1983. Fundamentos de la Horticultura Cubana. Editorial Pueblo y Educación. La Habana, Cuba. 256 p.
- Harley, J.L. 1965. Mycorrhiza: Ecology of soil-borne plant pathogens. Univ. CA. Press. U S A. p 218-230.
- Hernández, A.A. 1990. Estudio del posible mecanismo de rompimiento de resistencia a *Phytophthora capsici* en chile por *Nacobbus aberrans*. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados. Montecillos, México. 83 p.
- Hooker, J.W. 1990. Compendium of potato diseases. 4 th. Ed. American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, U S A. 125 p.
- Huang, J. W. and S. K. Sun. 1978. Factors affecting survival of watermelon wilt pathogen *Fusarium oxysporum* f.sp. *niveum* in soil. Plant. Prot. Bull. 20: 56-66.
- Kim, D.S., Cook, R.J. and Weller, D.M. 1997. *Bacillus* sp. for biological control of three root disease of wheat grown with reduced tillage. Phytopathology 87:551-558.
- Kloepper, W. J. 1999. Visión general de las bacterias promotoras del crecimiento en plantas (PGPR) y control de enfermedades. Memoria del IX Congreso Nacional de Productores de Papa. León, Gto. México. p 125.
- Leon, G.H. 1982. Enfermedades de los cultivos en el estado de Sinaloa. Boletín Técnico INIA-SARH. México. 183 p.
- Leonian, L. H. 1922. Stem and fruit blight of pepper caused by *Phytophthora capsici*. Phytopathology 12: 401-408.
- Lowell, L.B., Green, K., Hartman, L. y Poulus, J. 1993. Enfermedades del Chile, una guía de campo. Editorial Centroamericano de Investigación y Desarrollo Vegetal. Colombia. 98 p.
- Maget-Dana, A., Thimon, L., Peypoux, F. and Ptak, M. 1993. Surfactin-iturin A, interaction may explain the synergistic effect of surfactin on the biological properties of iturin A. Biol. Abstr. 95 (11): 224.
- Martinson, C.A. 1965. Formation of infection suchions by *Rhizoctonia solani* an sintetic films in soil. Phytopathology. 55: 122-129.

- Melhus, E.I. and G.C. Kent. 1979. Elements of Plant Pathology. 4 th. Ed. McMillian Co. N.Y. U S A. 493 p.
- Mendoza, Z.C. y B.C. Pinto. 1983. Principios de fitopatología y enfermedades causadas por hongos. Departamento de parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Edo de México. 311 p.
- Nandi, P. and Sen, G.P. 1953. An antifungal substances from a strain of *Bacillus subtilis*. Nature 172: 871-872.
- Ohno, A., Takashi, A. and Makoto, S. 1993. Production of the antifungal peptide antibiotic iturin by *Bacillus subtilis* in solid state fermentation (SSF). Biol. Abstr. 95 (8): 401.
- Orieta, F.L. Microorganismos antagonistas para el control fitosanitario. Manejo Integrado de Plagas. Costa Rica. 62: 96-100.
- Pérez, M.L., Medina, L.O. y Salinas, G.J.G. 1990. Control genético y químico de la marchitez del chile *Capsicum annum* L. causada por *Phytophthora capsici* Leo. En la región de Irapuato, Guanajuato, México. Revista Mexicana de Fitopatología 8: 71-76.
- Pérez, M.L., Durán, O.L., Ramírez, M.R. y Sánchez, P.R. 2003. Compatibilidad fisiológica y sensibilidad a fungicidas de aislamientos de *Phytophthora capsici* Leo. Revista Mexicana de Fitopatología. 21: 19-25.
- Roberts, A.D. y C.W. Boothroyd. 1978. Fundamentos de patología vegetal. Editorial Acribia. Zaragoza España. 392 p.
- Romero, C. S. 1988. Hongos Fitopatógenos. UACH. Chapingo, Edo. de México, México. 347 p.
- Rytter, J.L., Lukezic, R.L., Craig, R. and Moorman, G.W. 1989. Biological control of geranium rust by *Bacillus subtilis*. Phytopathology 79: 367-370.
- Satija, D.V. and Hooda, I. G. 1987. Greenhouse evaluation of seed treatment fungicides for the control of tomato and chilli damping-off. Indian Phytopath. 40 (2):222-225.
- Schippers, B., A. W. Bakker and A. H. Bakker. 1987. Interactions of deleterious and beneficial rhizosphere microorganisms and the effect of the cropping practices. Ann. Rev. Phytopathology. 25: 339-312.
- Shin, G.C., Im, G.J., Yu, S.H. and Park, J.S. 1987. Biological control of sesame soil borne diseases by antifungal microorganism. Korean Journ. Plant Prot. 26: 229-237.

- Shwartz, F.H. y Galvez, E.G. 1980. Problemas de producción de frijol, enfermedades, insectos, limitaciones edáficas y climáticas. CIAT. 76 p.
- Stanier, R. and M. Doudoroff, M. 1977. Microbiología. Ed. Aguilar S. A. Barcelona España. 467 p.
- Stessel, G.J., Curt, L. and Keitt, G.W. 1953. Partial purification and properties of the antifungal antibiotic toximycin. *Phytopathology* 43: 23-26.
- Thirumalachar, M. J. and M. J. O'Brian. 1977. Supresión of charcoal rot in potato with a bacteria antagonist. *Plant Disease* 61: 543-546.
- Utkhede, R.S. 1989. Evaluation of *Bacillus subtilis* for potential control of apple replant diseases. *Phytopathology* 126 : 305-312.
- Vavilov, N.I. 1951. Origin, Variation, Inmunity and Breeding of Cultivated Plants. Roland Press. New York, U S A. 356 p.
- Velázquez, V.R. Medina, A.M. y Macias, V.L. (2003) Relación de líneas avanzadas de chile (*Capsicum annum* L.) provenientes de Zacatecas a enfermedades comunes en Aguascalientes, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 21:71-74.
- 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, Coah. México.
- Virgen, C. G., Bernal, A. A., López, R. A. y J. Ramírez, R. 2001. Rizobacterias promotoras del crecimiento de las plantas: Importancia en el crecimiento y fitosanidad. Memorias del I curso sobre manejo integrado de plagas y enfermedades en tomate, chile y papa. p 98-109.
- Walker, J. C. 1952. Diseases of vegetable crops. McGraw-Hill Co. U S A. 529 p.
- Weber, G.F. 1932. Blight of peppers in florida caused by *Phytophthora capsici*. *Phytopathology* 2: 775-780.
- Weller, D.M. 1988. Biological control of soilborne plant pathogens with bacteria in the rhizosphere. *Ann. Rev. Phytopath.* 26: 379-407.