

CONTROL BIOLÓGICO DE
Fusarium oxysporum f. sp. *niveum*
(E. F. Smith) Snyder & Hans CON *Bacillus subtilis*
EN SANDIA BAJO CONDICIONES DE CAMPO

GIL VIRGEN CALLEROS



BIBLIOTECA
ECIDIO G. REBONATO
BANCO DE TESIS
U.A.A.A.N.

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS
EN PARASITOLOGIA AGRICOLA

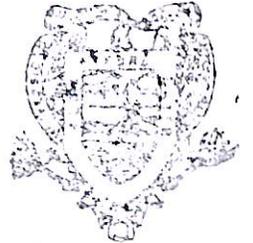


Universidad Autónoma Agraria
Antonio Narro

PROGRAMA DE GRADUADOS
Buenavista, Saltillo, Coah.
OCTUBRE DE 1990

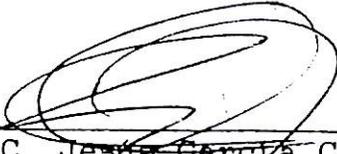
Tesis elaborada bajo la supervisión del comité particular de asesoría y aprobada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS
EN PARASITOLOGIA AGRICOLA



COMITE PARTICULAR BIBLIOTECA
EGIDIO G. REBONATO
BANCO DE TESIS
U.A.A.A.N.

Asesor principal:


M.C. Jesús García Camargo

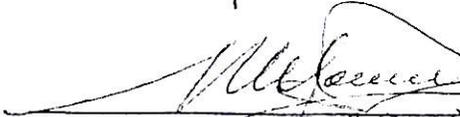
Asesor:


M.S. Mercedes de la Garza Curcho

Asesor:


Ph.D. Gustavo A. Frias Treviño

Asesor:


M.C. Regino Morones Rosa

BIBLIOTECA
EGIDIO G. REBONATO
U.A.A.A.N.
SALTILLO, COAH.


Dr. Eleuterio López Pérez

Subdirector de Asuntos de Postgrado

Buenavista, Saltillo, Coahuila. Octubre de 1990

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, por aceptarme en el seno de sus instalaciones y brindarme la oportunidad de realizar mis estudios de maestría y por el apoyo económico que me otorgó.

A los horticultores de México, quienes por medio de la Confederación Nacional de Productores de Hortalizas (CNPH), hicieron posible la realización de este trabajo y por el apoyo económico que me otorgaron.

Al departamento de Parasitología por brindarme todas las facilidades para mi estancia.

Al M.C. Jesús García Camargo, por su asesoría y observaciones en la elaboración de este escrito.

A la M.S. Mercedes de la Garza Curcho y al M.C. Regino Morones R. Por la revisión del presente trabajo y sugerencias para el mismo.

Al Doctor Gustavo Frias T. por su valiosa colaboración en la revisión del presente por el apoyo moral que me brindó y por ser un gran amigo.

Al Sr. Arturo Medina V. por haberme permitido realizar este trabajo en su parcela y por su ayuda física y moral que me brindó.

A todas aquellas personas que de una u otra manera colaboraron en el desarrollo del presente trabajo.

DEDICATORIA

A mi padre Alfredo Virgen Gutiérrez por haberme dado toda su sabiduría y apoyo moral, hasta donde Dios se lo permitió.

A mi madre Jovita Calleros de V. por darme el don más preciado, la vida, por sus sabios consejos para salir siempre adelante.

A mi esposa Norma Leticia de la Rosa por compartir conmigo los buenos y malos momentos que la vida nos ha dado.

A quien hace la alegría de mi vida y que ésta tenga un significado mi hijo Gil Fabián.

A mis hermanos Alfredo, Eva, Adriana, Noé, Jovita y Beatriz quienes depositaron en mí siempre su apoyo.

A mis sobrinos R. Missael, Alfredo, Yahaira Patricia y Aldo Javier

A todos mis compañeros de la maestría con quien compartí momentos verdaderamente difíciles Javier, Enrique, Osmin, Nestor, Pancho, Raúl, Alvaro. A mi gran amigo Manolo Lozano

COMPENDIO.

Control Biológico de *Fusarium oxysporum f sp. niveum*
(E.F.Smith) Syd & Hans con *Bacillus subtilis*
en Sandía bajo Condiciones de Campo.

Por

GIL VIRGEN CALLEROS

MAESTRIA EN

PARASITOLOGIA AGRICOLA

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA "ANTONIO NARRO"
BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA. OCTUBRE 1990

Ing. M.C. Jesús García Camargo - Asesor -

Palabras clave: Control biológico, *F. oxysporum f sp. niveum*, *B. subtilis*, sandía.

Con el objeto de determinar la eficiencia de *Bacillus subtilis* en el control de *F. oxysporum f sp. niveum*, se realizó la presente investigación en Casimiro Castillo Jal. *Bacillus subtilis* tuvo una marcada reducción de la enfermedad del marchitamiento de la sandía causada por *F. oxysporum f sp. niveum* a nivel de campo.

No se determinó cual fué el mecanismo de acción del antagonista se asume a la producción de antibióticos y competencia como los mecanismos involucrados en esta protección. El control biológico puede ser una alternativa dentro de un programa de manejo integrado para enfermedades del suelo en este cultivo. La relación costo-beneficio es muy favorable cuando se usa *Bacillus subtilis* como inoculante de semilla.

ABSTRACT

Biological Control of *Fusarium oxysporum f. sp. niveum*
(E.F.Smith) Snyder & Hans with *Bacillus subtilis* in
Watermelon in Field Conditions.

By

GIL VIRGEN CALLEROS

MASTER OF SCIENCE

PLANT PROTECTION

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA "ANTONIO MARRON"
BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA, SEPTEMBER 1990

Jesús García Camargo, MS, Advisor.

Key words: Biological control, *F. oxysporum f. sp. niveum*, *B. subtilis*, Watermelon.

An assay to determine the efficiency *Bacillus subtilis* on controlling watermelon wilt caused by *Fusarium oxysporum f. sp. niveum* (E.F.Smith) Snyder & Hans was evaluated. The experiment was conducted in Casimiro Castillo Jal. *Bacillus subtilis* reduced the severity of the disease 74.62% in Jubilee W.R. cultivar and 54.50 in

All-Sweet cultivar under field conditions. The mechanisms of antagonisms was not determined, but it is considered that the antibiotic production and competition were the mechanisms involved in this protection. The biological control can be part of an integrated management for soilborne disease in this crop. The relationship cost-benefit was very favorable when *B. subtilis* was used as seed inoculant.

INDICE DE CONTENIDO.

	Página
INDICE DE CUADROS.	xi
INDICE DE FIGURAS.	xii
INTRODUCCION	1
OBJETIVO.	3
REVISION DE LITERATURA.	4
HISTORIA Y DISTRIBUCION DEL MARCHITAMIENTO DE LA SANDIA.	4
UBICACION TAXONOMICA DEL PATOGENO.	4
SINTOMAS DE LA ENFERMEDAD.	5
ETIOLOGIA.	6
EPIFITIOLOGIA.	7
PARASITISMO.	8
CONTROL DE LA ENFERMEDAD.	9
CONTROL GENETICO.	9
CONTROL QUIMICO.	10
CONTROL CULTURAL.	11
CONTROL BIOLÓGICO.	12
Historia e importancia del con-- trol biológico.	12
Clasificación de los microorga-- nismos de la rizósfera.	14
Definición de control biológico.	15
Microorganismos de la rizósfera.	16

Agentes de control biológico. . . .	17
Selección, formulación e incon--	
sistencia del control biológico. . . .	19
Mecanismos de control biológico. . . .	22
Estrategias para el uso de anta-	
gonistas.	25
MATERIALES Y METODOS.	26
DESCRIPCION DEL AREA DE ESTUDIO.	26
PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.	27
INOCULACION DE SEMILLA DE SANDIA. . . .	27
SIEMBRA DE LA SEMILLA INOCULADA. . . .	27
Preparación del terreno.	27
Siembra de la semilla inoculada. . . .	29
Diseño experimental.	29
Variables consideradas.	30
ANALISIS ECONOMICO.	30
RESULTADOS.	31
PORCIENTO DE MARCHITAMIENTO DE SANDIA. . . .	31
PRODUCCION DE SANDIA.	36
ANALISIS ECONOMICO.	40
DISCUSION.	44
PORCIENTO DE MARCHITAMIENTO DE SANDIA. . . .	44
PRODUCCION DE SANDIA.	47
ANALISIS ECONOMICO.	48
CONCLUSIONES	50
RESUMEN.	51
LITTEPATURA CITADA.	53

INDICE DE CUADROS

Cuadro No.		Página
2.1.	Reportes de control biológico de enfermedades de las plantas con <i>Bacillus subtilis</i> (Pusey, 1989).	21
3.1	Cantidad de inóculo de <i>B. subtilis</i> por cada 100 g de semilla de sandía de dos variedades sembradas en un lote infestado por <i>F. oxysporum f sp. niveum</i>	28
4.1	Cuadrados medios y su significancia de las variables % de marchitamiento, peso y número de fruta de exportación y nacional en dos variedades de sandía.	32
4.2	Porcentaje de protección de plantas de sandía de dos variedades y promedio de marchitamiento a los 90 días después de la siembra en 5 tratamientos con <i>B. subtilis</i> inoculado en semilla, en un lote infestado naturalmente con <i>F. oxysporum f sp. niveum</i> (en C. Castillo, Jal. ciclo 89-90).	33

INDICE DE FIGURAS.

Figura No.		Página
4.1	Porciento de marchitamiento de sandía de dos variedades a 12 semanas después de la germinación, a diferentes dosis de <i>Bacillus subtilis</i> en un lote infestado con <i>Fusarium oxysporum f sp niveum</i> (A var. Jubilee W.R. y B All-Sweet). . . .	35
4.2	Producción de sandía con calidad de exportación a diferentes dosis de <i>Bacillus subtilis</i> (A var. Jubilee W. R. y B All-Sweet).	37
4.3	Producción de sandía con calidad nacional a diferentes dosis de <i>B. subtilis</i> (A var. Jubilee W.R y B var. All-Sweet).	39
4.4	Número de frutos de sandía calidad exportación a diferentes dosis de <i>B. subtilis</i> (A var. Jubilee W.R y B Var. All-Sweet).	41
4.5	Número de frutos de sandía calidad nacional a diferentes dosis de <i>B. subtilis</i> (A var. Jubilee W.R y B var. All-Sweet)	42

INTRODUCCION

Los cultivos hortícolas ocupan en México el segundo lugar en superficie cultivada, siendo superada solo por los cultivos básicos.

Dentro de los cultivos hortícolas, la familia de las cucurbitáceas está ampliamente distribuída y además proporcionan al hombre alimento y fibra. Aunque no son base mundial en alimentación, como los cereales o legumbres, en algunas zonas sirven como fuente de carbohidratos. Así mismo muchas hortalizas son apreciadas como fruta fresca, como melón, sandía, fresa y otras más. Debido a su remuneración son ampliamente cultivadas ya que generan gran entrada de divisas y empleo para muchas personas.

De los casi 90 géneros y 750 especies de la familia Cucurbitaceae, solamente 6 géneros y 12 especies son cultivadas por el hombre; los géneros son *Citrullus*, *Cucumis*, *Luffa*, *Lagenaria*, *Cucurbita* y *Sechium*. Todas las cucurbitáceas cultivadas son sensibles al frío.

En México la sandía (*Citrullus lanatus* (Thumb) Matsum y Nakai) es ampliamente cultivada por su potencial económico. En el ciclo 89-90 se sembraron alrededor de 20,000 ha. para exportación, de las cuales aproximadamente 3,500 ha. correspondieron a la costa de Jalisco en este mismo ciclo (Confederación Nacional de Productores de

Hortalizas, CNPH, 1989). El promedio de producción obtenido a nivel nacional es de 13.2 ton/ ha. aunque se tiene un potencial de rendimiento promedio de 19.8 ton/ ha.

Entre las pérdidas importantes de este cultivo en la producción se encuentran las plagas y enfermedades.

En la costa de Jalisco las enfermedades son tenidas como uno de los factores que más reducen la producción del cultivo de sandía. Siendo la enfermedad principal el marchitamiento y agrietamiento de las guías, causados por el hongo *Fusarium oxysporum f sp. niveum* (E.F. Smith) Snyder & Hans; el cual se ha incrementado año tras año, Cuando las condiciones son favorables para el desarrollo del patógeno puede perderse la totalidad de la cosecha (León, 1982).

Con el empleo de fungicidas y variedades resistentes se ha buscado una posible solución a dicho problema; sin embargo, los resultados no han sido completamente satisfactorios, además de que con tales medidas de combate los costos se han incrementado notablemente.

Un manejo integrado del problema puede ayudar a disminuir considerablemente el daño causado por este patógeno. Dentro de este manejo destaca la posibilidad de un control biológico, el en otras enfermedades producidas por *Fusarium* en otros cultivos han sido manejadas adecuadamente mediante la aplicación de bacterias antagónicas a la semilla. Así, el marchitamiento del clavel causado por *Fusarium oxysporum f sp. dianthi* se redujo entre un 30 y 40 por ciento mediante la aplicación de

Bacillus subtilis y *Pseudomonas* sp. B-10 (Yuen, et al, 1985).

El uso de bacterias como agentes de control biológico de patógenos del suelo ha despertado gran interés en muchos investigadores, quienes han encontrado que muchas bacterias inhiben a una gran cantidad de patógenos del suelo, ya sea por competencia física por espacio, acción de sustancias inhibidoras o parasitismo directo. *Bacillus subtilis* es una bacteria que ofrece gran potencial de control biológico sobre varias formas especiales de *Fusarium oxysporum*.

Como ventaja de esta medida de control se puede considerar que se altera poco el ecosistema, la contaminación ambiental es nula y, de llegar a establecerse, puede resultar bastante redituable para el productor.

En base a lo anterior, para el presente estudio se planteó el siguiente:

OBJETIVO.

- a.- Evaluar la eficiencia de *Bacillus subtilis* sobre *Fusarium oxysporum* f sp. *niveum* aplicado como tratamiento a semilla de sandía en condiciones de campo.

REVISION DE LITERATURA

Historia y Distribución del Marchitamiento de la Sandía.

La enfermedad del marchitamiento de la sandía causada por el hongo *Fusarium oxysporum f. sp. niveum* (E. F. Smith) Synd & Hans, se describió por primera vez en 1894 en el sureste de los Estados Unidos por Erwin F. Smith. La enfermedad se encuentra ampliamente distribuída en todo el mundo, donde quiera que se cultive la sandía (Walker, 1952) y también generalmente donde se cultive melón, en los países de Africa, Japón y Australia (Melhus y Kent, 1939). Aunque es más común en áreas tropicales y subtropicales donde se cultive sandía (Dixon, 1981).

En México se localiza presente en aquellas áreas donde se cultive la sandía, sobre todo en suelos de textura arenosa (León, 1982).

Ubicación Taxonómica del Patógeno.

Alexopoulos y Mims (1979) mencionan que el hongo del marchitamiento está clasificado de la siguiente manera:

Super-reino-----Eukaryonta

Reino-----Mycetae

División-----Amastygomycota

Subdivisión-----Deuteromycotina

Clase-----Deuteromycetes

Subclase-----Hyphomycetidae
 Orden-----Moniliales
 Familia-----Tuberculariaceae
 Género-----*Fusarium*
 Especie-----*oxysporum*

Síntomas de la Enfermedad.

Las plantas son afectadas en todos los estados del desarrollo, pudiendo incluso podrirse la semilla recién germinada en el suelo (Walker, 1952). El rango de hospederos se restringe a sandía (*Citrullus lanatus*) y sidra (*Citrullus vulgaris var. citroides*) (Dixon, 1981), aunque también es capaz de colonizar raíces de cacahuate y tomate con mucha frecuencia (Huang y Sun, 1978). Sobre plantas jóvenes causa damping-off, podredumbre cortical y achaparramiento (Dixon, 1981). Los cotiledones y hojas jóvenes se tornan cloróticas y al poco tiempo se marchitan, el hipocótilo puede ceñirse por una podredumbre blanda acuosa (Walker, 1952 y León, 1982).

En plantas adultas, las hojas se arrugan y secan en las partes terminales de las guías. Estas plantas se observan normales por la mañana, pero en el transcurso del día se marchitan, repitiéndose esta secuencia hasta que las plantas se mueren (Walker, 1952 y León, 1982).

Inicialmente solo una parte de la guía puede mostrar síntomas, pero eventualmente la planta completa es afectada. El patógeno también es responsable de lesiones necróticas en el sistema radical, lesiones pardas y

gomosis, que se deriva de una serie de gotitas que son emanadas sobre las necrosis laterales del tallo (Messiaen y Lafon, 1967 y Dixon, 1981). En esta necrosis lateral de donde se emana la gomosis de color ámbar se produce un agrietamiento de las guías. En ocasiones solo una guía o pocas se secan; este hecho se debe a la relativa independencia vascular de cada tallo (Messiaen y Lafon 1967).

Muerto el hospedero, desarrolla micelio algodonoso que esporula sobre la superficie del tejido muerto, produciéndose una gran cantidad de microconidias, macroconidias y clamidosporas, especialmente en tiempo húmedo (Walker, 1952; Messiaen y Lafon, 1967; Dixon, 1981 y León, 1982).

Etiología.

El organismo causal del marchitamiento de la sandía es el hongo *Fusarium oxysporum f. sp. niveum* (E.F. Smith) Snyder & Hans. Es un hongo típicamente vascular y es similar en morfología al organismo causante del amarillamiento de la col (Walker, 1952).

El hongo produce tres tipos de esporas, que son asexuales y se pueden producir al mismo tiempo (Melhus y Kent, 1939). Las esporas son hialinas de dos clases, las macroconidias cuando son esporas septadas de dos ó más células y las microconidias cuando son de una célula. Las clamidosporas son de color café-oscuro, de pared celular gruesa. Las conidias se desarrollan sobre las hifas en

conidióforos cortos que son ramificados y se encuentran en un esporodoquio (Melhus y Kent, 1939 y Streets, 1978). Las microconidias son de una sola célula en forma oblonga u ovoide, simples o en cadenas; las macroconidias son curvadas de dos a más células, con terminaciones más o menos punteadas, terminación basal con un pie definido (Streets, 1978 y Barnett y Hunter, 1987)

No se conoce el estado sexual de *Fusarium oxysporum* f sp *niveum* (Melhus y Kent, 1939).

Epifitiología.

El organismo tiene un óptimo de temperatura en agar para su desarrollo de alrededor de 27°C, mientras que el daño en plantas de sandía ocurre a temperaturas en el suelo de 20 a 30°C. En las plantas más viejas donde ocurre la fase de marchitamiento la temperatura óptima del suelo para que se desarrolle la enfermedad es de casi 27°C (Walker, 1952 y León, 1982).

La enfermedad declina apreciablemente a 30°C y no desarrolla arriba de 33°C (Walker, 1952).

El hongo es capaz de invernar sobre material muerto de las plantas en el campo o como organismo de vida libre en el suelo (Melhus y kent, 1939). De esta forma puede sobrevivir en el suelo ó en materia orgánica hasta 16 años aún en ausencia de plantas susceptibles (León, 1982). Algunos factores pueden afectar su sobrevivencia como, tipos y humedad en el suelo, comportamiento saprofítico sobre residuos de guías de sandía, plantas asintomáticas en

el campo y rotación de cultivos (Huang y Sun, 1979).

La perennización toma lugar en el suelo cuando tiene un 70 por ciento de humedad (Dixon, 1981); se favorece la sobrevivencia en suelo limoso, pero no en arena fina o limo-arcilloso. Además este patógeno puede sobrevivir en malezas que crecen junto a sandía, como *Cyperus rotundus*, *Leptochloa chinensis* y *Oryza sativa* (Huang y Sun, 1978).

El hongo puede ser introducido a nuevas áreas por semillas o por cualquier otro medio que movilice plantas infectadas como arados, rastras, el hombre, ganado, etc. (Walker, 1952 y León, 1982).

Parasitismo.

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 y también a través de rupturas causadas por factores físicos y biológicos que afectan el desarrollo de la raíz (Melhus y Kent, 1939 y Dixon, 1981). El micelio progresa intracelularmente, para luego entrar a los tubos del xilema, dentro del cual el patógeno puede diseminarse dentro del tallo. En plantas adultas los vasos se llenan con micelio y goma densa además de un gran número de tilosas, provocando un taponamiento de los vasos conductores. Los productos gomosos y tilosas en el xilema de las plantas enfermas parecen ser producidas por células

vivientes del hospedero, dañadas por productos tóxicos metabólicos o enzimáticos del patógeno del marchitamiento. El taponamiento de los vasos y la producción de diversas sustancias tóxicas producen en la planta el síntoma del marchitamiento (Melhus y Kent, 1939).

Control de la enfermedad.

Control genético.

Este tipo de control implica el uso de la resistencia heredada del hospedero al ataque de algún patógeno.

Orton (1911) fué el primero en desarrollar una variedad resistente de sandía al ataque de *Fusarium oxysporum f sp niveum* y la llamó Conqueror. También citó que una variedad puede ser resistente en una localidad y susceptible en otra.

León (1982) menciona que las variedades Dixie Queen, Blacklee, Garrisonian, Charleston Grey, Blue Ribbon, Dixie Hybrid y otras más son resistentes al ataque del patógeno. Hopkins et al (1987) concluyeron que solamente la variedad Crimson Sweet tiene moderada resistencia a *Fusarium* en invernadero y tiene una resistencia única que fué efectiva a lo largo de 7 años de monocultivo. Esta resistencia parece ser el resultado de una promoción de un factor de control biológico en el suelo.

La variedad Charles, obtenida de la cruce de Texas W5 y Charleston Grey, es resistente a la antracnosis raza-1 y marchitamiento por *Fusarium*, también las variedades

Minilee y Mickylee son resistentes a estos mismos patógenos (Crall, 1986a y Crall, 1986b). La variedad Sugar Baby liberada en 1956 es ampliamente cultivada en América central y Florida y aunque presenta calidad y productividad, no es muy cultivada por ser susceptible a *Fusarium* (Elmstrom y Crall, 1985).

A pesar de todo el control genético ha sido efectivo solo en cierta medida, ya que existen varias razas del hongo *Fusarium oxysporum f sp niveum* (Dixon, 1981), y algunas de ellas son altamente virulentas, como la encontrada en Israel por Netzer (1978), en donde todas las variedades de sandía han sido atacadas por esta raza del hongo.

Muchas de las variedades resistentes al marchitamiento, no son muy aceptadas en el mercado.

Control químico.

Este tipo de control no ha resultado muy efectivo, porque el hongo habita en el suelo, el cual constituye una barrera física entre el hongo y los fungicidas. No obstante, se han realizado algunos intentos por reducir el efecto del patógeno.

Por ejemplo, Dixon (1981) reporta que los fungicidas benomyl, tiabendazole, metil-tiofanato y maneb dan resultados variables en el control; sin embargo, cuando se esteriliza el suelo se reduce la eficacia del metil-tiofanato y maneb, mientras que los resultados con el benomyl y tiabendazole son variables.

Por otro lado, Spencer (1977) encontró que en infecciones establecidas con el hongo se requirió un primer tratamiento de 5-10 g/m² de benomyl, además de aplicaciones quincenales de 1 g/m² de este mismo producto; después las aplicaciones quincenales se incrementaron de 2-3 g/m² de suelo.

Control cultural.

El control cultural es aquel en que las prácticas normales de un cultivo pueden ser utilizadas para reducir la incidencia de una enfermedad, y estas pueden ser muy variadas; las más usadas por su eficiencia son las aplicaciones de residuos de cosechas y/o modificadores orgánicos. De esta manera se han planteado dos hipótesis para tratar de explicar la efectividad de los modificadores orgánicos en el control de fitopatógenos del suelo: 1) los productos que resultan de la descomposición tienen un efecto nocivo sobre los patógenos del suelo y 2) se incrementan las poblaciones de organismos antagónicos a fitopatógenos del suelo (Zavaleta, 1987).

En el control del marchitamiento de la sandía por la aplicación de modificadores orgánicos del suelo con la mezcla S-H (mezcla de azufre e hidrógeno), es el resultado de una multitud de factores, incluyendo la supresión directa por sus componentes orgánicos, supresión indirecta del patógeno por el aumento del pH y por el incremento de la población microbiana (Sun y Huang, 1985). De esta manera, solamente un suelo supresivo (suelo Hi-hu-B),

mostró reducción del marchitamiento de la sandía causado por *Fusarium* (Huang y Sun, 1984).

La disponibilidad y tipos de fuentes de nutrientes es importante en la incidencia de la enfermedad. Por ejemplo las poblaciones del patógeno *Fusarium oxysporum f sp niveum* se redujeron un 25 a 30 por ciento por la aplicación de urea más superfosfato de calcio o nitrato de potasio más superfosfato de calcio; hubo una reducción de 89.3, 84.36 ó 56.39 por ciento con 1 por ciento de urea más superfosfato de calcio, urea o nitrato de potasio respectivamente 15 días después de enriquecerlo, pero la población del patógeno se incrementó un 15.5 ó 58.81 por ciento cuando se incorporó 0.1 ó 1 por ciento de sulfato de amonio (Huang y Sun, 1982).

Control biológico.

El control biológico de los patógenos de las plantas es una área de investigación relativamente nueva y promete ser una de las formas aceptables en el control de las enfermedades de las plantas, debido al poco desequilibrio ecológico que ocasiona.

Historia e Importancia del Control Biológico.

El estudio del control biológico de los patógenos del suelo se remonta a inicios del siglo XX.

Potter (1908) hizo una demostración de que la actividad de un patógeno puede inhibirse por acumulación de sus propios productos metabólicos. Sanford (1926) sugirió

que el control de la roña de la papa (*Streptomyces scabies*) por la adición de abonos verdes fué un control biológico, debido a un incremento de ciertas bacterias saprofiticas que se multiplican sobre material orgánico. Este mismo autor integró dos hipótesis concisas de control biológico como sigue: (1) los organismos saprófitos pueden controlar la actividad de los patógenos de las plantas y (2) el balance microbiológico del suelo puede cambiarse por alteración de las condiciones del suelo, en particular adicionando material orgánico fresco que promueve la actividad y multiplicación de saprófitos por competición de nutrientes y oxígeno y por sus excreciones suprimen la actividad y multiplicación de los patógenos.

Millard y Taylor (1927) reportaron el control de la roña en papa desarrolladas en suelos estériles e inoculados con *S. scabies* a través de inoculaciones simultáneas del suelo con *S. praecox*, una especie saprofitica vigorosa. Evidencias experimentales apoyaron la hipótesis de Sanford, demostrando que la infección de plántulas de trigo por *Ophiobolus graminis* en suelo esterilizado fué completamente por la acción antagonista de varias especies coinoculadas de hongos y bacterias (Sanford y Broadfoot, 1931). Estos autores fueron los primeros en usar el término control biológico en la fitopatología.

A partir de entonces el número de escritos sobre control biológico se ha incrementado, especialmente después de 1965 (Baker, 1987). Durante mucho tiempo el control biológico no se consideró económicamente factible (Weller,

1988).

Este tipo de control se considera que puede tener un importante papel en la agricultura en el futuro, por el hecho de que varias compañías tienen programas para desarrollar agentes de control con esta clase de organismos como productos comerciales, esto es una respuesta en parte al concerniente peligro con el uso de pesticidas químicos; los microorganismos que pueden crecer en la rizósfera son ideales para usarlos como agentes de control biológico, puesto que la rizósfera provee la línea frontal de defensa para las raíces al ataque de los patógenos (Weller, 1988).

Clasificación de los Microorganismos de la Rizósfera

Dommergues citado por Schippers *et al* (1987) clasificó a los microorganismos de la rizósfera como seres benéficos, dañinos y/o sin efecto sobre las plantas.

Microorganismos nocivos de la rizósfera (MONR).

Dentro de esta categoría están los patógenos menores que afectan a las plantas por sus metabolitos, sin parasitar el tejido vegetal, y debe distinguirse de los patógenos mayores o verdaderos porque estos penetran la médula y destruyen el floema causando síntomas de enfermedad; y los patógenos menores, que son saprófitos o parásitos que están confinados a tejidos juveniles, tales como pelos radicales, punta de las raíces y células corticales, estos incluyen parásitos facultativos y obligados como *Polimixia* y *Olpidium*. Dentro de esta amplia

clasificación de MONR se encuentran micorrizas y rizobacterias.

Microorganismos benéficos de la rizósfera (MOBR).

En el amplio sentido incluye simbioses (*Rhizobium*, ciertos actinomicetos y hongos micorrícicos) y saprófitos de vida libre, que incrementan la disponibilidad de los nutrientes o sustancias del desarrollo de las plantas y/o suprimen patógenos parasíticos y no parasíticos (Schippers, et al., 1987).

De gran interés dentro de los microorganismos benéficos de la rizósfera se encuentran aquellos que además de tener un efecto antagónico también promueven el desarrollo de las plantas. Elad et al. (1987) encontraron que rizobacterias (grupo pseudomonales) aplicadas en suelos libres de patógenos a densidades de 1.9×10^9 cfu/ g incrementaron un 78 por ciento de raíces en tomate. Por otra parte Savamani y Gnanamanickam (1988) encontraron que aparte de suprimir el marchitamiento del plátano causado por *Fusarium oxysporum f sp. cubense*, la bacteria *Pseudomonas fluorescens*, también promovió el desarrollo de raíces y de la planta, determinando que la promoción del desarrollo se debe a la colonización agresiva y desplazamiento de componentes dañinos de la microflora de las raíces, como la habían determinado Schroth y Hancock (1982).

Definición de Control Biológico.

El control biológico de las enfermedades de las

plantas puede definirse como cualquier condición bajo la cual, o práctica mediante la cual la sobrevivencia o actividad de un patógeno se reduce a través de cualquier organismo viviente (excepto el hombre), resultando una reducción de la enfermedad causada por el patógeno. El control biológico puede lograrse mediante la introducción o aumento de una o más especies antagónicas (Garrett, 1965). En otra definición, el control biológico en el amplio sentido incluye el uso de cualquier organismo para controlar un patógeno, incluyendo el uso de plantas superiores y resistencia genética de plantas hospederas, que es un control biológico de los más efectivos; una excepción deben ser las personas que producen meristemas libres de virus, erradicación en campo de enfermedades por el hombre, etc. (Cook, 1985).

Naturalmente el control biológico presente se reconoce por situaciones en las cuales un patógeno no persiste, no se establece o no produce enfermedad en un campo dado, o donde un sustrato cercano a la esterilidad es invadido por un antagonista antes de que llegue el patógeno (Baker, 1975).

Microorganismos de la Rizósfera.

Practicamente todos los microorganismos o sus estructuras reproductivas se incorporan al suelo. Considerando que los microorganismos se encuentran en el suelo se pueden dividir en los siguientes grupos: (1) aquellos que pasan la mayor parte de su ciclo de vida en el

suelo, (2) aquellos que primeramente atacan animales o plantas, pero pueden continuar su desarrollo en el suelo al menos por un tiempo y (3) aquellos que están en el suelo por accidente, usualmente en forma de própagulos y pueden permanecer latentes por largo tiempo (Burges, 1965).

En el suelo se han encontrado gran cantidad de hongos alrededor de 200 ficomicetos, 32 ascomicetos y 385 imperfectos, haciendo un total de más de 600 especies (Burges, 1965 y Alexander, 1980). No existen muchas evidencias de cuáles crecen activamente en el suelo o son meramente própagulos (Burges, 1965).

Se consideran alrededor de 1600 especies de bacterias, de las cuales se han encontrado 250 en el suelo, distribuidas en 50 géneros, mientras que dentro de los actinomicetos se considera que la familia Streptomycetaceae es la forma más común en el suelo (Burges, 1965). Además de los hongos y bacterias, el suelo también contiene otros grupos de microorganismos como algas, nemátodos y protozoarios (Alexander, 1980).

Agentes de Control Biológico.

De los agentes factibles para usarse dentro del control biológico de patógenos en la rizósfera lo constituyen principalmente las rizobacterias y micorrizas.

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*, *Hafnia*,
Micromonospora, *Pseudomonas*, *Pasteuria*, *Rhizobium*,
Bradyrhizobium, *Serratia*, *Streptomyces* y *Xanthomonas*
(Weller, 1988).

Thirumalachar y O'Brien (1977) encontraron que una raza de *Bacillus subtilis* inhibió el desarrollo in vitro de *Macrophomina phaseoli* y *Botryodiplodia solani-tuberosi*, y en estudios de campo los tratamientos a semillas y túberculos antes de sembrarse redujo la frecuencia de la podredumbre carbonosa. Por otra parte Mew y Rosales (1986) reportaron que bacterias fluorescentes y no fluorescentes inhiben el desarrollo miceliano de *Rhizoctonia solani* afectaron la viabilidad del esclerocio y promueven ligeramente la germinación de semillas de arroz. También se encontró que una raza designada como M51 de la bacteria *Bacillus subtilis* es particularmente activa hacia *F.oxysporum f sp. dianthi* in vitro e in vivo y fue inhibidora hacia otras tres especies de *Fusarium*, *F. oxysporum* se previno por un período de dos meses después del tratamiento de las plantas con *B. subtilis* M51, y se sugirió que la protección de las plantas depende de la presencia física de la bacteria sobre las células de las raíces (Filippi et al. 1984 y Filippi et al. 1987).

Dentro de los hongos más estudiados por su efecto de control biológico se encuentran; *Penicillium*, *Trichoderma* y *Aspergillus* Subba-Rao y Bailey (1961), encontraron una asociación entre la alta incidencia de *Trichoderma viridae* en el rizoplano y la resistencia al

marchitamiento del tomate causada por *Verticillium*, sugiriendo que la resistencia está ligada con la predominancia de este hongo en el rizoplasma. Se han encontrado hongos micorrízicos que protegen infecciones por patógenos de la rizósfera. Entre los principales hongos micorrízicos se encuentran: *Boletus bovinus*, *B. subtomentosus*, *Lactarius deliciosus* (micorrizas ectotróficas), *Psilotum*, *Pysolitus* (micorrizas endotróficas) de gran interés son las micorrizas vesículo-arbusculares que están ampliamente distribuidas en el reino vegetal, y existe gran interés en ellas por su posible significado biológico (Harley, 1965).

Dentro de los Actinomicetos, el orden actinomicetales despiertan gran interés, ya que tres cuartas partes de los actinomicetos producen agentes antimicrobianos conocidos como antibióticos, (Alexander, 1980). *Streptomyces griseus* inhibe a *Fusarium* (Katznelson, 1965).

De los agentes anteriores, se considera que las bacterias tienen una mayor posibilidad dentro del control biológico, por su alta capacidad de reproducción y su marcada agresividad para colonizar a las raíces, además de que muchas razas de estas bacterias promueven el desarrollo de las plantas.

Selección, Formulación e Inconsistencia de los Agentes de Control Biológico.

La selección y formulación del candidato como

agente de control biológico, es un factor importante, ya que debe de establecerse durante un gran período sobre el material colonizado y adaptarse a muchos factores edáficos incluyendo temperatura, humedad, pH, contenido de arcilla y otros factores ambientales como desechos de plaguicidas además, considerar la dosis del candidato a emplear (Weller,1988). De los organismos más fácilmente formulables estan las bacterias que producen endosporas (Weller,1988); una de estas es la bacteria *Bacillus subtilis*, lo cual se ha desarrollado y comercializado como un inoculante comercial para tratamiento a semillas de cacahuete, y se ha observado incrementos en el rendimiento (Juhnke,et al, 1987). Debido a que *Bacillus subtilis* posee un amplio espectro de control ya sea por sustancias antibióticas secretadas ó por la competencia física por factores comunes con patógenos (cuadro 1). Aunque los problemas de formulación con las bacterias gram-negativas, son parecidos a los de *Rhizobium* debido al calor y resequedad se han hecho intentos por formularlos, así se ha formulado a *P. fluorescens* como una turba granular.

Para que un agente de control biológico que se introduzca a la rizósfera sea efectivo debe poseer competencia en la misma, lo cual involucra enlace, distribución, crecimiento, desarrollo y sobrevivencia en la rizósfera. Algunas cualidades que pueden ser importantes en los microorganismos de control biológico son: superficie de polisácaridos, fimbrias, flagelos, quimiotaxis, tolerancia osmótica y habilidad para utilizar carbohidratos complejos

Cuadro 1. Reportes de control biológico de enfermedades de las plantas con *Bacillus subtilis* (Pusey, 1989).

Planta	Patógeno
Manzano	<i>Nectria galligena</i> Bres. <i>Phytophthora cactorum</i> Leb.
Clavel	<i>Fusarium oxysporum</i> Schlecht
Cerezo	<i>Alternaria alternata</i> (Fr) Keissler. <i>Monilinia fructicola</i> (Wint) Honey
Cítricos	<i>Alternaria citri</i> Ellis & Pierce
Maíz	<i>Fusarium roseum</i> (LK) emed. Snyder & Hans
Algodón	<i>Fusarium oxysporum</i> Schlecht
Cebolla	<i>Sclerotium cepivorum</i> Berk
Frutos de hueso	<i>Monilinia fructicula</i> (Wint) Honey
Papa	<i>Macrophomina phaseolina</i> (Tassi) Goid <i>Botryodiplodia solani-tuberosi</i> Thri & O'Er.
Frijol	<i>Uromyces appendiculatus</i> Pers ex Pers Ung.
Soya	<i>Phomopsis</i> sp. Sacc <i>Rhizoctonia solani</i> Kun
Remolacha	<i>Rhizoctonia</i> spp. DC.

(Weller, 1988).

Los polisacáridos presentes en la superficie de las células de las bacterias se requieren para el establecimiento de algunas asociaciones planta-bacteria; así, se ha considerado que *Rhizobium* se enlaza y reconoce a su hospedero por la unión de los polisacáridos superficiales de las materias a las lectinas de las plantas (Etzler, 1985).

Desafortunadamente una característica común a muchos sistemas de control biológico con la introducción de microorganismos es la inconsistencia en el control de las enfermedades, una multitud de factores pueden ser responsables de esta inconsistencia del control biológico, dando interacciones complejas entre hospederas, patógenos antagonistas y medio ambiente. Las posibilidades de esta inconsistencia pueden ser: (1) pérdida de competencia ecológica y (2) colonización variable en la raíz por los microorganismos (Weller, 1988).

Mecanismos de Control Biológico.

Mecanismos de antagonismo.

En 1960 se suscribió el uso del término antagonismo para todas aquellas interacciones en la cual al menos una de las especies interactuantes es dañada.

Los mecanismos de supresión del patógeno por un agente de control biológico son competiciones por sustrato, exclusión, antibiosis y explotación (que incluye parasitismo y predación), sideróforos y resistencia

inducida.

En la competición por nutrientes proporcionados por los exudados de raíces y semillas probablemente ocurren muchas interacciones entre microorganismos patógenos y no patógenos (Weller, 1988); en concreto, es cualquier interacción entre dos o más poblaciones de especies las cuales afectan su desarrollo y sobrevivencia. Los microorganismos benéficos especialmente actinomicetos se incrementan principalmente con el uso de aditamentos orgánicos y compiten por la raíz (Sun y Huang, 1985).

Antibiosis: se considera como antagonismo mediado por metabolitos específicos y no específicos de origen microbiano, por agentes líticos, enzimas, compuestos volátiles u otras sustancias tóxicas (Fravel, 1988). Puede considerarse como la relación en la cual una especie A produce una sustancia enemiga a la especie B, sin que la especie A derive cualquier beneficio directo. Es pues considerado como uno de los mecanismos más importantes.

Tschen y Kuo (1985) y Tschen (1987) encontraron que un filtrado de *B. subtilis* inhibió el desarrollo de *R. solani*, caracterizando las sustancias como un complejo de bacilinas y fengomicinas. También Baker et al. (1983) reportaron que un filtrado del cultivo de *B. subtilis*, analizado como un compuesto con 5 por ciento de carbohidratos y 95 por ciento de proteínas, redujo un 95 por ciento la infección de pústulas de *Uromyces phaseoli* en frijol. Por otra parte *Pseudomonas spp.* exhibió antibiosis en media de King B contra 10 o más de 40 aislamiento de

bacterias de la rizósfera e incrementaron de 300 a 5000 por ciento el total en peso en plantas de papa desarrolladas en invernadero con suelo de campo.

La explotación, ocurre en nemátodos, como lo menciona Stirling y Wachtel (1980) en donde una preparación de *B. penetrans* incorporada al suelo a una cantidad de 100 mg/ kg, en 24 hr. el 99 por ciento de juveniles de *Meloidogyne* fueron parasitadas. También se han encontrado parásitos de hongos como *Coniothyrium minitans* un micoparásito especializado que se ha usado sucesivamente en pruebas de campo contra *Sclerotinia* spp. *Trichoderma* spp. contra *S. rolfsii* y *B. subtilis* se ha usado contra *Sclerotium cepivorum* (Baker, 1987).

Se encontró que una raza de *Alcaligenes* spp. llamada MFA1 aislada de raíces de clavel de suelos supresivos a *Fusarium* cultivada en medio con bajo contenido de hierro produjo un sideróforo que inhibió la germinación de microconidios y el desarrollo de tubos germinativos de *F. oxysporum* f sp. *dianthi* (Yuen y Schroth, 1986).

La resistencia inducida: ésta se basa en la utilización de razas avirulentas o incompatibles para inducción de resistencia al momento que haya infección por un patógeno. De esta forma se encontró que el grupo de bacterias Pseudomonales fluorescentes y aislamiento no patogénicos de *F. oxysporum* indujeron supresividad al marchitamiento de pepino causado por *Fusarium*; esto cuando se adicionaron al suelo conjuntamente a pH de 6.7 y fueron infectivos cuando se aplicaron separadamente (Park, et al.,

1988).

Estrategias para el Uso de Antagonistas.

Cook (1985) menciona que el aprovechamiento biológico para mejorar la salud de las plantas puede dividirse en tres amplias categorías: (1) control biológico de inóculo del patógeno, (2) protección biológica de las superficies de las plantas y (3) control biológico a través de resistencia inducida o protección cruzada. Estas categorías son una lógica secuencia de control biológico con antagonistas.

MATERIALES Y METODOS.

Descripción del Area de Estudio.

El presente trabajo se llevó a cabo en el ciclo agrícola de invierno 89-90, en el Potrero el Chanal, localizado cerca de la Cd. de Casimiro Castillo, Jal. en la región Costa de Jalisco.

La ubicación geográfica de la localidad es al Suroeste del Estado, de Jal. a 225 km. de la capital del mismo; sus coordenadas geográficas son: $19^{\circ} 35'$ latitud Norte y $104^{\circ} 32'$ longitud Oeste, con una altura de 456 m. sobre el nivel de mar.

El clima de la localidad se clasifica como húmedo, con invierno y primavera secos y cálidos, sin una estación invernal definida. Su temperatura media es de 22°C con una máxima de 40°C y una mínima de 7°C ; la precipitación media anual es de 1566.7 mm, la cual se distribuye principalmente en los meses de mayo a octubre, siendo el régimen mayor de julio a agosto; vientos dominantes con dirección norte, y la presencia de heladas es nula durante todo el año.

La composición del suelo corresponde al tipo limo-arenoso. En esta área se cultivan diferentes especies de hortalizas entre las que destacan sandía, melón, chile, calabaza, pepino, algunos frutales como mango, así como también maíz, sorgo, frijol y otros. La vegetación

silvestre consta de pino, encino, parota, cedro, huizache, huizpantes, etc.

Procedimiento experimental.

Inoculación de semilla de sandía con *B. subtilis*

La inoculación de la semilla de sandía se llevó a cabo de la siguiente manera:

En un frasco de vidrio de un litro, limpio y seco se depositaron 50 gramos de semilla de sandía de cualquiera de las variedades usadas, agregándose la mitad de la dosis de inóculo de *B. subtilis*. se agitó con la finalidad de mezclarlos uniformemente. Posteriormente se agregó la mitad faltante de semilla (50 g) y la mitad restante del inóculo de la bacteria. Esto se realizó de igual manera para las dos variedades de sandía Jubilee W.R. y All-Sweet, como se muestra en el cuadro 2.

La inoculación de la bacteria a la semilla se realizó en seco, adicionando las diferentes dosis de la bacteria en forma de esporas.*

Siembra de la semilla inoculada con *B. subtilis*.

Preparación del terreno.

El establecimiento del trabajo se llevó cabo en un terreno altamente infestado de manera natural en el campo con el hongo *Fusarium oxysporum f sp. niveum*. Este hongo es el responsable del marchitamiento y agrietamiento de las guías en plantas de sandía. El terreno se preparó con un

* "QUANTUM 4000 HB" GUSTAFSON INC. CO.

barbecho profundo (20-30 cm), dos rastreos y un subsoleo, realizando los surcos a una profundidad de 15 cm.

Cuadro 2. Cantidad de inóculo de *B. subtilis* por cada 100 g de semilla de sandía de 2 variedades sembradas en un lote infestado por *F. oxysporum f sp niveum*.

Variedad	Tratamiento	gs. de Semilla
All-Sweet	0.0 (testigo)	100
	4.0 X 10 ⁹ Bacterias	100
	8.0 X 10 ⁹ Bacterias	100
	1.2 X 10 ¹⁰ Bacterias	100
	1.6 X 10 ¹⁰ Bacterias	100
Jubilee W.R.	0.0 (testigo)	100
	4.0 X 10 ⁹ Bacterias	100
	8.0 X 10 ⁹ Bacterias	100
	1.2 X 10 ¹⁰ Bacterias	100
	1.6 X 10 ¹⁰ Bacterias	100

Siembra de la semilla inoculada con *B.subtilis* y manejo del experimento.

La siembra se realizó en el ciclo 89-90, específicamente el día 25 de Noviembre de 1989. Esta se llevó a cabo depositando 3 semillas por golpe a cada metro, sembrándose a ambos lados del surco (doble hilera), 10 golpes por hilera dando un total de 60 semillas sembradas por repetición (1 surco doble). El manejo de las prácticas culturales fueron similar a las comúnmente usadas por los productores de la región dichas prácticas se realizaron directamente por el productor.

Diseño experimental.

Se optó por utilizar un diseño de bloque al azar para el establecimiento de campo.

El diseño incluyó 10 tratamientos (cuadro 2) cada uno con 3 repeticiones y la unidad experimental se constituyó por un surco doble con 60 semillas sembradas (3 a cada metro). De acuerdo al diseño empleado este se condujo en arreglo factorial 2 X 5 con 3 repeticiones.

Para el análisis de producción se uso el modelo Logístico de acuerdo a Madden (1980) el cual es como sigue:

$$y = \frac{1}{1 + e^{- (\ln (y_0 / (1-y_0)) + rd)}}$$

Donde:

y = Valor de la producción esperada en kg.

y_0 = Valor de la producción a la dosis cero.

r = Tasa de incremento de la producción.

d = Dosis de inóculo.

VARIABLES CONSIDERADAS.

Las variables cuantificadas para evaluar el efecto de los tratamientos contra el patógeno fueron las siguientes:

- Porcentaje de protección y marchitamiento de las plantas de sandía.
- Producción, para exportación y nacional (la calidad de exportación se consideró como fruta de 4.5 kg o más y sin defectos físicos y nacional se consideró a fruta de más de 3.5 kg. y con pequeños defectos físicos).
- Número de frutos para exportación y nacional.

ANÁLISIS ECONÓMICO.

Se realizó considerando los costos por concepto del inoculante, el cual es de 32.44 dls. (se usó esta moneda debido a que es la que menos fluctúa) por libra; comparado con uno de los fungicidas más usados en la región para combatir esta enfermedad, como el Tiabendazole* que tiene un costo de 42.00 dls. por kg. Se determinó el costo por el inoculante por ha comparado con el costo por ha del fungicida (tecto 60). La producción por ha se calculó sumando la producción de tres repeticiones (que dan un total de 30 m lineales a doble hilera) multiplicado por 100 y dividido entre 30, esto para sacar la producción por cada 100 m., luego se multiplica por 20 (número surcos/ha).

* TECTO 60 MERCK & SHARP CO.

RESULTADOS.

Porciento de marchitamiento de sandía.

EL analisis de varianza (Cuadro 3) para el porciento de marchitamiento nos indica que no existe diferencia significativa para la interacción entre el factor dosis de *B. subtilis*. y el factor variedad de sandía. pero es altamente significativo para los dos factores por separados, lo cual significa que los dos factores en estudio(dosis-variedad) actúan en forma independiente; y por lo tanto el mejor tratamiento para la reducción del marchitamiento de la sandía causado por *F. oxysporum f sp. niveum* es la combinación de los dos mejores factores estudiados. El porciento de marchitamiento y protección de las variedades de sandía Jubilee W.R y All-Sweet al daño causado por *F. oxysporum f sp. niveum* indica que porcentajes más bajos de protección contra el daño causado por este patógeno corresponden a la dosis de 0.0 inóculo (testigo) de *B. subtilis* en ambas variedades, con un 22.91 y 16.78 por ciento para la variedad Jubilee W.R. y All-Sweet respectivamente, mientras que los porcentajes más altos de protección contra este patógeno corresponden a la dosis de 1.6×10^{10} bac/100g s con un 74.62 por ciento para la variedad Jubilee W.R. y 64.52 por ciento para la variedad All-Sweet (Cuadro 4). De acuerdo a la

Cuadro 3. Cuadrados medios y su significancia de las variables % de marchitamiento, número y peso de fruta de exportación y nacional en dos variedades sandía.

F.V	g.l.	% de march.	P.total fr.Exportación	No.total de fr.Export.
Bloque	2	59.7187NS	34.9763NS	0.1137NS
Dosis	4	1045.7421**	725.6210**	2.1228**
Variedad	1	151.5625**	36.5025NS	0.0360NS
Dos-Var	4	15.8359NS	3.5012NS	0.00306NS
Error	18	17.9483	14.6728	0.071006
C. V. =		8.918%	22.670%	14.4244%

F.V	g.l	P. Total de Fr. Nacional	No. total de Fr. Nacional
Bloque	2	3.6960NS	0.0152NS
Dosis	4	419.3103**	1.9272*
Variedad	1	9.7470NS	0.0644NS
Dos-Var	4	3.0552NS	0.0193NS
Error	18	6.8926	0.0510
C. V. =		21.537%	12.921%

Cuadro 4. Porcentaje de protección de plantas de sandía de 2 variedades y promedio de marchitamiento a los 90 días después de la siembra en 5 tratamientos con *B. subtilis* inoculado en semilla, en un lote infestado con *F. oxysporum f. sp. niveum* (C. Castillo, ciclo 89-90).

Tratamiento	% de Protección		Promedio de Marchitamiento
	Jubilee WR	All-Sweet	
0.0 (testigo)	22.91	16.78	64.19A*
4.0X10 ⁹ b/100 g.s	40.15	29.12	54.13 B
8.0X10 ⁹ b/100 g.s	39.54	40.28	51.04 B
1.2X10 ¹⁰ b/100 g.s	72.94	61.85	34.77 C
1.6X10 ¹⁰ b/100 g.s	74.62	64.52	33.36 C
Prom. de March. variedad	45.25B	49.75A	

* Tratamientos con la misma letra no difieren estadísticamente. Tukey (P<0.05).

significancia estadística de las medias de los tratamientos en la prueba de Tukey (Cuadro 4) se observa que las mejores dosis de *B. subtilis* en la reducción de la enfermedad son, 1.2×10^{10} y 1.6×10^{10} bac/100g s, ya que no existe diferencia significativa entre ellas y la variedad que mejor respondió fue Jubilee W.R. (Cuadro 4). De acuerdo a lo anterior el mejor tratamiento es la combinación de la variedad Jubilee W.R. con cualquiera de las dosis de 1.2×10^{10} ó 1.6×10^{10} bac/100gs. El porcentaje de marchitamiento de plantas de sandía en función del tiempo, muestra que la enfermedad se incrementa en todos los tratamientos a través del tiempo (fig 1), pero de manera diferente; lo cual sugiere que la velocidad de incremento de la enfermedad es diferente en los tratamientos. Como se observa los diferentes tratamientos comienzan con una enfermedad inicial similar; pero de acuerdo a los valores de las pendientes de los tratamientos ($b = 7.69$ para el testigo y $b = 3.08$ para la dosis de 1.6×10^{10} bac/100 g s en la variedad Jubilee W.R) indica que la enfermedad inicial es retrasada y las infecciones secundarias son protegidas con el uso de *B. subtilis*; de igual manera sucede en la variedad All-Sweet, donde el valor de la pendiente del testigo es $b = 8.39$ y $b = 4.48$ para la dosis de 1.6×10^{10} bac/100 g s. De acuerdo al análisis de varianza (Cuadro 3) y prueba de medias (Cuadro 4); se sugiere que la variedad All-Sweet, el mejor tratamiento es combinarla con la dosis de 1.2 y 1.6×10^{10} bac/100gs.

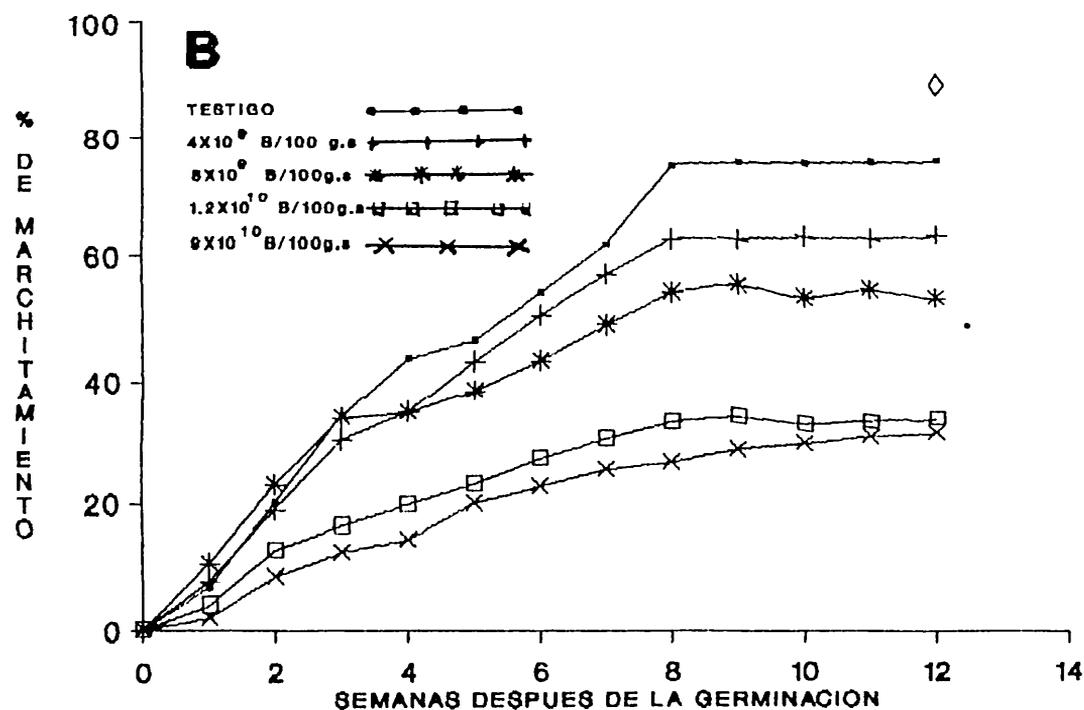
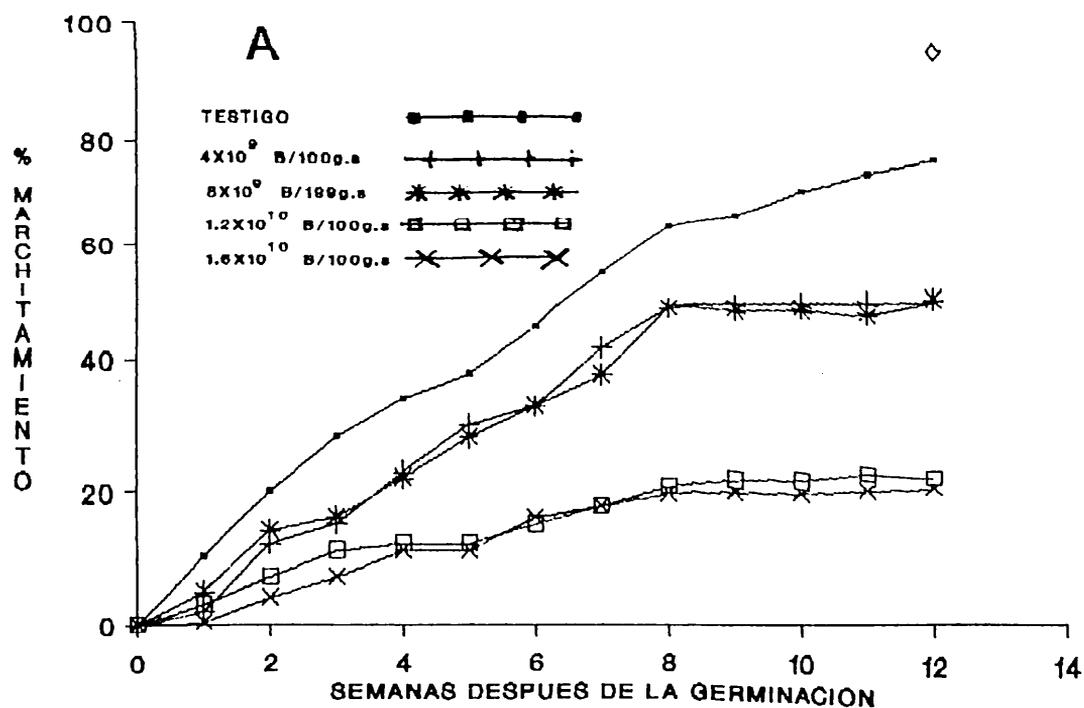


Fig 1. Porcentaje de marchitamiento de sandía 12 semanas después de la germinación, a diferentes dosis de *B. subtilis* A) Jubilee W.R y B) All-Sweet

Producción de Sandía.

Para esta variable solamente se detectó significancia estadística para el factor dosis (cuadro 4), lo que indica que las variedades tuvieron un rendimiento similar. El rendimiento en ambas variedades presentó una tendencia a incrementarse en relación al aumento de las dosis de inóculo de *B subtilis*.

La tendencia logística del rendimiento con calidad de exportación con respecto a la dosis en ambas variedades es muy similar (fig.2); sin embargo en la variedad Jubilee W.R., se observa un incremento muy marcado en la curva logística a partir de las dosis de 4.0×10^9 bac/100 g s (fig 2) hasta aproximadamente la dosis intermedia de 8.0×10^9 y 1.2×10^{10} bac/100 g.s., punto en el cual la curva se empieza a inclinar, pero la estabilización de la curva parece iniciarse en el punto medio de las dosis 1.2×10^{10} y 1.6×10^{10} bac/100 g.s. Lo que significa que este punto puede ser la dosis óptima para obtener el mayor rendimiento.

Mientras que en la variedad All-Sweet, el incremento del rendimiento respecto a la dosis (fig 2), es muy similar a la variedad Jubilee W.R., pero la estabilización de la curva parece iniciar después del punto intermedio entre las dosis más altas, considerándose a este punto como el más óptimo para incrementar el rendimiento con calidad de exportación.

El análisis de varianza (Cuadro 3) para esta variable detectó significancia estadística, solo para el

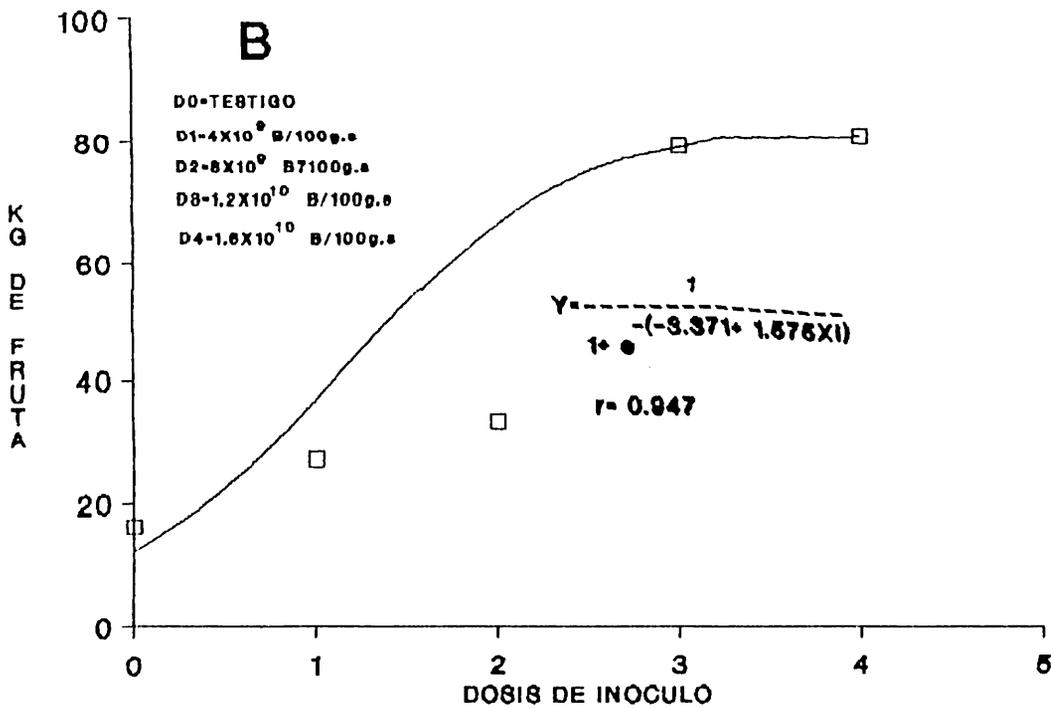
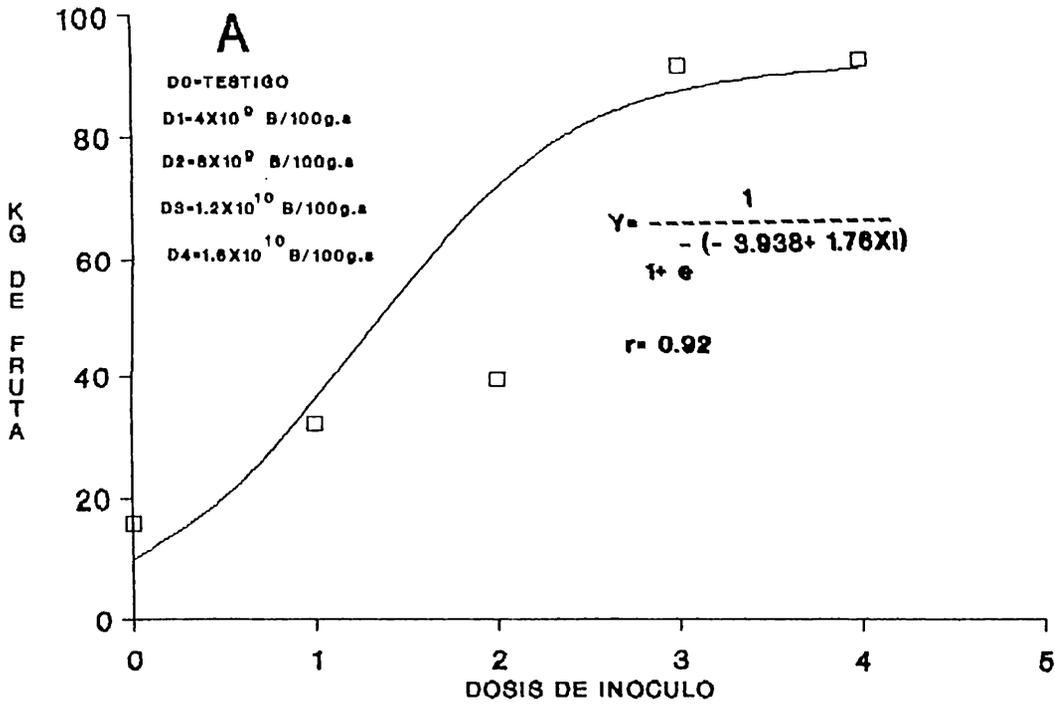


Fig. 2. Producción de sandía calidad de exportación a diferentes dosis de *B. subtilis* A) Jubilee W.R y B) All-Sweet.

factor dosis, concluyendo al igual que para exportación, que las variedades no tienen un efecto marcado sobre el rendimiento.

El rendimiento de sandía calidad nacional a diferentes dosis de inóculo de *B. subtilis* se muestra en la curva logística la cual es un tanto diferente, en las dos variedades (fig 3), ya que por un lado en la variedad Jubilee W.R la velocidad de incremento es de $b=1.59$ y para la variedad All-Sweet es de $b=1.616$; el aumento de rendimiento en la variedad Jubilee W.R. de la dosis de 0.0 (testigo) a la dosis de 4.0×10^{10} bac/100g s es más notorio que en la variedad All-Sweet, ya que en esta última la curva es más asintótica. El incremento del rendimiento en la variedad Jubilee W.R. es casi continua hasta el punto intermedio de las dosis de inóculo de 8.0×10^9 y 1.2×10^{10} bac/100g s (fig 3), mientras que en la variedad All-Sweet, el incremento es continuo casi hasta la dosis de 1.2×10^{10} bac/100g s, a partir del cual comienza a inclinarse la curva (fig 3). El punto óptimo de la dosis con respecto al rendimiento en la variedad Jubilee W.R parece estar después del punto medio de las dosis más altas (fig 3); mientras que en la variedad All-Sweet, la mejor dosis parece ser de 1.6×10^{10} bac/100 g s (fig 3).

Los resultados de la variable número de frutos calidad de exportación se muestran en las figuras 4a y 4b, aquí se puede observar que las curvas logísticas para las dos variedades utilizadas en este estudio son similares, lo cual se deduce al comparar las pendientes de

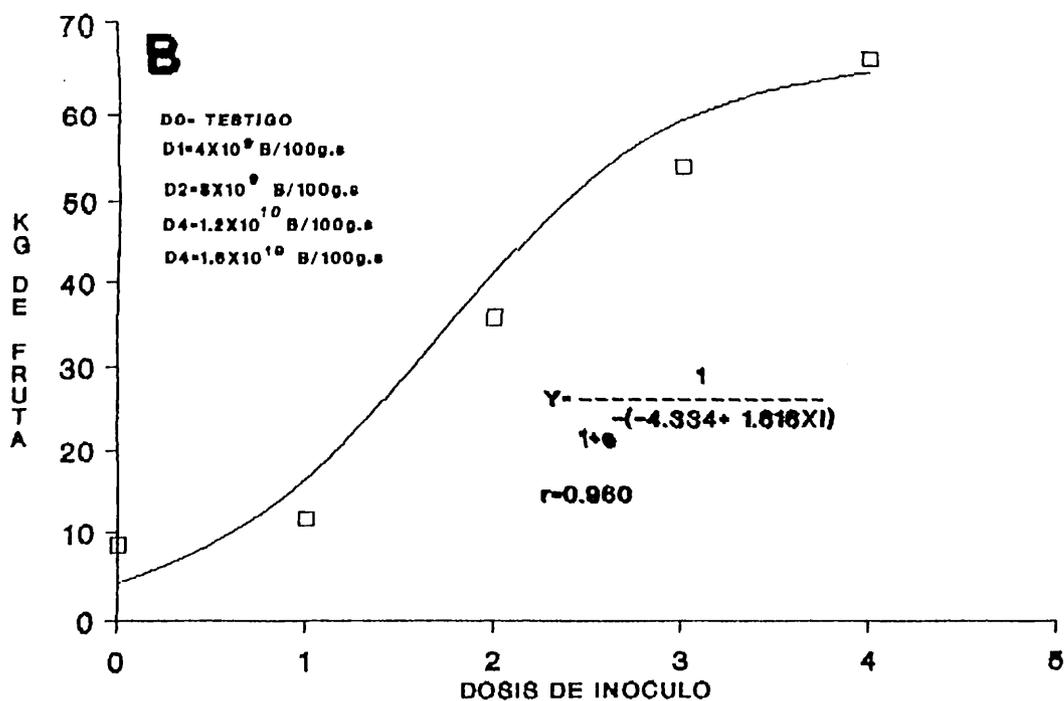
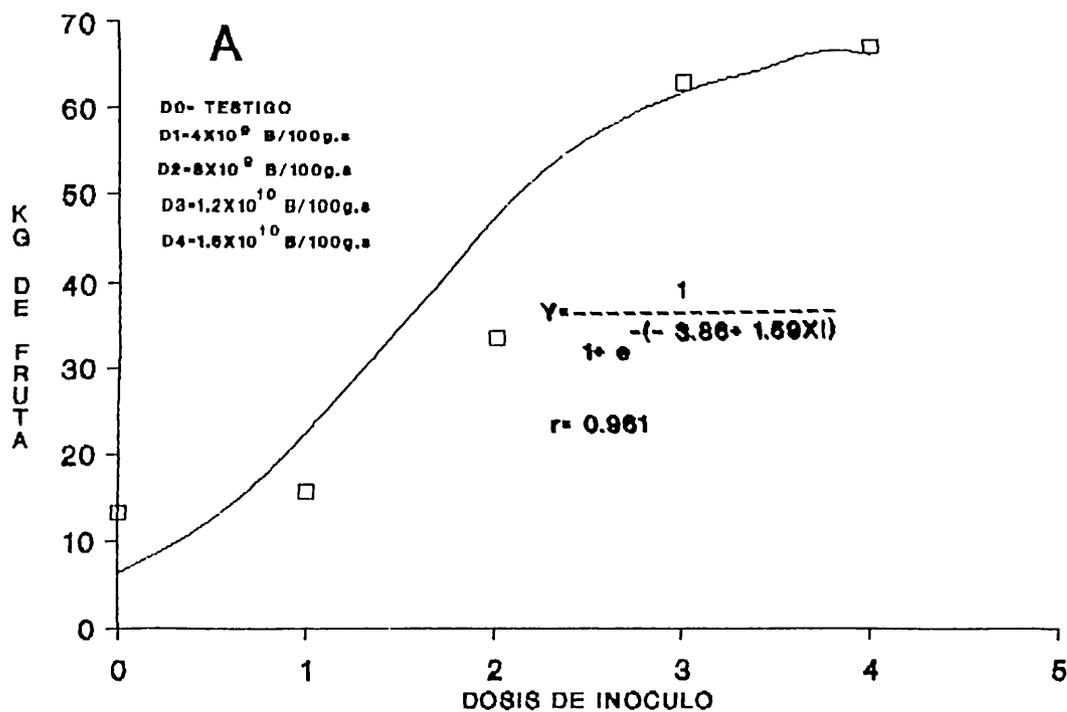


Fig. 3. Producción de sandía calidad nacional a diferentes dosis de *B. subtilis*.
 A) Jubilee W.R y B) All-Sweet.

las mismas; esto también se marca en el análisis de varianza en donde se observa que no existe diferencia significativa para las variedades (cuadro 3). La curva logística para la variedad Jubilee W.R. muestra el incremento de aproximadamente 16 frutos por cada 30 m lineales sembrados a doble hilera comparando a la dosis más alta contra el testigo (fig 4); mientras que en la variedad All-Sweet se observa un incremento de 15 frutos por cada 30 m lineales sembrados a doble hilera al comparar estas mismas dosis (fig 4).

El análisis de varianza mostró significancia para esta variable solamente en el factor dosis, lo que indica que el factor interacción dosis-variedad y variedad no tienen un efecto marcado sobre el número de frutos con calidad nacional (cuadro 3). Las curvas logísticas de las dos variedades muestran pendientes muy similares, significa que la respuesta del rendimiento con respecto a la dosis de inóculo dependen más de la dosis aplicada que de la variedad, lo cual se comprueba con la significancia para variedad en el análisis de varianza (Cuadro 3), las curvas logísticas (fig 5) muestran que el rendimiento se incrementa conforme aumenta la dosis de inóculo.

Análisis económico.

Según la cantidad requerida de semilla por ha, que es de 1 a 2 libras dependiendo de la variedad, se necesita 4.5 gramos de inoculante ó 9.0 g según la variedad, lo cual da un costo por ha 1.07 dlls ó 2.14 dlls respectivamente;

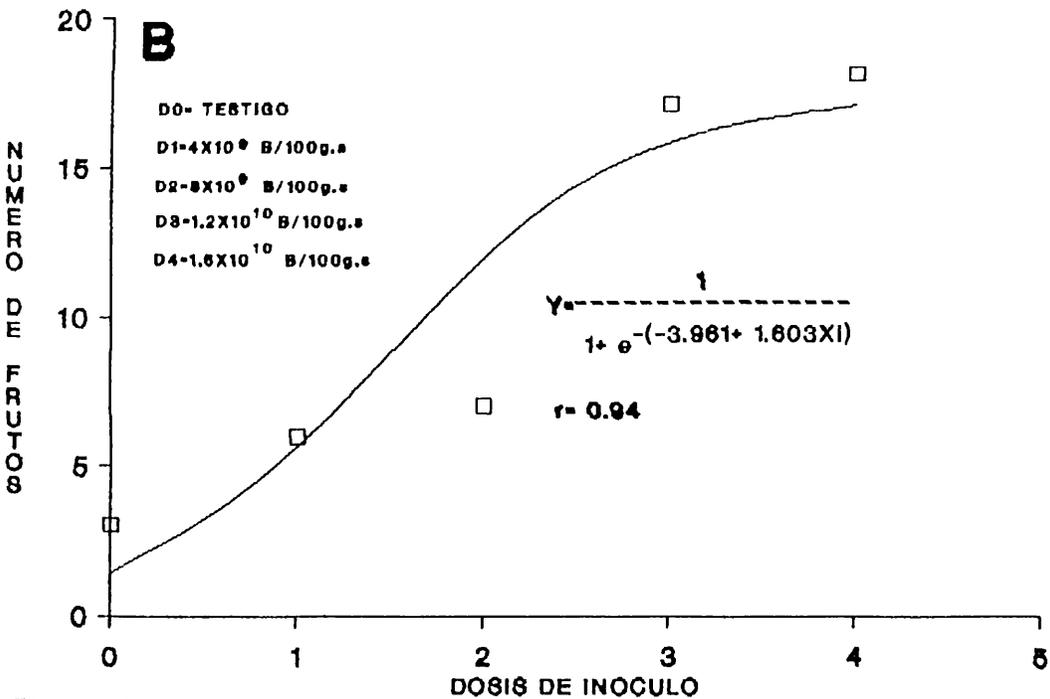
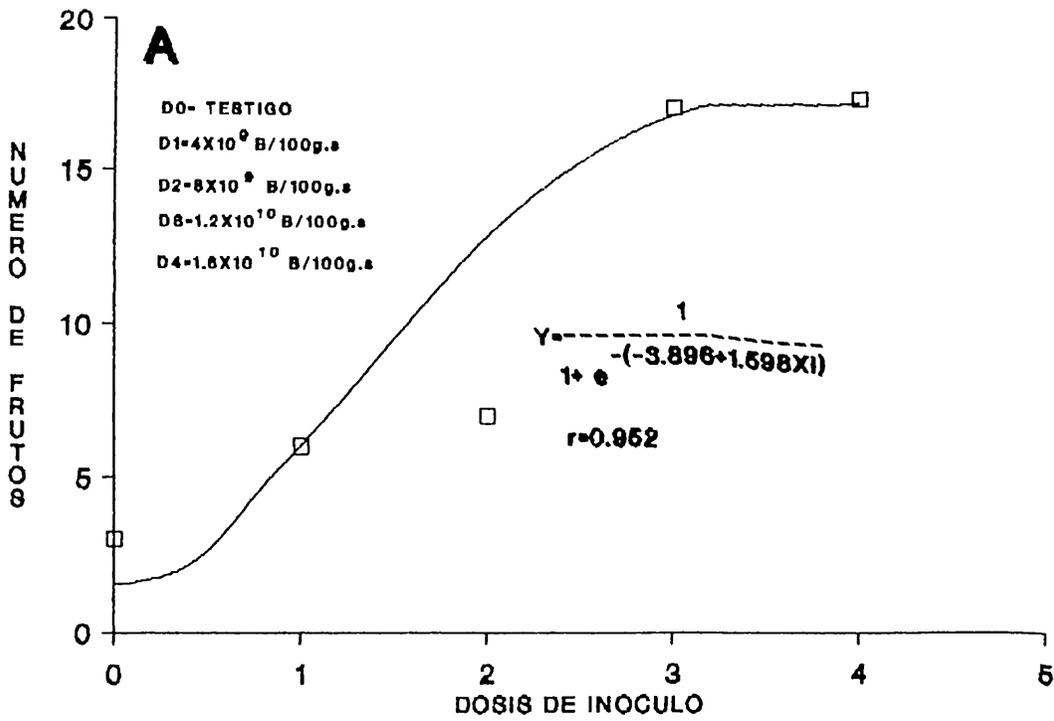


Fig. 4. Número de frutos de sandía con calidad exportación a diferentes dosis de *B. subtilis*. A) Jubilee W.R. y B) All-Sweet.

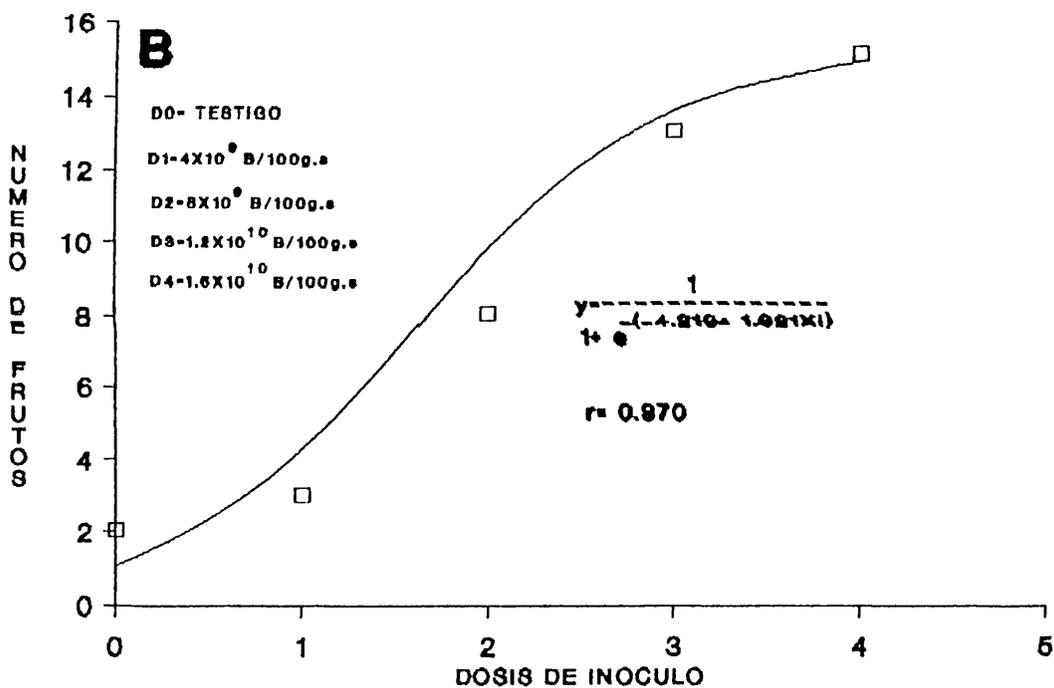
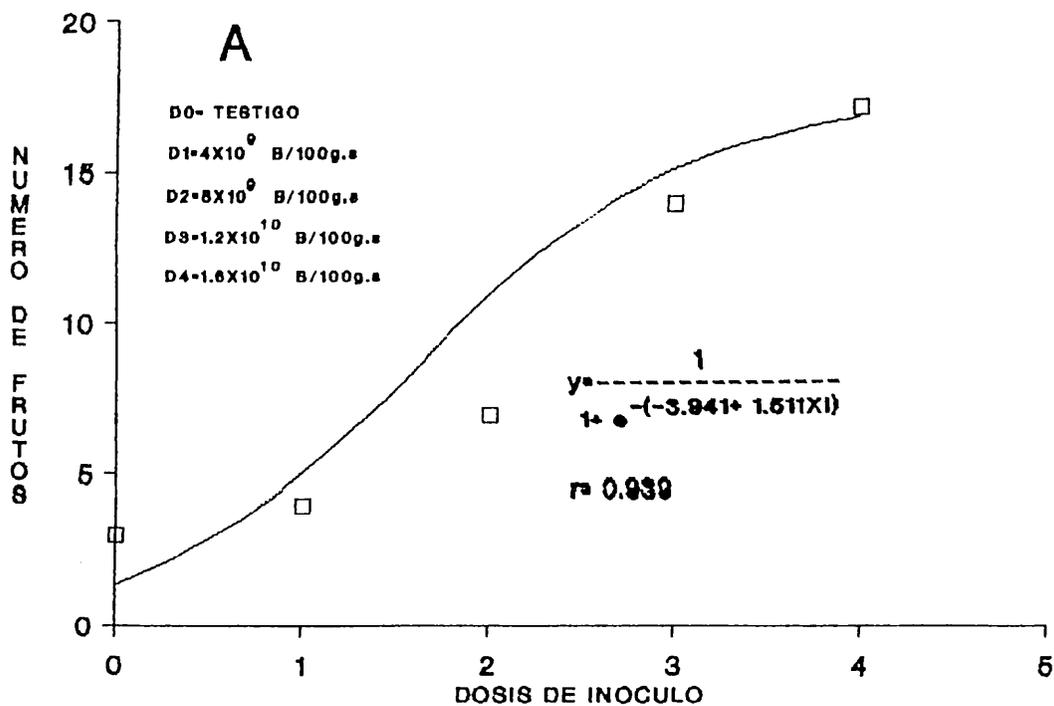


Fig. 5. Número de frutos de sandía con calidad nacional a diferentes dosis de *B.subtilis*. A) Jubilee W.R. y B) All-Sweet.

mientras que para el Tiabendazole la dosis es de 1 kg/ha dando un costo de 42.00 dls. como se observa existe una marcada diferencia económica.

DISCUSION.

Porciento de Marchitamiento de Sandía.

De los resultados obtenidos, se puede observar que las dosis de inóculo de *B. subtilis* 1.2×10^{10} bac/100gr fueron las que más redujeron el porciento de marchitamiento causado por *F.oxysporum f sp. niveum* en ambas variedades (Jubilee W.R. y All-Sweet). Esta reducción del marchitamiento pudo producirse por competición por nutrientes, espacio, parasitismo directo y posiblemente inducción de la resistencia (Baker, 1987) por *B. subtilis*, además de la producción de sustancias antibióticas que son liberadas por *B. subtilis* (Filippi, et al., 1984; Filippi, et al. 1985; Tschen y Kuo, 1985 ; Tschen, 1987 y Pusey, 1989). Estos antibióticos se han identificado como péptidos antifungosos pertenecientes a la familia de las Iturinas (Guedner et al. 1988). Sin embargo a la fecha no hay un solo estudio a nivel de campo donde se determine cual de los diferentes mecanismos antagónicos es el de mayor significado en la protección contra las enfermedades de la raíz. Por ejemplo se ha determinado que *B.subtilis* produjo un antibiótico inhibidor al desarrollo miceliano de *Phytophthora cactorum* sobre harina-maíz-agar, pero no se encontró evidencias de que el antibiótico estuviera envuelto en la protección de plántulas atacadas por *P.*

cactorum (Utkhede, 1984). Resultados similares encontró Díaz (1990) donde determinó que a nivel de laboratorio *B. subtilis* que inhibe a *F. oxysporum f sp. niveum*, pero en condiciones de invernadero los resultados fueron variables. Aunque muchas investigaciones destacan que el principal efecto antagónico de *B. subtilis* sobre fitopatógenos de suelo es debido a la liberación de antibióticos más que a la presencia física por espacio ya que *B. subtilis* posee una actividad antibiótica contra un gran número de hongos y bacterias (Rodgers, 1989). Estas sustancias antibióticas liberadas por *B. subtilis* pueden ser capaces de difundirse a través del suelo, como lo demostró Tschén (1987). Sin embargo no se determinó el mecanismo antagónico que redujo la incidencia de la enfermedad. Muchas investigaciones sugieren que los mecanismos de antagonismos más importante son la producción antibióticos y competencia, tanto de nutrientes, como por espacio. La aplicación de fertilizantes a base de nitrógeno y fertilizantes a base de fósforo, bien pudieran contribuir a que *B. subtilis* produjera una mayor cantidad de antibiótico. Gupta y Utkhede (1987) mencionaron que *B. subtilis* produce altas concentraciones de sustancias antibióticas cuando el medio se suplementa con 200 g/lt de N y 800 mg/lt de P, en forma de nitrato de calcio y fosfato de potasio ó calcio respectivamente. En el campo donde se desarrollo este trabajo se aplicaron estas fuentes de nitrógeno y fósforo, aunque probablemente no en la misma proporción que en el medio usado por Gupta y Utkhede (1987).

La aplicación de bacterias a la semilla retrasó por 6 semanas el desarrollo de la enfermedad en las dosis más altas comparadas con el testigo, lo cual indica que el efecto protector de *B. subtilis* se reduce paulatinamente después de 6 a 8 semanas. La cantidad de inóculo de *B. subtilis* es importante en la colonización de la raíz, ya que si algunas quedan desprotegidas de *B. subtilis* por ahí puede penetrar el patógeno. Esto probablemente suceda en las raíces más viejas ya que son menos ricas en compuestos orgánicos necesarios para el desarrollo de la bacteria. Filippi et al. (1987) demostraron algo similar a lo anterior, al inocular *B. subtilis* en raíces de clavel al momento del transplante contra *F. oxysporum f sp. dianthi*, y mediante observaciones histológicas, determinaron que la colonización de *B. subtilis* fué 100 por ciento en la base de las raíces nuevas, concluyendo que cuando la colonización decrece un 20-30 por ciento la enfermedad inicia, mencionaron además que un 80 por ciento o más raíces colonizadas son efectivas en la protección y abajo de este nivel no existe diferencia entre tratamientos y testigos. Algo similar pudo ocurrir en este estudio, ya que la población de *B. subtilis* pudo verse mermada por diversos factores, sin embargo las dosis más altas pudieron compensar esta baja de bacterias. Cabe aclarar que en este estudio se aplicaron grandes cantidades de plaguicidas, los cuales pueden ser considerados como factores adversos a la colonización.

El grado de control biológico determinado en este

estudio es significativo ya que se redujo la enfermedad a un nivel aceptable para el productor. A pesar de que *B. subtilis* fué introducido probablemente produjo las mismas sustancias antibióticas que en lugar de obtención de la cepa. ya que algunas cepas pertenecientes a la misma taxa pero en diferente lugar producen compuestos antifungosos similares (Lievens, et al. 1989).

El control biológico es una alternativa que puede combinarse con otras practicas culturales. Esto cobra gran importancia si se considera que los fungicidas constituyen el 60 por ciento de los compuestos oncogénicos de peligro (Wilson y Wisniewsk, 1989).

Producción de sandía.

La pendiente dosis-rendimiento mostraron similitud entre las dos variedades. Aunque el análisis de varianza no detectó diferencia estadística para la dosis con respecto al rendimiento existe un notable incremento de la dosis de 4.0×10^9 hasta aproximadamente 1.2×10^{10} bac/100 g s en las dos variedades.

A pesar de que no se determinó si el incremento en el rendimiento se debe a la protección contra el marchitamiento ó al mejor desarrollo inducido por la colonización de la raíz por *B. subtilis* muy probablemente se deba a ambos factores, aunque posiblemente más a la protección que a la inducción de la producción. Sin embargo otros estudios han determinado que *B. subtilis* incrementa la producción de trigo un 30 por ciento con respecto al

testigo, y la magnitud de esas diferencias se debe al control biológico y a la estimulación del desarrollo (Merriman, et al. 1974a). También *B. subtilis* incrementó un 48 por ciento el rendimiento de zanahoria comparado con los testigos (Merriman, et al. 1974b) y promueve el desarrollo de algunas plantas por la acción de sustancias liberadas parecidas a las giberelinas (Merriman, et al. 1975)

De acuerdo a las evidencias de nuestros resultados y a la relación que existe entre marchitamiento y producción en este estudio, puede decirse que el incremento de la producción se debe a la protección que da *B. subtilis* contra el patógeno del marchitamiento de la sandía.

En las curvas de producción, puede considerarse a los puntos donde se tiende a la estabilización como los más óptimos de inóculo con respecto a rendimiento. Como se mencionó en resultados.

El incremento en el número de frutos en este trabajo se debe prácticamente a la protección de la bacteria contra el patógeno del marchitamiento, como se discutió anteriormente. Al protegerse un mayor número de plantas de la enfermedad se tuvo una mayor cantidad de las mismas por superficie, que repercutió en un mayor número de frutos.

Análisis Económico.

El análisis económico mostró una enorme diferencia entre el costo del inoculante y el costo del fungicida aplicados/ha, además el inoculante dió una protección

satisfactoria, mientras que no existe, al menos en la región donde se desarrolló el trabajo, un estudio sobre la eficiencia de este fungicida (Tiabendazole) con respecto a la incidencia de la enfermedad. Pero para llegar a recomendar este tipo de control en este cultivo, se necesitan realizar más investigaciones para validarlo. Este trabajo, sin embargo es una pauta que se debe tener muy presente para futuras investigaciones en esta área de estudio.

CONCLUSIONES

1.- El marchitamiento de la sandía causado por *Fusarium oxysporum f sp. niveum* se redujo con la aplicación de *B. subtilis*, dando una protección contra este patógeno de 74.62 por ciento para la variedad Jubilee W.R, y 64.52 por ciento para la variedad All-Sweet, con la dosis de 1.6×10^{10} bac/100g s.

2.- La producción de sandía calidad exportación y nacional, se incrementó con una tendencia logística, de 16.1kg (testigo) en Jubilee W.R. a 91.6 kg (dosis 1.6×10^{10}) y de 19 kg (testigo) a 85 kg para All-Sweet (ambos para exportación); Mientras que se incrementó de 18.9kg (testigo) a 66.5 kg (1.6×10^{10}) en Jubilee W.R. y de 7.5 kg (testigo) a 65.7 (1.6×10^{10}) en All-Sweet (ambos calidad nacional).

3.- El número de frutos se incrementó en ambas variedades en las dos categorías, nacional y exportación.

4.- Se necesita realizar una validación para llegar a recomendar este tipo de control en sandía contra este patógeno, sin embargo estos resultados son prometedores.

RESUMEN

La presente investigación se realizó en el Potrero el Chanal, localizado cerca de C.Castillo Jal., con la finalidad de evaluar el control biológico que ejerce *Bacillus subtilis* sobre el marchitamiento de la sandía causado por *Fusarium oxysporum f sp. niveum*, que es uno de los principales problemas fitosanitarios de la región. El experimento se realizó de noviembre de 1989 a febrero de 1990; en un lote naturalmente infestado por el patógeno. Las variedades usadas fueron Jubilee W.R: y All-Sweet, ambas susceptibles al patógeno. Las semillas de ambas variedades se inocularon con *B. subtilis* a dosis de 0.0, 4.0×10^9 , 8.0×10^9 , 1.2×10^{10} y 1.6×10^{10} bacterias por cada 100 gramos de semilla(g.s). La inoculación se realizó en seco, poniendo 50 g.s en un frasco y agregando la mitad del inóculo, se agitó y luego se agregaron los 50 g.s faltantes y el inóculo restante, se agitó nuevamente para uniformizar la mezcla. se depositaron 3 semillas por golpe a cada metro. Cada tratamiento consistió de 60 semillas sembradas. El diseño experimental fué de bloques al azar con tres repeticiones en arreglo factorial 2 X 5. Los datos se analizaron bajo su diseño correspondientes, pero para producción se usó un modelo logístico. Los resultados obtenidos mostraron que el mejor tratamiento para reducir

la incidencia de la enfermedad es la combinación de la variedad Jubilee W.R. con la dosis de 1.6×10^{10} bac/100 g.s. El rendimiento y número de frutos se incrementaron notablemente conforme aumentaron las dosis de inóculo, en las dos variedades utilizadas en este estudio.

LITERATURA CITADA.

Alexander, M. 1980. Introducción a la microbiología del suelo. AGT. Editor. S.A. Méx. 491 p.

Alexopoulos, J.C and C.W. Mims. 1979. Introductory Micology Third edition. Jonh Willey & Sons. N.York. U.S.A. xviii+ 632 p.

Baker, F.K. 1975. Elucidation and exploitation of naturally occurring biological control. An Introduction. In: Bruehl, G.W. (ed). Biology and control of soil-borne plant pathogens. p. 136 A.P.S. St. Paul Minn. U.S.A.

Baker, C.J., J.R.Stavelly., C.A.Thomas., M.Sasser and J.S. McFall. 1983. Inhibitory effect of *Bacillus subtilis* on *Uromyces phaseoli* and on development of rust pustules on bean leaves. *Phytopathology* 73: 1148-1152. U.S.A.

Baker, F.K. 1987. Evolving concepts of biological control of planta pathogens. *Ann. Rev. Phytopathol.* 25: 67-85. U.S.A.

Barnett, L.H. and B.B. Hunter. 1987. Illustrated genera of imperfect fungi. forth edition. Burges Publishing CO. Minn. U.S.A. 218 p.

Burges, A.1965. The soil microflora-its nature and biology In: Baker, F.K.and W.C.Snyder (Eds). Ecology of soil-borne of plant pathogens. p 21-32. Univ. CA.Press. U.S.A.

Confederación Nacional de Productores de Hortalizas (CNPCH).1989.Programa de siembra de sandía por Estados y Asociaciones. Dpto. de Informática. p 1-12 Méx.

Cook, J.R. 1985. Biological control of plant pathogens: Theory to application. Phytopathology. 75: 25-29. U.S.A.

Crall, J.M. 1986a. A Long Gray Watermelon cultivar with high quality fruits and high level resistance to *Fusarium* wilt. Circular S-331. Fl. Agr. Exp Sta. IFAS. Univ. Fl. U.S.A.

_____. 1986b. Minilee and MickyLee. Two Icebox. Type watermelons cultivar with excellent fruits-quality and resistance to both anthracnose and *Fusarium* wilt. Circular S-336.Fl. Agr. Exp. Sta. IFAS. Univ. Fl. U.S.A..

- Filippi, C., G. Bagnoli ., G. Treggi, and G. Picci. 1984. Antagonistic effects of soil bacteria on *Fusarium oxysporum f sp. dianthi* Snyder and Hans. I. In vitro experiments and preliminary assays on carnation (*Dianthus caryophyllus* L). Plant and Soil. 80: 119-125. Netherlands
- Filippi, C., G. Bagnoli., M. Volterrani and G. Picci. 1987. Antagonistic effects of soil bacteria on *Fusarium oxysporum f sp. dianthi* Snyder and Hans. III. Relation between protection against fuarium wilt in carnation and bacterial antagonistic colonization on roots. Plant and Soil. 98: 161-167. Netherlands.
- Fravel, R.T. 1988. Role of antibiosis in the biocontrol of plant diseases. Ann. Rev. Phytopathol. 26:75-91. U.S.A.
- Garrett, S.D. 1965. Toward biological control of soil-borne plant pathogens. In: Baker, F.K. and W.C.Snyder (Eds): Ecology of soil-borne plant pathogens. p 4-17. Univ.CA. Press. U.S.A.
- Gueldner, R.C., Ch.C. Reilly., P.L. Pusey., C.E. Costello., R.F. Arrendale and R.H. Cox. 1988. Isolation and identification of iturins as antifungal peptides in biological control of Peach brown rot with *Bacillus subtilis*. J. Agric. Food Chem. 36: 366-370.U.S.A.

- Díaz, P.A. 1990. Antagonismo de *Bacillus subtilis* contra *Fusarium oxysporum f sp. niveum* y su eficiencia en el control del marchitamiento de la sandía en Invernadero. Tesis Profesional. UAAAN. Saltillo, Coah. Méx. 34 p.
- Dixon, G.R. 1981. Vegetable crop diseases. AVI. Publishing. CO. Conn. U.S.A. 404 p.
- Elad, Y., I. Chet. and R. Baker. 1987. Increased growth response of plants induced by rhizobacteria antagonistic to soil-borne pathogenic fungi. Plant and soil. 98: 325-330. Netherlands.
- Elmstrom, G.W. and J.M. Crall. 1985. Icebox watermelons for Florida: cultivar and spacing evaluation. Proc. Fla. State Hort. Soc. 98: 276-278. U.S.A.
- Etzler, M.E. 1985. Plant lectins: molecular and biological aspects. Ann. Rev. Plant Physiol. 36: 209-234. U.S.A.
- Filippi, C., G. Bagnoli and G. Picci. 1985. Effetto antagonista di batteri terricoli su *Fusarium oxysporum f sp dianthi* Syd and Hans. II. Effetto antimicotico ad ampio spettro di un batterio del terreno nei riguardi di specie fitopatogene, opportunistiche e saprofiti Agric. Ital. 1/2: 27-40. Italy.

- Gupta, U.K. and R.S. Utkhede. 1987. Antagonism of isolates of *Bacillus subtilis* to *Phytophthora cactorum*. Can. J. Bot. 62: 1032-1035. Canada.
- Harley, J.L. 1965. Mycorrhiza. In: Baker, F.K. and W.C. Snyder (Eds). Ecology of soil-borne plant pathogens p 218-230. Univ. CA. Press. U.S.A.
- Hopkins, D.L., R.P. Larkin and G.W. Elmstrom. 1987. Cultivar-specific induction of soil suppressiveness to *Fusarium* wilt of watermelon. *Phytopathology* 77: 607-611. U.S.A.
- Huang, J. W. and S.K. Sun. 1978. Factors affecting survival of watermelon wilt pathogen *Fusarium oxysporum* f *sp. niveum* (E.F. Smith) Snyder & Hans in soil. *Plant. Prot. Bull.* 20:56-66. Taiwan.
- _____. 1982. The effect of nitrogenous fertilizer on disease development of watermelon Fusarial wilt. *Plant. Prot. Bull.* 24: 101-110. Taiwan.
- _____. 1984. Watermelon Fusarial wilt-suppressive soil and conducive soil. *Plant. Prot. Bull.* 26: 305-313. Taiwan.
- Juhnke, M.E., D.E. Mathre and D.C. Sands. 1987.

Identification and characterization of rhizosphere-competent bacteria of wheat. Appl. Environ. Microbiol. 53: 2793-2799. U.S.A.

Katznelson, H. 1965. Nature and importance of the rhizosphere. In: Baker, F.K and W.C. Snyder (Eds). Ecology of soil-borne plant pathogens. p 187-209. Univ. CA. Press. U.S.A.

León, G.H.M. 1982. Enfermedades de los cultivos en el Estado de Sinaloa. INIA-SARH. Méx. 183 p.

Lievens, H.K., R.V. Rijsbergen., F.R. Leyns., B.J. Lamber. and P. Tenning. 1989. Dominant rhizosphere bacteria as source for antifungal agents. Pestic. Sci. 27: 141-154. England.

Madden, L.V. 1980. Quantification of disease progression. Prot. Ecol. 2: 159-176. Netherlands.

Melhus, E.I and G.C. Kent. 1939. Elements of plant pathology. McMillian CO. N. York. U.S.A. 493 p.

Merriman, P.R., R.D. Price. and K.F. Baker. 1974a. The effect of inoculation seed with antagonists of *Rhizoctonia solani* on the growth of wheat. Aust. J. Agric. Res. 25: 213-218. Australia.

_____, J.F. Kollmorgen., T. Piggott and E.H. Ridge. 1974b. Effect of seed inoculation with *Bacillus subtilis* and *Streptomyces griseus* on the growth of cereals and carrots. Aust. J. Agric. Res. 25: 219-226. Australia.

_____, K.F. Baker., J.F. Kollmorgen., T. Piggott and E.H. Ridge. 1975. Effect of *Bacillus* y *Streptomyces* spp. applied to seed. In: Bruehl, G.W. (Ed). Biology and control of soil-borne plant pathogens. p 130-133. A.P.S. U.S.A.

Messiaen, C.M. y R. Lafon. 1967. Enfermedades de las hortalizas. Oikos-Tau. S.A. España. 361 p.

Mew, W.T and A.M. Rosales. 1986. Bacterization of rice plant for control sheath blight caused by *Rhizoctonia solani*. Phytopathology 76:1260-1264. USA

Millard, W.A. and C.B. Taylor. 1927. Antagonist of microorganisms as the controlling factor in the inhibition of scab by green manuring. Ann. Appl. Biol. 14:202-215.

Netzer, D. 1978. Physiological races in soil population level of *Fusarium* wilt of watermelon. Phytoparasitica 4(2): 1313-136. Israel.

- Orton, W.A. 1911. The development of disease-resistant varieties of plant. 4th. Conf. Internatl. Genetique Paris . p 264-275. France.
- Park, CH-S., T.C. Paulitz and R. Baker. 1988. Biocontrol of *Fusarium* wilt of cucumber resulting from interactions between *Pseudomonas putida* and nonpathogenic isolates of *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology* 78: 190-194. U.S.A.
- Potter, M.C. 1908. On method of cheking parasitic diseases in plant. *J. Agric. Sci.* 3: 102-107. U.S.A.
- Pusey, P.L. 1989. Use of *Bacillus subtilis* and related organisms as biofungicides. *Pestic. Sci.* 27: 133-140. England.
- Rodgers, P.B. 1989. Potential of biological control organisms as a source of antifungal compounds for agrochemical and pharmaceutical product development *Pestic. Sci.* 27: 155-164. England.
- Sanford, J.B. 1926. Some factors affecting the pathogenicty of *Actinomyces scabies*. *Phytopathology* 16: 525-547. U.S.A.
- Sanford, J.B. and W.C. Broadfoot. 1931. Studies of the effects of others soil-inhabiting microorganisms on

the virulence of *Ophiobolus graminis* Sci. Agric.
11: 512-518. U.S.A.

Savamani, E. and S.S. Gnanamanickam. 1988. Biological control of *Fusarium oxysporum f sp. cubense* in banana inoculation with *Pseudomonas fluorescens*. Plant and Soil. 107: 3-9. Netherlands.

Schippers, B., A. W. Bakker and A. H. Bakker. 1987. Interactions of deleterious and beneficial rhizosphere microorganisms and the effect of cropping practices. Ann. Rev. Phytopathol. 25: 339-312. U.S.A.

Schroth, M.N. and J.G. Hancock. 1982. Disease suppressive soils and root colonizing bacteria. Science 216: 1376-1381. U.S.A.

Spencer, D.M. 1977. Result in practice. II. Glasshouse crops. In: Marsha, R.W. (Ed). Systemic fungicides. Second edition. Longman. Lon. England. p 240-258.

Stirling, G.R. and M.F. Wachtel. 1980. Mass production of *Bacillus penetrans* for biological control of root knots nematodes. Nematologica 26: 308-12.

Streets, B.R. 1978. The diagnosis of plant diseases. Univ. Arizona Press. Arizona. U.S.A. 11.11 p.

- Subba-Rao, N.S. and D.L Bailey. 1961. Rhizosphere studies in relation to varietal resistance or susceptibility of tomato to *Verticillium* wilt. *Can. J. Bot.* 39: 1747-1758. Canada.
- Sun, S.K. and J.W. Huang. 1985a. Formulated soil amendment for controlling *Fusarium* wilt and others soilborne Diseases. *Plant Dis.* 69:917-920. U.S.A.
- Sun, S.K. and J.W. Huang. 1985b. Mechanism of control *Fusarium* wilt diseases by amendment of soil with S-H mixture. *Plant. Prot. Bull.* 27:159-169. Taiwan.
- Thirumalachar, M.J. and M.J. O'Brien. 1977. Suppression of charcoal rot in potato with a bacteria antagonist. *Plant. Dis Repr.* 61:543-546. U.S.A.
- Tschen, S.M. 1987. Control of *Rhizoctonia solani* by *Bacillus subtilis*. *Trans. Micol. Soc. Japan.* 28:483-493. Japan.
- Tschen, S.M. and W.L. Kuo. 1985. Antibiotic inhibition and control of *Rhizoctonia solani* by *Bacillus subtilis* *Plant. Prot. Bull.* 27:95-103. Taiwan.
- Utkhede, R.S. 1984. Antagonism of isolates of *Bacillus*

subtilis to *Phytophthora cactorum*. Can. J. Bot. 62: 1032-1035. Canada.

Walker, J.Ch. 1952. Diseases of vegetable crop. McGraw-Hill CO. U.S.A. 529 p.

Weller, M.D. 1988. Biological control of soilborne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. Ann. Rev. Phytopathol. 26:379-407. U.S.A.

Wilson, Ch.L. and M.E. Wisniewski. 1989. Biological control of postharvest diseases of fruit and vegetables: An emerging technology. Ann. Rev. Phytopathol. 27:425-441. U.S.A.

Yuen, G.Yand M.N. Schroth. 1986. Inhibition of *Fusarium oxysporum* f sp. *dianthi* by iron competition with a *Alcaligenes* sp. Phytopathology 76: 171-176. U.S.A.

_____ and A.H. McCain. 1988. Reduction of *Fusarium* wilt of carnation with suppressive soils and antagonistic bacteria. Plant Dis. 69:1071-1075. U.S.A.

Zavaleta, M.E. 1987. Modificadores orgánicos en el manejo de enfermedades radicales. Rev. Mex. Fitopatol. 5:159-168. Méx.

15571