

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA

MAESTRÍA EN PROTECCIÓN VEGETAL

**ANTAGONISMO DE *Bacillus subtilis* Cohn VARIANTE QST 713 EN LAS
ENFERMEDADES FOLIARES DE LOS CULTIVOS DE JITOMATE, CEBOLLA
Y FRESA**

TESIS

**QUE COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:**

**MAESTRO EN CIENCIAS EN
PROTECCIÓN VEGETAL**



**DIRECCION GENERAL ACADEMICA
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
OFICINA DE EXAMENES PROFESIONALES**

PRESENTA:

JOSÉ ALFREDO GARCÍA NÚÑEZ

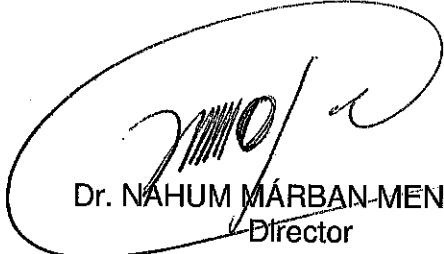
Chapingo, México. Agosto de 2004



**"ANTAGONISMO DE *Bacillus subtilis* Cohn VARIANTE QST 713 EN LAS
ENFERMEDADES FOLIARES DE LOS CULTIVOS DE JITOMATE, CEBOLLA
Y FRESA"**

Tesis realizada por **JOSÉ ALFREDO GARCÍA NÚÑEZ** bajo la dirección del
Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito
parcial para obtener el grado de:

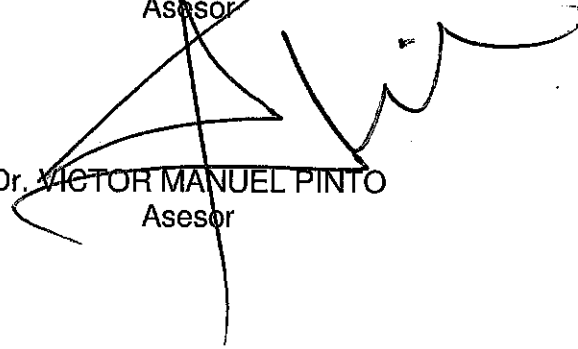
MAESTRO EN CIENCIAS EN PROTECCIÓN VEGETAL



Dr. NAHUM MÁRBAN-MENDOZA
Director



Dr. MARCELO ACOSTA RAMOS
Asesor



Dr. VÍCTOR MANUEL PINTO
Asesor

Chapingo, México, Agosto de 2004.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma Chapingo y al Departamento de Parasitología Agrícola, por darme la oportunidad de continuar mi aprendizaje en la protección vegetal

Al Dr. Nahum Márban que confió en mi para realizar este trabajo, por su paciencia y enseñanzas

Al Dr. Marcelo Acosta y al Dr. Víctor M. Pinto, por sus valiosas aportaciones al presente trabajo

A la DGSV, por su apoyo para iniciar este proyecto

A FMC empresa que me ha permitido culminar este importante proyecto en mi vida, en especial a Michael Steffeck y Darío Isaura

Al M. C. Hermilo Sánchez Sánchez por sus valiosas aportaciones y sugerencias en la realización del presente trabajo y por su amistad

Al M. C. Alejandro Vargas por sus sugerencias en el presente trabajo y el excelente apoyo en la fase de campo

A mis profesores por sus enseñanzas sobre el manejo de plagas

A mis compañeros y amigos, Rigoberto, Ulises, Pedro, Nicolás y Jorge por su amistad, sus valiosas aportaciones y sugerencias.

DEDICATORIA

A Dios, por darme la fortuna de ser padre

A mi hijo José Alfredo y mi esposa Lupita con todo mi amor, espero que se sientan orgullosos de mi, tanto como yo, de tenerlos a mi lado

A mis padres (Lupita y Alfredo), por enseñarme que siempre existen nuevos retos en la vida y que yo soy capaz de conseguirlos si me lo propongo

A mis hermanos: Mónica, Sergio, Humberto, Abraham y Berenice, por todo su cariño y respeto hacia mi persona

A Francisco (Paco) –mi hermano-, por enseñarme que debemos de ser fuertes siempre, pero mas aún, en los momentos más adversos de la vida

A todos mis sobrinos, espero que sea un ejemplo para todos ustedes

Un homenaje póstumo a mis abuelos (José, Amparito, Lalo y Lupita), por enseñarme a ser una persona honesta y valiente

DATOS BIOGRÁFICOS

El autor nació en el año de 1971, en México, D. F. Estudió la carrera de Agronomía y la especialidad de Parasitología Agrícola en la Universidad Autónoma Chapingo de la cual egresó en el año de 1995. En 1996, trabajó como consultor independiente con productores de maíz en la Región Sur de Jalisco; ese mismo año, se desempeñó como coordinador de campo en la empresa productora de hortalizas Empaque Santa Anita en la regional San Quintín B. C. Posteriormente en 1997, tomó la responsabilidad de la gerencia en la misma empresa en la regional Sayula, Jal. Durante 1998-2001, fue asistente técnico en el departamento de plaguicidas de la Dirección General de Sanidad Vegetal en la Cd. de México. En 2001, tomó la posición de coordinador de registros para la empresa FMC y desde Junio de 2002 es Gerente de Regulación para Latino América Norte (México-Centroamérica y El Caribe) en la misma empresa. El autor ha participado en diferentes congresos y simposios nacionales e internacionales como expositor de temas sobre fitosanidad y regulación en materia de plaguicidas.

I. CONTENIDO

	Pág.
ÍNDICE GENERAL.....	I
ÍNDICE DE CUADROS.....	V
ÍNDICE DE FIGURAS.....	VIII
RESUMEN.....	IX
SUMMARY.....	IX
I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. objetivos	3
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
2.1. Importancia de los microorganismos benéficos que interactúan con los cultivos agrícolas.....	4
2.2. Desarrollo de agentes de control biológico.....	5
2.3. <i>Bacillus subtilis</i>	6
2.3.1. Características generales.....	6
2.3.2. Mecanismos de acción.....	7
2.3.2.1. Colonización en la rizosfera, el rizoplaneo y en el follaje...	7
2.3.2.2. Formación de metabolitos antifúngicos y antibióticos...	8
2.3.2.3. Inducción de resistencia en plantas.....	9
2.3.2.4 Otros efectos benéficos.....	9
2.3.3. <i>B. subtilis</i> en el control de enfermedades de importancia económica.....	10
2.3.4. Uso de <i>B. subtilis</i> en México.....	11
2.3.5 <i>B. subtilis</i> como una alternativa dentro de un programa de manejo integrado de plagas.....	12
2.3.5.1. <i>B. subtilis</i> cepa QST 713.....	13
2.4. Las enfermedades de hortalizas.....	14

2.4.1. Cenicilla del tomate <i>Oidiopsis taurica</i> (Lév)(<i>Leveillula taurica</i> Arnaud).....	15
2.4.1.1. Descripción.....	15
2.4.1.2. Importancia económica.....	18
2.4.1.3. Métodos de control.....	18
2.4.2. Mancha bacteriana (<i>Xanthomonas vesicatoria</i> Dowson) del jitomate.....	19
2.4.2.1. Descripción.....	19
2.4.2.2. Importancia económica.....	22
2.4.2.3. Métodos de control.....	22
2.4.3. Mancha púrpura (<i>Alternaria porri</i> Ellis) de la cebolla	23
2.4.3.1. Descripción.....	23
2.4.3.2. Importancia económica.....	24
2.4.3.3. Métodos de control.....	25
2.4.4. Pudrición café o moho gris (<i>Botrytis cinerea</i> Jarvis) de la fresa	26
2.4.4.1. Descripción.....	26
2.4.4.2. Importancia económica.....	31
2.4.4.3. Métodos de control.....	31
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	33
3.1. Metodología para determinar el efecto antagónico de <i>B. subtilis</i> QST 713 contra la cenicilla (<i>O. taurica</i>) en jitomate.....	33
3.1.1. Lugar de establecimiento del experimento.....	33
3.1.2. Tratamientos y dosis evaluadas.....	33
3.1.3. Aplicaciones.....	34
3.1.4. Muestreo y evaluación.....	34
3.1.5. Análisis de los datos.....	35
3.2. Metodología para determinar el efecto antagónico de <i>B. subtilis</i> QST 713 contra la mancha bacteriana (<i>X. vesicatoria</i>) del jitomate.....	36

3.2.1. Lugar de establecimiento del experimento.....	36
3.2.2. Tratamientos y dosis evaluadas.....	36
3.2.3. Aplicaciones.....	38
3.2.4. Muestreo y evaluación.....	38
3.2.5. Análisis de los datos.....	39
3.3. Metodología para determinar el efecto antagónico de <i>B. subtilis</i> QST 713 contra la mancha púrpura (<i>A. porri</i>) de la cebolla.....	40
3.3.1. Lugar de establecimiento del experimento.....	40
3.3.2. Tratamientos y dosis evaluadas.....	40
3.3.3. Aplicaciones.....	41
3.3.4. Muestreo y evaluación.....	41
3.3.5. Análisis de los datos.....	42
3.4. Metodología para determinar el efecto antagónico de <i>B. subtilis</i> QST 713 contra el moho gris (<i>B. cinerea</i>) de la fresa.....	43
3.4.1. Lugar de establecimiento del experimento.....	43
3.4.2. Tratamientos y dosis evaluadas.....	43
3.4.3. Aplicaciones.....	44
3.4.4. Muestreo y evaluación.....	44
3.4.5. Análisis de los datos.....	45
3.5. Formulas empleadas para el análisis de datos de los diferentes ensayos.....	46
3.5.1. Formula para el cálculo del porcentaje de infección.....	46
3.5.2. Modelos epidemiológicos de las enfermedades.....	46
3.5.3. Análisis temporal: Calculo del área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE).....	47
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	49
4.1. Análisis del efecto antagónico de <i>B. subtilis</i> QST 713 contra la cenicilla (<i>O. taurica</i>) en jitomate.....	49
4.2. Análisis del efecto antagónico de <i>B. subtilis</i> QST 713 contra la mancha bacteriana (<i>X. vesicatoria</i>) en jitomate	54

4.2.1. Ensayo 1: Comparación del efecto de <i>B. subtilis</i> QST 713 en mezcla con cobre para el control de la mancha bacteriana.....	54
4.2.2. Ensayo 2: Comparación del efecto de <i>B. subtilis</i> QST 713 en mezcla con cobre para el control de la mancha bacteriana.....	57
4.3. Análisis del efecto antagónico de <i>B. subtilis</i> QST 713 contra la mancha púrpura (<i>A. porri</i>) en cebolla.....	62
4.4. Análisis del efecto antagónico de <i>B. subtilis</i> QST 713 contra el moho gris (<i>B. cinerea</i>) en fresa.....	66
V. CONCLUSIONES	70
VI. BIBLIOGRAFÍA	72
ANEXOS	81

ÍNDICE DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1. Tratamientos evaluados para determinar el efecto antagónico de <i>B. subtilis</i> QST 713 contra la cenicilla (<i>O. taurica</i>) del jitomate en Ahome, Sinaloa.....	34
Cuadro 2. Escala visual cualitativa para evaluar el efecto antagónico de <i>B. subtilis</i> QST 713 contra la cenicilla (<i>O. taurica</i>) del tomate en Ahome, Sinaloa.....	35
Cuadro 3. Primer ensayo: tratamientos para evaluar el control de la mancha bacteriana (<i>X. vesicatoria</i>) del jitomate en Ecuandureo, Michoacán.....	37
Cuadro 4. Segundo ensayo: tratamientos para evaluar el control de la mancha bacteriana (<i>X. vesicatoria</i>) del jitomate en Ecuandureo, Michoacán.....	37
Cuadro 5. Escala visual cualitativa para evaluar el efecto antagónico de <i>B. subtilis</i> QST 713 contra la mancha bacteriana (<i>X. vesicatoria</i>) del jitomate en Ecuandureo, Michoacán.....	39
Cuadro 6. Evaluación de los tratamientos para el control de la mancha púrpura (<i>A. porri</i>) de la cebolla en Tonatico, Edo. de México..	41
Cuadro 7. Escala visual cualitativa para evaluar el efecto antagónico de <i>B. subtilis</i> QST 713 contra la mancha púrpura (<i>A. porri</i>) de la cebolla en Tonatico, Edo. de México.....	42
Cuadro 8. Evaluación de los tratamientos para el control de la pudrición café (<i>B. cinerea</i>) de los frutos de fresa en Abasolo, Guanajuato.....	44
Cuadro 9. Escala visual cualitativa para evaluar el efecto antagónico de <i>B. subtilis</i> QST 713 contra la pudrición café (<i>B. cinerea</i>) de los	

frutos de fresa en Abasolo, Guanajuato.....	45
Cuadro 10. Tratamientos ajustados al modelo monomolecular, valores de ABCPE, comparación de medias y la tasa relativa de incremento de la enfermedad <i>O. taurica</i> en el cultivo de jitomate en Ahome, Sinaloa.....	50
Cuadro 11. Comparación de medias de los porcentajes de infección de <i>B. subtilis</i> QST 713 contra <i>O. taurica</i> en el cultivo de jitomate en Ahome, Sinaloa.....	53
Cuadro 12. Tratamientos ajustados al modelo monomolecular, valores de ABCPE, comparación de medias y la tasa relativa de incremento de la enfermedad causada por <i>X. vesicatoria</i> en el cultivo de jitomate en Ecuandureo, Michoacán.....	55
Cuadro 13. Ensayo 1: Comparación de medias de los porcentajes de infección de <i>B. subtilis</i> QST 713 contra <i>X. vesicatoria</i> en el cultivo de jitomate en Ecuandureo, Michoacán.....	57
Cuadro 14. Tratamientos ajustados a los modelos Gompertz y monomolecular, valores de ABCPE, comparación de medias y la tasa relativa de incremento de la enfermedad inducida por <i>X. vesicatoria</i> en el cultivo de jitomate en Ecuandureo, Michoacán.....	58
Cuadro 15. Ensayo 2: Comparación de medias de los porcentajes de infección de <i>B. subtilis</i> QST 713 contra <i>X. vesicatoria</i> en el cultivo de jitomate en Ecuandureo, Michoacán.....	61
Cuadro 16. Tratamientos ajustados al modelo Monomolecular, valores de ABCPE, comparación de medias y la tasa relativa de incremento de la enfermedad causada por <i>A. porri</i> en el cultivo de cebolla en Tonicato, Edo. de México.....	63
Cuadro 17. Comparación de medias de los porcentajes de infección de <i>B. subtilis</i> QST 713 contra <i>A. porri</i> en el cultivo de cebolla en Tonicato, Edo. de México.....	65
Cuadro 18. Tratamientos ajustados al modelo Monomolecular, valores de ABCPE, comparación de medias y la tasa relativa de	

incremento de la enfermedad inducida por <i>B. cinerea</i> en el cultivo de fresa en Abasolo, Guanajuato	67
Cuadro 19. Comparación de medias de los porcentajes de infección de <i>B. subtilis</i> QST 713 contra <i>B. cinerea</i> en el cultivo de fresa en Abasolo, Guanajuato.....	69

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Síntomas causados por <i>O. taurica</i> en chile (Fuente: Crop Protection Compendium).....	17
Figura 2. Síntomas causados por <i>X. vesicatoria</i> en jitomate (Fuente: Crop Protection Compendium).....	20
Figura 3. Síntomas causados por <i>A. porri</i> en cebolla (Fuente: Crop Protection Compendium).....	24
Figura 4. Síntomas causados por <i>B. cinerea</i> en frutos de fresa (Fuente: Crop Protection Compendium).....	27
Figura 5. Comportamiento del progreso de la infección de <i>O. taurica</i> con los diferentes tratamientos para el cultivo de jitomate en Ahome, Sinaloa.....	51
Figura 6. Ensayo 1: Comportamiento del progreso de la infección de <i>X. vesicatoria</i> con los diferentes tratamientos para el cultivo de jitomate en Ecuandureo, Michoacán.....	56
Figura 7. Ensayo 2: Comportamiento del progreso de la infección de <i>X. vesicatoria</i> con los diferentes tratamientos para el cultivo de jitomate en Ecuandureo, Michoacán.....	60
Figura 8. Comportamiento del progreso de la infección de <i>A. porri</i> con los diferentes tratamientos para el cultivo de cebolla en Tonicato, Edo. de México.....	64
Figura 9. Comportamiento del progreso de la infección de <i>B. cinerea</i> con los diferentes tratamientos para el cultivo de fresa en Abasolo, Guanajuato.....	68

**ANTAGONISMO DE *Bacillus subtilis* Cohn VARIANTE QST 713 EN LAS
ENFERMEDADES FOLIARES DE LOS CULTIVOS DE JITOMATE, CEBOLLA Y
FRESA**

**ANTAGONISM OF *Bacillus subtilis* Cohn VARIANT QST 713 ON DIFFERENT
FOLIAR DISEASES IN TOMATO, ONION AND STRAWBERRY CROPS**

Márban-Mendoza, N.¹, García-Núñez, J. A.²

RESUMEN

Se evaluó el efecto inhibitorio de *Bacillus subtilis* var. QST713 contra patógenos de diferentes enfermedades foliares, 5 ensayos fueron establecidos, los tratamientos evaluados incluyeron *B. subtilis* aplicado solo y en mezcla. Ensayo 1, se aplicó *B. subtilis* 6.0, 7.0 y 8.0 kg·ha⁻¹, azoxystrobin 0.4 kg·ha⁻¹ y azufre elemental 2.5 l·ha⁻¹ en jitomate para control de *Oidiopsis taurica* en Ahome, Sinaloa. Dos ensayos fueron establecidos en Ecuandureo, Michoacán para control de *Xanthomonas vesicatoria* en jitomate (ensayos 2 y 3 respectivamente). Ensayo 2, se evaluó *B. subtilis* 5.0 kg·ha⁻¹, *B. subtilis* 2.0 a 4.0 kg·ha⁻¹ + oxiclورو de cobre 3.0 kg·ha⁻¹, sulfato de gentamicina+oxitetraciclina 0.8 kg·ha⁻¹ y mancozeb+oxiclورو de cobre 3.5 kg·ha⁻¹. Ensayo 3, se evaluó *B. subtilis* 2.0 a 3.0 kg·ha⁻¹ con oxiclورو de cobre 2.0 a 3.0 kg·ha⁻¹, *B. subtilis* 2.5 kg·ha⁻¹ + sulfato de cobre pentahidratado 0.5 l·ha⁻¹, *B. subtilis* 2.5 kg·ha⁻¹ + sulfato de gentamicina+oxitetraciclina 0.5 l·ha⁻¹ y mancozeb+oxiclورو de cobre 3.5 kg·ha⁻¹. Ensayo 4, se estableció en Tonalico, México contra *Alternaria porri* en cebolla, se evaluó *B. subtilis* 5.0, 6.5 y 8.0 kg·ha⁻¹ y clorotalonil 0.4 kg·ha⁻¹. Ensayo 5, se estableció en Abasolo, Guanajuato para el control de *Botrytis cinerea* en fresa se evaluó *B. subtilis* 6.0, 7.0 y 8.0 kg·ha⁻¹ y tiofanato-metil 1.0 kg·ha⁻¹. En todos los tratamientos se dejó un testigo sin protección química (control). Los resultados mostraron una tasa relativa de incremento de *O. taurica*, *A. porri* y *B. cinerea* 0.012 a 0.237 con *B. subtilis* a dosis de 6.0 a 8.0 kg/ha siendo la tasa más baja con la dosis más alta, en el testigo absoluto la tasa relativa fue de 0.169 a 0.391. La mezcla de *B. subtilis* con cobre (3.0+3.0 kg·ha⁻¹) aumentó la eficacia contra *X. vesicatoria* en jitomate, presentó una tasa relativa de incremento de la enfermedad de 0.07, mientras que el testigo sin protección fue de 0.277. *B. subtilis* es una buena alternativa biológica para el control de las enfermedades evaluadas en estos estudios.

Palabras clave: *Bacillus subtilis*, *Oidiopsis taurica*, *Xanthomonas vesicatoria*, *Alternaria porri*, *Botrytis cinerea*, Control biológico.

ABSTRACT

The inhibitory effect of the biofungicide, *Bacillus subtilis* var. QST 713, against different foliar diseases was evaluated. 5 different tests and treatments, including both *B. subtilis* applied alone and mixed with different products, were carried out. In test 1., *B. subtilis* was applied in doses of 6.0, 7.0 and 8.0 kg·ha⁻¹, azoxystrobin 0.4 kg·ha⁻¹ and sulphur 2.5 l·ha⁻¹ on tomatoes for the control of *Oidiopsis taurica* in Ahome, Sinaloa. Two different tests (test 2 and 3 respectively) were carried out in Ecuandureo, Michoacan for the control of *Xanthomonas vesicatoria* in tomatoes. In test 2, the treatments evaluated were: *B. subtilis* 5.0 kg·ha⁻¹; *B. subtilis* 2.0 to 4.0 kg·ha⁻¹ in mixture with copper oxychloride 3.0 kg·ha⁻¹; gentamycine sulphate + oxytetracycline 0.8 kg·ha⁻¹; and mancozeb + copper oxychloride 3.5 kg·ha⁻¹. In test 3, the treatments evaluated were: 2.5 kg·ha⁻¹ of *B. subtilis* with copper sulfate (pentahydrate) 0.5 l·ha⁻¹; *B. subtilis* 2.5 kg·ha⁻¹ with gentamycine sulfate+ oxytetracycline 0.5 l·ha⁻¹; and mancozeb + copper oxychloride 3.5 kg·ha⁻¹. Test 4 was carried out in Tonalico, Mexico state, against *Alternaria porri* in onions and the treatments evaluated were *B. subtilis* with doses of 5.0, 6.5 and 8.0 kg·ha⁻¹ and a treatment with chlorothalonil 0.4 kg·ha⁻¹. Test 5 was carried out in Abasolo, Guanajuato to control *Botrytis cinerea* in strawberry plants and the treatments evaluated were with *B. subtilis* in doses of 6.0, 7.0 and 8.0 kg·ha⁻¹ and a treatment with thiophanate-methyl 1.0 kg·ha⁻¹. An untreated plot (control) without chemical protection was included in all the different tests. Results showed a relative rate of increase of *O. taurica*, *A. porri* and *B. cinerea* 0.012 to 0.237 with *B. subtilis* 6.0 – 8.0 kg·ha⁻¹, having the lowest rate of increase along with the highest dose. However, the control showed values of 0.169 – 0.391 for the relative rate of increase. The mixture of *B. subtilis* with copper (3.0 + 3.0 kg·ha⁻¹) increased the efficacy against *X. vesicatoria* in tomatoes and showed a relative rate of increase of 0.07 in the diseases, while in the control there was an increase of 0.277. *B. subtilis* is a good biological alternative to control the diseases evaluated in these studies.

Key words: *Bacillus subtilis*, *Oidiopsis taurica*, *Xanthomonas vesicatoria*, *Alternaria porri*, *Botrytis cinerea*, Biological control

¹ Director.

² Tesista.

I. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades causadas por hongos y bacterias fitopatógenas son un factor importante que limita la producción de hortalizas en México. El uso de productos químicos para controlar a estos patógenos ha sido un medio muy efectivo, sin embargo, por su modo de acción eliminan organismos benéficos, además propician a largo plazo resistencia a dichos químicos y disminuyen la competencia de organismos benéficos y antagonistas (Baker y Cook, 1974).

Por otro lado, el uso de productos biológicos en la agricultura, es una alternativa que está tomando gran importancia, debido a que los plaguicidas convencionales conllevan a una serie de riesgos al consumidor, principalmente por los residuos y por el riesgo toxicológico que estos ocasionan (FAO, 1997). Debido a lo anterior y a los problemas fitosanitarios en los diferentes cultivos; principalmente en la etapa de prefloración, floración y cosecha, se han buscado productos que no tengan restricciones en cuanto al intervalo de aplicación a la cosecha, que no generen riesgos al consumidor y que sean efectivos para el control de los patógenos que afectan las hortalizas en México. El desarrollo de productos biológicos basados en microorganismos benéficos, pueden usarse para mantener la sanidad y rendimiento de los cultivos agrícolas (Broadbent *et al.*, 1971).

Las investigaciones con productos biológicos se comenzaron a desarrollar a principios del siglo XX (Bowen and Rovira, 1976). En Alemania se comercializó un producto a base de *Bacillus subtilis* con el nombre Alinit® (Bayer and Company), el cual se uso como fertilizante bacteriológico. Este producto se uso en más de dos millones de hectáreas e incrementó el rendimiento hasta en un 40% (Cook y Baker, 1983).

Una de estas alternativas con gamma amplia de posibilidades para ser usada como organismo antagónico en diferentes patógenos es la bacteria *B. subtilis*, la cual es un habitante natural de los suelos y se encuentra en la rizosfera abundantemente.

Existen alrededor de 890 variantes derivadas de *B. subtilis*. Esta bacteria ha llegado a colonizar una gran variedad de hábitats, que pueden ser terrestres, acuáticos o aéreos (en forma de esporas) (Lynch, 1983). En varios estudios, se ha demostrado que las colonias extraídas del suelo de esta bacteria, ejercen efectos antagónicos sobre otros microorganismos, que al igual que *B. subtilis* son habitantes naturales del suelo y que llegan a ser patógenos importantes de diferentes plantas cultivadas (Lawrence, 1989; Turner y Backman, 1991). Con base en lo anterior, se realizó la presente investigación con los siguientes:

1.1. Objetivos

1. Determinar el efecto inhibitorio de *B. subtilis* var. QST 713 contra las infecciones patogénicas de *Oidiopsis taurica*, *Xanthomonas vesicatoria*, *Alternaria porri* y *Botrytis cinerea* en los cultivos de jitomate, cebolla y fresa, respectivamente.
2. Estimar la reducción de las tasas relativas de incremento de las enfermedades *O. taurica*, *X. Vesicatoria*, *A. porri* y *B. cinerea* en los cultivos de jitomate, cebolla y fresa, respectivamente; tratadas con *B. subtilis* var. QST 713.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Importancia de los microorganismos benéficos que interactúan con los cultivos agrícolas

Las bacterias son los microorganismos más abundantes en el suelo y en el dosel vegetal. La mayoría de los organismos usados como benéficos en la agricultura, han sido aislados del suelo, por lo que el número de bacterias que interactúan con los cultivos agrícolas, están en función de: la estación del año, tipo de suelo, fuentes de oxígeno en el suelo, grado de labranza y fertilización, así como de la presencia de plantas con raíces en dichos suelos (Lynch, 1983).

Los suelos de la rizosfera y el rizoplaneo de las plantas, proveen un hábitat adecuado para una gran cantidad de microorganismos, que en su mayoría suelen ser benéficos. Los géneros de bacterias que han sido aislados de esta área, han sido *Pseudomonas* sp., *Arthrobacter* sp., *Clostridium* sp., *Achromobacter* sp., *Micrococcus* sp., *Flavobacterium* sp. entre otras. Este último género suele ser el más abundante, ya que fue estimado en un 36% de todos los microorganismos (Llaman *et al.*, 1998).

La mayoría de las bacterias tienen la capacidad de formar metabolitos con actividad en contra de algunos hongos, que pueden ser aislados fácilmente de muestras de suelo, sin embargo no se ha hecho un estudio sistemático de la

abundancia de tales bacterias en el suelo y su capacidad de colonizar en otro tipo de hábitats (Leeman *et al.*, 1996). Algunos microorganismos con capacidad alta de adaptación a diferentes condiciones de suelos, son ampliamente conocidos como *Rhizobium*, micorrizas y *Pseudomonas* sp. (Leeman *et al.*, 1996). Sin embargo, sólo se les han atribuido efectos de promover el desarrollo de raíz y de la planta, pero su efecto antagónico contra patógenos no ha sido significativo (Schipper, 1992).

2.2. Desarrollo de agentes de control biológico

Para determinar el potencial de un microorganismo en el control de fitopatógenos, el primer paso es aislar agentes de biocontrol que tengan un potencial eficaz (Thomas *et al.*, 1997). Este proceso, comúnmente se realiza detectando hospedantes susceptibles en donde algún patógeno causa daño evidente. Aunque, es probable que se aislen diferentes agentes para ser usados como biocontroladores; sin embargo, muy pocos llegan a ser seleccionados por una serie de pruebas tales como: la adaptación a diferentes condiciones de nutrición, cultivo en laboratorio, sobrevivencia en condiciones de campo posterior al aislamiento, etc. (Campbell, 1989).

El segundo paso, es ensayar los agentes de biocontrol en los patógenos y cultivos de prueba. En este proceso se realizan estudios para evaluar el efecto del agente de biocontrol "*in vitro*" o "*in vivo*". A partir de estos ensayos es difícil predecir el comportamiento del agente de control bajo condiciones de campo,

aunque podemos tener un acercamiento del potencial que podría tener (White *et al.*, 1990). Posteriormente, se pueden realizar una serie de pruebas para determinar el efecto con los factores que interactúan con el patógeno y cultivo, de donde se pueden derivar estudios toxicológicos (Harman, 1991). El paso final es desarrollar métodos efectivos de producción y comercialización del agente en cuestión (White *et al.*, 1990).

2.3. *Bacillus subtilis*

2.3.1. Características generales

B. subtilis es una bacteria gram positiva, en forma de bacilo o bastoncillo, pertenece a la Clase Bacilli, al Orden Bacillales y a la Familia Bacillaceae (Burges, 1981). Esta bacteria abunda en una amplia gamma de hábitats, tanto en suelo como en la superficie foliar de las plantas. Su uso en la industria alimentaria y farmacéutica ha sido enfocado a la fermentación, a través de la producción de proteasas y otros compuestos con actividad enzimática para la obtención de compuestos químicos diferentes (Arbiege *et al.*, 1993).

Existe una gran diversidad de variantes de *B. subtilis*, sin embargo, la variante QST-713 posee una serie de cualidades diferentes a las demás, ya que ejerce efecto antagónico sobre microorganismos del suelo y tiene actividad sobre los hongos que afectan el follaje de las plantas (AgraQuest, 2000). La acción específica de esta variante es a través de la colonización del follaje produciendo

una zona inhibitoria de germinación de algunos hongos fitopatógenos por medio de una serie de sustancias (AgraQuest, 2000).

2.3.2. Mecanismos de acción

2.3.2.1. Colonización de la rizosfera, rizoplaneo y el follaje

Se ha encontrado que *B. subtilis* es menos competitiva para colonizar la rizosfera. Sin embargo, su densidad poblacional se incrementa en la superficie de las raíces en desarrollo, por lo que la raíz principal es un medio donde se encuentra de manera abundante (Turner y Backman, 1991), produce exudados (aminoácidos y azúcares) que sirven como fuente de energía para el desarrollo de *B. subtilis*. Asimismo, se ha encontrado colonizando follaje cuando existen las condiciones propicias para su desarrollo (Rodgers, 1989).

La capacidad de *B. subtilis* para colonizar estos medios ha sido demostrada en estudios "*in vitro*", en los cuales las plantas tratadas con esporas de esta bacteria se diferencian de las no tratadas por la presencia de colonias de bacterias, mediante observaciones al microscopio electrónico (Krebs *et al.*, 1998).

2.3.2.2. Formación de metabolitos antifúngicos y antibióticos

Una vez que la bacteria se ha establecido en la raíz o sobre el follaje produce un efecto inhibitorio de varios patógenos a estos órganos; el primer tipo de efecto es meramente teórico y se debe a que la superficie en cuestión ha sido ocupada por *B. subtilis* y que al metabolizar los exudados de la planta, inhibe el ataque del patógeno (Schippers, 1992). El proceso más importante para impedir el ataque a la raíz, es debido a que la bacteria produce compuestos químicos que tienen un efecto antagónico para una amplia gamma de especies de microorganismos, en su mayoría hongos patógenos de plantas (AgraQuest, 2000).

Las sustancias involucradas en la inhibición de estos microorganismos son en su mayoría polipéptidos. Por ejemplo, Lievens *et al.* (1989), encontraron que siete variantes diferentes de *B. subtilis* producen un compuesto llamado Iturin AL, dicho compuesto tiene actividad antifúngica; otros compuesto llamados Bacilomycin D y Bacilomycin D metil-ester, han sido reportados con acción antifúngica para: *Aspergillus niger*, *Fusarium oxysporum*, *Candida albicans* y *Saccharomyces cerevisiae* (Tenoux *et al.*, 1991).

2.3.2.3. Inducción de resistencia en plantas

Todas las plantas presentan mecanismos de defensa contra organismos patogénicos (Agrios, 1991). La eficacia de esta resistencia puede ser modificada por la influencia de factores bióticos o abióticos en el entorno de la planta. La modificación por factores externos incluye; pre-inoculación con agentes no patogénicos simbioses o saprofitos, que induce o predispone la resistencia de la planta a hongos o bacterias fitopatógenas (Agrios, 1991). La teoría de inducción de la resistencia con *B. subtilis* está basada en que los genes de las plantas están combinados con promotores que regulan su actividad genética. Los genes responsables de las reacciones de defensa a su vez, tienen promotores que estimulan la producción de sustancias (proteínas PR) que inhiben el crecimiento o desarrollo de organismos fitopatógenos (Van Loon y Van Strein, 1999).

2.3.2.4. Otros efectos benéficos

Existen beneficios adicionales en las leguminosas al usar esta bacteria, por ejemplo se incrementa la nodulación en raíces al usarse en combinación con *Rhizobium* spp, por lo que se incrementa la fijación de nitrógeno. La explicación a este fenómeno, es que se incrementa la producción de raíces por el mismo efecto protector que *B. subtilis* ejerce sobre éstas (Turner y Backman, 1991; Gustafson, 1993). También se ha determinado la acumulación de

microelementos en la rizosfera mediante un mecanismo oligotrófico, el cual coadyuva al aumento del rendimiento en diferentes cultivos (Savvichev y Nikitin, 1990).

2.3.3. *B. subtilis* en el control de enfermedades de importancia económica

Efectos diversos de diferentes variantes de *B. subtilis*, sugieren que esta bacteria constituye una opción de control muy importante diferente al control químico (Gustafson, 1993). Uno de los éxitos mayores del uso de esta bacteria como agente de biocontrol, ha sido reportado en enfermedades de frutos en postcosecha y hongos que afectan a la raíz, teniendo buen control contra *Nectria galligena* y *Phytophthora cactorum* en manzano; *Fusarium oxysporum* en clavel; *Alternaria alternata* y *Monilia fructicola* en cereza; *F. roseum* en algodón; *Sclerotium cepivorum* en cebolla; y *Rhizoctonia solani* en frijol soya (Lawrence, 1989).

En un estudio realizado en Sao Paulo, Brasil se encontró que al realizar tratamientos a la semilla de arroz, frijol, trigo y soya, la acción de *B. subtilis* se compara con la de algunos fungicidas como PCNB (pentacloronitrobenceno) en el control de *R. solani*, *Aspergillus* sp., *S. sclerotiorum*, *Helminthosporium oryzae* y *A. tenuis*. Se observó que el tratamiento con la bacteria no afecta la fijación de nitrógeno de *Rhizobium* ni la emergencia de la semilla (Lazzaretti y Bettiol, 1997).

En un estudio realizado en la India se encontró que *B. subtilis* puede constituir una alternativa de control biológico para reducir la infección de enfermedades de la raíz en jitomate, particularmente, la causada por *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, lo cual sugiere que la concentración de inóculo al inicio del cultivo se puede reducir considerablemente (Podile y Dube, 1988). Andrade *et al.* (1995), aplicaron el extracto de la bacteria a 5000 ppm y encontraron que la severidad de la enfermedad causada por *Cochliobolus eragrostidis* en maíz se redujo hasta 80%. En otro estudio, se encontró que al extraer los metabolitos de *B. subtilis* (aislamiento AP 3) mediante precipitación y al realizar aplicaciones mediante aspersión foliar a una concentración de 1,000 a 10,000 ppm, se redujo la infección por la roya del cafeto (*Hemileia vastatrix*) (Bettoil *et al.*, 1994).

2.3.4. Uso de *B. subtilis* en México

En México se han reportado algunos trabajos sobre la efectividad de *B. subtilis*, entre ellos se menciona el de Robles-García (1997), quién realizó la evaluación de esta bacteria contra enfermedades de la raíz en el cultivo de maíz. Los resultados mostraron que el mejor efecto se obtuvo al mezclar *B. subtilis* con el fungicida captan, reduciendo la incidencia de pudrición de la raíz y aumentando el vigor de las plántulas.

El uso de *B. subtilis* variante QST 713 contra la cenicilla de las cucurbitáceas, mostró un control eficiente después de cuatro aplicaciones semanales a dosis de 8.0 kg·ha⁻¹ (Rubio-Aldana, 2002). Barrón-Yáñez y Yáñez-Caldelas (2002), reportaron en un estudio de laboratorio que *B. subtilis* presentó un porcentaje de inhibición muy bajo contra el agente causal de la antracnosis de los cítricos (*Colletotrichum gloeosporioides*). Sin embargo, no presentaron información de las características de la variante probada y su posible secreción de metabolitos en medio de cultivo.

2.3.5. *B. subtilis* como alternativa dentro de un programa de Manejo Integrado de Plagas

El uso de la bacteria enfocado a un programa de manejo integrado de plagas, debe ser hecho, con base al conocimiento de las etapas fenológicas del cultivo y a los patógenos presentes en cada etapa. Robles-García (1997), mostró que la bacteria puede ser mezclada con fungicidas sin que se vea afectada su acción, por tanto el primer paso sería conocer que productos químicos afectan la actividad de la bacteria.

Una de las recomendaciones hechas por Podile y Dube (1988), es que las esporas de la bacteria pueden ser aplicadas desde un ciclo anterior de cultivo, para que la fuente de inóculo de hongos o bacterias en el suelo no causen daños en el cultivo, de tal manera que *B. subtilis* pueda establecerse en el suelo. Cuando la enfermedad ya se encuentra presente, una alternativa puede

ser el uso de metabolitos, los cuales inhiben el desarrollo del patógeno como lo reportan Bettoil *et al.*, (1994), sólo cuando se tenga la seguridad de que dichos metabolitos tienen efecto contra la enfermedad a controlar, de lo contrario el uso de esporas estaría enfocado exclusivamente al manejo preventivo de las enfermedades.

2.3.5.1. *B. subtilis* cepa QST 713.

Bajo condiciones adversas, *B. subtilis* produce endosporas (esporas de resistencia) las cuales pueden sobrevivir durante periodos largos de tiempo. La ventaja de la producción de este tipo de estructuras, es que mediante el proceso de fermentación se puede obtener una gran cantidad de endosporas bajo condiciones artificiales y así poder aplicarlas en el lugar específico en que se requieran (Schippers, 1992).

Debido a lo anterior, el producto serenade fue diseñado para aplicarse contra enfermedades del follaje de gran importancia económica, tales como: moho gris (*Botrytis cinerea*), cenicillas (*Erysiphe cichoracearum* y *Oidiopsis taurica*), mildiús (*Peronospora* sp.) mancha bacteriana (*Xanthomonas* sp.), tizón tardío (*Phytophthora infestans*), manchas foliares (*Alternaria* sp) y mildiú de la vid (*Plasmopara viticola*), en su mayoría en los cultivos de hortalizas (AgraQuest, 2000). De acuerdo con la agencia de protección ambiental de Estados Unidos (USEPA por sus siglas en Inglés), este producto no causa efectos tóxicos en los

seres humanos y no produce ningún riesgo toxicológico al ambiente (Copping, 1998).

2.4. Las enfermedades de hortalizas

En nuestro país los cultivos de jitomate, cebolla y fresa son de gran importancia económica por las divisas que generan, ya que la mayoría de la producción se destina a la exportación. La producción se ve afectada por diversos factores, entre ellos los fitosanitarios, por lo que es necesario implementar técnicas de manejo de estos problemas que no afecten el rendimiento. Entre las principales enfermedades que afectan a estos cultivos, se encuentran: (1) la cenicilla del tomate (*Oidiopsis. taurica*) (Palti, 1998); (2) la mancha bacteriana de la hoja en jitomate (*Xanthomonas vesicatoria*) (Stall *et al.*, 1994); (3) la mancha púrpura en cebolla (*Alternaria porri*) (Miller y Lacy, 1995) y (4) el moho gris (*Botrytis cinerea*) en fresa (Ellis y Waller, 1974), por lo que es necesario buscar y evaluar alternativas de control biológico que permitan minimizar los riesgos toxicológicos y evitar generar resistencia derivada de la aplicación continúa de productos convencionales (Copping, 1998).

2.4.1. Cenicilla del tomate *O. taurina* (Lév.) (*Leveillula taurica* Arnaud)

L. taurica fue inicialmente descrita por Arnaud (1921), posteriormente muchos reportes se refirieron a la fase asexual, anamorfa o conidial conocida como *O. taurica* (Palti, 1988), mientras que muy pocos fueron los que reportaron la fase sexual, telomorfo o desarrollo de cleistotecios de *Leveillula*. Actualmente, la ubicación taxonómica de *Leveillula*, está basada en el número de apéndices del cleistotecio, número de ascas, tamaño y forma de las ascosporas, siendo esta última característica de menor importancia en la clasificación, por que su variabilidad es afectada por la forma de los cuerpos fructíferos (Boesewinkel, 1980).

La fase conidial es variable; sin embargo, su forma, tamaño y la disposición de los conidios son más constantes, los cuales han sido descritos por Boesewinkel (1980).

2.4.1.1. Descripción

L. taurica es un tipo de cenicilla que ha sido reportada en cerca de 1000 especies de plantas, ubicadas en 390 géneros y 74 familias botánicas. Entre los hospedantes principales de este patógeno, se encuentran el chile (*Capsicum annuum* L.) y jitomate (*Lycopersicon esculentum* L.) (Palti, 1988).

La diseminación del patógeno ocurre a través del viento y su desarrollo es más propicio en condiciones secas. La susceptibilidad de los hospedantes incrementa con la edad de la planta. Generalmente, las plantas con menos de un mes de emergencia no son susceptibles (Palti, 1988). El patógeno penetra a través de la apertura de estomas en el envés de las hojas y los daños iniciales se observan en esta parte, como pequeñas manchas, las cuales se van agrandando gradualmente. En el haz de las hojas se forman manchas cloróticas a necróticas que varían en intensidad, de acuerdo con el efecto de la cenicilla en el envés (Sotirova *et al.*, 1990).

A diferencia de otras cenicillas que producen micelio superficial en el tejido del hospedante, el micelio de *L. taurica* se desarrolla en el tejido del mesófilo y puede extenderse a las células del tejido en empalizada (Sotirova *et al.*, 1990). El micelio es septado irregular de 10 μm de ancho (Tramier, 1963). En algunos casos, el micelio es más denso en la epidermis del envés de las hojas, normalmente no se desarrolla micelio en la superficie de dichas hojas (Figura 1).

Los conidióforos son septados, simples, emergen en muchos hospedantes a través de los estomas, 200 a 500 μm de longitud y de 4 a 5 μm de ancho (Boesewinkel, 1980). Los conidios son arreglados en cadena, cilíndricos de 25-95 μm de longitud y 14-20 μm de ancho (Tramier, 1963). Sin embargo, se han reportado conidios más pequeños (Palti, 1988).



Figura 1. Síntomas causados por *O. taurica* en Chile (Fuente: Crop Protection Compendium, 2003).

Cuando se forman los cleistotecios, son generalmente solitarios, raramente gregarios, frecuentemente embebidos en una densa superficie de micelio, miden 135-250 μm de diámetro, globosos y llegan a ser cóncavos en la madurez (Boesewinkel, 1980). El peridio de las células poligonales mide más de 10 μm de diámetro, presentan apéndices numerosos similares a la hifa, simples, cortos y de una coloración olivacea a cafésosa. Normalmente producen cerca de 20 ascas, aunque algunas veces menos o más de 35 en cada ascoma. Las ascosporas son largas, cilíndricas a piriformes, algunas veces ligeramente curvadas y su tamaño varía de 25-40 x 12-22 μm (Mukerji, 1968).

2.4.1.2. Importancia económica

Los cultivos pueden sufrir pérdidas considerables cuando *L. taurica* llega a atacarlos en etapas de fructificación o floración. Las epifitias pueden desarrollarse en regiones secas y calurosas, por lo que el potencial mayor de desarrollo de esta enfermedad es en cultivos de riego (Agrios, 1991). En ensayos de campo en el cultivo de chile, revelaron que las aplicaciones de fungicidas pueden disminuir las pérdidas hasta en 50% (Besri, 1991).

En jitomate se han reportado pérdidas de hasta 40% (Jones y Thompson, 1982), mientras que en leguminosas pueden ser de 54% (Sharma y Sohi, 1981). En cultivos como chícharo, frijol, papa, cebolla y ajo se han reportado pérdidas mínimas, además este patógeno tiene poca incidencia en estos cultivos (Palti, 1988).

2.4.1.3. Métodos de control

En algunos países se han llevado a cabo programas de resistencia de cultivos, sin embargo, el número de plantas tolerantes han sido limitados. Algunos cultivos muestran baja susceptibilidad a este patógeno; por ejemplo, algunas variedades de chile bajo condiciones de invernadero presentan una incidencia y severidad menor (Yucel, 1994).

El control cultural incluye un manejo adecuado del riego, a fin de evitar stres por falta de agua en la planta (Palti, 1988). Los excesos de humedad pueden causar infección de otros patógenos. La eliminación de hospedantes voluntarios o malezas, puede ser un recurso eficiente para evitar la infección y diseminación de enfermedades (Palti, 1988).

El control químico ha sido ampliamente estudiado para cumplir con los requisitos de registro en varios cultivos en diferentes países. El azufre espolvoreado o asperjado ha resultado ser efectivo así como algunos fungicidas del grupo de los benzimidazoles (Yucel, 1994).

2.4.2. Mancha bacteriana (*X. vesicatoria* Dowson) del jitomate

X. vesicatoria es una bacteria que fue clasificada inicialmente por Dowson (1939). Posteriormente Stall *et al.* (1994), encontraron que esta bacteria presentaba dos tipos de grupos o patovares, y a raíz de este reporte, se realizaron diferentes estudios, en los cuales se determinó que existen dos patovares (A y B); finalmente quedó el grupo A como *X. axonopodis* pv. *vesicatoria* y el grupo B como *X. vesicatoria* (Vauterin *et al.*, 1995).

2.4.2.1. Descripción

La bacteria ataca a los géneros *Lycopersicon* spp. y *Capsicum* spp. afecta principalmente flores, frutos, hojas, tallos y en postcosecha (Sijam *et al.*, 1991).

En jitomate los síntomas aparecen inicialmente como unas manchas circulares de una coloración oscura. Estas lesiones son comúnmente de tres mm, pero pueden ser más grandes cuando la humedad es alta durante el desarrollo de la infección (Figura 2). Cuando la infección ocurre en los frutos durante el desarrollo de madurez fisiológica, y a medida que el fruto se desarrolla se observa un moteado, y posteriormente se forman manchas de color café que dan una apariencia de costra en el fruto (Sherf y MacNab, 1986).

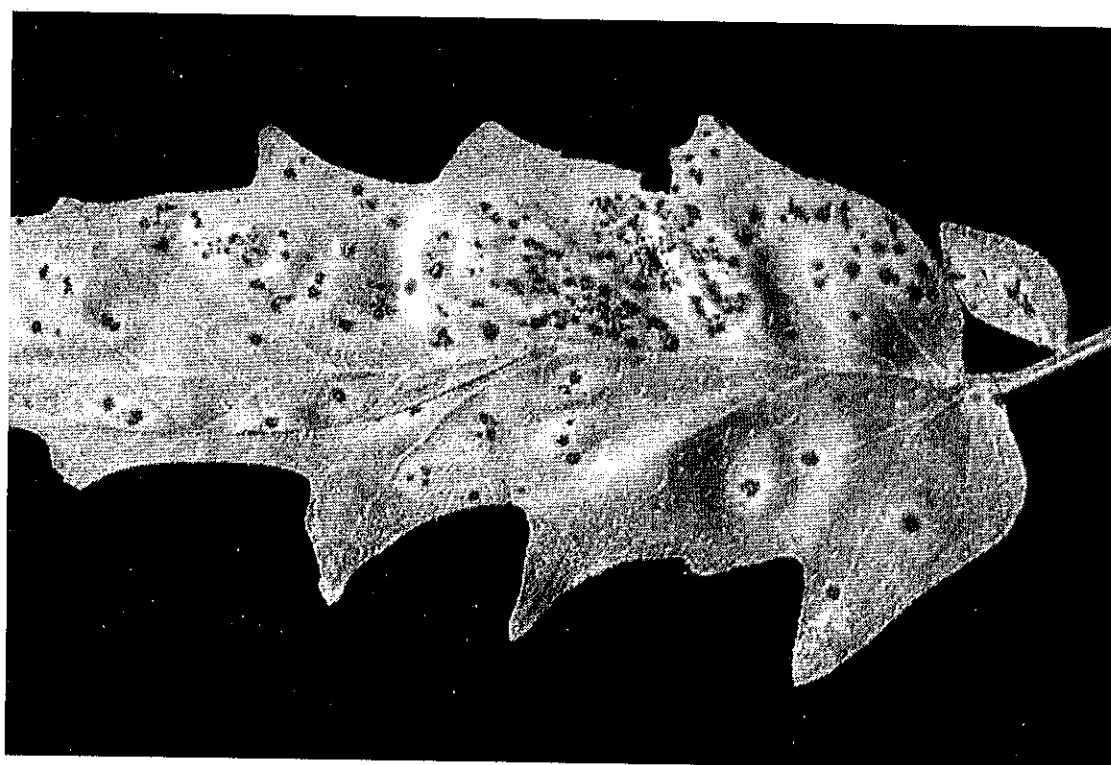


Figura 2. Síntomas causados por *X. vesicatoria* en jitomate (Fuente: Crop Protection Compendium, 2003).

La bacteria sobrevive en plantas remanentes de jitomate o en residuos de plantas del ciclo anterior; puede ser aislada de semilla de jitomate y de chile

(Bashan *et al.*, 1982), la incidencia puede variar de 5 a 60% cuando existe infección en los hospedantes (Sijam *et al.*, 1991). No hay información respecto a malezas hospedantes de la bacteria (Bashan *et al.*, 1982).

Existe evidencia que la infección en semilla de chile puede ser una fuente nueva de introducción de razas o variantes nuevas del patógeno (Pohronezny *et al.*, 1992). Por ejemplo, todas las variantes colectadas en Florida antes de 1989, fueron razas 1 de jitomate. Sin embargo, hubo un incremento a partir de 1991 de la raza 3 (Jones *et al.*, 1995).

Las precipitaciones altas y temperaturas entre 24 y 30 °C son favorables para el desarrollo de la enfermedad, estas pueden ser un problema importante en el verano. La diseminación del patógeno es a través del salpique de lluvia o por medios mecánicos, e infecta al hospedante a través de los estomas o heridas provocadas por insectos (McInnes *et al.*, 1988; Gitaitis *et al.*, 1992).

X. vesicatoria es una bacteria gram negativa, tiene forma de varilla flexible de 0.6-0.7 x 1.0-1.5 µm, la cual se puede encontrar en forma aislada o en pares, es móvil a través de un flagelo polar. Esta bacteria es aeróbica obligada y produce colonias amarillentas, viscosas en medios nutritivos y agar (McGuire *et al.*, 1986). Su actividad pectolítica e hidrólisis es variable y su temperatura óptima de desarrollo es de 25 a 30 °C (Minsavage *et al.*, 1990).

2.4.2.2. Importancia económica

X. vesicatoria ha sido reportada en jitomate y semilla de chile, la incidencia puede ser de 60 y 5%, respectivamente (Bashan *et al.*, 1982). En un estudio se monitoreó los sitios posibles de penetración de la bacteria en frutos y se encontró que el patógeno se multiplica en todos los tejidos jóvenes de estos, particularmente en la superficie y material fibrilar (Bashan y Okon, 1986). Estos estudios muestran que el papel de la transmisión por semilla es uno de los medios más importantes como fuente de inóculo en los cultivos establecidos y la diseminación a través de diferentes regiones agrícolas e incluso de países (Sijam *et al.*, 1991).

Las pérdidas por este patógeno pueden ser severas cuando existen las condiciones de humedad y temperatura adecuadas para su desarrollo, ya que se demerita la calidad de los frutos y reduce el área foliar, provocando stres y debilitamiento general del cultivo (Pohronezny y Volin, 1983).

2.4.2.3. Métodos de control

La mejor opción de control es utilizar un manejo integrado de la enfermedad que incluya: variedades resistentes, evitar plantas voluntarias en las parcelas o áreas aledañas, eliminar residuos con infección del patógeno y frutos infectados, etc. (Sijam *et al.*, 1991).

El uso de bactericidas para el control químico constituye una opción excelente para evitar el avance de la infección (Jones y Jones, 1985; Jones *et al.*, 1991). Sin embargo, la estreptomicina induce una resistencia rápida en esta bacteria, por lo que su uso no es muy recomendable (Stall y Thayer, 1962).

En las semillas se puede realizar un tratamiento térmico de 50°C por 25 minutos, sin embargo, se corre el riesgo de disminuir la germinación si la temperatura se excede de este límite (Sherf y Macnab, 1986).

2.4.3. Mancha púrpura de la cebolla (*A. porri* Ellis)

A. porri fue inicialmente descrita por Ellis (1940), este patógeno ataca particularmente a todas las especies del género *Allium*. A nivel experimental también afecta clavel, lechuga, jitomate y tabaco (Pandotra, 1964).

2.4.3.1. Descripción

A. porri sobrevive de una estación a otra por la infección de los bulbos que permanecen en el suelo; los conidios son transportados por el salpique de agua de lluvia hacia las hojas (Nolla, 1927). Cuando la temperatura es de 25°C con 90% de humedad relativa la infección ocurre a través de los estomas debido a que los conidios tienen varios tubos germinativos donde ocurre la salida de micelio (Datar, 1994).

Los primeros síntomas son pequeñas lesiones blanquecinas en hojas y tallos. Bajo condiciones de humedad alta estas lesiones se desarrollan y toman una forma elíptica y se tornan de color púrpura en el centro, los bordes son amarillentos. La esporulación en las lesiones es resultado de la formación de zonas concéntricas oscuras y claras. Estas lesiones llegan a coalescer en la hoja y causan un necrosamiento severo y caída de las mismas (Datar, 1994) (Figura 3).



Figura 3. Síntomas causados de *A. porri* en cebolla (Fuente: Crop Protection Compendium, 2003).

2.4.3.2. Importancia económica

La enfermedad causada por *A. porri* es más severa en áreas cálidas y húmedas, las mayores pérdidas se registran en el cultivo de cebolla (Miller y Lacy, 1995). Sandhu *et al.* (1981), reportaron pérdidas del 50% del rendimiento

en cebolla en Punjab, India. En campos experimentales se ha detectado hasta 59.1% de pérdidas de cebolla para semilla y 54% en rendimiento de bulbos, con inoculación artificial (Gupta y Pathak, 1988).

2.4.3.3. Métodos de control

Algunas prácticas culturales usadas son: la reducción de la cantidad de inóculo en el suelo a través del rastreo y barbecho (Gupta y Pathak, 1987); aumentar los espacios entre plantas puede reducir el desarrollo de la enfermedad; y el uso de dosis altas de nitrógeno y fosfatos incrementan el número de hojas y reducen la cantidad de enfermedad (Mondal *et al.*, 1989).

El control químico de la mancha púrpura se puede realizar a través de diferentes fungicidas como son: benomil, captafol, carbendazim, clorotalonil, oxiclورو de cobre, iprodiona, mancozeb y thiram. El mancozeb y el clorotalonil tienen una efectividad biológica buena, con un promedio de 6 a 10 aplicaciones por ciclo (Miller *et al.*, 1986).

El uso de variedades resistentes puede ser una alternativa buena para el control de esta enfermedad (Sugha *et al.*, 1992). Las variedades de cebolla amarillo creola y rojo creola, fueron reportadas como altamente resistentes en Kenia y Cuba (Savon y Ayala, 1986).

Algunos estudios sobre control biológico, reportan que *Aureobasidium pullulans*, *Sporobolomyces roseus*, *Cryptococcus luteolus* y *Cladosporium herbarum* reducen la infección en hojas de cebolla causada por *A. porri* (Fokkema y Lorbeer, 1974; Tyagi *et al.*, 1990).

2.4.4. Pudrición café o moho gris (*B. cinerea* Jarvis) de la fresa

Este patógeno fue inicialmente descrito por Jarvis (1977), pero en 1973 Hennebert ya lo había clasificado como del género *Botrytis*, ubicándolo dentro de la Familia Botrytidaceae en la Clase Hypomycetes y el Orden Monileales.

2.4.4.1. Descripción

La fase perfecta de *B. cinerea* fue conocida desde 1866, bajo el nombre de *Peziza fuckeliana* (de Bary) y más tarde como *Sclerotinia fuckeliana* Fuckel; sin embargo, en muchos aislamientos se encontraron apotecios similares al género *Botryotinia* de la Familia Sclerotiniaceae (Hennebert, 1973). Por otra parte, Groves y Loveland (1953), establecieron la relación entre *B. cinerea* y *Botryotinia fuckeliana*, primero realizaron cruces entre diferentes aislamientos de *B. cinerea* mediante espermatización de los esclerocios producidos en medio de cultivo, al realizar la comparación morfológica de los diferentes aislamientos se encontró una alta similitud a los inducidos por *B. fuckeliana*.

La gama de hospedantes de *B. cinerea* es muy amplia, ya que afecta ornamentales, hortalizas de fruto y follaje. Uno de los problemas más importantes causados por este patógeno es la pudrición de frutos, principalmente de vid y fresa; mientras que en ornamentales causa la pudrición y manchado de las flores (Conner, 1967).

Los síntomas iniciales inducidos por *B. cinerea* son detectados en tejidos jóvenes. Las lesiones que primero se desarrollan son de color marrón a cafésoso y posteriormente se tornan aún color grisáceo. Además, se llega a observar una esporulación del hongo en los tejidos más viejos (Figura 4). También puede ocurrir pudrición de frutos en postcosecha (Ellis y Waller, 1974).



Figura 4. Síntomas causados por *B. cinerea* en frutos de fresa (Fuente: Crop Protection Compendium, 2003).

El patógeno *B. cinerea* sobrevive como esclerocio en el suelo o en el tejido de las plantas infectadas como micelio. Existen cuatro tipos de propágulos a través de los cuales es capaz de diseminarse, estos son las ascosporas, los conidios, el micelio y los esclerocios (Faretra *et al.*, 1988). El estado perfecto de este hongo al parecer es muy raro en la naturaleza, pero la formación de apotecios puede ser observada eventualmente en campo. El sistema de multiplicación del hongo es básicamente por un heterotalismo bipolar, aunque el comportamiento homotálico ocasionalmente llega a ocurrir en campo, en aislamientos monoascospóricos (Faretra *et al.*, 1988; Faretra y Pollastro, 1996).

Polach y Abawi (1975), sugirieron que *B. fuckeliana* puede jugar un papel muy importante en la epidemiología del hongo debido a que en campos de frijol, se encontraron algunos apotecios en etapas tempranas del cultivo. Los conidios de *B. cinerea* son liberados al aire, por lo que este es un importante medio de diseminación del patógeno. Una vez que estos son liberados presentan un mecanismo higroscópico a través del cual se adhieren a la superficie de las plantas, con humedad relativa alta (Jarvis, 1960).

Los esclerocios pueden germinar produciendo micelio, conidióforos, conidios o apotecios. Son muchas las condiciones ambientales que influyen en la diferenciación de los esclerocios; por ejemplo, la temperatura, la nutrición, la relación carbono nitrógeno ($C:N^{-1}$) y la luz (Park, 1954). Suzuki (1989), sugiere que los esclerocios pueden sobrevivir en invierno, y consecutivamente, si dichos esclerocios no encuentran las condiciones adecuadas para su

germinación en esta etapa, disminuye el número de esclerocios viables para el siguiente invierno (Coley-Smith, 1980).

Los factores biológicos también pueden afectar debido a que diversos organismos en el medio natural, son capaces de inhibir el desarrollo de *B. cinera*, entre los que se encuentran *Coniothyrium* sp., *Fusarium* spp., *Gliocladium* sp., *Hormodendrum* sp., *Paecilomyces* sp., *Penicillium* sp., *Rhizopus* sp., *Sporotrichum* sp., *Trichoderma* sp., *Trichothecium* sp. y *Verticillium* sp. (Coley-Smith, 1980).

La temperatura puede afectar la tasa de esporulación de este patógeno, la óptima para la formación de conidios es de 15°C, mientras que el desarrollo de micelio se da a temperaturas mayores de 20°C (Jarvis, 1962). A temperaturas menores de 15°C, la esporulación disminuye y a 10°C se reduce severamente. Thomas *et al.* (1988), observaron que existe un gran número de conidios en uvas infectadas a 21°C y a 94% de humedad relativa. Aunque el mayor porcentaje de germinación de conidios ocurre de 2 a 4 horas, después de que este se expone al agua puede pasar periodo largo de tiempo para que la infección del patógeno sea exitosa (McKeen, 1974).

Los fenotipos de los aislamientos de campo, son muy variables dependiendo del aislamiento, medio de cultivo, temperatura, luz, y humedad (Ellis y Waller, 1974). Diversos trabajos, han demostrado las variaciones morfológicas de este hongo en diferentes aislamientos. El hongo puede desarrollarse en diferentes

medios artificiales tal como medio de cultivo en PDA (papa dextrosa agar); pero cuando se mantiene en medio acuoso por un largo periodo de tiempo pierde la habilidad para producir conidios, esclerocios y apotecios (Ellis y Waller, 1974).

El micelio que produce es típico del Phylum Ascomycota (Beauverie y Guilliermond, 1903). Las septas se encuentran presentes; los conidióforos y conidios comúnmente son de 2 mm o más de longitud y de 16 a 30 μm de ancho, frecuentemente presentan un hinchamiento basal. Presentan formas elipsoidales a ovoides con una ligera protuberancia, tienen una coloración cafésosa clara y sus medidas son de 6-18 x 4-11 μm (Ellis y Waller, 1974). Los microconidios aparentemente solo tienen la función sexual y pueden ser considerados como espermatia (Whetzel, 1945). Estos pueden sobrevivir por un largo periodo de tiempo en condiciones desfavorables, debido a que se encuentran dentro de una cubierta protectora (Jarvis, 1980).

Los esclerocios son parecidos a los del género *Sclerotium*, aunque en éste son menos frecuentes en producción, tamaño y forma de estos; en medio de cultivo son muy variables. Son plano-convexoides con una cubierta oscura que tiene la función de una cutícula (Noviello y Korf, 1961).

Los apotecios aparecen como pequeñas protuberancias en la superficie de los esclerocios, su tamaño va de 3 a 10 mm de altos por 1 a 6 mm de diámetro (Park, 1954). Presentan ascosporas uniseriadas, unicelulares, ovoides a

elipsoidales con medidas de 11.5 a 17.5 x 4.5 a 9.5 μm . La presencia de clamidosporas ha sido descrita por Park (1954).

2.4.4.2. Importancia económica

B. cinerea infecta una cantidad amplia de hospedantes entre los que se encuentran frutos de hortalizas, flores, tanto en campo como en invernadero y eventualmente en postcosecha (Bulit *et al.*, 1970). Las pérdidas económicas por este patógeno varían en según el cultivo, condiciones ambientales y estrategias de control que se implementen. En Europa en el cultivo de vid, varían de 25 a 30% y los costos por la aplicación de fungicidas ascendieron de 20 a 50 millones de euros en los años de 1992 y 1993 (Steilwaag-Kittier, 1969).

2.4.4.3. Métodos de control

El control de *B. cinerea* es necesario para prevenir pérdidas en cultivos susceptibles. El costo del control es difícil debido a que el hongo puede atacar cualquier órgano de la planta en cualquier estado de desarrollo, aunque es más común encontrarlo cerca del periodo de cosecha (Agrios, 1991).

La eliminación de hojas en estado de senescencia que han sido infectadas y que constituyan una fuente de inóculo puede disminuir el avance de la infección, sin embargo, es una práctica poco común debido a los costos que esta implica (Thomas *et al.*, 1983). El espaciamiento entre plantas también

constituye un adecuado método de control, ya que disminuye la humedad relativa en el dosel vegetal y se reducen las condiciones adecuadas para el desarrollo del patógeno. El uso excesivo de fertilizantes como nitrógeno y los riegos inapropiados pueden predisponer al cultivo para la infección del patógeno (Thomas *et al.*, 1983).

El uso de plantas resistentes combinado con las prácticas anteriores, pueden reducir considerablemente la infección del patógeno (Thomas *et al.*, 1983). El control biológico ha sido poco estudiado contra este hongo, el uso de *Trichoderma harzianum* produce buenos resultados y ha sido registrado para su uso comercial en Yugoslavia e Israel (Elad, 1996). Otro organismo usado, es *Streptomyces griseovirides* el cual ha resultado efectivo contra *B. cinerea* en el cultivo de lechuga (White *et al.*, 1990).

El control químico es ampliamente usado para este patógeno. El uso de los benzimidazoles ha resultado efectivo, sin embargo, el hongo puede adquirir resistencia en un periodo de tiempo muy corto. Otros fungicidas empleados son el grupo de las dicarboxamidas como el carbendazim (Gullino y Garibaldi, 1986).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Metodología para determinar el efecto antagónico de *B. subtilis* QST 713 contra la cenicilla (*O. taurica*) en jitomate

3.1.1. Lugar de establecimiento del experimento

El estudio se estableció en plantas de jitomate var. "Zuley" en el predio Santa Rosa, municipio de Ahome, Sinaloa; el cual se ubica entre los paralelos 25° 27' a 26° 21' de latitud norte y los meridianos 108° 43' a 109° 24' de longitud oeste del meridiano de Greenwich, con una altitud sobre el nivel del mar de 15 m (Secretaría de Gobernación, 1988d). Propiedad de la empresa agrícola Reyes del Pacífico, S.P.R. de R.L., durante el ciclo otoño-invierno (2000-2001).

3.1.2. Tratamientos y dosis evaluadas

Se realizó un diseño en bloques completos al azar con seis tratamientos y cuatro repeticiones; tres dosis del biofungicida Serenade (*B. subtilis* QST 713), dos tratamientos a base de fungicidas comerciales y un testigo absoluto (sin aplicación). Cada unidad experimental estuvo integrada por cuatro surcos con una separación de 1.8 m de ancho por 7.0 m de largo, se tomaron dos surcos centrales como parcela útil. Los tratamientos evaluados se muestran en el Cuadro 1.

3.1.3. Aplicaciones

Las aplicaciones se realizaron al follaje 50 días después del trasplante del cultivo. Se llevaron cabo un total de cinco aplicaciones a intervalos de siete días con el uso de una aspersora motorizada marca Aritmizu, con un aguilón de cuatro boquillas de cono hueco y un gasto de agua promedio de 500 a 600 L·ha¹.

Cuadro 1. Tratamientos evaluados para determinar el efecto antagónico de *B. subtilis* QST 713 contra la cenicienta (*O. taurica*) del jitomate en Ahome, Sinaloa.

Trat ^o	Producto	Dosis de i.a. [*] (g·ha ⁻¹)	Dosis PF ^{**} (kg·ha ⁻¹)
1	<i>B. subtilis</i> QST 713	6x10 ⁹ UFC ^o	6.0
2	<i>B. subtilis</i> QST 713	7 x10 ⁹ UFC ^o	7.0
3	<i>B. subtilis</i> QST 713	8 x10 ⁹ UFC ^o	8.0
4	Azoxystrobin (Amistar)	200	0.4
5	Azufre elemental (Lucaflow)	1775	2.5 L
6	Testigo	-	-

Símbolos y abreviaturas utilizadas: ^oNúmero de tratamiento, ^{*}ingrediente activo, ^{**}Producto formulado, ^oUnidades Formadoras de Colonias, g·ha⁻¹ = gramos por hectárea y kg·ha⁻¹ = kilogramos por hectárea.

3.1.4. Muestreo y evaluación

Se llevó a cabo un muestreo preliminar, antes de iniciar las aplicaciones de cada unidad experimental. Se revisaron 20 hojas en la parte media de 20 plantas de jitomate (una hoja por planta), elegidas al azar en los dos surcos centrales. Para cuantificar la severidad de la enfermedad se utilizó la escala

cualitativa con seis clases indicada en el Cuadro 2. Se realizaron seis evaluaciones cada siete días a partir del 15 de enero al 27 de febrero del 2001.

Cuadro 2. Escala visual cualitativa para evaluar el efecto antagónico de *B. subtilis* QST 713 contra la cenicilla (*O. taurica*) del tomate en Ahome, Sinaloa. Agrios, 1991.

Índice o clases	Descripción
0	Hoja sana
1	Hoja con 1 a 10% de área afectada
2	Hoja con 11 a 20% de área afectada
3	Hoja con 21 a 40% de área afectada
4	Hoja con 41 a 60% de área afectada
5	Hoja con más del 60% de área afectada

3.1.5. Análisis de los datos

El porcentaje de infección de la enfermedad se calculo de acuerdo con la formula de Townsend y Heuberger que se describe en el apartado 3.5.1. y a través del análisis temporal de la enfermedad (ajuste a modelos epidemiológicos), así como con cálculo del área bajo la curva del progreso de la enfermedad, los cuales se estimaron como se menciona en los apartados 3.5.2. y 3.5.3., respectivamente.

3.2. Metodología para determinar el efecto antagónico de *B. subtilis* QST 713 contra la mancha bacteriana (*X. vesicatoria*) del jitomate

3.2.1. Lugar de establecimiento del experimento

Se establecieron dos ensayos en parcelas comerciales de jitomate híbrido toro en etapa de floración-fructificación localizadas en Ecuandureo, Michoacán; el lugar se localiza a 20° 10' de latitud norte y 102° 12' de longitud oeste del meridiano de Greenwich, con una altura sobre el nivel del mar de 1,570 m (Secretaría de Gobernación, 1988b). Los cuales se llevaron acabo en los meses de julio y agosto del 2001.

3.2.2. Tratamientos y dosis evaluadas

Se utilizó un diseño en bloques completos al azar con siete y diez tratamientos respectivamente y cuatro repeticiones para ambos ensayos. La unidad experimental del primer ensayo fue de cuatro surcos de 1.83 m de ancho por 9 m de largo. Mientras que para el segundo ensayo las dimensiones de los surcos fueron de 1.83 m de ancho por 10 m de largo. Los tratamientos de los ensayos uno y dos con sus respectivas dosis se describen en los Cuadros 3 y 4, respectivamente.

Cuadro 3. Ensayo 1: tratamientos para evaluar el control de la mancha bacteriana (*X. vesicatoria*) del jitomate en Ecuandureo, Michoacán. Julio, 2001.

No. Trat [®]	Ingrediente activo	Dosis de i.a. (g·ha ⁻¹)	Dosis (kg·ha ⁻¹)
1	<i>B. subtilis</i>	5X10 ⁹ UFC [®]	5
2	<i>B. subtilis</i> + oxiclورو de cobre	2X10 ⁹ UFC [®] + 1500	2 + 3
3	<i>B. subtilis</i> + oxiclورو de cobre	3X10 ⁹ UFC [®] + 1500	3 + 3
4	<i>B. subtilis</i> + oxiclورو de cobre	4X10 ⁹ UFC [®] + 1500	4 + 3
5	Mancozeb + oxiclورو de cobre	1050 + 805	3.5 L
6	Gentamicina + oxitetraciclina	16 + 48	0.800
7	Testigo	---	---

Símbolos y abreviaturas utilizadas: [®]Número de tratamiento, i.a = ingrediente activo, [®]Unidades Formadoras de Colonias, g·ha⁻¹ = gramos por hectárea y kg·ha⁻¹ = kilogramos por hectárea.

Cuadro 4. Ensayo 2: tratamientos para evaluar el control de la mancha bacteriana (*X. vesicatoria*) del jitomate en Ecuandureo, Michoacán. Julio 2001.

No. Trat [®]	Ingrediente activo	Dosis de i.a. (g·ha ⁻¹)	Dosis (kg·ha ⁻¹)
1	<i>B. subtilis</i> + oxiclورو de cobre	2 X10 ⁹ UFC [®] + 1000	2 + 2
2	<i>B. subtilis</i> + oxiclورو de cobre	2 X10 ⁹ UFC [®] + 1500	2 + 3
3	<i>B. subtilis</i> + oxiclورو de cobre	2.5 X10 ⁹ UFC [®] + 1000	2.5 + 2.0
4	<i>B. subtilis</i> + oxiclورو de cobre	2.5 X10 ⁹ UFC [®] + 1250	2.5 + 2.5
5	<i>B. subtilis</i> + oxiclورو de cobre	2.5 X10 ⁹ UFC [®] + 1500	2.5 + 3.0
6	<i>B. subtilis</i> + oxiclورو de cobre	3 X10 ⁹ UFC [®] + 1500	3.0 + 3.0
7	<i>B. subtilis</i> + sulfato de cobre pentahidratado	2.5 X10 ⁹ UFC [®] + 6.79	2.5 + 0.5 L
8	<i>B. subtilis</i> + gentamicina + oxitetraciclina	2.5 X10 ⁹ UFC [®] + 10 + 30	2.5 + 0.5
9	Mancozeb + oxiclورو de cobre	1050 + 805	3.5
10	Testigo	----	---

Símbolos y abreviaturas utilizadas: [®]Número de tratamiento, i.a = ingrediente activo, [®]Unidades Formadoras de Colonias, g·ha⁻¹ = gramos por hectárea y kg·ha⁻¹ = kilogramos por hectárea.

3.2.3. Aplicaciones

Las aplicaciones se realizaron en forma preventiva considerando las condiciones de humedad y temperatura adecuadas (humedad relativa mayor al 80% y temperatura de 25 a 35°C) para el desarrollo del patógeno. En el ensayo 1 se realizaron dos aplicaciones a intervalos de siete días, mientras que en el ensayo 2 se realizaron tres aplicaciones a intervalos de cuatro días. Para obtener una cobertura mayor de follaje en las aplicaciones se utilizó un equipo motorizado marca Aritmizu, previamente calibrado.

3.2.4. Muestreo y evaluación

Antes de llevar a cabo la primera aplicación se realizó una evaluación preliminar de la enfermedad; posteriormente, se realizaron evaluaciones antes de la siguiente aplicación para determinar el efecto de la primera. La evaluación de la severidad de la enfermedad se realizó de manera cualitativa con una escala arbitraria con siete clases en 25 hojas tomadas al azar en cada unidad experimental (Cuadro 5). Para el primer ensayo se realizaron tres evaluaciones a partir del 05 al 18 de julio de 2001; mientras que para el segundo ensayo fueron cuatro evaluaciones del 27 de julio al 08 de agosto del 2001.

Cuadro 5. Escala visual cualitativa para evaluar el efecto antagónico de *B. subtilis* QST 713 contra la mancha bacteriana (*X. vesicatoria*) del jitomate en Ecuandureo, Michoacán. Agrios, 1991.

Índice o clases	Descripción
1	Hoja sana 0.0%
2	Hoja con trazas 0.1 a 6.25% de área foliar afectada (AFA)
3	Hoja con 6.26 a 12.5 % de AFA
4	Hoja con 12.6 a 25% de AFA
5	Hoja con 25.1 a 50% de AFA
6	Hoja con 50.1 a 75% de AFA
7	Hoja con 75.1 a 100% de AFA

3.2.5. Análisis de los datos

El porcentaje de infección de la enfermedad se calculó con la fórmula de Townsend y Heuberger que se menciona en el apartado 3.5.1.; mientras que el cálculo del área bajo la curva del progreso de la enfermedad se estimó de acuerdo al apartado 3.5.3 para cada uno de los ensayos.

3.3. Metodología para determinar el efecto antagónico de *B. subtilis* QST 713 contra la mancha púrpura (*A. porri*) de la cebolla

3.3.1. Lugar de establecimiento del experimento

El experimento se instaló en un lote comercial de cebolla en el área agrícola del Llano, municipio de Tonatico, Edo. de México; el lugar se localiza a los 18° 50' de latitud norte y 99° 38' de longitud oeste del meridiano de Greenwich, a una altitud sobre el nivel del mar de 1,650 m (Secretaría de Gobernación, 1988a). Bajo el sistema de siembra comercial propiedad del Sr. Enrique Guadarrama durante los meses de noviembre y diciembre del año de 1999.

3.3.2. Tratamientos y dosis evaluadas

Los tratamientos se realizaron en un diseño en bloques completos al azar con cuatro repeticiones. La unidad experimental fue de 20.02 m², constituida por cuatro hileras dobles de cebolla dispuestas en surcos de 0.7 m de ancho por 7.5 m de largo. La parcela útil fueron los dos surcos centrales. Los tratamientos y sus dosis se especifican en el Cuadro 6.

Cuadro 6. Evaluación de los tratamientos para el control de la mancha púrpura (*A. porri*) de la cebolla en Tonatico, Edo. de México. Noviembre 1999.

No. Trat [®]	Ingrediente activo	Dosis de i.a. (g·ha ⁻¹)	Dosis (kg·ha ⁻¹)
1	<i>B. subtilis</i>	5.0 X10 ⁹ UFC [®]	5.0
2	<i>B. subtilis</i>	6.5 X10 ⁹ UFC [®]	6.5
3	<i>B. subtilis</i>	8 X10 ⁹ UFC [®]	8.0
4	Clorotalonil (Bravo 720)	300	0.4
5	Testigo	---	---

Símbolos y abreviaturas utilizadas: [®]Número de tratamiento, i.a = ingrediente activo, [®]Unidades Formadoras de Colonias, g·ha⁻¹ = gramos por hectárea y kg·ha⁻¹ = kilogramos por hectárea.

3.3.3. Aplicaciones

Las aplicaciones se iniciaron cuando existía un 7.55% de infección en promedio de la enfermedad. Se utilizó una aspersora de mochila motorizada marca Arizmizu con capacidad de 20 L, con doble boquilla de abanico fino previamente calibrada a un gasto de 665 L de agua por hectárea. Se realizaron cuatro aplicaciones cada siete días.

3.3.4. Muestreo y evaluación

Previo a la primera aplicación se realizó una evaluación, posteriormente, se realizaron las evaluaciones a intervalos de siete días antes de cada aplicación. Se evaluó la severidad de la enfermedad de manera cualitativa, de acuerdo con la escala del Cuadro 7. Se muestrearon 15 hojas de la parcela útil de cada

unidad experimental y se realizaron cinco evaluaciones cada siete días, a partir del 4 de noviembre al 02 de diciembre de 1999.

3.3.5. Análisis de los datos

El porcentaje de infección de la enfermedad se calculó de acuerdo a la formula de Townsend y Heuberger que se menciona en el apartado 3.5.1, mientras que el cálculo del área bajo la curva del progreso de la enfermedad se estimó de acuerdo al apartado 3.5.3.

Cuadro 7. Escala visual cualitativa para evaluar el efecto antagónico de *B. subtilis* QST 713 contra la mancha púrpura (*A. porri*) de la cebolla en Tonalico, Edo. de México. Noviembre 1999. Agrios 1991.

Índice o clases	Descripción
0	0.0% hoja sana
1	0.1 a 6.25% de la hoja dañada
2	6.26 a 12.5% de la hoja dañada
3	12.6 a 25% de la hoja dañada
4	25.1 a 50% de la hoja dañada
5	50.1 % o más de la hoja dañada

3.4. Metodología para determinar el efecto antagónico de *B. subtilis* QST 713 contra el moho gris (*B. cinerea*) de la fresa

3.4.1. Lugar de establecimiento del experimento

El estudio se estableció bajo condiciones de campo en los meses de octubre y noviembre del 2001. Se llevó a cabo en un lote comercial de fresa de la variedad Camarosa en el Rancho San Antonio, Municipio de Abasolo, Guanajuato. El cual se ubica geográficamente a los 20° 27' de latitud norte y 101 ° 32' de longitud oeste del meridiano de Greenwich, a una altura sobre el nivel medio del mar de 1,708 m (Secretaría de Gobernación, 1988c).

3.4.2. Tratamientos y dosis evaluadas

Los tratamientos fueron aplicados bajo un diseño experimental en bloques completos al azar con cuatro repeticiones. Cada unidad experimental constó de cuatro surcos dobles de 1.0 m de ancho por 5 m de largo, con una superficie por unidad experimental de 20 y 80 m² por tratamiento. Los tratamientos con sus dosis respectivas se indican en el Cuadro 8.

Cuadro 8. Evaluación de los tratamientos para el control de la pudrición café (*B. cinerea*) de los frutos de fresa en Abasolo, Guanajuato. Octubre de 2001.

No. Trat [®]	Ingrediente activo	Dosis de i.a. (g·ha ⁻¹)	Dosis (kg·ha ⁻¹)
1	<i>B. subtilis</i>	6.0 X10 ⁹ UFC [®]	6.0
2	<i>B. subtilis</i>	7.0 X10 ⁹ UFC [®]	7.0
3	<i>B. subtilis</i>	8.0 X10 ⁹ UFC [®]	8.0
4	Tiofanato metílico	700	1.0
5	Testigo	----	----

Símbolos y abreviaturas utilizadas: [®]Número de tratamiento, i.a = ingrediente activo, [®]Unidades Formadoras de Colonias, g·ha⁻¹ = gramos por hectárea y kg·ha⁻¹ = kilogramos por hectárea.

3.4.3. Aplicaciones

Se llevaron a cabo cuatro aplicaciones de cada tratamiento a intervalos de siete días entre cada aplicación. Estas fueron iniciadas cuando se detectaron las condiciones de humedad y temperatura óptimas (Humedad relativa de 75 a 85% y temperaturas entre 24 a 30°C) para el desarrollo de la enfermedad (Jarvis, 1960). En este caso se utilizó una aspersora motorizada marca Aritmizu con una boquilla de dos puntas de abanico fino, previamente calibrada para dar un gasto de agua de 522 L·ha⁻¹.

3.4.4. Muestreo y evaluación

Se llevó a cabo una evaluación previa a la primera aplicación, posteriormente se realizaron evaluaciones cada siete días después de cada aplicación y catorce días después de la última aplicación, siendo un total de seis

evaluaciones. Se muestrearon al azar 15 frutos por unidad experimental de 15 plantas de fresa. El nivel de infección en estos frutos se evaluó de manera cualitativa a través de la escala que se muestra en el Cuadro 9. Se realizaron seis evaluaciones cada siete días a partir del 23 de octubre al 27 de noviembre de 2001.

3.4.5. Análisis de los datos

El porcentaje de infección de la enfermedad se calculó de acuerdo a la fórmula de Townsend y Heuberger como se menciona en el apartado 3.5.1; mientras que el análisis temporal de la enfermedad, así como el cálculo del área bajo la curva del progreso de la enfermedad fueron estimados como se menciona en los apartados 3.5.2 y 3.5.3, respectivamente.

Cuadro 9. Escala visual cualitativa para evaluar el efecto antagónico de *B. subtilis* QST 713 contra la pudrición café (*B. cinerea*) de los frutos de fresa en Abasolo, Guanajuato. Agrios 1991.

Índice o clases	Descripción
0	0.0% Hoja sana
1	0.1 a 3.125% del área de fruto dañado (AFD)
2	3.2 a 6.25% de AFD
3	6.3 a 12.5% de AFD
4	12.6 a 25% de AFD
5	25.1 a 50% de AFD
6	50.1% o más de AFD

3.5. Formulas empleadas para el análisis de datos de los diferentes ensayos

3.5.1. Formula para el cálculo del porcentaje de infección

El porcentaje de infección se calculó con la fórmula de Townsend y Heuberger (1943), siguiente:

$$P = [\Sigma(nt)/vN]100$$

Donde:

P = Porcentaje de infección en plantas o frutos

n = Número de plantas o frutos en cada categoría

t = Valor numérico de cada categoría

N = Numero total de plantas o frutos en la muestra

v = Valor máximo de la escala usada

3.5.2. Modelos epidemiológicos de las enfermedades

A partir de los datos de porcentaje de infección calculados para los ensayos con cinco a seis evaluaciones, se realizaron curvas de crecimiento acumuladas (gráficas) de cada una de las epidemias, posteriormente, se analizaron las curvas de incremento de las enfermedades para ajustar a los cuatro modelos

siguientes: exponencial, logístico, monomolecular y Gompertz, utilizando el programa Statistical Analysis System (SAS) (ver anexo 1). De acuerdo a los estadísticos se tomó el coeficiente de determinación (r^2) más alto y el cuadrado medio del error (CME) más bajo (Osada, 1990). Una vez seleccionado el modelo se procedió a estimar la tasa relativa de incremento de la enfermedad, ajustándose a los modelos monomolecular y Gompertz mediante las fórmulas siguientes:

Modelo Monomolecular $r = \frac{\ln\{1/(1-y_0)\} - \ln\{1/(1-y_t)\}}{t}$

Modelo Gompertz $r = \frac{\ln\{1/\ln(1/y_0)\} - \ln\{1/\ln(1/y_t)\}}{t}$

Donde:

r = Tasa relativa de incremento de la enfermedad

y_0 = Porcentaje de infección inicial de la enfermedad, dividido entre 100.

y_t = Porcentaje de infección final de la enfermedad, dividido entre 100.

t = Tiempo hasta donde se tiene el porcentaje de incidencia de enfermedad final.

3.5.3. Análisis temporal: Cálculo del área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE)

El análisis de ajuste de los modelos antes mencionados, se hizo con base en un programa diseñado (Anexo 1) para tal efecto. Adicionalmente, se calculó el área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE) y se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y una comparación de medias de Tukey al

($p \leq 0.5$) para los porcentajes de infección obtenidos con la fórmula Townsend y Heuberger, mediante el programa SAS (ver el anexo 2).

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Análisis del efecto antagónico de *B. subtilis* QST 713 contra la cenicilla (*O. taurica*) en jitomate

La variedad de jitomate ("Zuley") resultó ser altamente susceptible a la cenicilla y a las condiciones ambientales (Temperaturas de 28 a 32°C con humedades relativas de 65 a 70%), las cuales permitieron un desarrollo favorable del patógeno sobre el cultivo. Por lo que hubo un incremento alto de la enfermedad (Cuadro 10).

Todos los tratamientos se ajustaron al modelo Monomolecular debido a que fue el que mejor explicó el comportamiento de los datos. La comparación de las áreas bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE) mostró que todos los tratamientos son diferentes. Las menores áreas de la enfermedad las presentaron los tratamientos 4 y 5 que son azoxystrobin (Amistar) y el azufre elemental (Lucaflow) y que además obtuvieron las tasas relativas de incremento más bajas (Cuadro 10). El testigo absoluto mostró una ABCPE mayor y una tasa relativa mayor de incremento de la enfermedad (966 y 0.391, respectivamente). Esto indica que los productos ejercieron un efecto favorable al evitar el avance de la enfermedad en las plantas de jitomate tratadas.

Cuando se realizó la primera aplicación de *B. subtilis* QST 713 Serenade 10 PH (tratamientos 1, 2 y 3) y de los otros dos fungicidas (tratamientos 4 y 5), el porcentaje de daño en hojas varió de 0.0 en hoja sana a 1.2 % de área afectada. Los síntomas fueron observados principalmente en el tercio inferior de las plantas. La severidad de la enfermedad se comenzó a incrementar una semana después de la primera aplicación de los productos. En general, los productos Azoxystrobin y azufre elemental (tratamientos 4 y 5) presentaron un control mayor de la cenicilla (*O. Taurica*) con respecto al testigo (tratamiento 6); mientras que *B. subtilis* QST 713 presentó un control moderado de la cenicilla, aunque este fue menor que el de los tratamientos 4 y 5.

Cuadro 10. Tratamientos ajustados al modelo monomolecular, valores de ABCPE, comparación de medias y la tasa relativa de incremento de la enfermedad *O. taurica* en el cultivo de jitomate en Ahome, Sinaloa.

Tratamiento	Producto	Modelo	ABCPE*	r^{2**}
1	<i>B. subtilis</i> QST 713	Monomolecular	650.65	0.237 ^b
2	<i>B. subtilis</i> QST 713	Monomolecular	587.41	0.215 ^{bc}
3	<i>B. subtilis</i> QST 713	Monomolecular	515.20	0.188 ^c
4	Azoxystrobin	Monomolecular	356.65	0.117 ^d
5	Azufre elemental	Monomolecular	396.20	0.128 ^d
6	Testigo	Monomolecular	966.00	0.391 ^a

Símbolos y abreviaturas utilizadas: *Área bajo la curva del progreso de la enfermedad. **Tasa relativa de incremento de la enfermedad. Medias con la misma letra no son estadísticamente diferentes ($\alpha = 0.05$).

Con respecto a los tratamientos en los que se utilizó *B. subtilis* QST 713 (1, 2 y 3) se observó que el tratamiento 3 con una concentración de 8×10^9 UFC·ml⁻¹ fue el que presentó el ABCPE menor y en consecuencia una tasa relativa

menor de incremento de la enfermedad (0.188). En resumen, el tratamiento que presentó la mayor concentración de producto fue el que controló mejor la infección.

A través del tiempo en los diferentes tratamientos se observó un incremento de la enfermedad y a los 85 DDA, se observó lo siguiente; en el testigo absoluto, se rebasó el 60% de infección. En los tratamientos 1, 2 y 3 (*B. subtilis* QST 713) se encontró de un 40 a 45% de infección aproximadamente, dicha infección se redujo hasta 25% en los tratamientos 4 y 5 (Figura 5).

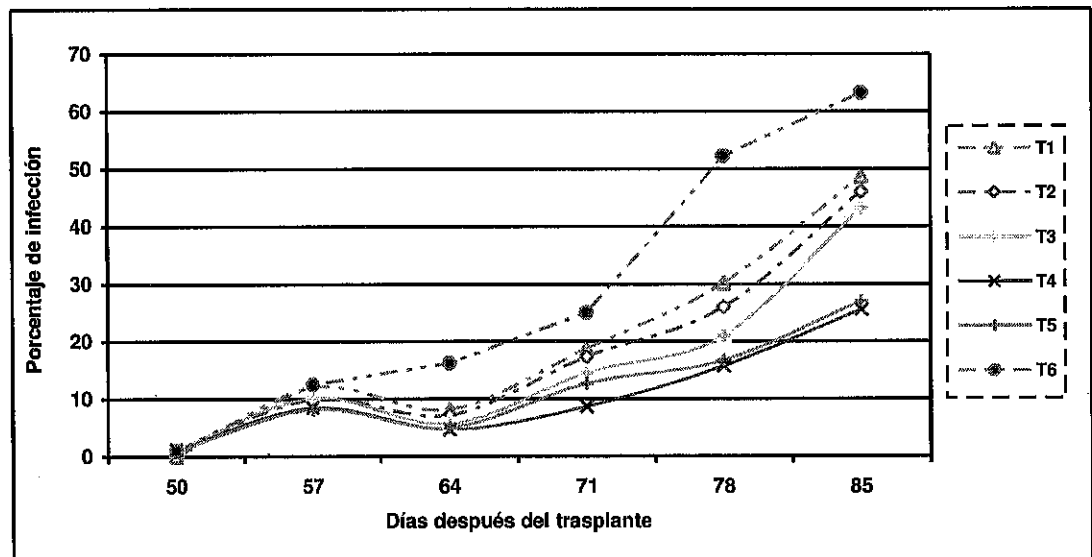


Figura 5. Comportamiento del progreso de la infección *Oidiopsis taurica* con los diferentes tratamientos para el cultivo de jitomate en Ahome, Sinaloa.

Algunos trabajos revelan que algunas sustancias como las que se mencionan a continuación son compatibles con *B. subtilis* y tienen efecto sobre el avance en

la infección de algunos hongos fitopatógenos ubicados en la Familia Erysiphaceae. Montes y Martínez (1992), encontraron que el extracto de epazote borrego tuvo un efecto en el avance de la infección ocasionado por la cenicilla de las cucurbitáceas en calabacita italiana (Gray Zucchini). Este comportamiento también fue observado cuando se aplicó una solución de bicarbonato de sodio mezclado con Tween 20 contra la cenicilla del rosal (*Sphaerotheca pannosa*) (Horst *et al.*, 1992). No obstante, en este estudio el control de *B. subtilis* QST 713 registró un menor efecto que los tratamientos a base de azoxystrobin y azufre elemental. Sin embargo, puede ser una opción viable debido a que no tiene ningún efecto sobre organismos benéficos o efectos toxicológicos en la generación de residuos.

En el cuadro 11, se muestra el comportamiento de los tratamientos a través del tiempo y al compararse con los datos del área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE) se observó que existe una relación muy estrecha, ya que la infección fue aumentando paulatinamente en el testigo absoluto hasta alcanzar un 63.2%; seguido del tratamiento 1 que alcanzó un 48.7%; posteriormente el tratamiento 2 con un 46.0%, presentando una infección menor en los tratamiento 4 y 5 con un 25.5 y 27.0%, respectivamente. El tratamiento tuvo un ABCPE menor con respecto a todos los demás tratamientos fue el azoxystrobin, como se muestra en el Cuadro 10.

Cuadro 11. Comparación de medias de los porcentajes de infección de *B. subtilis* QST 713 contra *Oidiopsis taurica* en el cultivo de jitomate en Ahome, Sinaloa.

Tratamiento	50 DDT	57DDT	64 DDT	71 DDT	78 DDT	85 DDT
1	0.0 ^a	12.0 ^{ab}	8.2 ^b	18.7 ^{ab}	30.2 ^b	48.7 ^b
2	1.0 ^a	10.0 ^{ab}	7.2 ^{bc}	17.3 ^{ab}	26.0 ^{bc}	46.0 ^b
3	1.2 ^a	10.2 ^{ab}	5.7 ^{bc}	14.5 ^{bc}	21.0 ^{bc}	43.2 ^b
4	1.2 ^a	8.5 ^{ab}	4.7 ^c	8.7 ^c	15.7 ^c	25.5 ^c
5	1.0 ^a	8.2 ^b	5.0 ^{bc}	12.7 ^{bc}	16.7 ^c	27.0 ^c
6	1.0 ^a	12.5 ^a	16.2 ^a	25.0 ^a	52.2 ^a	63.2 ^a

Abreviaturas utilizadas: DDT = Días después del trasplante. Medias con la misma letra no son estadísticamente diferentes ($\alpha = 0.05$).

4.2. Análisis del efecto antagónico de *B. subtilis* QST 713 contra la mancha bacteriana (*X. vesicatoria*) en jitomate

4.2.1. Ensayo 1: Comparación del efecto de *B. subtilis* QST 713 en mezcla con cobre para el control de la mancha bacteriana

En el Cuadro 12 se describe el modelo de ajuste, el área bajo la curva, los grupos de significancia y la tasa relativa de incremento de la enfermedad, para cada uno de los tratamientos. El ABCPE menor fue registrado en el tratamiento 4 (una mezcla de $4 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ de *B. subtilis* + $3 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ de oxiclورو de cobre). El *B. subtilis* (tratamiento 1) fue ligeramente menor que la mezcla de *B. subtilis* y oxiclورو de cobre (tratamiento 2), y superior a los tratamientos 5, 6 y 7 (con áreas de enfermedad de 252.5, 256.5 y 435.5, respectivamente). Por otro lado, los tratamientos 3 y 4 (*B. subtilis* + oxiclورو de cobre) presentaron las ABCPE menores con respecto al testigo (tratamiento 7), no se encontraron diferencias significativas entre ellos, ya que ambos presentaron una tasa relativa de incremento de la enfermedad menor.

Cabe la posibilidad de que la efectividad de los bactericidas utilizados se pudo deber a que las aplicaciones se iniciaron con un grado 2 de la enfermedad (11 a 20% de área afectada) de acuerdo con la escala correspondiente (Cuadro 12); ya que es difícil que la infección ocasionada por este patógeno se reduzca en tan corto tiempo. La diferenciación en cuanto a las ABCPE es a partir de que

comienza a aumentar la infección en el testigo absoluto y en los tratamientos se mantiene estable o se reduce ligeramente.

Cuadro 12. Tratamientos ajustados al modelo monomolecular, valores de ABCPE, comparación de medias y la tasa relativa de incremento de la enfermedad inducida por *Xanthomonas vesicatoria* en el cultivo de jitomate en Ecuandureo, Michoacán.

Trat. [¶]	Producto	Modelo	ABCPE*	r ^{2**}
1	<i>B. subtilis</i>	Monomolecular	170.7	0.0898 ^c
2	<i>B. subtilis</i> + oxiclورو de cobre	Monomolecular	189.65	0.106 ^c
3	<i>B. subtilis</i> + oxiclورو de cobre	Monomolecular	151.4	0.077 ^d
4	<i>B. subtilis</i> + oxiclورو de cobre	Monomolecular	129.0	0.0696 ^d
5	Mancozeb + oxiclورو de cobre	Monomolecular	252.55	0.139 ^b
6	Gentamicina + oxitetraciclina	Monomolecular	256.50	0.139 ^b
7	Testigo	Monomolecular	435.5	0.254 ^a

Símbolos y abreviaturas utilizadas: *Área bajo la curva del progreso de la enfermedad. **Tasa relativa de incremento de la enfermedad. ¶ Número de tratamiento. Medias con la misma letra no son estadísticamente diferentes ($\alpha = 0.05$).

El comportamiento del porcentaje de infección de la enfermedad a través del tiempo mostró que el testigo absoluto incrementó la infección de manera semi-lineal (incremento exponencial); sin embargo, es probable que después de cierto tiempo la infección tienda a disminuir. Por otro lado, el tratamiento 1 (*B. subtilis*) no se comparó con el de los productos convencionales evaluados (tratamientos 5 y 6), sin embargo redujo la infección del patógeno de manera considerable (Figura 6).

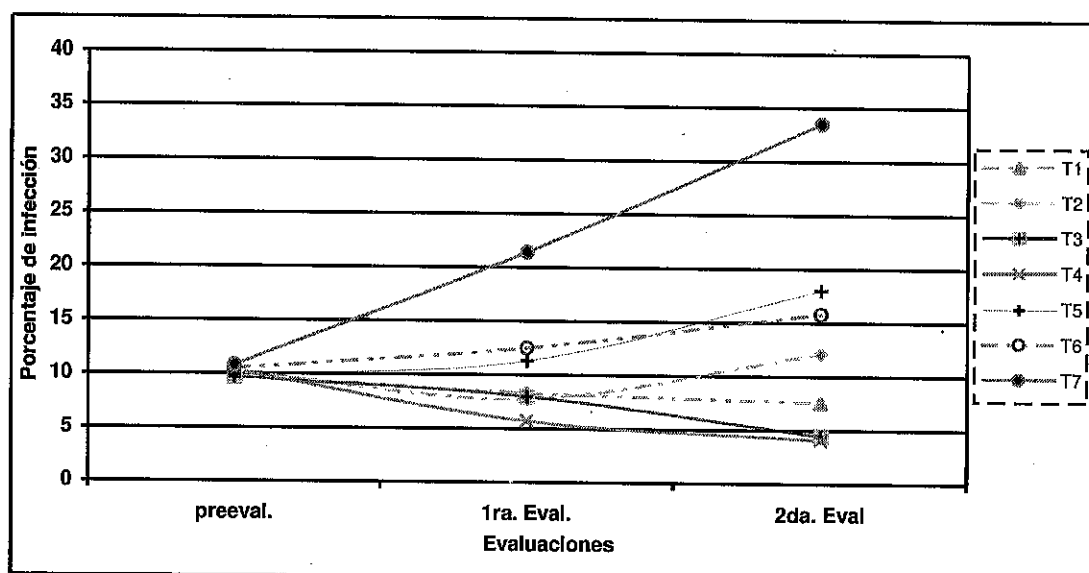


Figura 6. Ensayo 1: Comportamiento del progreso de la mancha bacteriana *X. vesicatoria* con los diferentes tratamientos para el cultivo de jitomate en Ecuandureo, Michoacán.

Mediante el análisis de varianza (ANOVA) para los porcentajes de infección directos se encontró con la prueba Tukey al 95% de confiabilidad que el tratamiento mejor fue el 4 ($4 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ de *B. subtilis* + $3 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ de oxiclورو de cobre), ya que en dicho tratamiento se observó una disminución paulatina de la enfermedad. Además, presentó diferencias significativas (2^{da} evaluación) con respecto a los demás tratamientos (excepto con el tratamiento 3).

La infección en el testigo se incrementó aproximadamente tres veces más que la que se había detectado al inicio, de un 10.0 a un 33.5% (Cuadro 13).

Cuadro 13. Ensayo 1: Comparación de medias de los porcentajes de infección de *B. subtilis* QST 713 contra *X. vesicatoria* en el cultivo de jitomate en Ecuandureo, Michoacán.

Tratamiento	Previa ⁺	Primera ⁺	Segunda ⁺
1	9.89 ^a	8.3 ^{bc}	7.65 ^{bcd}
2	10.23 ^a	7.8 ^{bc}	12.1 ^{bc}
3	9.75 ^a	8.0 ^{bc}	4.53 ^d
4	10.34 ^a	5.7 ^c	4.18 ^d
5	9.91 ^a	11.3 ^b	18.0 ^b
6	10.50 ^a	12.5 ^b	15.8 ^b
7	10.80 ^a	21.4 ^a	33.5 ^a

Símbolos utilizados: ⁺ Evaluaciones realizadas.

Medias con la misma letra no son estadísticamente diferentes ($\alpha = 0.05$).

4.2.2. Ensayo 2: Comparación del efecto de Serenade (*B. subtilis* QST 713) en mezcla con cobre para el control de la mancha bacteriana

El testigo absoluto presentó la tasa relativa de incremento de la mancha bacteriana (*X. vesicatoria*) más elevada (0.277). En lo que se refiere al ABCPE se pudo observar que presentaron dos valores bajos, los cuales fueron en los tratamientos 5 y 6 (299.3 y 260.5, respectivamente) por lo que en estos tratamientos se presentó un control mayor de la infección en comparación con el testigo, en donde la reducción fue de un 63 y 68%, respectivamente. No obstante, se esperaba que el producto comercial (en el tratamiento 9) hubiera tenido un control mayor de la mancha bacteriana (*X. vesicatoria*), pero no fue mayor que el que tuvieron los tratamientos 6, 5 y 3; ya que redujo la infección en aproximadamente un 56% (Cuadro 14).

Dado que el híbrido Toro sobre el cual se desarrolló el ensayo es altamente susceptible al patógeno y además de las condiciones ambientales fueron adecuadas (Humedad relativa mayor al 80% y temperatura de 25 a 35°C) para su desarrollo, aún el producto a base de bactericidas como la gentamicina y la oxitetraciclina (tratamiento 8), registraron una eficacia baja en comparación con los demás tratamientos a base de cobre y *B. subtilis*.

Cuadro 14. Tratamientos ajustados a los modelo Gompertz y Monomolecular, valores de ABCPE, comparación de medias y la tasa relativa de incremento de la mancha bacteriana (*Xanthomonas vesicatoria*) en el cultivo de jitomate en Ecuandureo, Michoacán.

Tratamiento	Producto	Modelo	ABCPE*	r ^{2**}
1	<i>B. subtilis</i> + Oxiclورو de cobre	Gompertz	405.25	0.124 ^b
2	<i>B. subtilis</i> + Oxiclورو de cobre	Gompertz	405.10	0.123 ^b
3	<i>B. subtilis</i> + Oxiclورو de cobre	Gompertz	330.35	0.102 ^c
4	<i>B. subtilis</i> + Oxiclورو de cobre	Monomolecular	323.40	0.098 ^c
5	<i>B. subtilis</i> + Oxiclورو de cobre	Monomolecular	299.30	0.088 ^{cd}
6	<i>B. subtilis</i> + Oxiclورو de cobre	Monomolecular	260.45	0.075 ^e
7	<i>B. subtilis</i> + sulfato de cobre	Monomolecular	383.30	0.115 ^{bc}
8	<i>B. subtilis</i> + Gentamicina + oxitetraciclina	Monomolecular	379.60	0.117 ^{cd}
9	Mancozeb + oxiclورو de cobre	Monomolecular	355.75	0.102 ^{cd}
10	Testigo	Monomolecular	802.85	0.277 ^a

Símbolos y abreviaturas utilizadas: *Área bajo la curva del progreso de la enfermedad. **Tasa relativa de incremento de la enfermedad. Medias con la misma letra no son estadísticamente diferentes ($\alpha = 0.05$).

El grado mayor de infección de la enfermedad en el testigo absoluto (tratamiento 10) se obtuvo durante la segunda evaluación que fue de 37.3%, mientras que el incremento mayor se presentó entre la primera y la segunda evaluación que fue de 20.4%. Sin embargo, se observó que la curva de la enfermedad disminuyó drásticamente en aproximadamente un 15% de la infección. Todos los tratamientos a base de *B. subtilis* y mezclas presentaron un efecto positivo de control sobre el patógeno, ya que ningún tratamiento rebaso el 20% de infección (Figura 7).

En todos los tratamientos (excepto en el testigo) hubo un decremento de la enfermedad a partir de la primera evaluación, el cual fue de 50% aproximadamente. Sin embargo, en la gráfica podemos observar que la dosis más alta de *B. subtilis* con oxiclورو de cobre presentó el efecto mejor en el control de la infección (Figura 7).

En la comparación de medias mediante de la prueba Tukey ($\alpha = 0.05$) se presentaron diferencias significativas en la primera evaluación con respecto al testigo (tratamiento 10); sin embargo, para la segunda evaluación hubo diferencias significativas entre los tratamientos, en donde se observó que el tratamiento 6 presentó los valores mas bajos (9.5%) en el control de la enfermedad. Por otro lado en esa misma evaluación, en el testigo absoluto se incrementó el porcentaje de infección en aproximadamente 20.4%, es decir, el testigo absoluto registro el porcentaje mayor de infección de la enfermedad.

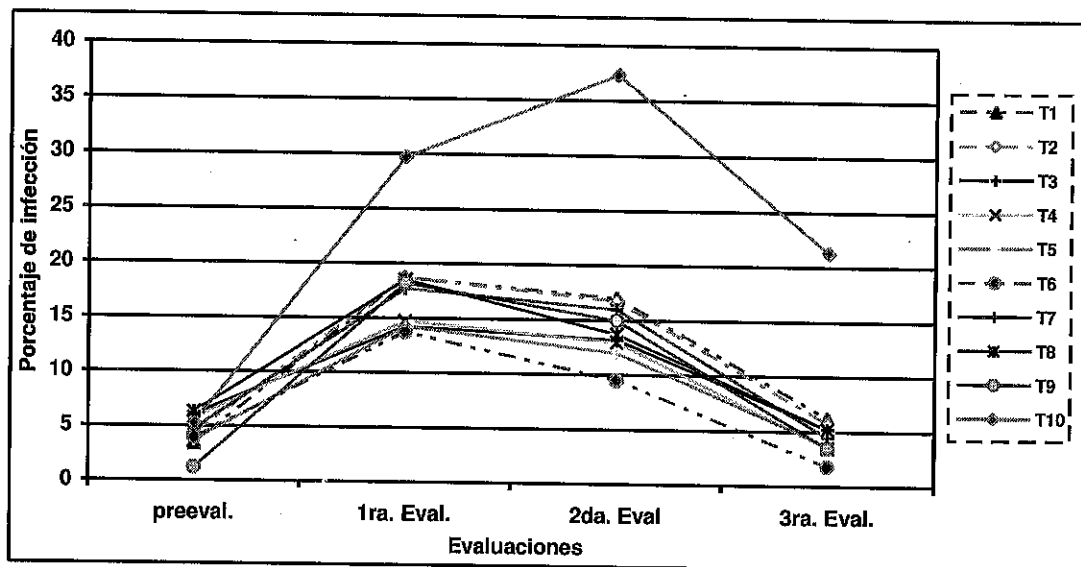


Figura 7. Ensayo 2: Comportamiento del progreso de la mancha bacteriana (*X. vesicatoria*) con los diferentes tratamientos para el cultivo de jitomate en Ecuandureo, Michoacán.

En la última evaluación se observó una drástica disminución de la enfermedad, lo cual se puede deber a errores de muestreo ya que como la evaluación fue de manera cualitativa en las hojas de las plantas es posible que en estas el muestreo haya sido diferente (Cuadro 15). En México se reporta que al mezclar *B. subtilis* con el fungicida Captan se mejora notablemente la acción contra patógenos en la raíz (Hobles-García, 1997), por lo que la mezcla con otros fungicidas o bactericidas como se realizó en este estudio es una alternativa buena para el control de *Xanthomonas vesicatoria* en jitomate.

Cuadro 15. Ensayo 2: Comparación de medias de los porcentajes de infección de *B. subtilis* QST 713 contra *X. vesicatoria* en el cultivo de jitomate en Ecuandureo, Michoacán.

Tratamiento	Previa ⁺	Primera ⁺	Segunda ⁺	Tercera ⁺
1	3.45 ^a	18.7 ^a	17.0 ^b	6.2 ^b
2	4.32 ^a	18.7 ^a	16.8 ^b	5.7 ^b
3	6.07 ^a	14.2 ^a	13.2 ^{bc}	5.2 ^b
4	5.78 ^a	14.7 ^a	13.0 ^{bc}	3.5 ^{bc}
5	3.76 ^a	14.2 ^a	12.0 ^{bc}	3.7 ^{bc}
6	3.89 ^a	13.7 ^a	9.5 ^c	1.8 ^c
7	4.76 ^a	17.7 ^a	16.0 ^b	4.5 ^b
8	6.32 ^a	18.5 ^a	13.7 ^{bc}	5.2 ^b
9	1.25 ^a	18.2 ^a	15.0 ^{bc}	3.5 ^{bc}
10	5.27 ^a	29.7 ^b	37.3 ^a	21.3 ^a

Símbolos utilizados: ⁺ Evaluaciones realizadas. Medias con la misma letra no son estadísticamente diferentes ($\alpha = 0.05$).

4.3. Análisis del efecto antagónico de *B. subtilis* QST 713 contra la mancha púrpura (*A. porri*) en cebolla

En todos los tratamientos (1, 2, 3 y 4) a los que se les aplicó el producto con diferentes concentraciones de *B. subtilis* y clorotalonil mostraron tasas relativas de incremento bajas (valores de 0.048 a 0.076) con respecto al testigo, además hubo una disminución de 71.5% de la infección en el caso de clorotalonil; para la concentración mayor de *B. subtilis* la reducción fue de 69% aproximadamente. Lo cual mostró que los productos aplicados a las plantas de cebolla infectadas con *A. porri* ejercieron un efecto favorable en la disminución de la enfermedad (Cuadro 16).

Los tratamientos fueron ajustados al modelo monomolecular debido a que fue el que mejor explico el comportamiento de los datos según el análisis estadístico (Cuadrado medio del error= 0.0013 y $r^2 >$ de 0.9). El ABCPE mayor se observó en el testigo (tratamiento 5), el cual fue significativamente diferente a los demás tratamientos. Además, también presentó el valor mas alto (0.194) de incremento de la enfermedad. Los tratamientos con *B. subtilis* en general mostraron una ABCPE menor que el testigo pero no con el clorotalonil (tratamiento 4); es decir, que el tratamiento 4 fue el que mejor resultados dio el control de la enfermedad, y la tasa de incremento que presento fue de 0.048. Mientras que los tratamientos con *B. subtilis* presentaron tasas de incremento de la enfermedad de 0.076 (tratamiento 1), de 0.051 (tratamiento 2) y de 0.050 (tratamiento 3).

Cabe señalar que el clorotalonil resultó ser el mejor tratamiento, pero no se descarta que el uso de *B. subtilis* sea una alternativa viable para el control de *A. porri* en el cultivo de cebolla (Cuadro 16).

Cuadro 16. Tratamientos ajustados al modelo Monomolecular, valores de ABCPE, comparación de medias y la tasa relativa de incremento de la mancha púrpura (*Alternaria porri*) en el cultivo de cebolla en Tonatico, Edo. de México.

Tratamiento	Producto	Modelo	ABCPE*	r^{2**}
1	<i>B. subtilis</i>	Monomolecular	198.41	0.076 ^b
2	<i>B. subtilis</i>	Monomolecular	155.22	0.051 ^c
3	<i>B. subtilis</i>	Monomolecular	146.96	0.050 ^{cd}
4	Clorotalonil	Monomolecular	135.38	0.048 ^d
5	Testigo	Monomolecular	476.0	0.194 ^a

Símbolos y abreviaturas utilizadas: *Área bajo la curva del progreso de la enfermedad. **Tasa relativa de incremento de la enfermedad. Medias con la misma letra no son estadísticamente diferentes ($\alpha = 0.05$).

El comportamiento de los diferentes tratamientos a través del tiempo (a intervalos de 7 días) fue el siguiente en la primera evaluación el testigo absoluto presentó un avance lento de la enfermedad, el cual se pudo deber a que existía muy poca presión del patógeno o a la presencia escasa de follaje en las plantas. Con respecto a las demás evaluaciones (2^{da}, 3^{era} y 4^{ta}) se observó claramente que los tratamientos aplicados ejercieron un efecto de control; ya que en algunos casos los tratamientos 2, 3 y 4 lograron disminuir a la enfermedad, mientras que el tratamiento 1 solamente se mantuvo. Es decir, esto conlleva a que sin ningún tipo de aplicación, el testigo se dispara hasta causar pérdidas considerables. Finalmente, en este ensayo los tratamientos 4 y 3 resultaron ser mejores para el control de *A. porri* (0.048 y 0.050, respectivamente) (Figura 8).

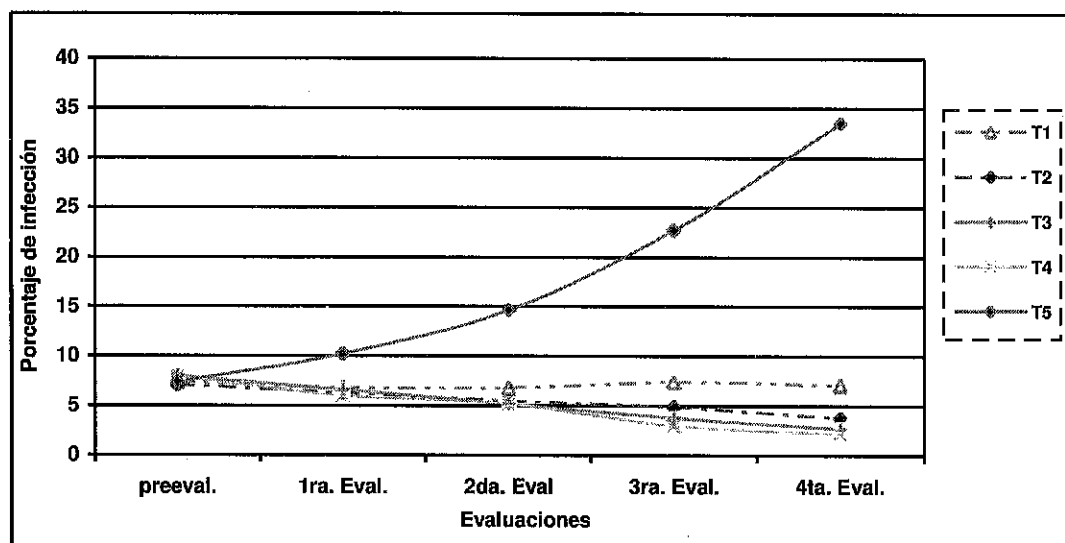


Figura 8. Comportamiento del progreso de la infección *A. porri* con los diferentes tratamientos para el cultivo de cebolla en Tonicato, Edo. de México.

A los siete días de la primera aplicación no hubo diferencias estadísticas entre los tratamientos considerando que a una baja presión del patógeno la efectividad de *B. subtilis* es comparable a la de un producto químico convencional. En evaluaciones posteriores se manifestó una tendencia positiva de control en la aplicación de los tratamientos, en donde se encontró que la dosis más alta de *B. subtilis* QST 713 presentó buen efecto; esto se debió posiblemente a que al aumentar el área de infección, la presión del patógeno también se incrementa. Sin embargo, el producto con clorotalonil presentó el mejor efecto de control de la enfermedad, dicho efecto fue igual al de *B. subtilis* en su dosis más alta ($8 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$); siendo necesario considerar la relación costo-beneficio⁻¹ ya que cuando la presión del patógeno es alta se puede alternar este producto con algunos otros de efectividad comprobada (Cuadro

17). Los resultados anteriores obtenidos, demuestran lo reportado por Gustafson, 1993, quien mencionó niveles de control contra patógenos de la raíz (*Pythium* y *Fusarium*) similares a los obtenidos con productos químicos.

Cuadro 17. Comparación de medias de los porcentajes de infección de *B. subtilis* QST 713 contra *A. porri* en el cultivo de cebolla en Tonalico, Edo. de México.

Tratamiento	Previa ⁺	Primera ⁺	Segunda ⁺	Tercera ⁺	Cuarta ⁺
1	7.42 ^a	6.87 ^b	6.87 ^b	7.42 ^b	7.15 ^b
2	7.15 ^a	6.32 ^b	5.5 ^b	4.95 ^c	3.85 ^{bc}
3	8.0 ^a	6.6 ^b	5.22 ^b	3.85 ^c	2.75 ^c
4	7.97 ^a	6.05 ^b	5.22 ^b	3.02 ^c	2.2 ^c
5	7.45 ^a	10.25 ^a	14.67 ^a	22.75 ^a	33.57 ^a

Símbolos utilizados: ⁺ Evaluaciones realizadas. Medias con la misma letra no son estadísticamente diferentes ($\alpha = 0.05$).

4.4. Análisis del efecto antagónico de *B. subtilis* QST 713 contra el moho gris (*B. cinerea*) en fresa

En este ensayo la tasa relativa de incremento de la enfermedad fue mas bajas si la comparamos con el efecto de *B. subtilis* QST 713 contra la mancha púrpura de la cebolla. En el tratamiento 4 (cercobin M) se presentó una tasa relativa de incremento de la enfermedad baja (0.006); sin embargo, aplicando *B. subtilis* (tratamientos 1, 2 y 3) también se presentó una tasa relativa de incremento de la enfermedad baja. El tratamiento con concentración mayor de *B. subtilis* fue el que mejor resultados dio, ya que no presentó diferencias significativas con el tratamiento 4 (cercobin M). También se observó que el incremento en el testigo (tratamiento 5) fue muy superior a todos los demás tratamientos, ya que tuvo un valor de 0.169 (Cuadro 18).

En lo que respecta a las áreas bajo la curva del progreso de la enfermedad se pudo observar que solo son comparables estadísticamente con la acción de la dosis más alta de *B. subtilis* ($8 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$) con el producto comercial utilizado (Cercobin M). Aunque el comportamiento del uso de las demás dosis probadas es viable, ya que registraron tasas relativas de incremento de la enfermedad bajas, que van de 0.006 a 0.032, por lo cual no se ve afectado el rendimiento ni la calidad de la cosecha (Cuadro 18).

Cuadro 18. Tratamientos ajustados al modelo Monomolecular, valores de ABCPE, comparación de medias y la tasa relativa de incremento de la enfermedad *B. cinerea* en el cultivo de fresa en Abasolo, Guanajuato.

Tratamiento	Producto	Modelo	ABCPE*	r^{**}
1	<i>Bacillus subtilis</i>	Monomolecular	81.48	0.032 ^b
2	<i>Bacillus subtilis</i>	Monomolecular	50.82	0.016 ^c
3	<i>Bacillus subtilis</i>	Monomolecular	33.98	0.012 ^{cd}
4	Tiofanato metílico	Monomolecular	20.58	0.006 ^d
5	Testigo	Monomolecular	545.54	0.169 ^a

Símbolos y abreviaturas utilizadas: *Área bajo la curva del progreso de la enfermedad. **Tasa relativa de incremento de la enfermedad. Medias con la misma letra no son estadísticamente diferentes ($\alpha = 0.05$).

La concentración mayor de *B. subtilis* QST 713 es comparable con la acción fúngica del tiofanato metílico contra *B. cinerea* (Figura 9). Esto coincide con los resultados obtenidos por Lazzaretti y Bettiol (1997), quienes muestran que *B. subtilis* tiene un efecto excelente sobre enfermedades radicales y algunas foliares, y su acción se compara con la de algunos fungicidas convencionales.

En la primera evaluación no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos (1, 2, 3 y 4) con respecto al testigo en la comparación de medias. No obstante, estas se presentaron hasta la cuarta evaluación principalmente entre las dosis evaluadas de Serenade (tratamiento 3) y Cercobin (tratamiento 4) ya que fueron estadísticamente iguales. Sin embargo, los tratamientos 1, 2, 3 y 4 fueron estadísticamente diferentes con respecto al testigo. Esto muestra que la aplicación de los productos tiene un control adecuado sobre el patógeno *B. cinerea* en el cultivo de fresa, ya que se observó una disminución de la infección (Cuadro 19).

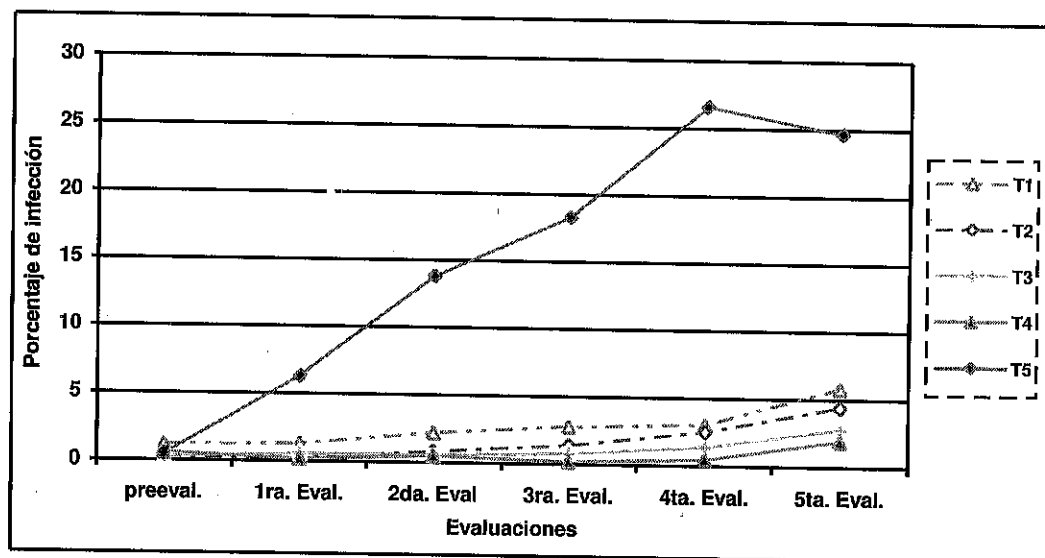


Figura 9. Comportamiento del progreso de la infección *B. cinerea* con los diferentes tratamientos para el cultivo de fresa en Abasolo, Guanajuato.

Cabe señalar que los tratamientos a base de *B. subtilis* QST 713 y de tiofanato metílico (cercobín M), tuvieron un comportamiento particular, como se muestra en la comparación de medias. En los tratamientos 1, 2 y 3 la enfermedad aunque fue controlada, se incremento en las evaluaciones subsecuentes sin rebasar el 6% de infección, lo cual indico que se deben hacer más evaluaciones durante todo el ciclo del cultivo. En contraste, en el tratamiento 4, se observo que al realizar la aplicación se controló la infección y después tendía a ligeros incrementos de esta, lo cual coincide con lo reportado por Rubio-Aldana, 2002, quien encontró este comportamiento en el control de la cenicilla en cucurbitáceas.

Cuadro 19. Comparación de medias de los porcentajes de infección de *B. subtilis* QST 713 contra *B. cinerea* en el cultivo de fresa en Abasolo, Guanajuato.

Tratamiento	Previa ⁺	Primera ⁺	Segunda ⁺	Tercera ⁺	Cuarta ⁺	Quinta ⁺
1	1.2 ^a	1.38 ^b	2.22 ^b	2.77 ^b	3.05 ^b	5.82 ^b
2	0.32 ^a	0.27 ^b	0.83 ^b	1.38 ^b	2.49 ^{bc}	4.44 ^{bc}
3	0.32 ^a	0.55 ^b	0.55 ^b	0.83 ^b	1.38 ^{bc}	2.77 ^{bc}
4	0.66 ^a	0.27 ^b	0.55 ^b	0.27 ^b	0.55 ^c	1.94 ^c
5	0.58 ^a	6.38 ^a	13.88 ^a	18.37 ^a	26.66 ^a	24.71 ^a

Símbolos utilizados: ⁺ Evaluaciones realizadas. Medias con la misma letra no son estadísticamente diferentes ($\alpha = 0.05$).

V. CONCLUSIONES

- ❖ En el caso de la cenicilla (*Oidiopsis taurica*) del jitomate, las tres dosis de *Bacillus subtilis* ejercieron un control adecuado de la enfermedad, 20% hasta los 71 días después del trasplante, aunque el mejor efecto de estas dosis se obtuvo con $8.0 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$. Sin embargo, los productos azoxystrobin y azufre elemental presentaron el control mejor, de 8 y 12% respectivamente a los 71 días después del trasplante.
- ❖ En el caso del ensayo 1, para la mancha bacteriana *Xanthomonas vesicatoria* del jitomate las cuatro dosis de *Bacillus subtilis*, *Bacillus subtilis* + oxiclورو de cobre) ejercieron un control bueno de la enfermedad, aunque el control mejor lo obtuvieron las concentraciones mayores de estos productos; además se encontró, que existe compatibilidad entre ellos.
- ❖ En el caso del ensayo 2, para la mancha bacteriana *Xanthomonas vesicatoria* del jitomate las dosis mejores de *Bacillus subtilis* fueron con *B. subtilis* + oxiclورو de cobre en concentraciones de mas altas ($2.5 + 3.0$ y $3.0 + 3.0 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ de producto formulado).
- ❖ En el caso de la mancha púrpura *Alternaria porri* de la cebolla, las tres dosis de *Bacillus subtilis* 5.0 , 6.5 y $8.0 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ de producto formulado, ejercieron un control adecuado de la enfermedad menor al 8% de infección durante todo

el ensayo, aunque el mejor efecto de estas dosis se obtuvo con $8.0 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$. Sin embargo, el producto clorotalonil presentó el control mejor de la enfermedad.

- ❖ En el caso del moho gris *Botrytis cinerea* de la fresa, las tres dosis de *Bacillus subtilis* 6.0, 7.0 y $8.0 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ ejercieron un control adecuado de la enfermedad menor al 5% durante todo el ensayo, aunque el mejor efecto de estas dosis se obtuvo con $8.0 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$. Sin embargo, el producto tiofanato metílico presentó el control mejor de la enfermedad.

VI. BIBLIOGRAFIA

- AgraQuest, Inc. 2000. Technical information bulletin. Serenade biofungicide (*Bacillus subtilis*) wettable powder. Agraquest, Inc. Drew Avenue, Davis California, pp. 2-6.
- Agrios, N. G. 1991. Fitopatología. 1era. Edición. Ed. Limusa. México, D.F. pp: 48-133.
- Andrade, D. E.; G. T. Silva; E. B. Michereff; S. J. Mariano; R.L.R. and W. Bettoil. 1995. Control of Yam leaf blight with *Bacillus subtilis* extracts and formulated cells. Summa Phytopathologica 21: 202-205.
- Arbiege M. V.; A. B. Bulthuis; J. Schultz and D. Crabb. 1993. Fermentation of *Bacillus*. In: Sonenshein, A. L.; Hoch, J. A. and Losick R. (eds.). *Bacillus subtilis* and other gram-positive bacteria: biochemistry, physiology, and other molecular genetics. American Society for Microbiology. Washington D.C. U.S. pp: 871-895.
- Arnaud, G. 1921. Etudes sur les champignons parasites. Annals Epiphyties 7: 1-115.
- Baker, R. and R. Cook. 1974. Biological control of plant pathogens. San Francisco, California, U.S.: W.H. Freeman and Co. 433 p.
- Barron-Yañez R.M. y Yañez-Caldelas A. 2002. Sensibilidad "in vitro" del agente causal de la antracnosis de los cítricos (*Colletotrichum gloesporioides* Penz). a benomil, Iprodiona, mancozeb, Trichoderma harzianum Rifai y *Bacillus subtilis* Cohen. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma Chapingo. Dpto. de Parasitología Agrícola.
- Bashan, Y; Y. Okon and Y. Henis. 1982. Long term survival of *Pseudomonas syringae* pv. tomato and *Xanthomonas campestris* pv. vesicatoria in tomato and pepper seeds. Phytopathology 72: 1143-1144.
- Bashan, Y. and Y. Okon. 1986. Internal and external infections of fruits and seeds of peppers by *Xanthomonas campestris* pv. vesicatoria. Canadian Journal of Botany 64: 2865-2871.
- Beauvérie, J., Guilliermond, A. 1903. Etude sur la structure du *Botrytis cinerea*. Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankheiten und Hygiene, Paris, France:10:275-281, 311-320.
- Besri M., 1991. Integrated control of cryptogamic diseases of tomato in Morocco. Bulletin SROP, 14(5):187-191; 19 ref.

- Bettiol, W.; L. M. Saito and B. S. M. Brandao. 1994. Control of coffee leaf rust (*Hemileia vastatrix*) with metabolites of *Bacillus subtilis*. *Summa Phytopathologica*. 20: 119-122.
- Boesewinkel H. J. 1980. The morphology of the imperfect states of powdery mildews (Erysiphaceae). *Botanical Review* 46: 167-224.
- Bowen, G.D., Rovira, A.D. 1976. Microbial colonization of plant roots, *Annual Review Phytopathology*. 14, 121-144.
- Broadbent, P., Baker K. F. and Waterworth, Y. 1971. Bacteria and actinomycetes antagonistic to root pathogens in Australia soils. *Aust. J. Biological Science*. 24: 925-944.
- Bulit, J. ; R. Lafon and G. Guillier. 1970. Périodes favorables à l'application de traitements pour lutter contre la pourriture grise de la vigne. *Phytopharmacie Revue de France de Médecine et Pharmacie Végétale* 19: 159-165.
- Burges H. D. 1981. Introduction to the biological control of plant pathogens. *In*: Burges H.D. (ed.). *Microbial Control of Pests and Plant Diseases 1970-1980* Academic Press, London. U.K. pp: 1-6.
- Campbell, R. 1989. *Biological control of microbial plant pathogens*. Cambridge University Press. Cambridge, U. K. 218 p.
- Centurion, M. A. P.; H. Kimati and T. G. Pareira. 1994. Action mechanisms of antagonistic micro-organisms selected for the biological control of bean rust (*Uromyces appendiculatus*). *Cientifica* 22: 163-175.
- Coley-Smith J. R. 1980. Sclerotia and other structures in survival *In*: Coley-Smith J.R.; Verhoeff K. and Jarvis W. R. 1980. *The Biology of Botrytis*. Academic Press. London, UK. pp: 85-114.
- Cook, R. J. and F. k. Baker. 1983. *The nature and practice of biological control of plant disease*. American Phytopathological Society, St. Paul Minnesota, E.U.A. pp: 16-23.
- Conner, I. L. 1967. An annotated index of plant diseases in Canada and fungi recorded in Alaska, Canada and Greenland. Canadian Department Agricultural Researches Branch, Ottawa. Canada, P: 1251.
- Copping. L. G. 1998. *The BioPesticide Manual*. First Edition. British Crop Protection Council. Farnham, U.K. pp: 29-35.
- Datar, V. V. 1994. Investigation on purple blotch of onion in India. *In: Alliums for the Tropics*. *Acta Horticulturae* 358: 259-263.

- Elad, Y. 1996. Mechanism involved in the biological control of *Botrytis cinerea* incited diseases. European Journal of Plant Pathology 102: 719-732.
- Ellis, M. B. and J. M. Waller. 1974. *Sclerotinia fuckeliana* (Conidial state: *Botrytis cinerea*). CMI Description of pathogenic fungi and bacteria, No. 341. Ed. CAB International. Wallingford, U. K. 301-306.
- FAO. 1997. FAO manual on the submission of pesticide residue data for the estimation of maximum residue levels in food and feed, Rome, Italy: FAO, p. 27.
- Faretra, F.; E. Antonacci and S. Pollastro. 1988. Sexual behaviour and mating system of *Botryotinia fuckeliana*, teleomorph of *Botrytis cinerea*. Journal of General Microbiology 134: 2543-2550.
- Faretra, F. and S. Pollastro. 1996. Genetic studies of the phytopathogenic fungus *Botryotinia fuckeliana* (*Botrytis cinerea*) by analysis of ordered tetrads. Mycological Research 100: 620-624.
- Fokkema, N. J. and W. J. Lorbeer. 1974. Interactions between *Alternaria porri* and the saprophytic microflora of onion leaves. Phytopathology 64: 1128-1133.
- Gitaitis, R. D. ; M. S. McCarter and J. B. Jones. 1992. Disease control in tomato transplants produced in Georgia and Florida, 1992. Plant Disease 76: 651-656.
- Groves, J. W. and A. C. Loveland. 1953. The connection between *Botryotinia fuckeliana* and *Botrytis cinerea*. Mycologia 45: 415-425.
- Gupta, R. B. L. and N. V. Pathak. 1987. Management of purple blotch, *Alternaria porri* (Ell.) Cif. of onion by summer ploughing and alteration of date of sowing. Zentralblatt für Mikrobiologie 142: 163-166.
- Gupta, R. B. L. and N. V. Pathak. 1988. Reaction of onion cultivars to purple blotch (*Alternaria porri*). International Journal of Tropical Plant Diseases 6: 129-131.
- Gustafson, Inc. 1993. Kodiak[™] biological fungicide. Technical bulletin. Plano Texas, U.S. 75093.
- Hallman, J.; R. Rodríguez-Kábana and J. W. Klopfer. 1998. Chitin mediated changes in bacterial communities of the soil, rhizosphere and internal roots of cotton in relation to nematode control. Soil Biological. Biochemistry kg-ha⁻¹. 31: 551-560.
- Harman, G. E. 1991. Seed treatments for biological control of plant diseases. Crop Protection 10: 166-171.
- Hennebert, G. L. 1973. *Botrytis* and *Botrytis*-like genera. Persoonia 7: 183-204.

Horst, R. K.; O. S. Kamoto and L. L. Porter. 1992. Effect of sodium bicarbonate and oils on the control of powdery mildew and black spot of roses. *Plant Disease* 76: 247-251.

Jarvis, W.R. 1960. An apparatus for studying hygroscopic responses in fungal conidiophores. *Transactions of the British Mycological Society*. 43:525-528.

Jarvis, W. R. 1977. *Botryotinia* and *Botrytis* species: taxonomy, physiology and pathogenicity. Monograph, Research Branch Canada Department of Agriculture Ontario, Canada. No. 15. 195 p.

Jarvis, W. R. 1980. Epidemiology. In: Coley-Smith J. R.; Verhoeff K. and Jarvis W. R. (eds). *The Biology of Botrytis*. Academic Press. London, UK. pp: 219-245.

Jones, W. B. and V. S. Thomson. 1982. The effects of fungicide treatments on yield and quality of tomato plants infected with *Leveillula taurica*. *Phytopathology* 72: pp:970.

Jones, J. B.; S. S. Woltz; P. J. Jones and L. K. Portier. 1991. Population dynamics of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* on tomato leaflets treated with copper bactericides. *Phytopathology* 81: pp: 714-719.

Jones, J. B.; E. R. Stall; W. J. Scott; C. G. Somodi; H. Bouzar and C. N. Hodge. 1995. A third tomato race of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *Plant Disease* 79: 395-398.

Krebs, B.; B. Hoding; S. Kubart; M. W. Alemayeu; H. Junge; G. Schmiedknecht; R. Grosch; H. Bochow and M. Hevels. 1998. Use of *Bacillus subtilis* as biocontrol agent. I. Activities and characterization of *Bacillus subtilis* strains. *Z. Pflanzenkrankh. Pflanzenschutz* 105: pp: 181-197.

Lawrence, P. P. 1989. Use of *Bacillus subtilis* and related organisms as biofungicides. *Pesticide. Society*. 27: pp:133-140.

Lazzaretti, E. and W. Bettiol. Treatment of rice, bean, wheat and soybean seeds with a product consisting of cells and metabolites of *Bacillus subtilis*. *Scientia agricola* 54: 89-96.

Leeman, M., Den Ouden, F.M., van Pelt, J.A., Dirks, F.P., Steijl, H. 1996. Iron availability affects induction of systemic resistance to *Fusarium* wilt radish by *Pseudomonas fluorescens*. *Phytopathology* 86: pp: 149-155.

Lievens, K.H., Van Rijsbergen r., Leyns, F.R., Lambert, B., Tenning, P., Swings, J., Joos, H. 1989. Dominant rhizosphere bacteria as a source for antifungal agents. *Pesticide. Society*. 27: pp: 141-154.

- Lynch, J.M. 1983. Microbiological factors in crop productivity, soil biotechnology, Blackwell Scientific Publications.
- McGuire, R. G. ; B. J. Jones and M. Sasser. 1986. Tween media for semiselective isolation of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* from soil and plant material. *Plant Disease* 70: pp: 887-891.
- McKeen, W. E. 1974. Mode of penetration of epidermal cell walls of *Vicia faba* by *Botrytis cinerea*. *Phytopathology* 64: pp: 461-467.
- McInnes, T. B.; D. R. Gitaitis; M. S. McCarter; A. C. Jaworski and C. S Phatak. 1988. Airborne dispersal of bacteria in tomato and pepper transplant fields. *Plant Disease* 72: 575-579.
- Millar, M. E.; D. B Bruton and M. J. Amador. 1986. Effects of number and timing of chlorothalonil applications on onion yield. *Plant Disease* 70: 875-876.
- Miller, M. E. and L. M. Lacy. 1995. Purple blotch. In: Schwartz, H. F. and Mohan S. K. (eds.). *Compendium of Onion and Garlic Diseases*. APS Press. St. Paul, USA. pp: 23-24.
- Minsavage, G. V.; D. Dahlbeck; C. M. Whalen; B. Kearney; U. Bonas; J. B. Staskawicz and E. R. Stall. 1990. Gene-for-gene relationships specifying disease resistance in *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* - pepper interactions. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 3: pp: 41-47.
- Mondal, M. F.; I. Hossain; I. A Bakshi and M. K. Nasiruddin. 1989. Effect of nitrogen and phosphorus on purple blotch of onion seed crop. *Bangladesh Journal of Plant Pathology* 5: 37-39.
- Montes, B. R. y G. M. Martínez. 1992. Control de la cenicilla (*Erysiphe cichoracearum*) y del mildiú de las cucurbitáceas (*Pseudoperonospora cubensis*) en calabacita, mediante extractos vegetales en los valles centrales de Oaxaca. *Revista Mexicana de Fitopatología* 10: pp: 186-191.
- Mukerji, K. J. 1968. *Leveillula taurica*. CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria No. 182. Ed. CAB International. Wallingford, U. K. pp:128-133.
- Nolla, J. A. B. 1927. A new *Alternaria* disease of onions (*Allium cepa* L.). *Phytopathology*, 17:115-132.
- Noviello, C. and Körf, R. P. 1961. A simple technique for investigating stomatal formation in the Sclerotiniaceae. *Mycologia*, 53:237-243.
- Osada, V.H.K. 1990. Comparación de seis esquemas de muestreo para determinar la severidad de daño por roya (*Uromyces fabae*) en haba (*Vicia faba*

- L.) en Chapingo México. Tesis profesional. UACH. Dpto. De Parasitología Agrícola.
- Palti, J. 1988. The *Leveillula* mildews. Botanical Review 54: 423-535.
- Pandotra, V. R. 1964. Purple blotch disease of onion in Punjab. I. Its occurrence, pathogenicity and host range. Proceedings of the Indian Academy of Science, Section B. 60: 336-340.
- Park, D. 1954. Chlamydospores and survival of soil fungi. Nature 173: 454-455.
- Podile, A.R., Dube, H.C. 1988. Plant growth promoting activity of *Bacillus subtilis*. Current Science (India). 57: pp: 183-186.
- Pohronezny, K. L. and B. R. Volin. 1983. The effect of bacterial spot on yield and quality of fresh market tomatoes. HortScience 18: pp: 69-70.
- Pohronezny, K.; E. R. Stall; I. B. Canteros; M. Kegley; E. L. Datnoff and R. Subramanya. 1992. Sudden shift in the prevalent race of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* in pepper fields in southern Florida. Plant Disease 76: pp: 118-120.
- Polach, F. J. and S. G. Abawi. 1975. The occurrence and biology of *Botryotinia fuckeliana* on beans in New York. Phytopathology 65: pp: 657-660.
- Robles-García, P. L. 1997. Evaluación del Kodiak (*Bacillus subtilis*) en tratamiento a semilla, para el control de enfermedades radicales del maíz en Chapingo, México. Depto. Parasitología Agrícola. Tesis en Licenciatura. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 72 p.
- Rodgers, B. P. 1989. Potential of biological control organisms as a source of antifungal compounds for agrochemical and pharmaceutical product development. Pesticide Science 27: pp: 155-164.
- Rubio-Aldana, A. 2002. Efectividad biológica de *Bacillus subtilis* contra la cenicilla de las cucurbitáceas (*Erysiphe cichoracearum* D.C.) en calabacita (Cucúrbita pepo L. Var. Zucchini). Tesis en Licenciatura. Depto. Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 64 p.
- Sandhu, K. S., Gill, S.P.S., Sidhu, J.S. 1981. Field evaluation of onion varieties against purple blotch. Indian Phytopathology, 34:540.
- Savon, R. y A. Ayala. 1986. Estudio comparativo de siete cultivares de cebolla (*Allium cepa*). Ciencia y Técnica en la Agricultura, Hortalizas, Papa, Granos y Fibras 5: 7-13.

Yucel, S. 1994. Survey studies of fungal diseases of protected vegetable areas in Mediterranean region. Bitki Koruma Bulteni 34: pp: 23-34.