

**BIOEFICACIA DE PRODUCTOS ORGÁNICOS, BIOLÓGICOS Y QUÍMICOS
CONTRA *Alternaria dauci* KÜHN Y SU EFECTO EN EL CULTIVO DE
ZANAHORIA**

ADALBERTO AGUIRRE AGUIRRE

TESIS

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

**UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO**

PROGRAMA DE GRADUADOS

Buenavista, Saltillo, Coahuila

Febrero 2005

**UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO**

SUBDIRECCION DE POSTGRADO

**BIOEFICACIA DE PRODUCTOS ORGANICOS, BIOLÓGICOS Y QUÍMICOS
CONTRA *Alternaria dauci* Kühn Y SU EFECTO EN EL CULTIVO DE
ZANAHORIA**

TESIS

POR

ADALBERTO AGUIRRE AGUIRRE

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

**MAESTRO EN CIENCIAS
EN PARASITOLOGIA AGRICOLA**

COMITE PARTICULAR

**Asesor principal: _____
Dr. Francisco Daniel Hernández Castillo**

**Asesor: _____
Dr. Ricardo Hugo Lira Saldívar**

**Asesor: _____
Dr. Eugenio Guerrero Rodríguez**

**Asesor: _____
Dr. Gabriel Gallegos Morales**

**Dr. Jerónimo Landeros Flores
Subdirector de Postgrado**

**Buenavista, Saltillo, Coahuila
Febrero de 2005**

AGRADECIMIENTOS

A MI ALMA MATER por la oportunidad que me brindo para formarme profesionalmente.

Al Comité de Asesoría por su apoyo durante el desarrollo de esta investigación y la revisión del formato de tesis.

Al Ing. Eduardo Villarreal por su amable colaboración al permitirme establecer el ensayo de campo, en sus huertos de zanahoria.

Especialmente al Dr. F. Daniel Hernández y Dr. R. Hugo Lira Zaldivar por su gran ayuda y disponibilidad brindada para la culminación de esta investigación.

A mis amigos Valentín Santiago, Raquel Guillen, Lilia Cruz y Dony M. Gaytan por su amistad y apoyo incondicional durante nuestra estancia en el Postgrado.

DEDICATORIAS

A Dios, por prestarme vida y salud para seguir adelante.

A mis Padres Adalberto Aguirre Carlos y Aurora Aguirre Hernández, por su cariño, apoyo y confianza brindado durante toda mi vida.

A mis Hermanos Mónica, Lourdes Adriana y Marco Antonio, por su cariño y por el hecho ser mis hermanos.

Especialmente a mi esposa Catalina, por el amor, apoyo y motivación brindado para alcanzar este logro.

COMPENDIO

BIOEFICACIA DE PRODUCTOS ORGANICOS, BIOLÓGICOS Y QUÍMICOS CONTRA *Alternaria dauci* Kühn Y SU EFECTO EN EL CULTIVO DE ZANAHORIA

POR

ADALBERTO AGUIRRE AGUIRRE

MAESTRIA EN PARASITOLOGIA AGRICOLA, UNIVERSIDAD AUTONOMA
AGRARIA ANTONIO NARRO; BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA
FEBRERO 2005

Dr. Francisco Daniel Hernández Castillo -Asesor-

Palabras clave; Fungicidas, *Bacillus* spp., quitosan, *Daucus carota*, *Larrea tridentata*.

Mediante experimentos de laboratorio, invernadero y campo se analizó la bioeficacia de cinco aislados de *Bacillus*; de la mezcla de los bioproductos quitosan y extracto de *Larrea tridentata*, así como de cinco fungicidas sintéticos; clorotalonil, fluazinam, iprodiona, propiconazol y tiabendazol contra el hongo *Alternaria dauci*; además, se determinó el efecto de estos compuestos en el crecimiento y rendimiento del cultivo de zanahoria. El aislado de *Bacillus* B1 mostró un mayor efecto antifúngico *in vitro* con una inhibición de 53.44 por ciento y fue estadísticamente superior que los demás. El efecto de las concentraciones de la mezcla quitosan-*Larrea*, fue menor al observado con las

bacterias antagónicas, ya que solo inhibió el crecimiento 14.06 % a la dosis 2000-2000 ppm; sin embargo, no se detectó esporulación de *A. dauci* en los tratamientos con estos extractos. Los resultados obtenidos en invernadero mostraron que los aislados de *Bacillus* (B3, B9, B15 y la combinación de estos), así como la mezcla quitosan-*Larrea* estimularon el desarrollo de la zanahoria, ya que ésta alcanzó mayor grosor, longitud y peso de la raíz, con respecto al testigo y a los demás tratamientos; el aislado B3 resultó ser el que promovió más el crecimiento de zanahoria, ya que reportó valores superiores en diámetro, longitud y peso fresco de la raíz al momento de la cosecha, aunque fue estadísticamente similar a los otros aislados de *Bacillus*. Así mismo, en campo se redujo significativamente la incidencia y severidad de *A. dauci*, con los aislados B1 y mezcla de *Bacillus*; las que también tuvieron una mayor capacidad para promover el desarrollo de la zanahoria, ya que ésta alcanzó mayor grosor, longitud y peso, con respecto al testigo y al resto de los tratamientos; la mezcla de aislados de *Bacillus* resultó ser la que estimuló más el crecimiento de la zanahoria, ya que reportó valores superiores en diámetro y peso fresco al momento de la cosecha, aunque se comportó estadísticamente similar al resto de los aislados de *Bacillus*. Considerando los alentadores resultados obtenidos con los bioproductos estudiados, es conveniente analizar su potencial antifúngico *in vitro* e *in vivo* contra otros hongos y en diversos cultivos agrícolas.

COMPENDIUM

BIO-EFFICIENCY OF ORGANIC PRODUCTS, BIOLOGICS AND CHEMIST AGAINST *Alternaria dauci* Kuhn AND ITS EFFECT IN THE CULTIVE OF CARROTS

BY

ADALBERTO AGUIRRE AGUIRRE

MASTERSHIP IN AGRICULTURE PARASITOLOGY, UNIVERSIDAD
AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO; BUENAVISTA, SALTILLO,
COAHUILA
FEBRARY 2005

Dr. Francisco Daniel Hernández Castillo -Advisor-

Key Works: Fungicide, *Bacillus* spp., quitosan, *Daucus carota*, *Larrea tridentata*.

Over laboratory experiments, greenhouse and field was analyzed the bioefficiency of five isolated *Bacillus*; of the bioproducts mixture quitosan and *Larrea tridentate* extract, thus like five sintetic fungicides: Clorotalonil, Fluazinam, Iprodiona, Propiconazol and Tiabendazol against *Alternaria dauci* mushroom additionally it was determined the effect of these compounds in the growth and output of the carrots crops. The isolated *Bacillus* B1 showed a greater effect antifungal *in vitro* with an inhibition of 53.44 percent and was estatisticly superior of the other. The concentration effect of the Quitosan-*Larrea* mixture was minds to the observed with the antagonic bacterias; because it just inhibites the growth of 14.06 percent to the dose 2000-2000 ppm; however, it wasn't detected esporulation of *A. dauci* in the treatments with

these extracts. The obtained results in greenhouse showed that the secluded of *Bacillus* (B3, B9 y B15) and the combination of these thus like the Quitosan-*Larrea* mixture stimulated the development of the carrot just because that one reach more thickness, length and weight of the root, with respect to the witness and the other treatments. The secluded B3 resulted the one that promoted more the growt of the carrot. Because it reported superior values in diameter, length and fresh weight of the root at the moment of the harvest, although it was statisticly similar to the other isolated *Bacillus*. Likewise, in field it was reduced significantly the incidence and severity of *A. dauci* with the isolated B1 and mixture of *Bacillus*; the one that had more capacity to promote the development of the carrot, just because this one reach bigger thickness, length and weight with respect to the witness and the best treatments; the isolated *Bacillus* resulted to be the one that stimulated more the growth of the carrot, because it reported superior values in diameter and fresh weigth at the moment of the harvest although it was comported statisticly similar to the best of the isolated of the *Bacillus*, considering the bolster results obtained with the bio-products studied and it's convenient to analize its potential antifungy *in vitro* and alive against other mushrooms and diversses agricultural crops.

CONTENIDO	Pag.
INTRODUCCION	1
OBJETIVOS	2
REVISIÓN DE LITERATURA	3
Cultivo de la Zanahoria.....	3
Origen.....	3
Características.....	3
Importancia económica.....	4
Plagas y enfermedades de la zanahoria.....	4
Quema de la Hoja de Zanahoria (<i>Alternaria dauci</i>).....	5
Importancia.....	5
Ubicación taxonómica.....	6
Síntomas.....	6
Características.....	7
Ciclo de la enfermedad y etiología.....	7
Fungicidas Sintéticos.....	8
Clorotalonil.....	9
Fluazinam.....	10
Iprodiona.....	11
Propiconazol.....	11
Tiabendazol.....	12
Extractos Vegetales.....	12
Efecto de extractos sobre fitopatógenos.....	13
Generalidades del Quitosan.....	15
Efecto de quitosan sobre fitopatógenos.....	15
Mecanismos de acción de quitosan.....	16
Uso de Comunidades Microbianas del Suelo y la Rizosfera.....	16
Control Biológico.....	19
Ventajas y desventajas del control biológico.....	19
Agentes de control biológico.....	21

Mecanismos de acción del control biológico.....	22
Competencia.....	22
Parasitismo.....	23
Antibiosis.....	23
Factores que afectan el control biológico.....	24
Factores limitantes y favorables a la microbiota del suelo.....	26
Asociación planta-microorganismo.....	27
Características de las rizobacterias promotoras de crecimiento.....	28
Mecanismos de acción de las rizobacterias promotoras de crecimiento.....	28
Promoción indirecta del crecimiento de plantas.....	29
Promoción directa del crecimiento de plantas.....	30
Colonización de las rizobacterias promotoras de crecimiento.....	31
Reguladores de crecimiento producidos por rizobacterias promotoras de crecimiento.....	32
Producción de auxinas por rizobacterias promotoras de crecimiento y su efecto en el desarrollo del sistema radicular.....	33
ARTICULO 1: BIOEFICACIA DE PRODUCTOS ORGÁNICOS, BIOLÓGICOS Y QUÍMICOS CONTRA <i>Alternaria dauci</i> Kühn Y SU EFECTO EN EL CULTIVO DE ZANAHORIA.....	35
ARTICULO 2: INFLUENCIA DE AGENTES BIOLÓGICOS, ORGÁNICOS Y QUÍMICOS SOBRE EL HONGO <i>Alternaria dauci</i> Kühn Y SU EFECTO EN EL CULTIVO DE ZANAHORIA.....	51
CONCLUSIONES GENERALES.....	67
LITERATURA CITADA.....	68
APÉNDICES.....	75

INTRODUCCIÓN

El cultivo de la zanahoria (*Daucus carota* L.) ha experimentado un importante crecimiento en los últimos años, tanto en superficie, como en producción, ya que se trata de una de las hortalizas más producidas en el mundo; Asia es el mayor productor seguido por Europa y América; en México se cultivan alrededor de 16,300 ha de las cuales 200 se siembran en el estado Nuevo León, este cultivo es el hospedero principal de *Alternaria dauci* Kühn, el cual también puede infectar otras umbelíferas en condiciones naturales (Richardson, 1990); El uso de cultivares resistentes a *A. dauci* ha sido estudiado por Dugdale *et al.* (1993) pero aun no se ha logrado encontrar resistencia a esta enfermedad. Por otro lado, el control químico se practica extensamente sin obtener resultados alentadores. El control biológico mediante las secreciones de bacterias, es considerado actualmente como una alternativa para inhibir el crecimiento de hongos que atacan a los cultivos; las bacterias antagonicas son saprófitas rizosféricas que ejercen su actividad biócontroladora por medio de la competencia de nutrientes y espacio, producción de enzimas líticas, compuestos antibióticos, sideroforos, parasitismo y síntesis de sustancias promotoras de crecimiento (Jongebloed *et al.*, 1993), quienes además seleccionaron dos bacterias antagonistas *Pseudomonas fluorescens* y *Bacillus* sp. las cuales mostraron un efecto altamente antagónico contra

Phytophthora capsici. Así mismo, Kim *et al.* (1997) encontraron mayor emergencia de plántulas de trigo y control de hongos cuando utilizaron *Bacillus subtilis*. Por otro lado Korsten *et al.* (1997) determinaron el efecto *in vitro* de *Bacillus* sp. sobre la germinación y el desarrollo de semillas de tomate infectadas con *Fusarium oxysporium* var. *cubensis* y con *B. subtilis* aislado de arroz, las cuales mostraron la capacidad de inhibir el crecimiento de hongos fitopatógenos del suelo, tales como; *F. oxysporium*, *Pythium ultimum*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfii*, *Phytophthora nicotianae*, *F. moniliforme* y *F. solani*. Castellanos *et al.* (1995) evaluaron *B. subtilis* para el control de *Alternaria porri* en plantas de cebolla, alternando aplicaciones con zineb y oxiclورو de cobre, determinando que los tratamientos que consistían en la combinación de fungicidas sintéticos y biológicos, mostraron mejor control que el resto de los tratamientos. En lo general a medida que las prácticas agrícolas se van intensificando aparecen diversos agentes patógenos que hacen no viables a los cultivos desde el punto de vista económico, por lo que se debe desarrollar métodos de manejo y control que reduzcan las posibles pérdidas. Por tal razón se plantean los siguientes objetivos para esta investigación; determinar el potencial antifúngico de cinco aislados de *Bacillus*; de la mezcla quitosan-Larrea y de cinco fungicidas sintéticos contra *Alternaria dauci*; además analizar el efecto benéfico de estos productos en el desarrollo y rendimiento del cultivo de zanahoria.

REVISIÓN DE LITERATURA

Cultivo de zanahoria

Origen.

La zanahoria (*Daucus carota* L.) es una especie originaria del centro asiático y del mediterráneo. Ha sido cultivada y consumida desde la antigüedad por griegos y romanos. Durante los primeros años de su cultivo, las raíces de la zanahoria eran de color violáceo. El cambio de éstas a su actual color naranja se debe a las selecciones ocurridas a mediados de 1700 en Holanda, lo que aportó una gran cantidad de caroteno, el pigmento causante del color y que han sido base del material vegetal actual (Rubatzky *et al.*, 1999).

Características.

Presenta raíz napiforme, de forma y color variables; tiene función almacenadora, y también presenta numerosas raíces secundarias que sirven como órganos de absorción. Al realizar un corte transversal se distinguen dos zonas bien definidas: una exterior, constituida principalmente por el floema secundario y otra exterior formada por el xilema y la médula. Las zanahorias

más aceptadas son las que presentan gran proporción de corteza exterior, ya que el xilema es generalmente leñoso y sin sabor. Las flores son de color blanco, con largas brácteas en su base, agrupadas en inflorescencias en umbela compuesta (Rubatzky *et al.*, 1999).

Importancia económica.

El cultivo de la zanahoria ha experimentado un importante crecimiento en los últimos años, tanto en superficie, como en producción, ya que se trata de una de las hortalizas más producidas en el mundo. Asia es el mayor productor seguida por Europa y EUA (Ellis *et al.*, 1991).

Plagas y enfermedades de la zanahoria.

El cultivo de zanahoria presenta un gran número de enfermedades:

- 1) Bacterias; *Xanthomonas campestris* vp. *carotae*, *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*, *E. chrysanthemi* (Umesh *et al.*, 1998).
- 2) Nematodos; *Heterodera carotae*, *Pratylenchus penetrans*, *Longidorus africanus*, *L. elongatus*, *Paratylenchus hamatus*, *Meloidogyne arenaria*, *M. chitwoodi*, *M. fallas*, *M. hapla*, *M. incognita*, *M. javanica*, *Belonolaimus longicaudatus* (Hustchinson *et al.*, 1999).
- 3) Virus; *Carrot mottle virus* CmoV, *Carrot redleaf virus* CRLV, *Carrot thin leaf virus* CTLV, *Carrot virus Y* CVY, *Carrot mosaic virus* CMV, *Carrot*

mottle mimic virus CMMV, *Carrot yellow leaf virus* CYLV (Latham y Jones, 2000).

- 4) Hongos; *Cercospora* sp., *Protomyces macrosporus*, *Stemphylium radicinum*, *Leptosphaeria libanotis*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Rhizoctonia solani*, *Pythium irregulare*, *P. mastophorum*, *P. ultimum*, *Fusarium avenaceum*, *F. solani*, *Phymatotrichum omnivorum*, *Phytophthora cactorum*, *P. cryptogea*, *P. megasperma*, *P. porri*, *Charala elegans* y *Alternaria dauci*; entre otros (Prior *et al.*, 2000).

Quema de la Hoja de la Zanahoria (*Alternaria dauci*)

Este hongo fue descrito por Kühn en 1885, como *Sporidesmium exitiosum* var. *dauci* y desde entonces es reportado en todas las áreas de producción de zanahoria de el mundo (Neergaard, 1945).

Importancia.

La quema de la hoja de la zanahoria es la enfermedad foliar mas común del cultivo; fue descrita por primera vez en Alemania. Bajo condiciones óptimas, desarrolla rápidamente severas epidemias foliares, conduciendo a pérdida de follaje y de la producción (Serdani *et al.*, 2002). Es común observar en este tipo de hongos cuando crecen en medios ricos y en obscuridad, que se forme un exceso de micelio aéreo que afecta al desarrollo de la esporulación (Andersen *et al.*, 2001).

Ubicación taxonómica.

De acuerdo a las características de este patógeno Ainsworth (1971) ubica a este patógeno de la siguiente manera:

Reino Fungi

División Amastigomicota

Clase Deuteromicetes

Subclase Hyphomycetidae

Orden Moniliales

Familia Dematiaceae

Genero *Alternaria*

Especie *dauci* (Kühn)

Síntomas.

Los síntomas foliares aparecen de 8-10 días después de la infección, como lesiones café-verdosas; conforme las lesiones aumentan los tejidos llegan a ser de café-oscuro a negro y en ocasiones rodeados por halos amarillos (Santos *et al.*, 2000).

Características .

Las hifas de *A. dauci* son subhialinas café-olivo, septadas y de 2 μm de ancho. Los conidióforos son color café-olivo (6-10 x 30-100 μm) solos o en pequeños grupos; son rectos, con un solo sitio conidiógeno terminal o algunas veces geniculadas con 2 ò 3 sitios conidiógenos. Conidia sola o muy raramente en cadena de dos, con un pico terminal filamentosos tres veces el largo de el cuerpo de la conidia; de color café-olivo. En malta agar o PDA, las colonias típicamente aparecen de color gris oscuro con el micelio esponjado. En algunos casos se produce un distintivo pigmento púrpura de la colonia rodeando al medio. La producción de esporas es facilitada por la incubación de cultivos con luz fluorescente o luz de día indirecta. La producción de esporas es variable en medios ricos y esta aumenta en medios pobres tal como diluidos de V8 agar y harina de maíz agar (Konstantinova, 2002).

Ciclo de la enfermedad y etiología.

A. dauci se encuentra como espóra en la superficie de la semilla de zanahoria, así como micelio invernante y como conidia dentro de la semilla en el mericarpio. El inóculo acompañante de la semilla es importante en el establecimiento de *A. dauci* en nuevas áreas de producción. Cuando el patógeno proviene de semilla contaminada, el hongo esporula abundantemente en las plántulas muertas y las que están muriendo. Las esporas libres son expandidas por turbulencias de aire a otras plantas y campos cercanos. La

infección se ve favorecida por condiciones moderadas a cálidas y humedad prolongada en la superficie de las hojas. Con eventos semejantes a la lluvia, neblina o riegos con duración limitada o pobre, se prolonga y aumenta el desarrollo de la enfermedad en las plantas (Konstantinova, 2002).

La esporulación de *A. dauci* pueden ocurrir con una humedad relativa inferior a 96 por ciento, mientras que los períodos prolongados de humedad pueden reducir la dispersión de la espora por el viento (Strandberg, 1997; Langenberg *et al.*, 1977). La temperatura mínima para la esporulación *in vivo* es de 8 °C, óptima de 25 °C y máxima de 28 a 30 °C, en presencia de humedad, las conidias germinan en un período de 2 horas (David, 1988).

Funguicidas sintéticos

Entre los productos que mas se han utilizado para el control de *A. dauci* destacan; iprodione y hexaconazole en Francia (Poissonnier *et al.*, 1995), dithianon y difenoconazole en Bélgica (Vulsteke *et al.*, 1995) y el último en Nueva Zelandia (Follas *et al.*, 1992), captafol en Brasil, EUA, y en Colombia (Lobo *et al.*, 1983), triadimefon y chlorothalonil (Fisher *et al.*, 1981) en Canadá y mancozeb en la República de Irlanda (Anón, 1981).

Clorotalonil.

Grupo químico; Ftalimidas, derivados del ácido cloroisoftálico. Funguicida de aplicación foliar y acción preventiva. Posee una limitada capacidad de traslocación local lo que le confiere acción erradicante sobre numerosas enfermedades de origen fúngico. Inhibe la respiración de las células del hongo, es decir, la transformación de los hidratos de carbono en energía porque las moléculas de clorotalonil se unen a los grupos sulfhídricos de los aminoácidos; por lo que las enzimas que afectan al ciclo de Krebs se desactivan y no se produce ATP. Al no poder completar este proceso la célula muere. Por lo anterior, el clorotalonil actúa como un fungitóxico no específico. Es de acción rápida y se acumula en grandes cantidades en las células reaccionando indiscriminadamente con los componentes. Los síntomas generales de la acción de clorotalonil sobre las células fúngicas son el retraso del crecimiento del micelio y la inhibición de la germinación de las esporas. El no ser específico explica, en gran parte, su amplio espectro de acción y la no aparición de resistencia genética. Además, el clorotalonil posee un efecto cicatrizante de las lesiones producidas por los patógenos observándose una piel más tersa y una recuperación más rápida de los tejidos dañados. Se utiliza en el control preventivo y aun curativo de los géneros y especies de hongos siguientes; *Alternaria* spp., *Ascochyta* spp., *Botrytis* spp., *Cercospora* spp., *Cercospora* spp., *Cladosporium* spp., *Colletotrichum* spp., *Coryneum* spp., *Cycloconium* spp., *Cytospora* spp. (Tucker *et al.*, 1994).

Fluazinam.

Grupo químico; Piridinaminas. Fungicida preventivo de aplicación foliar. Su actividad curativa es muy débil; no posee poder penetrante ni sintético. Actúa sobre las mitocondrias interrumpiendo el proceso de producción de energía de las células bloqueando el proceso de fosforilación oxidativa por atracción de los electrones fuera del circuito respiratorio. Interfiere la germinación de esporas, la penetración del hongo en el vegetal, el crecimiento del micelio y la esporulación. Ha la fecha no se cita desarrollo de resistencia. En el caso de *P. infestans* es efectivo durante el estado de spora, de origen sexual y asexual, impidiendo tanto su producción como la posterior germinación. Su actividad sobre la germinación de esporas es esencial para proporcionar una barrera contra la infección primaria, la primera propiedad ofrece un potencial adicional en la supresión de la infección secundaria. En ensayos de campo se ha demostrado su actividad sobre los estados de zoospora interfiriendo la dehiscencia de zoosporangios, germinación de zoosporas y su movilidad. Se ha observado también actividad contra larvas de araña roja (*Tetranychus urticae*) en cítricos. En el suelo, en condiciones aerobias se degrada por acción microbiana, se reporta una vida media de unos 48 días a 20 °C. En condiciones anaerobias la degradación es rápida con una vida media 4 días a 20 °C. Presenta restringida movilidad en el suelo, limitándose esta a los primeros centímetros, por lo que no hay riesgo de contaminación de aguas subterráneas. Los residuos en papas son detectados en cantidades muy bajas

en los tubérculos en el momento de la recolección (<0.01 ppm), incluso con alto número de aplicaciones (Tucker *et al.*, 1994).

Iprodiona.

Grupo químico; Dicarboximidas. Fungicida de contacto con actividad preventiva y curativa. Impide la germinación de las esporas y el crecimiento del micelio. En ciertas concentraciones, causa hinchamiento y reventamiento de el tubo germinativo y células hifáticas seguido por extrucción del citoplasma. Muchas enfermedades requieren un programa de 2 o más aplicaciones a intervalos de 2-4 semanas. Se reporta para el control de enfermedades causadas por *Botrytis* spp., *Alternaria* spp., *Fusarium nivale*, *Helminthosporium* spp., *Monilinia* spp., *Mycogone* spp., *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia* spp., *Sclerotium* spp., *Septoria* ssp., *Verticillium* spp., etc. (Bic y Charmet, 1985).

Propiconazol.

Grupo químico; Triazoles. Fungicida sistémico de aplicación foliar, con acción preventiva y curativa. Impide la biosíntesis del ergosterol. Su actividad puede durar hasta 6 semanas (Rieu y Burke, 1994). Se utiliza para el control de; *Botrytis* spp., *Cercospora* spp., *Erysiphe graminis*, *Guignardia* spp., *Monilia* spp., *Mycosphaerella* spp., *Pseudocercospora herpotrichoides*, *Puccinia* spp., *Pyrenophora teres*, *Rhynchosporium secalis*, *Septoria nodorum*, *Ucinula necator* y otras enfermedades de origen fúngico (Urech *et al.*, 1979).

Tiabendazol.

Grupo químico; Benzimidazoles. Fungicida de contacto, con amplio espectro de acción y con actividad preventiva y curativa. Se absorbe por raíces y hojas. A concentraciones bajas inhibe la elongación del micelio y en altas concentraciones actúan sobre la germinación de esporas interfiriendo la mitosis de los hongos; su acción es debido al efecto que tiene sobre los microtúbulos. También actúa sobre algunos nematodos, se emplea en veterinaria como antihelmíntico; y contra algunos hongos fitopatógenos como; *Botryodiplodia* spp., *Alternaria* spp., *Venturia* spp., *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Sclerotium* spp., *Pestalotia* spp., *Phoma terrestris*., *Oidium* spp., *Monilia* spp., *Phomopsis* spp., *Nigrospora* spp. *Cladosporium* spp., *Fusarium* spp., etc. (Hernández y Sala, 1990).

Extractos Vegetales

El potencial de los extractos vegetales en el manejo de enfermedades se sustenta por apoyar el manejo integrado de productos orgánicos; esto es, el uso de insumos agrícolas formulados a base de sustancias naturales no peligrosas para animales de sangre caliente, son poco corrosivas, generalmente no tóxicas al humano y no residuales, utilizando como materia prima para la elaboración de estos productos a extractos de plantas con propiedades insecticidas y funguicidas; polvos minerales, enzimas ionizadas y organismos benéficos, entre otros (Quintero *et al.*, 2000).

Las plantas vigorosas ofrecen una fuente excelente de productos naturales biológicamente activos. A través de los años, numerosas plantas han sido exploradas como fuentes de insecticidas. No obstante, el uso de los productos naturales de plantas han sido rezagados a pesar del enorme potencial que pueden tener en la investigación moderna de agroquímicos (Benner, 1993).

Efecto de extractos sobre fitopatógenos.

Montes *et al.*, (2000) mencionan que se han estudiado alrededor de 206 especies de plantas contra 26 especies de hongos fitopatógenos observándose que algunas de ellas tienen efecto durante la germinación de esporas, desarrollo del micelio, esporulación y pruebas de invernadero y campo. Así mismo, mencionan que se ha logrado formular productos orgánicos a partir de las plantas en presentaciones de extractos acuosos y hexánicos, polvos, aceites esenciales y metabolitos secundarios antifúngicos. En términos generales mencionan, que entre 32 y 21 por ciento de las plantas probadas interactúan con los hongos y las respuestas de los patógenos varía desde la estimulación biológica hasta su total inhibición.

Padilla *et al.* (1995) encontraron que extractos hexánicos de *Quercus* spp. inhiben completamente el crecimiento micelial de *Colletotrichum lindemuthianum* y *Rhizoctonia solani* y parcialmente el desarrollo de *Sclerotium*

rolfsii y *Pythium* sp. El extracto se incorporó al medio de cultivo PDA a concentraciones de 1000 a 2000 ppm.

Cabe resaltar los trabajos desarrollados por Sandoval *et al.* (1995) quienes realizaron estudios sobre el crecimiento micelial, probando el extracto de semillas de toronja como producto comercial sobre patógenos, determinando que *Geotrichum candidum* bajo condiciones *in vitro* fue inhibido de un 94 a 100 por ciento a concentraciones de 2000 a 3000 ppm de ingrediente activo. *Alternaria alternata*, entre 40 y 100 por ciento a concentraciones de 1000 y 2000 ppm, mientras que para *Rhizopus stolonifer* fue inhibido un 87 por ciento a 5000 ppm. Otros trabajos desarrollados por estos mismos autores muestran que el crecimiento micelial de *R. solani* fue inhibido a 100 por ciento en medio PDA a concentraciones de 600 a 4800 ppm de ingrediente activo. El efecto bactericida de este extracto sobre *Erwinia carotovora* fue identificado *in vitro* a concentraciones de 30 a 40 ppm, al ser inhibido satisfactoriamente el desarrollo de las colonias bacterianas.

Marcos (1996) menciona una buena actividad nematocida de la resina de gobernadora (*Larrea tridentata*), señalando que en pruebas de campo la concentración de resina que mostró mayor actividad sobre los géneros *Tylenchus*, *Ditylenchus* y *Rabditis*, fue de 100 ppm. Por otro lado González y Guevara (1990) determinaron que este presentó un buen efecto sobre *Pseudomonas solanacearum*, aunque pierde su efecto bactericida después de 60 días de la extracción inicial; también señalaron que el extracto presentó

propiedades sistémicas en plantas de papa al controlar la bacteria en 3 de las 6 plantas inoculadas, siendo este resultado similar al obtenido con el antibiótico estreptomycin más oxitetraciclina.

La incorporación de residuos de gobernadora y epazote sobre suelos infestados de *Phytium aphanidermatum* y *R. solani* en frijol bajo condiciones de invernadero, muestra una disminución en la muerte de plantas comparadas al testigo sin residuos de *L. tridentata* y *Chenopodium ambrosioides*; además el peso fresco de la planta fue mayor (Zavaleta, 1990).

Generalidades de Quitosan

Entre los materiales compuestos naturales, los exoesqueletos de camarones y cangrejos revisten gran importancia por su abundancia como desperdicio de la industria pesquera (Muzzarelli, 1973), siendo de gran interés científico debido a las interacciones químicas que se presentan entre los polímeros que los componen, quitina (QA) y quitosan (QN) con proteínas. Aunque se sabe que en estas interacciones contribuyen sales inorgánicas como los carbonatos de calcio y magnesio (Zhang y Gonzalves, 1995).

Efectos de quitosan sobre fitopatógenos.

El quitosan ha sido reportado como un compuesto útil para mantener la calidad de frutas y vegetales (Li y Yu, 2000), además de atribuirle ciertas

propiedades fúngicas contra patógenos de varios vegetales, tales como; *Alternaria alternata*, *Fusarium oxysporum*, *Rhizopus stolonifer* y *Penicillium* spp. en los que induce inhibición en medio nutritivo a varias concentraciones (Bautista *et al.*, 1999; Benhamou, 1992; Bhaskara Reddy *et al.*, 1997). Así mismo, la combinación de quitosan con extractos de plantas, mostraron que el desarrollo de *Colletotrichum gloeosporioides* fue similar al testigo durante los primeros tres días de incubación, observando inhibición a los siete días (Bautista-Baños *et al.*, 2003) además observaron el mayor efecto de inhibición de la esporulación cuando utilizaron quitosan combinado con extracto de hojas de papaya y quitosan con extracto de semillas de papaya.

Mecanismo de acción de quitosan.

En los mecanismos de acción del quitosan algunas hipótesis señalan disturbios en la membrana inducido por la filtración de proteinazas y absorción de rayos UV de algunos hongos filamentosos (Muzzarelli, 1973) y sofocación celular causado por la formación de una capa impermeable en la superficie de las células (Ueno *et al.*, 1997).

Uso de Comunidades Microbianas del Suelo y la Rizosfera

El suelo es un componente crítico en la estructura y función de los agroecosistemas; por lo tanto, su estabilidad depende en gran parte del manejo apropiado de la comunidad microbiana. Un desbalance puede significar un

incremento de enfermedades causadas por patógenos presentes en el suelo como *Fusarium* spp., *Phytophthora* spp., *Pythium* spp., *Rhizoctonia solani*, *Verticillium* spp. Las principales fuentes de control biológico conocidas en la microbiota del suelo son *Trichoderma* spp. y *Gliocladium* spp., así como los hongos micorrízicos y las rizobacterias benéficas. La microflora del suelo se desarrolla alrededor de las raíces de las plantas, ésta es estimulada por la presencia de exudados radicales y otros elementos que aporta el hospedante. Los sistemas radicales de las plantas son los responsables de la microflora presente en el suelo (Miller *et al.*, 1989).

Dada la naturaleza heterotrófica de los microorganismos, la planta se constituye en la principal fuente de materia prima del sistema suelo-planta. La actividad microbiana, en el ámbito de la rizósfera, desempeña un papel muy importante en el desarrollo de una serie de actividades que repercuten en el crecimiento de la planta; gracias al establecimiento de estos organismos existe la disponibilidad de elementos minerales, relaciones simbióticas benéficas y el control biológico natural de organismos plaga habitantes del suelo (Ferrera-Cerrato, 1995).

En este microcosmos se encuentran una serie de entes vivientes que interactúan entre sí como es el caso de los actinomicetos, organismos patógenos (hongos, bacterias, nematodos) bacterias solubilizadoras de fosfatos y organismos fijadores de nitrógeno, entre otros. Las interacciones que se producen entre estos organismos serán determinantes para la calidad de los

agroecosistemas y la colonización de organismos parásitos y simbioses (Lynch y Bragg 1985; Smil, 1991).

Uno de estos simbioses, la micorriza, ocurre entre el micelio de un hongo y la raíz de una planta. Esta simbiosis desempeña un papel trascendental en la nutrición vegetal, la absorción de agua, la tolerancia a condiciones de estrés y a patógenos edáficos (Azcón y Barea, 1996). Las interacciones bióticas con estos simbioses del suelo, tanto positivas como negativas, ejercen una influencia preponderante sobre la dinámica del ecosistema. Así por ejemplo, los consumidores macroinvertebrados tienen un efecto positivo neto sobre los hongos e indirectamente afectan la producción primaria, como vectores de sus esporas (Rabatin y Stinner, 1989).

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

Las rizobacterias, además de promover el crecimiento de la planta, reducen la actividad de los hongos y bacterias patógenos en el rizoplasma. Tal promoción indirecta del crecimiento puede ser considerada como control

biológico, aún cuando esto no necesariamente está asociado con control de patógenos parásitos de la planta (Kloepper y Schroth, 1981).

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

Control Biológico

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

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

La producción de actividad de la enfermedad involucra crecimiento, infectividad, agresividad, virulencia y otras cualidades del patógeno o procesos que determinan la infección, desarrollo de síntomas y reproducción. Los microorganismos incluyen individuos avirulentos o hipovirulentos, plantas manipuladas genéticamente, por prácticas de cultivo o con microorganismos más efectivos a resistencia contra patógenos y antagonistas del patógeno (Podile y Prakash, 1996).

Ventajas y desventajas del control biológico.

El empleo del control biológico ofrece ciertas ventajas en comparación con la aplicación de químicos. Los métodos de control biológico pueden ser empleados como parte de programas de manejo integrado para reducir el uso de químicos, así como lograr una reducción del daño ambiental y mejora de la calidad del agua, incrementando la seguridad de la salud pública. La aplicación coordinada de agentes de control biológico con plaguicidas puede reducir las acciones deletéreas de microorganismos competitivos y puede además aumentar la producción de cultivos debido al posible efecto de promotores de crecimiento de los biocontroladores. Estudios con *Brassica napus* tratadas con bacterias tolerantes a fungicidas químicos combinadas con estos, aumentaron la emergencia de plántulas en presencia de *Rhizoctonia solani*; este efecto puede ser debido a los efectos aditivos de promotores de crecimiento y el control de la enfermedad (Taylor y Harman, 1990; Zablotowicz *et al.*, 1992). Por otro lado, en *Pisum sativum*, una combinación de *Bacillus subtilis* más

carboxin y thiran provee un control superior de *R. solani* comparado con el control químico o biológico actuando por si solos (Mathre *et al.*, 1995).

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

Agentes de control biológico.

Aunque los agentes microbiológicos incluyen virtualmente todas las clases de organismos (Hongos, bacterias, nematodos, protozoarios y virus) las bacterias y hongos son los que han sido utilizados principalmente para el control biológico de enfermedades. Diversos trabajos han demostrado el efecto de la supresión de la enfermedad con agentes antagónicos contra hongos fitopatógenos; sin embargo, son pocos los agentes que resultan ser exitosos para el biocontrol al ser transferidos del laboratorio al campo o ambientes post-cosecha y por lo tanto no pueden ser comercializados. El primer éxito en la comercialización de una bacteria antagónica ocurrió a principios de los 70's con la aplicación de *Agrobacterium radiobacter* K-84, la cual es efectiva contra la agalla de la corona producida por *Agrobacterium tumefaciens*. Otro ejemplo, es la aplicación de cepa de *B. subtilis* A-13, la cual fue aislada de micelio lisado de

S. rolfsii, dicha preparación mostró capacidad inhibitoria contra ciertos fitopatógenos además de actuar como promotora de crecimiento para muchas especies de plantas (Seller, 1988). Aproximadamente 20 géneros bacterianos han mostrado su potencial antagónico contra numerosos fitopatógenos (Baker y Cook, 1974); sin embargo, son pocas las cepas que han mostrado consistencia bajo condiciones de campo.

Mecanismos de acción del control biológico.

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

Competencia.- La competencia entre organismos por nutrientes o por elementos esenciales, puede resultar en el desplazamiento del patógeno (Show y Paulitz, 1993), ejemplo de ello es la presencia de sideróforos. Kloepper, (1980), fue el primero en demostrar la importancia de los sideróforos en el mecanismo de control biológico. Estos compuestos median la cantidad de hierro (Fe^{+3}) en la rizósfera, privando de este ion al patógeno y de esta manera suprimen su crecimiento. Muchos reportes han sido publicados mostrando el

papel de los sideróforos en la supresión de diversos fitopatógenos (Chet *et al.*, 1990; Guerinot, 1994; Neiland, 1984).

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

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

Antibiosis.- Se ha observado que la antibiosis está involucrada en la supresión de enfermedades de plantas. El papel que desempeñan los antibióticos es el de conferir una ventaja competitiva a los microorganismos que los producen suprimiendo el crecimiento de otros microorganismos. El papel de los antibióticos en el biocontrol ha sido estudiado por la generación de mutantes deficientes en la producción de estos; al respecto, Rothrock y Gottlieb (1984) citan que se suprime el crecimiento de *R. solani* en el suelo con

aplicación de geldanomicina purificada, un antibiótico producido por *Streptomyces hygrosopicus* var. *geldonus*. Cabe mencionar que la actividad antagónica no está restringida a un solo tipo de mecanismo, así un agente biocontrolador puede afectar al patógeno por la combinación de varios mecanismos.

Factores que afectan al control biológico.

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

cepacia difiere cuando esta cepa crece en medio PDA en donde se detectó una actividad mínima comparado con la actividad que se presentó en el medio agar miel de maíz (CMA) indicando que es afectada por factores nutricionales.

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

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

actividad antagónica en el límite ácido (4-6.5) y con el incremento de la temperatura de 37 °C (Upadhyay *et al.*, 1991).

Factores Limitantes y Favorables a la Microbiota del Suelo

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

Los suelos orgánicos o supresivos poseen una buena diversidad y abundancia de microorganismos, con la presencia de antagonistas que disminuyen o regulan la existencia de organismos patógenos (Nelson y Thornton, 1997; Hointink y Boehm, 1999). La diversidad de organismos presentes en el suelo es la responsable de la calidad y sostenibilidad de los suelos agrícolas. La calidad involucra la combinación de aspectos físicos, químicos y biológicos, los cuales dependen en gran medida de la actividad microbiana (Kennedy y Smith, 1995).

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

Asociación Planta-Microorganismo

Los microorganismos que proveen algún beneficio en el crecimiento y desarrollo de la planta generalmente son de dos tipos como lo señalan Glick, (1995); Schippers *et al.*, (1987):

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

y se acepta para describir a las bacterias colonizadoras de raíz (rizobacterias) teniendo un efecto positivo y significativo sobre el crecimiento de plantas, las cuales como grupo cumplen ciertas características.

Características de las rizobacterias promotoras de crecimiento.

De manera general, acorde a Smith y Goodman, (1999); Yoram, (1999) las características de las PGPR son las siguientes:

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

Mecanismos de acción de las rizobacterias promotoras de crecimiento.

Conceptualmente y de acuerdo a Kloepper *et al.* (1989), las bacterias promotoras del crecimiento pueden tener un impacto favorable sobre el

crecimiento y desarrollo de las plantas por dos vías diferentes: indirectas y directas (Bloemberg y Lugternberg, 2001).

Promoción indirecta del crecimiento de plantas.- La promoción indirecta del crecimiento de plantas ocurre cuando las rizobacterias previenen, disminuyen o eliminan el efecto deletéreo de uno o más organismos fitopatógenos a través de diferentes mecanismos que involucran aspectos de control biológico (Hernández y Charlloux, 2001; Glick *et al.*, 1999^a), los cuales son:

- 1) Secreción de sideróforos.
- 2) Síntesis de antibióticos.
- 3) Capacidad de algunas cepas, especialmente del género *Pseudomonas* para sintetizar cianidina.
- 4) Hidrolisis del ácido fusárico, factor responsable del daño en plantas que ocurre en la infección por *Fusarium*.
- 5) Síntesis de enzimas que hidrolizan las paredes celulares de hongos fitopatógenos, tales como quitinasas y β -1.3-glucanasas.
- 6) Competencia por nutrientes.
- 7) Activación de mecanismos de defensa en plantas que son fenotípicamente similares a la inducción de resistencia mediada por patógenos referida como indicción de resistencia sistémica, la cual a sido demostrada en muchas especies de plantas; frijol, clavel, pepino, rábano, tabaco, tomate y *Arabidopsis* y ha sido reportada como un mecanismo

efectivo contra un amplio grupo de patógenos, incluyendo hongos, bacterias y virus (Van Loon *et al.*, 1998).

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

- 1) Fijación de nitrógeno (Strenhoudt y Vanderleyden, 2000).
- 2) Incremento en la disponibilidad de minerales, principalmente fósforo (Idriss *et al.*, 2002).
- 3) Síntesis de compuestos reguladores del crecimiento; ácido indolacético (AIA), giberelinas y citocininas (Bari y Okin, 1993; Cassan *et al.*, 2001; Garcia *et al.*, 2001).
- 4) Síntesis de compuestos de bajo peso molecular menos caracterizados que modulan el crecimiento y desarrollo de las plantas, como compuestos volátiles (Ryu *et al.*, 2003).
- 5) Secreción de Ácido succínico y láctico por cepas del género *Pseudomonas* que actúan directamente, estimulando el crecimiento de plantas de espárrago (Burd, 2000).
- 6) Regulación de los niveles de etileno por acción de la enzima 1-aminociclopropano-1-carboxilato desaminasa (Shah *et al.*, 1998; Belimov *et al.*, 2002).

Una bacteria en particular puede promover el crecimiento y desarrollo de la planta, usando uno o mas de estos mecanismos. Además, puede utilizar diferentes mecanismos en diferentes tiempos durante el ciclo de vida de la planta. La mayoría de las investigaciones en el ámbito de estimulación del crecimiento de plantas se han enfocado a la elucidación de mecanismos involucrados en el control biológico y relativamente las bacterias que actúan por estimulación directa han recibido menos atención, sin destacar la idea de que éstas representan un enorme potencial para la agricultura (Burd, 2000).

Colonización de las rizobacterias promotoras de crecimiento.

Enfocando la atención en los mecanismos directos de estimulación del crecimiento de plantas, se asume que como prerrequisito es necesaria la adhesión de la bacteria a la semilla o a la raíz de la planta, mostrando la capacidad de las diferentes cepas de rizobacterias para colonizar al superficie de la raíz y rizósfera. Por ejemplo, estudios de microscopia electrónica de raíces de plántulas de canola, creciendo bajo condiciones axénicas en presencia de la cepa *Pseudomonas putida* GR12-2, indican que la adherencia de la bacteria a la superficie de la semilla fue suficiente para aumentar la elongación de la raíz durante los primeros días de desarrollo de las plántulas (Hong *et al.*, 1991).

De igual modo, el estudio realizado por Pesello-Cartieaux *et al.* (2001) indican que la colonización de la rizósfera de *Arabidopsis thaliana* por cepas de

Pseudomonas tienen la capacidad de inducir cambios morfológicos en la raíz promoviendo de esta manera su desarrollo. Sin embargo, el proceso de colonización puede variar notablemente debido a factores que modifican la interacción planta-PGPR. De modo que, la estructura del suelo, el contenido de humedad, aeración, pH, genotipo de la planta, actividades y composición de la microflora nativa del suelo pueden influir y afectar en magnitud y dirección la respuesta del crecimiento de la planta posterior a la inoculación con cepas PGPR (Buyer *et al.*, 1999; Pillay y Nowak, 1997).

Reguladores de crecimiento producidos por rizobacterias promotoras de crecimiento.

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

Producción de auxinas por rizobacterias promotoras de crecimiento y su efecto en el desarrollo del sistema radicular.

Las auxinas promueven la diferenciación de tejido vascular, división y elongación celular, elongación de tallos y raíz e iniciación de raíces adventicias y laterales. En plantas, la auxina mas abundante es el ácido indolacético (AIA), este compuesto principalmente se sintetiza a partir del triptófano en el meristemo apical y en hojas jóvenes de donde se transporta a través del floema al resto de los tejidos vegetales (Glick *et al.*, 1999b). la concentración de auxinas es crítica para la respuesta fisiológica, además de los factores que influyen en los niveles endógenos de auxinas, como es la síntesis de *novo*, degradación, hidrólisis y formación de conjugados, las auxinas secretadas por cepas de rizobacterias pueden funcionar como fuente exógena para la planta. Es reconocido que cepas de PGPR de los géneros *Azotobacter*, *Pseudomonas*, *bacillus*, *Enterobacter* y *Azospirillum* sintetizan AIA y su efecto en plantas mimetiza los efectos de AIA exógeno. Por otra parte, como se mencionó con anterioridad, la promoción del crecimiento de la raíz es una de los principales marcadores por el cual el efecto benéfico de las rizobacterias es medido.

Dos diferentes pruebas han sido realizadas para ensayar el efecto del AIA producido por rizobacterias sobre el crecimiento de plantas; un método compara los efectos de la inoculación de raíces con mutantes de bacterias que producen niveles alterados de auxinas. Una segunda prueba varia la cantidad

del inóculo de una sola cepa, asumiendo que una alta densidad de inóculo significa mayor disponibilidad del AIA para la planta. Un ejemplo claro, es la aplicación de tipo silvestre de *P. putida* GR12-2 en semillas de canola, que estimula de dos a tres veces la elongación de la raíz primaria comparada con el control no inoculado, una mutante sobreproductora de AIA de esta bacteria estimula extensivamente el desarrollo de raíces laterales en plántulas de canola (Xie *et al.*, 1996) y de raíces adventicias en frijol (Mayak *et al.*, 1997). Otro ejemplo, de la influencia positiva en el desarrollo del sistema radicular es la aplicación de la cepa de *Azospirillum brasilense* que incrementa el número y longitud de raíces laterales en trigo (Barbieri y Galli, 1993). Estos reportes indican que la producción de AIA por bacterias PGPR en la rizósfera es importante para determinar el efecto de éstas sobre la morfología de la raíz, asociado a la especie de la planta y al estado de desarrollo del sistema radicular.

Bioeficacia de productos orgánicos, biológicos y químicos contra *Alternaria dauci* Kühn y su efecto en el cultivo de zanahoria

Adalberto Aguirre-Aguirre¹; FD Hernández-Castillo¹, RH Lira-Saldivar², E Guerrero-Rodríguez¹, G Gallegos-Morales¹.
Correspondencia: morvywz@hotmail.com

¹Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Departamento de Parasitología Agrícola, Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. CP 25315

²Centro de Investigación en Química Aplicada, Blvd. Enrique Reyna N° 140, Saltillo, Coahuila, México. CP 25100

Palabras clave: *Bacillus subtilis*, biocontrol, quitosan, *Daucus carota*, *Larrea tridentata*

RESUMEN. Mediante experimentos de laboratorio e invernadero se analizó la bioeficacia de cinco aislados de *Bacillus*; de la mezcla de los bioproductos quitosan y extracto de *Larrea tridentata*, así como de cinco funguicidas sintéticos contra el hongo *Alternaria dauci*; además, se determinó el efecto de estos compuestos en el crecimiento y rendimiento del cultivo de zanahoria. Los resultados obtenidos mostraron que los aislados de *Bacillus* (B3, B9, B15 y la combinación de estas), así como la mezcla quitosan-*Larrea* estimularon el desarrollo de la zanahoria, ya que ésta alcanzó mayor grosor, longitud y peso, con respecto al testigo y a los demás tratamientos. El aislado B3 resultó ser la que promovió más el crecimiento de zanahoria, ya que reportó valores superiores en diámetro, longitud y peso fresco de la raíz al momento de la cosecha, aunque se comportó estadísticamente similar a los otros Aislados de *Bacillus*. Considerando los alentadores resultados obtenidos con los bioproductos estudiados, es conveniente analizar su potencial antifúngico *in vitro* e *in planta* contra otros hongos y en diversos cultivos agrícolas.

El cultivo de la zanahoria (*Daucus carota* L.) es el hospedero principal del hongo *Alternaria dauci* Kühn, el cual también puede infectar otras umbelíferas

(24). La enfermedad producida por este hongo conocida como “tizón de hoja” es la mas común en todas las áreas productoras de zanahoria del mundo (20). *A. dauci* se encuentra sobre la superficie y en el mericarpio de la semilla en forma de conidia y como micelio invernante; causando secadera y muerte prematura de plántulas, los residuos de follaje son una fuente de infección, especialmente cuando están sobre la superficie del suelo (27). El uso de cultivares resistentes a *A. dauci* ha sido estudiado (8) pero aun no se ha logrado encontrar resistencia a esta enfermedad; debido a eso su prevención y control químico se practica extensivamente, pero con consecuencias adversas para el medio ambiente y los humanos. Entre los fungicidas sintéticos mas utilizados en todo el mundo para controlar esta enfermedad se encuentran: iprodione, hexaconazole, dithianon, difenoconazole, captafol, chlorothalonil y mancozeb (21, 23).

El biocontrol mediante el uso de bacterias es considerado actualmente como una opción para reducir el ataque de hongos que afectan a numerosos cultivos en programas de agricultura orgánica y sustentable. Bacterias como *Pseudomonas fluorescens* y *Bacillus* sp. han mostrado un claro efecto antagónico contra el alga *Phytophthora capsici*. Las bacterias antagónicas saprófitas rizosféricas ejercen su actividad de control biológico mediante la competencia por nutrientes y espacio, así como por la producción de enzimas líticas, compuestos antibióticos, sideróforos, parasitismo y síntesis de sustancias promotoras de crecimiento que afectan la viabilidad del hongo (12). Las bacterias antagonistas también ayudan a promover otros efectos benéficos; diversos autores ha encontrado una mayor emergencia de plántulas de trigo y reducción de hongos fitopatógenos al utilizar *B. Subtilis* (9, 13). También se ha consignado el efecto benéfico *in vitro* de *Bacillus* sp. sobre la germinación y el desarrollo de semillas de tomate (11) infectadas con *Fusarium oxysporium* var. *cubensis* y de *B. subtilis* aislado de trigo (13). *B. subtilis* también mostró inhibir el crecimiento de hongos del suelo como *F. oxysporium*, *Pythium ultimum*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii*, *P. nicotianae*, *F. moniliforme* y *F. solani*, lo cual permitió el control de *Alternaria porri* en plantas de cebolla (4),

especialmente cuando se alternó con aplicaciones de los funguicidas zineb y oxiclóruo de cobre

A medida que la demanda de hortalizas producidas con menos aplicaciones de pesticidas sintéticos se van intensificando, es necesario desarrollar métodos de manejo integrado de los cultivos que permitan reducir el efecto de las enfermedades y las pérdidas económicas. Por esa razón, en este trabajo experimental se planteó como objetivo determinar el potencial antifúngico de cinco cepas de *Bacillus*; de la mezcla de los bioproductos quitosan-*Larrea*, y de cinco funguicidas sintéticos contra *A. dauci*; además se analizó el efecto de esos productos en el desarrollo y rendimiento del cultivo de zanahoria bajo condiciones de invernadero.

MATERIALES Y MÉTODOS

Aislamiento del hongo *A. dauci*. Se colectaron plantas de zanahoria en huertas comerciales con síntomas de la enfermedad, las cuales se cortaron en trozos pequeños obtenidos del área con síntomas presentes, mismas que se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 2% por 5 min, se lavaron con agua destilada estéril, posteriormente se secaron sobre papel durante 20 min y se colocaron en cajas Petri conteniendo medio de cultivo papa-dextrosa-agar (PDA), finalmente se incubaron a 25°C durante dos días.

Esporulación de *A. dauci*. Con la finalidad de lograr la esporulación de los aislamientos obtenidos en PDA, fue necesario determinar las mejores condiciones de esporulación del hongo, para lo cual se evaluaron tres medios de cultivo: jugo V8 agar, PDA, e infusión de hoja de zanahoria agar (IHZA), con diferentes niveles de pH (5.0, 5.5, 5.8, 6.0 y 6.5), los cuales se ajustaron con KOH y HCl antes de la esterilización. En las cajas Petri con diferentes medios se colocó un explante del hongo de 5 mm de diámetro y se incubaron a 25°C; colocando cuatro repeticiones en presencia de luz constante y cuatro mas a la sombra. Después de 8 días se realizó la observación y el conteo de conidias con el hemacitómetro.

Purificación e identificación de *A. dauci*. Una vez que el hongo cubrió un tercio de la caja Petri y esporuló en el medio de cultivo IHZA, se purificó mediante la técnica de cultivo monospórico; se tomó un explante de 5 mm de diámetro y se depositó dentro de un tubo de ensaye con 9 mL de agua destilada estéril, el tubo se colocó en un agitador (Vortex-Genie) por un período de 3 min. para desprender las conidias; enseguida, se tomó 0.5 mL de la suspensión conidial con una pipeta Pasteur y se depositó en una caja Petri con medio IHZA, la cual fue incubada a 25°C; cuando la cepa se tuvo purificada se realizaron montajes en portaobjetos con lactofenol, los cuales se observaron en el microscopio y se identificaron con las claves morfológicas (20) descritas para esta especie.

Obtención de *Bacillus* spp. y preparación de las soluciones quitosan-*Larrea*. Las cepas de *Bacillus* caracterizadas como B1, B3, B9, B13 y B15, seleccionadas previamente por su actividad inhibitoria contra hongos fitopatógenos, fueron aisladas de la rizosfera de plantas de papa y chile, siendo posteriormente purificadas. El quitosan obtenido de caparazones de cangrejo fue adquirido comercialmente de Sigma-Aldrich, mismo que se diluyó en ácido acético glacial al 99.9% sometiendo a agitación constante durante 24 h y se diluyó al 1%. La solución se esterilizó a 121°C durante 20 min., posteriormente se ajustó la solución a pH de 5.6 con una solución acuosa de NaOH (25). La preparación del extracto hidrosoluble de resina de hojas de *Larrea tridentata* se realizó de acuerdo al procedimiento reportado anteriormente (17). La mezcla quitosan-*Larrea* (Q-L) se combinó a partir de una solución de concentración conocida de quitosan anteriormente preparada, luego se adicionó el extracto hidrosoluble de *L. tridentata* a la concentración deseada, una vez preparada la mezcla de los dos bioproductos se mantuvo en agitación constante hasta lograr tener una suspensión homogeneizada.

Incremento de *Bacillus* spp. Se prepararon matraces de 250 mL con 50 mL de caldo nutritivo inoculados con cada uno de los aislados y se transfirieron a

un termo agitador programado a 150 rpm y a 28°C durante cuatro días. Después se extrajeron 5 mL del medio de cultivo con las bacterias y se colocaron en un frasco de vidrio rectangular de dos litros de capacidad con agar nutritivo (AN) solidificado en una posición horizontal, a continuación se incubaron a 28°C durante 4 días; una vez transcurrido ese tiempo, se agregaron 15 mL de agua destilada estéril a cada frasco y se frotó suavemente con una varilla de vidrio, el concentrado bacteriano se depositó en un tubo con rosca conservándose a 3°C, finalmente se realizó el conteo y cálculo de unidades formadoras de colonias (ufc) con el hemacitómetro.

Inhibición *in vitro* de *A. dauci* por aislados de *Bacillus* spp. y por la mezcla Quitosan-Larrea. Para la prueba de antagonismo contra *A. dauci* (Ad); se colocó un explante de 5 mm de diámetro del hongo en el centro de la caja Petri conteniendo PDA. Cada aislado de *Bacillus* (B) se depositó con una micro pipeta estéril a una concentración de 1×10^8 ufc, colocando una gota (50 μ L) en los cuatro puntos cardinales de la caja Petri, se incubaron a 25°C con períodos de luz y sombra de 12:12 horas respectivamente. Se prepararon siete tratamientos: (1) B1 vs. Ad, (2) B3 vs. Ad, (3) B9 vs. Ad, (4) B13 vs. Ad, (5) B15 vs. Ad, (6) mezcla de *Bacillus* vs. Ad y (7) el testigo; cada tratamiento tuvo cuatro repeticiones. Para evaluar el efecto antifúngico de la mezcla Q-L, se utilizaron cinco dosis (0-0, 1000-1000, 1000-2000, 2000-1000 y 2000-2000 ppm), con cuatro repeticiones. Para evaluar el efecto *in vitro* de los bioproductos se preparó IHZA con 20 mL de Q-L en 60 mL de infusión de hoja de zanahoria mas 1.2 g de agar, ajustando el pH a 5.8 antes de la esterilización; después de solidificar el medio de cultivo se colocó un explante de 5 mm en el centro de las cajas y se incubaron a 25°C con luz continua durante 24 h. Los parámetros analizados fueron: porcentaje de inhibición del crecimiento micelial y esporulación del hongo. Las lecturas se realizaron a los siete días, cuando el tratamiento testigo llenó por completo la superficie de la caja Petri. La información obtenida se analizó mediante un diseño completamente al azar con

el programa estadístico SAS y se hizo la comparación de medias de Tukey al 5% de significancia.

Concentración inhibitoria *in vitro* de cinco funguicidas sintéticos sobre *A. dauci*. Los cinco productos estudiados fueron: (1) clorotalonil en ocho dosis: (0, 100, 250, 500, 1000, 1500, 2000, 2500 ppm); (2) fluazinam en diez dosis: (0, 1, 2.5, 5, 10, 50, 100, 200, 400, 500 ppm); (3) propiconazol en ocho dosis: (0, 0.5, 1, 5, 10, 25, 50, 250 ppm); (4) tiabendazol en ocho dosis: (0, 10, 100, 200, 400, 600, 800, 1000 ppm) y (5) iprodiona en diez dosis: (0, 1, 2.5, 5, 10, 50, 100, 200, 400, 500 ppm). Cada tratamiento fue repetido cuatro veces. Las cajas Petri se incubaron a 25°C con luz fluorescente continua durante siete días. Se determinó la concentración inhibitoria (CI₅₀ y CI₉₀) de los funguicidas y su efecto sobre la esporulación del hongo. Los datos obtenidos se transformaron en porcentaje de inhibición y se procesaron bajo el análisis estadístico PC Probit.

Efecto de *Bacillus* spp., Quitosan-Larrea, y funguicidas sintéticos sobre el crecimiento de zanahoria y en la incidencia y severidad de *A. dauci*. Este trabajos se realizaron en invernadero y cámara bioclimática. Antes de la siembra en invernadero se desinfectaron las semillas de zanahoria con hipoclorito de sodio al 2% durante 5 min., enseguida se lavaron con agua destilada estéril y se dejaron secar sobre papel; posteriormente se sumergieron durante 5 min. en la suspensión de *Bacillus* a 1×10^8 ufc/mL del tratamiento correspondiente. La mezcla de los funguicidas sintéticos (clorotalonil, tiabendazol, iprodiona, propiconazol y fluazinam), se realizó cada uno a la dosis comercial mínima recomendada, en la que se sumergieron las semillas por cinco minutos; lo mismo se hizo para el tratamiento con la mezcla de los bioproductos Q-L. La siembra se realizó en el invernadero sobre camas de 4m de largo por 1.2 m de ancho, en suelo previamente esterilizado con bromuro de metilo. Se colocaron 36 semillas por surco y tres surcos por unidad experimental; se evaluaron cinco cepas de *Bacillus* (B), una mezcla de las cinco cepas, la combinación de dos bioproductos, una mezcla de los funguicidas

comerciales y el testigo; para tener así nueve tratamientos con cuatro repeticiones: (1) B1, (2) B3, (3) B9, (4) B13 y (5) B15; (6) mezcla de los aislados; (7) mezcla Q-L a 2000-2000 ppm; (8) mezcla de los funguicidas sintéticos, y (9) el testigo absoluto sin aplicación de funguicida. Las variables evaluadas durante el ciclo del cultivo fueron: peso fresco de planta y raíz, altura de planta, longitud y diámetro de raíz. A los cuarenta días después de la siembra (dds) se realizó el primer muestreo extrayendo las plantas de cada unidad experimental, la cosecha se realizó a los 95 dds. Los datos se analizaron con un diseño en bloques al azar.

Para realizar el experimento *in vivo* se transplantaron a una cámara bioclimática plántulas de zanahoria cv. Nantes de 35 días de edad en macetas de 0.5 L; se inocularon por aspersión al follaje con 2.5 mL de una suspensión de esporas de *A. dauci* a la concentración de 5×10^5 conidias/mL y se incubaron a 25°C en 100% de humedad relativa por 72 h, con períodos de luz y sombra de 12:12 h respectivamente (28). Al término de este tiempo se aplicaron por aspersión los tratamientos antes descritos con 4 repeticiones por tratamiento y cuatro plantas por repetición. Las variables evaluadas fueron incidencia y severidad de la enfermedad a los 30 días después de la inoculación; la severidad se calculó determinando el porcentaje de área foliar dañada por *A. dauci*. Los datos se analizaron mediante el programa estadístico SAS utilizando un diseño completamente al azar y la prueba de comparación de medias de Tukey al 5% de significancia.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Inhibición micelial *in vitro* de *A. dauci* por cepas de *Bacillus* y las mezclas quitosan-Larrea. Los datos analizados revelaron que las cepas de *Bacillus* presentaron un efecto inhibitorio significativo ($P = 0.05$) en el crecimiento micelial de *A. dauci*, excepto B15 y la mezcla de cepas. El mayor efecto inhibitorio (53.44%) fue detectado con la cepa B1, la cual resultó estadísticamente superior que las demás (Cuadro 1). Con excepción de la cepa

B15 todas mostraron una clara actividad antifúngica, superior al de las mezclas Q-L. Una actividad inhibidora similar contra las algas *Pythium aphanidermatum* y *P. capsici* ha sido reportada con otras cepas de *Bacillus*, las cuales se han reportado como agentes de control biológico debido a que lograron inhibir a esos fitopatógenos en plantas de tomate (11, 15). La falta de actividad antifúngica observada con la cepa B15 y la mezcla de las cepas, posiblemente se debió a un efecto antagónico entre los aislamientos de *B. subtilis*; o quizá a que algunos microorganismos presentan antibiosis *in vitro*, pero no necesariamente muestran esa respuesta cuando se evalúan *in vivo* o viceversa (5). El efecto de los bioproductos Q-L a la dosis 2000-2000 ppm, fue menor al advertido con las bacterias antagónicas, ya que esta mezcla solo inhibió en 14.06 %; a dosis menores el efecto fue menor, habiéndose comportado de manera similar al testigo; sin embargo, es importante señalar que no se detectó esporulación de *A. dauci* en los tratamientos donde se aplicaron esos bioproductos. Trabajos previamente realizados también reportan que cuando el quitosán fue mezclado con extractos de hojas y semillas de papaya se observó una menor esporulación del hongo *Colletotrichum gloesporioides* (3, 19).

Concentraciones inhibitorias *in vitro* de los funguicidas sintéticos sobre el crecimiento micelial y esporulación de *A. dauci*. La inhibición del crecimiento micelial del hongo varió notablemente con los diferentes funguicidas evaluados (Cuadro 2). La concentración inhibitoria 50 (CI₅₀) fluctuó con cada uno de los funguicidas desde 0.00036 y 0.00393 ppm con fluazinam e iprodiona, hasta 1728.8 ppm con tiabendazol respectivamente. La concentración inhibitoria 90 (CI₉₀) mostró un amplio rango, ya que con propiconazol fue 18.10 ppm, mientras que con clorotalonil este valor se incrementó notablemente (3193.25 ppm); indicando esto una mayor efectividad del propiconazol. Otros trabajos realizados reportan que la mezcla de iprodione + triticonazole manifestaron ser eficiente para controlar los hongos *Drechslera teres* y *Bipolaris sorokiniana* bajo condiciones *in vitro* e *in vivo* (22, 23); también se ha consignado que la mezcla de los funguicidas difenoconazol + propiconazol tuvieron un buen control de enfermedades fungosas en el cultivo de soya (30).

La esporulación de este hongo también se modificó considerablemente con cada uno de los funguicidas estudiados, especialmente con clorotalonil y tiabendazol (Cuadro 3), los cuales permitieron la formación de conidias a concentraciones altas (1500 y 2000 ppm) en comparación con los otros tres funguicidas; los que a concentraciones bajas (5 y 10 ppm) inhibieron por completo la formación de conidias, además, estos productos promovieron deformaciones morfológicas como alargamiento de la conidia en hasta 25 segmentos para el caso del producto iprodiona, y engrosamiento de la conidia en los tratamientos donde se aplicó propiconazol.

Incidencia y severidad *A. dauci* por efecto de cepas de *Bacillus* y funguicidas sintéticos. Las plantas que recibieron aplicaciones de las cepas de *Bacillus* presentaron el menor porcentaje de incidencia y severidad de *A. dauci*, sobresaliendo en ambos casos la cepa B3, ya que con este aislamiento se inhibió por completo el daño del hongo (Cuadro 4). Con las otras cuatro cepas y la mezcla Q-L también se corroboró el efecto inhibitor en la incidencia y severidad de la enfermedad, el cual fue marcadamente superior que el observado con la mezcla de funguicidas sintéticos y en el testigo. Se ha reportado que esta acción inhibitor se debe a que la actividad antagónica contra bacterias y hongos fitopatógenos por cepas del género *Bacillus* esta relacionada con la producción de antibióticos (14, 18, 29, 31) como, subtilina, bacilopeptina, bacilomicina, bacilisina, botricidina, fengicina, micosubtilina y rhizocticina.

Altura de planta, diámetro y longitud de raíz de zanahorias tratadas con cepas de *Bacillus*, mezclas de quitosan-Larrea y funguicidas sintéticos. La comparación de medias mostró que a los 95 dds el mayor porte de plantas fue 33.53 cm obtenido con la cepa B9, seguida por la mezcla de las cinco cepas (33.03 cm), y la mezcla de los bioproductos Q-L (32.7 cm); sin embargo, no se presentaron diferencias estadísticas significativas entre las cepas de *Bacillus* y los funguicidas sintéticos (Cuadro 5); pero si se detectaron diferencias

estadísticamente significativas ($P = 0.05$) en comparación con la altura del testigo (28.77 cm). La promoción del crecimiento de plantas, así como el incremento en proteína y peso de materia seca de soya por bacterias rizosféricas también ha sido reportado previamente (6). Los efectos estimuladores de algunas cepas bacterianas sugieren que posiblemente existe un sinergismo entre el hospedante y los simbiontes, lo que permite una mejor absorción de elementos esenciales como N y P, los cuales al interactuar con las fitohormonas que excretan las raíces tienen una acción potenciadora sobre el desarrollo aéreo del cultivo (1). El efecto de los tratamientos en el diámetro y longitud de la raíz de zanahoria a los 95 dds revela que los valores diametrales máximos fueron 11.13 y 10.83 cm, estos valores correspondieron a las cepas B3 y B9 respectivamente, sin embargo, estos datos no resultaron ser estadísticamente superiores a los obtenidos con el resto de las cepas. Al mínimo diámetro reportado por el testigo (6.63 cm), le siguió el obtenida con la mezcla de los funguicidas sintéticos, probablemente esto se debió a un efecto fitotóxico en la planta causado por los productos, ya que también se observaron hojas dañadas en las plántulas después de la emergencia, lo cual implicó un retraso en el desarrollo del crecimiento y por consecuencia en el diámetro de la raíz. Se ha señalado que las bacterias promotoras de crecimiento en las plantas pueden ejercer su efecto estimulante mediante la producción de sideróforos extracelulares que secuestran óxidos férricos para convertirlos en formas disponibles para las raíces, los que además incrementan el volumen radical (7). También se menciona que las bacterias de los géneros *Bacillus* y *Pseudomonas* son las más destacadas en la conversión de compuestos inorgánicos insolubles de fósforo $[Ca_3 (PO_4)_2]$ que no están totalmente disponibles en el suelo para las plantas, en fosfatos di y monobásicos, siendo estas las formas asimilables por las raíces (2, 26).

En relación con la longitud de la raíz de zanahoria el ANVA mostró que a los 95 dds los tratamientos con las cinco cepas de *Bacillus* resultaron ser estadísticamente iguales entre si, pero significativamente diferentes al testigo.

El extracto Q-L, la mezcla de las cinco cepas, y la mezcla de fungicidas resultaron ser estadísticamente iguales, pero también superiores al testigo, el cual reportó una longitud media de 11.53 cm, en cambio el mayor crecimiento (16.8 cm) fue generado por la cepa B3. Resultados que muestran un efecto estimulador por cepas de *Bacillus* también han sido reportados en los cultivos de frijol y garbanzo (10, 16). En estos trabajos se menciona el notable biocontrol obtenido por las cepas de *Bacillus* utilizadas contra hongos del suelo, las cuales además mejoraron la emergencia de las plántulas y el rendimiento de estos cultivos en condiciones de campo.

LITERATURA CITADA

1. Arshad M, WT Frankenberger. Microbial production of plant hormones. *Plant Soil* (1991) 133: 1
2. Asea PEA, RMN Kucey, JWB Stewart. Inorganic phosphate solubilization by two *Penicillium* species in solution culture. *Soil Biol Biochem* (1988) 20: 459
3. Bautista-Baños S, E García-Domínguez, L Barrera-Necha, T Reyes-Chilpa, CL Wilson. Seasonal evaluation of the postharvest fungicidal activity of powders and extracts of huamuchil (*Pithecellobium dulce*) on *Botrytis cinerea*, *Penicillium digitatum* and *Rhizopus stolonifer* of strawberry fruit. *Post Biol Technol* (2003) 29: 81
4. Castellanos JJ, P Oliva, E Izquierdo, N Morales. Evaluación de *Bacillus subtilis* como biocontrol del patógeno *Alternaria porri* (Ell). Cif en cebolla. *In Bioplág 95*. Habana, Cuba. *INIFAT* (1995) 21
5. Chen CY, YH Wang, CJ Huang. Enhancement of the antifungal activity of *Bacillus subtilis* F29-3 by the chitinase encoded by *Bacillus circulans* chiA gene. *Canadian J of Microbiology* (2004) 50: 451
6. Dashti N, F Zhang, R Hynes, DL Smith. Application of plant growth-promoting rhizobacteria to soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) increases

protein and dry matter yield under short-season conditions. *Plant Soil* (1997) 188: 33

7. Dedej S, KS Delaphane, H Scherm. Effectiveness of honey bees in delivering the biocontrol agent *Bacillus subtilis* to blueberry flowers to suppress mummy berry disease. *Biological Control* (2004) 31: 422
8. Dugdale LJ, HA Collin, S Isaac, JJB Gill. Leaf blight resistance in carrot somaclones. *Acta Horticulturae* (1993) 336: 399
9. Glick BR, CL Patten, O Holguin, DM Penrose. Biocontrol mechanism. Chapter 7. In: *Biochemical and genetic mechanisms used by plant growth promoting bacteria*. Ontario Canada. Imperial Collage Press (1999) 215
10. Jacyn BJ, JR Stavely, N Mock. Biocontrol of bean rust by *Bacillus subtilis* under field conditions. *Plant Disease* (1985) 69:770
11. Jayaraj J, NV Radhakrishnan, R Kannan, K Sakthivel, D Suganya, S Venkatesan, R Velazhahan. Development of new formulations of *Bacillus subtilis* for management of tomato damping-off caused by *Pythium aphanidermatum*. *Biocontrol Science and Technolog* (2005) 15: 55
12. Jongebloed PH, J Kessel, GJT Molhoek. Biological control of *Phytophthora infestans* with compost extracts and selected bacterial antagonists. *Bulletin OILB SROP* (1993) 16: 16
13. Kim DS, DM Weller, RJ Cook. Population dynamics of *Bacillus* sp. L324-92Riz and *Pseudomonas fluorescens* 2-79 RN₁₀ in the rhizosphere of wheat. *Phytopathology* (1997) 87: 559
14. Korsten L, EE De Villiers, RC Wehner, JM Kotzet. Field spray of *Bacillus subtilis* and fungicides for control of preharvet fruit disease of avocado in South Africa. *Plant Disease* (1997) 81: 455
15. Lagunas-Lagunas J, E Zavaleta-Mejía, S Osada-Kawasoe, S Aranda-Ocampo, I Luna-Romero, H Vaquera-Huerta. *Bacillus firmus* como agente de control biológico de *Phytophthora capsici* Leo. en jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Rev Mex de Fitopatol* (2001) 19: 57

16. Landa BB, JA Navas-Cortes, RM Jiménez-Díaz. Integrated management of *Fusarium* wilt of chickpea with sowing date, host resistance, and biological control. *Phytopathology* (2004) 94 (9): 946
17. Lira-Saldivar RH, MR Sánchez, R Gamboa, D Jasso, R Rodríguez. Fungitoxic effect of *Larrea tridentata* resin extract from the Chihuahuan and Sonoran Mexican deserts on *Alternaria solani*. *Agrochimica* (2003) 47: 54
18. Liu J, JM Yao. Study on mutagenic breeding of *Bacillus subtilis* and properties of its antifungal substances. *Plasma Science & Technology* (2004) 6 (4): 2433
19. Luna D, LM Bustamante, G González, SJ Domínguez, BS Bautista, K Shirai, ME Bosques. Treatments on the quality of papaya fruit during storage. *Proceedings of the Eighth International Congress on Engineering Food*. Technomic Publishing Co Inc Lancaster, PA (2001) 1042
20. Neergaard P. *Danish Species of Alternaria and Stemphylium*. London, UK: Oxford University Press (1945) 75
21. Poissonnier J, P Reulet, B Guery, P Tison. L' *Alternaria* de la carotte. *Infos-Paris* (1995) 112: 42
22. Reis EM, R Casa Trezzi, MS Silva. Efeito do tratamento de sementes de cevada no controle e no desenvolvimento da mancha em rede, causada por *Drechslera teres*. *Fitopatol Brasil* (1995) 20: 561
23. Reis EM, R Casa Trezzi, MA Carmona, DE Barreto. Sensibilidade de *Drechslera teres* ao fungicida triadimenol usado em tratamento de sementes de cevada. *Fitopatol Brasil* (1997) 22: 539
24. Richardson MJ. An Annotated List of Seed-borne Diseases. 4th ed. Zurich, Switzerland: *International Seed Testing Association* (1990) 25
25. Romanazzi G, F Nigro, A Hipolito, D Di Venere, M Salerno. Effect of pre and postharvest chitosan treatments to control storage grey mold of table grapes. *J of Food Science* (2002) 67: 1862

26. Salih HM, Al Yonka, AM Abdul-Rahem, BH Munam. Availability of phosphorous in calcareous soil treated with rock phosphate or superphosphate as affected by phosphate dissolving fungi. *Plant Soil* (1989) 120: 181
27. Strandberg JO. *Alternaria* species that attack vegetable crops: Biology and options for disease management. In: *Alternaria-Biology, Plant Disease and Metabolites*, Topics in Secondary Metabolism, Vol. 3. Amsterdam, The Netherlands: Elsevier Science Publishers (1992) 175
28. Strandberg JO. Spore production and dispersal of *Alternaria dauci*. *Phytopathology* (1977) 67: 1262
29. Szczech M, M Shoda. Biocontrol of *Rhizoctonia* damping-off of tomato by *Bacillus subtilis* combined with *Burkholderia cepacia*. *J of Phytopathol* (2004) 52 (10): 549
30. Utiamada CM, LN Sato, JB Vida, JT Vorinori. Eficiência de fungicidas no controle de oídio da soja. Brasília, v 24, suplemento. *Fitopatol Brasil* (1999) 339
31. Zuber P, MM Nakano, MA Marahieo. Peptide antibiotics. In: *Bacillus subtilis* and other Gram-positive bacteria, biochemistry, physiology and molecular genetics. AL Sonenshein (ed.) Washington, D. C. *American Society for Microbiology* (1993) 897

Cuadro 1.- Inhibición de crecimiento micelial *in vitro* de *Alternaria dauci* por cepas de *Bacillus* spp. y suspensiones de quitosan-*Larrea*.

Tratamientos evaluados	Inhibición micelial (%)
Aislado B1	53.44 a
Aislado B3	48.44 b
Aislado B9	40.31 c
Aislado B13	46.25 b
Aislado B15	0.0 f
Mezcla B1,B3,B9,B13,B15	0.0 f
Q-L 2000-2000 ppm	14.06 d
Q-L 2000-1000	4.06 e
Q-L 1000-2000	1.88 ef
Q-L 1000-1000	0.00 f
Testigo	0.00 f

*cepas de la bacteria *Bacillus subtilis*.

Cuadro 2.- Concentraciones inhibitorias CI_{50} y CI_{90} de cinco fungicidas sintéticos contra el hongo *Alternaria dauci* en condiciones *in vitro*

Fungicidas evaluados	CI_{50}	Limites fiduciales (95%)		CI_{90}
		Inferior	Superior	
Clorotalonil	75.65	32.24	127.12	3193.25
Fluazinam	0.000366	0.000	0.02797	65.94
Propiconazol	0.7493	0.459666	1.0763	18.10
Tiabendazol	1728.86	1016.07	4172.36	256379.78
Iprodiona	0.003938	0.000018	0.045970	102.45

Cuadro 3.- Resultados *in vitro* de la concentración de cinco fungicidas sintéticos sobre la esporulación del hongo *Alternaria dauci* expresada como número de conidias.

Clorotalonil (ppm) conidias		Fluazinam (ppm) conidias		Propiconazol (ppm) conidias		Tiabendazol (ppm) conidias		Iprodiona (ppm) conidias	
2500	0	500	0	250	0	1000	0	500	0
2000	0	400	0	50	0	800	0	400	0
1500	5×10^6	200	0	25	0	600	0	200	0
1000	3×10^6	100	0	10	0	400	0	100	0
500	7.5×10^5	50	0	5	2.5×10^5	200	5×10^5	50	0
250	7.5×10^5	10	0	1	2.5×10^5	100	1×10^6	10	0
100	5×10^5	5	0	0.5	5×10^5	10	5×10^5	5	2.75×10^6
0	5×10^5	2.5	2.25×10^7	0	5×10^5	0	5×10^5	2.5	5×10^5
		1	2.5×10^5					1	1.5×10^6
		0	5×10^5					0	5×10^5

Cuadro 4.- Efecto de productos biológicos y químicos en la incidencia y severidad de *Alternaria dauci* en plantas de zanahoria en invernadero.

Tratamientos aplicados	Incidencia (%)	Severidad
Aislado B1	25	0.5 de
Aislado B3	0	0 e
Aislado B9	25	0.5 de
Aislado B13	25	0.5 de
Aislado B15	50	1 d
Mezcla de B1,B3,B9,B13,B15	50	1 d
Quitosan- <i>Larrea</i> 2000-2000 ppm	50	3 c
Mezcla funguicidas sintéticos*	75	4.25 b
Testigo absoluto	100	6.75 a

*(Clorotalonil, iprodiona, propiconazol, tiabendazol y fluazinam)

Cuadro 5. Efecto de *Bacillus* spp. en el diámetro y longitud de zanahoria cv. Nantes a los 95 días después de la siembra en invernadero.

Tratamiento aplicados	Altura de Planta (cm)	Diámetro de raíz (cm)	Longitud de raíz (cm)
Aislado B1	31.35 ab	10.75 ab	16.40 a
Aislado B3	31.40 ab	11.13 a	16.83 a
Aislado B9	33.53 a	10.83 ab	16.53 a
Aislado B13	31.40 ab	10.70 ab	16.45 a
Aislado B15	31.43 ab	10.33 abc	16.40 a
Mezcla de B1,B3,B9,B13,B15	33.03 ab	10.27 bc	15.83 ab
Quitosan- <i>Larrea</i> 2000-2000 ppm	32.70 ab	9.87 c	15.00 ab
Mezcla funguicidas sintéticos*	31.73 ab	8.70 d	14.23 ab
Testigo	28.77 b	6.63 e	11.53 c

*(Clorotalonil, iprodiona, propiconazol, tiabendazol y fluazinam)

Influencia de agentes biológicos, orgánicos y químicos sobre el hongo *Alternaria dauci* Kühn y su efecto en el cultivo de zanahoria

A. Aguirre-Aguirre* ; F. D. Hernández-Castillo¹, R. H. Lira-Saldivar², E. Guerrero-Rodríguez¹, G. Gallegos-Morales¹.

¹Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Departamento de Parasitología Agrícola, Buenavista, Saltillo, Coahuila, CP 25315, México. ²Centro de Investigación en Química Aplicada, Blvd. Enrique Reyna, N° 140, Saltillo, Coahuila, CP 25100, México. Correspondencia: morvywz@hotmail.com

INTRODUCCIÓN.- El cultivo de la zanahoria (*Daucus carota* L.) es el hospedero principal del hongo *Alternaria dauci* Kühn (Richardson, 1990). La enfermedad producida por este hongo conocida como “quema de la hoja”, es la mas común en todas las áreas productoras de zanahoria del mundo (Neergaard, 1945). En la semilla *A. dauci* se encuentra sobre la superficie y en el mericarpio en forma de conidia y como micelio invernante; causando secadera y muerte prematura de plántulas, los residuos de follaje son una fuente de infección, especialmente cuando están sobre la superficie del suelo (Strandberg, 1992). El uso de cultivares resistentes a *A. dauci* ha sido estudiado (Dugdale *et al.* 1993) pero aun no se ha logrado encontrar resistencia a esta enfermedad, debido a eso la prevención y control químico se practica extensivamente, pero con consecuencias adversas para el medio ambiente y los humanos. Entre los fungicidas sintéticos mas utilizados en todo el mundo para controlar esta enfermedad se encuentran: iprodione, hexaconazole, dithianon, difenoconazole, captafol, chlorothalonil y mancozeb (Poissonnier *et al.*, 1995).

La estabilidad de las comunidades microbianas de la rizósfera depende de su diversidad metabólica y de sus interacciones en el ecosistema del suelo. En este nicho ecológico se encuentran fitopatógenos que afectan tanto por los metabolitos que producen como por la invasión y destrucción de las raíces, pero existen también microorganismos benéficos que incrementan la disponibilidad

de nutrimentos, producen sustancias que favorecen el desarrollo de las plantas y suprimen organismos fitopatógenos (Cook, 1993). El biocontrol mediante el uso de bacterias es considerado actualmente como una opción para reducir el ataque de hongos que afectan a los cultivos. Jongebloed *et al.* (1993) aislaron las bacterias *Pseudomonas fluorescens* y *Bacillus* sp. las cuales mostraron un claro efecto antagónico contra *Phytophthora capsici*. Las bacterias antagónicas saprófitas rizosféricas ejercen su actividad de control biológico mediante la competencia por nutrientes y espacio, así como por la producción de enzimas líticas, compuestos antibióticos, sideróforos, parasitismo y síntesis de sustancias promotoras de crecimiento que afectan la viabilidad del hongo. Las bacterias antagonistas también ayudan a promover otros efectos benéficos. Kim *et al.* (1997) encontraron mayor emergencia de plántulas de trigo y reducción de hongos fitopatógenos cuando utilizaron *B. subtilis*. Por otro lado, Korsten *et al.* (1997) determinaron el efecto *in vitro* de *Bacillus* spp. aisladas de arroz y plátano sobre la germinación y el desarrollo de semillas de tomate infectadas con *Fusarium oxysporium* var. *cubensis*. Las bacterias mostraron inhibir el crecimiento de hongos del suelo como: *F. oxysporium*, *Pythium ultimum*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii*, *P. nicotianae*, *F. moniliforme* y *F. solani*. Castellanos *et al.* (1995) evaluaron *B. subtilis* para el control de *Alternaria porri* en plantas de cebolla, alternando aplicaciones con los fungicidas sintéticos zineb y oxiclورو de cobre, sus resultados mostraron que los fungicidas biológicos tuvieron un buen control del hongo.

A medida que la demanda de hortalizas producidas con menos aplicaciones de pesticidas sintéticos se van intensificando, es necesario desarrollar métodos de manejo integrado de los cultivos que permitan reducir el efecto de las enfermedades y las pérdidas económicas. Por tal razón, en este trabajo experimental se planteó como objetivo determinar el potencial antifúngico de cinco cepas de *Bacillus*; de la mezcla de los bioproductos quitosan-*Larrea*, y de dos fungicidas sintéticos contra *A. dauci*; además se

analizó el efecto de esos productos en el desarrollo y rendimiento del cultivo de zanahoria.

MATERIALES Y MÉTODOS.- Se tomaron muestras de suelo de 500 g de la rizósfera de plantas de chile sanas de lotes comerciales de los estados de Nuevo León, Tamaulipas y San Luis Potosí, mismas que se depositaron en bolsas de plástico etiquetadas y se trasladaron al Laboratorio de Fitopatología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, donde se mantuvieron en refrigeración a 5°C. Para realizar el aislamiento de bacterias esporuladas se tomaron 10 g de cada muestra de suelo previamente homogeneizada, los cuales se mezclaron en 90 ml de solución salina estéril al 0.85%, se realizaron diluciones seriadas hasta 10^{-4} , y posteriormente se colocaron en baño maría a 70°C por 15 minutos (Stanier and Doudoroff, 1977). De cada tubo de ensaye se tomó 0.1 ml de la suspensión, la cual se depositó y difundió en cajas Petri con agar nutritivo suplementado con 1% de almidón. Las cajas Petri fueron incubadas a $40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 48 h, hasta que se diferenciaron las colonias bacterianas por su morfología y color, seleccionando solo las colonias de bacterias con forma bacilar y presencia de endospora. Las colonias se purificaron, se les asignaron claves, se transfirieron a tubos de ensaye con agar nutritivo y se conservaron en refrigeración a una temperatura de 5°C.

La preparación de las soluciones quitosan-*Larrea*, se realizó adquiriendo el quitosan comercialmente de Sigma-Aldrich, los cuales a su vez lo extraen de caparazones de cangrejo; este se diluyó en ácido acético glacial al 99.9% sometiéndolo a agitación constante durante 24 h y se diluyó al 1%. La solución se esterilizó a 121°C durante 20 min, posteriormente se ajustó la solución a pH de 5.6 con una solución acuosa de NaOH (Romanazzi *et al.*, 2002). La preparación del extracto de resina de hojas de *Larrea tridentata* se realizó de acuerdo al procedimiento reportado anteriormente por (Lira-Saldivar *et al.*, 2003). Para preparar la mezcla de quitosan-*Larrea* (Q-L) en una solución de concentración conocida de quitosan previamente preparada, se adicionó el extracto de *L. tridentata* a la concentración deseada, una vez preparada la mezcla de los dos bioproductos se mantuvo en agitación constante hasta lograr tener una suspensión homogeneizada.

Los concentrados bacterianos se prepararon utilizando matraces de 250 mL, con 50 mL de caldo nutritivo inoculados con cada una de los aislados bacterianos y se transfirieron a un agitador programado a 150 rpm y a 28°C durante cuatro días. Después se extrajeron 5 mL del medio de cultivo con las bacterias y se colocaron en un frasco de vidrio rectangular de dos litros de capacidad con agar nutritivo (AN) solidificado en una posición horizontal, después se incubaron a 28°C durante 4 días; una vez transcurrido ese tiempo, se agregó 15 mL de agua destilada estéril a cada frasco y se frotó suavemente con una varilla de vidrio, el concentrado

bacteriano se depositó en un tubo con rosca conservándose a 3°C, posteriormente se realizó el conteo y cálculo de unidades formadoras de colonias (ufc) con el hemacitómetro.

Para determinación la inhibición *in vitro* de *A. dauci* (Ad) por aislados de *Bacillus* spp. y por la mezcla Quitosan-Larrea, se realizó una prueba de antagonismo colocando un explante de 5 mm de diámetro del hongo en el centro de la caja Petri con PDA, cada aislado de *Bacillus* (B) se depositó con una micro pipeta estéril a una concentración de 1×10^8 ufc, colocando una gota (50 µL) en los cuatro puntos cardinales de la caja Petri, se incubaron a 25°C con periodos de luz y sombra de 12:12 horas respectivamente. Se prepararon siete tratamientos: (1) B1 vs. Ad, (2) B3 vs. Ad, (3) B9 vs. Ad, (4) B13 vs. Ad, (5) B15 vs. Ad, (6) mezcla de *Bacillus* vs. Ad, (7) testigo; cada tratamiento tuvo cuatro repeticiones. Para evaluar el efecto antifúngico de la mezcla Q-L, se utilizaron cinco dosis (0-0, 1000-1000, 1000-2000, 2000-1000 y 2000-2000 ppm), con cuatro repeticiones. Para evaluar el efecto *in vitro* de los bioproductos se preparó IHZA con 20 mL de Q-L en 60 mL de infusión de hoja de zanahoria mas 1.2 g de agar y se ajustó el pH a 5.8 antes de la esterilización; después de solidificar el medio de cultivo se colocó un explante de 5 mm en el centro de las cajas y se incubaron a 25°C con luz continua durante 24 h. Se analizaron los parámetros porcentaje de inhibición del crecimiento micelial y esporulación del hongo. Las lecturas se realizaron a los siete días cuando el tratamiento testigo llenó la superficie de la caja Petri; la información obtenida se analizó mediante un diseño completamente al azar con el programa estadístico SAS y se hizo la comparación de medias Tukey al 5% de significancia.

En siembras comerciales de zanahoria del estado de Nuevo León, se evaluó el efecto de *Bacillus* spp. y funguicidas sintéticos en *A. dauci* y en el crecimiento de plantas de zanahoria bajo condiciones de campo; se evaluaron 9 tratamientos (Cuadro 1); se realizaron cinco aplicaciones de cada tratamiento con intervalos de 20 días; la primera aspersión se hizo a los 25 después de la siembra (dds), cada parcela experimental constó de tres camas con cuatro surcos, de 1.8 m de ancho y 5 m de largo cada una; como parcela útil se tomaron los dos surcos centrales. Se evaluaron las variables incidencia y severidad de *A. dauci*, diámetro y longitud de raíz y peso fresco de planta y raíz; la toma de datos inicio a los 90 dds, cuando se presentaron los primeros síntomas de la enfermedad; se tomaron 10 plantas al azar por unidad experimental y se realizaron cinco muestreos con 10 días de intervalo entre ellos; los datos colectados se analizaron bajo un diseño experimental en bloques al azar y se realizó una prueba de comparación de medias Tukey al 5% de significancia con el programa estadístico SAS.

Cuadro 1.- Productos biológicos y químicos evaluados en campo contra *Alternaria dauci*.

Cepas de <i>Bacillus</i> y fungicidas	Concentración (ufc)
Cepa B1	1 x 10 ⁸
Cepa B3	1 x 10 ⁸
Cepa B9	1 x 10 ⁸
Cepa B13	1 x 10 ⁸
Cepa B15	1 x 10 ⁸
Mezcla B1, B3, B9, B13, B15	1 x 10 ⁸
Fluazinam	70 ppm
Propiconazol	20 ppm
Testigo	Sin producto

RESULTADOS.- De las 22 muestras de suelo colectadas en cinco localidades productoras de chile del noreste de México, se obtuvieron 57 aislados de bacterias esporuladas. Los aislados presentaron forma bacilar, tinción de Gram positiva, forma elipsoide de endospora, crecimiento aeróbico, utilización de glucosa y manitol, pero no arabinosa y xylosa; con base en lo anterior los aislados se identificaron como pertenecientes al género *Bacillus*, según las características descritas por Stainer y Deudoroff (1977) para este género. Los aislados de *Bacillus* después de ser sometidos a una prueba rápida de antagonismo solo 11 mostraron rangos de inhibición apreciables; de estos fueron seleccionados los cinco aislados que mostraron el mayor efecto inhibitorio para llevar a cabo la segunda prueba de antibiosis.

El porcentaje de inhibición del crecimiento micelial *in vitro* de *A. Dauci* por los cinco aislados de *Bacillus* y sus mezclas; revelaron que los tratamientos con estas bacterias presentaron un efecto inhibitorio significativo (P=0.05) *in vitro* en el crecimiento micelial de *A. dauci*, excepto el aislado B15 y la mezcla de aislados. La bacteria que mostró un mayor efecto inhibidor (53.44%) y estadísticamente superior que las demás, fue el aislado B1 (Cuadro 2); El efecto de las distintas concentraciones del extracto Q-L, fue menor al observado

con las bacterias antagónicas, ya que solo inhibió en 14.06 % a la dosis 2000-2000 ppm; con dosis menores se comportó de manera similar al testigo; sin embargo, es importante señalar que no se detectó esporulación del hongo en los tratamientos con estos extractos.

El estudio de campo sobre el efecto de *Bacillus* y fungicidas sintéticos en incidencia de *A. dauci* muestra que la enfermedad fue menor solo en el primer muestreo a 90 dds con los aislados de *Bacillus* B1, B3 y B9 ($P=0.05$) (Cuadro 3), en las otras cuatro fechas de muestreo (de 100 a 135 dds) no se observó diferencia significativa entre los tratamientos.

Para el caso de severidad de la enfermedad en el primer muestreo; esta fue menor solo cuando se utilizó la mezcla de los diferentes aislados de *Bacillus*; sin embargo, en los cuatro muestreos posteriores, tanto los aislados de *Bacillus* como los fungicidas sintéticos fluazinam y propiconazol mostraron una severidad menor a la observada en el testigo, destacando al final de los muestreos el aislado de *Bacillus* B1 (Cuadro 4).

El efecto de *Bacillus* a los 90 dds en la variable altura de plantas, fue significativamente mayor al testigo solo con los aislados B3 y B13, en conjunto con el con propiconazol; así mismo, a los 135 dds solo se reflejó diferencia significativa para el aislado de *Bacillus* B3 con el testigo, aunque estos se comportaron similar al resto de los tratamientos.

El peso fresco de plantas a los 90 dds reflejó que solo las plantas tratadas con el aislado de *Bacillus* B13 y propiconazol presentaron diferencia significativa sobre el testigo; sin embargo, a los 135 dds todos los tratamientos se comportaron estadísticamente igual, aunque cabe mencionar que el fluazinam, seguido de la mezcla de aislados de *Bacillus* presentaron los valores más elevados en peso de plantas (Cuadro 5).

El diámetro de raíz a los 90 dds presentó una tendencia de mayor grosor por parte de los aislados de *Bacillus* y de los funguicidas sintéticos; sin embargo, el mayor volumen radical lo presentó el aislado B13, la cual difirió significativamente del testigo y reflejó el mismo comportamiento estadístico que el resto de los tratamientos. Sin embargo, a los 135 dds la mezcla de los cinco aislados de *Bacillus* presentó el mayor volumen radical y fue igual al resto de los tratamientos con *Bacillus* y a los funguicidas sintéticos, pero difirió significativamente del testigo que presentó el menor volumen de raíz.

Sin embargo, la longitud de raíz para las dos fechas de muestreos, los tratamientos no presentaron diferencias significativas entre sí; solo se reflejó una ligera tendencia de mayor longitud en todas los aislados de *Bacillus* y de los funguicidas sintéticos sobre el testigo. Cabe mencionar que la falta de significancia entre los tratamientos puede deberse a la falta de homogeneidad de el terreno.

El peso fresco de raíz a los 90 dds presentó un mayor peso por parte de los aislados de *Bacillus* y de los funguicidas sintéticos; sin embargo, el mayor peso se reflejó con el aislado B13, el cual tuvo diferencia significativa solo con testigo y fue estadísticamente igual que el resto de los tratamientos. Así mismo, a los 135 dds la mezcla de los cinco aislados de *Bacillus*, presentó el mayor peso y se comportó igual al resto de los tratamientos con *Bacillus* y a los funguicidas sintéticos, pero difirió significativamente del testigo que presentó el menor peso (Cuadro 6).

DISCUSIÓN.- El efecto *in vitro* de los aislados de *Bacillus* contra *A. dauci*, refleja la capacidad de estos aislados para inhibir el desarrollo de este hongo, al detener su crecimiento en 48 % con el aislado B3. Una actividad *in vitro* similar a la observada en este estudio, se presentó contra el alga *P. capsici* reportada por (Lagunas-Lagunas *et al.*, 2001) con otras cepas de *Bacillus*, estos autores consignan que lograron inhibir el crecimiento micelial del patógeno en

41%. La falta de actividad antifúngica observada con el aislado B15 y la mezcla de aislados de *Bacillus*, probablemente se debió a un efecto antagónico entre si; o quizá a que algunos microorganismos presentan antibiosis *in vitro* y no necesariamente presentan esa característica cuando se evalúan *in vivo* o viceversa (Castellanos *et al.*, 1995). La inhibición de *A. dauci* con la mezcla Q-L fue menor a la observada con las bacterias antagónicas; sin embargo, se presentó un efecto inhibitorio de la esporulación de *A. dauci* con las cuatro dosis de Q-L; Quitosan a sido reportado para mantener la calidad de frutas y vegetales (Li and Yu, 2000); otro importante atributo de este compuesto natural esta asociado con propiedades fúngicas contra patógenos de varios vegetales, tales como *Alternaria alternata*, *Fusarium oxysporum*, *Rhizopus stolonifer* y *Penicillium* spp. inhibiendo su desarrollo en medio nutritivo con varias concentraciones (Bautista *et al.*, 1999; Bhaskara Reddy *et al.*, 1997); (Luna *et al.*, 2001) reportaron una menor pudrición en frutos de papaya por *Botrytis cinerea* y *Rhizopus stolonifer* cuando aplicaron soluciones de quitosan, en comparación con el efecto obtenido por las aplicaciones del fungicida tiabendazol; (Bautista-Baños *et al.*, 2003), señalan que cuando el quitosan fue combinado con extractos de plantas, el desarrollo de *Colletotrichum gloeosporioides* fue similar al testigo durante los primeros tres días de incubación, observando una inhibición del hongo hasta los siete días, cuando terminó el período de incubación; estos mismos autores consignaron una mayor inhibición de la esporulación cuando utilizaron quitosan combinado con extracto de hojas de papaya y quitosan mezclado con extracto de semillas de papaya; Muzzarelli (1996) En los mecanismos de acción del quitosan algunas hipótesis señalan disturbios en la membrana inducido por la filtración de proteinazas y absorción de rayos UV de algunos hongos filamentosos; (Ueno *et al.*, 1997) y sofocación celular causado por la formación de una capa impermeable en la superficie de las células; así mismo, Bautista-Baños *et al.*, (2000) señalan el efecto en el desarrollo del micelio, la formación y germinación de esporas, que algunas veces puede ser estimulado o inhibido por extractos de plantas.

La incidencia de *A. dauci* en plantas de zanahoria en campo a la primer fecha de muestreo, se redujo considerablemente con los diferentes aislados de *Bacillus*, sobresaliendo el aislado B9 al reducir la incidencia un 20 %; Smith and Goodman (1999) redujeron la incidencia de *Pythium* sp. con aplicaciones de *B. cereus* en cultivares de arveja. La severidad de *A. dauci* fue reducida considerablemente con los aislados de las bacterias antagónicas destacando al final de los muestreos el aislado B1. Resultados similares encontraron Lagunas-Lagunas *et al.* (2001), cuando utilizaron *Bacillus* contra *Phytophthora capsici*, reduciendo significativamente la severidad y numero de plantas muertas. Las especies de *Bacillus* ejercen su efecto antagónico mediante la producción de enzimas líticas, antibióticos y / o metabolitos que pueden generar cambios en la membrana citoplasmática del hongo; otro posible mecanismo es la inhibición de la germinación, por competencia de nutrientes (Korsten and Jager, 1995). La promoción del crecimiento de la zanahoria se vio favorecida considerablemente por los diferentes aislados de *Bacillus* en las variables peso fresco y altura de planta, diámetro y peso de raíz; investigaciones similares muestran que *B. subtilis*, promovió el crecimiento de la raíz en plantas de jitomate y chile; además, Lagunas-Lagunas *et al.* (2001) incrementaron el volumen radical y peso del follaje de plantas de chile con aplicaciones semanales de *B. subtilis*. Dashti *et al.* (1997) observaron un mayor crecimiento en el sistema radicular de plántulas de lechuga al realizar aplicaciones con *Bacillus*; por otro lado, una combinación de *Bacillus subtilis* más Carboxin y Thiran en *Pisum sativum*, promovió un control superior de *R. solani* comparado con el control químico o biológico actuando por si solos (Mathre *et al.*, 1995).

Palabras clave: Fungicidas, biocontrol, quitosan, *Daucus carota*, *Larrea tridentata*

RESUMEN. De 11 aislados de *Bacillus* con actividad antifúngica se utilizaron cinco, en experimentos de laboratorio y campo analizando el potencial antifúngico contra *Alternaria dauci* y promoción del crecimiento en cultivo de la

zanahoria; además de las bacterias se provó la eficacia de la mezcla de los bioproductos quitosan y extracto de *Larrea tridentata* contra *A. dauc in vitro*; el aislado de *Bacillus* B1 mostró un mayor efecto inhibitor (53.44%) y estadísticamente superior que los demás. El efecto de las concentraciones del extracto Q-L, fue menor al observado con las bacterias antagónicas, ya que solo inhibió el crecimiento 14.06 % a la dosis 2000-2000 ppm; sin embargo, no se detectó esporulación del hongo en los tratamientos con estos extractos. Los aislados de *Bacillus* redujeron significativamente la incidencia y severidad de *A. dauci* en campo, con los aislados B1 y mezcla de *Bacillus*; así como también tuvieron una mayor capacidad para promover el desarrollo de la zanahoria, ya que ésta alcanzó mayor grosor, longitud y peso, con respecto al testigo y al resto de los tratamientos; la mezcla de aislados de *Bacillus* resultó ser la que estimuló más el crecimiento de la zanahoria, ya que reportó valores superiores en diámetro y peso fresco al momento de la cosecha, aunque se comportó estadísticamente similar al resto de los aislados de *Bacillus*.

LITERATURA CITADA

- BAUTISTA-BAÑOS S., M. HERNÁNDEZ-LOPEZ., E. BOSQUEZ-MOLINA AND C. L. WILSON. 2003. Effects of chitosan and plant extracts on growth of *colletotrichum gloeosporioides*, anthracnose levels and quality of papaya fruit. *Crop Protection* .22:1087-1092.
- BAUTISTA-BAÑOS S., M. HERNÁNDEZ-LOPEZ AND L. L. BARRERA-NECHA. 2000. Antifungal screening of plants of the state of Morelos, Mexico against four fungal postharvest pathogens of fruits and vegetables. *Mex. J. Phytopathol.* 18: 36-41.
- BHASKARA REDDY M. V., A. B. ESSAID., F. CASTAIGNE AND J. ARUL. 1997. Effect of chitosan on growth and toxin production by *Alternaria alternata* f. Sp. *Lycopersici*. 94th Ann Int. Conf. Am. Soc. Hort. Sci. Vol. 32, Salt Lake City, Utah, USA. 237 pp.

- CASTELLANOS J. J., P. OLIVA., E. IZQUIERDO AND N. MORALES. 1995. Evaluación de *Bacillus subtilis* como biocontrol del patógeno *Alternaria porri* (Ell). Cif en cebolla. In *Bioplág* 95. Habana, Cuba. INIFAT. p. 21.
- COOK R. J. 1993. Making Greater use of Introduced Microorganisms for Biological Control of Plant Pathogens *Ann Rev Phytopathol.* 31:53-56.
- DASHTI N., F. ZHANG., R. HYNES AND D. L. SMITH. 1997. Application of plant growth-promoting rhizobacteria to soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) increases protein and dry matter yield under short-season conditions. *Plant Soil.* 188: 33-36.
- DUGDALE L. J., H. A. COLLIN., S. ISAAC AND J. J. B. GILL. 1993. Leaf blight resistance in carrot somaclones. *Acta Horticulturae.* 336: 399-402.
- JONGEBLOED P. H., J. KESSEL AND G. J. T. MOLHOEK. 1993. Biological control of *Phytophthora infestans* with compost extracts and selected bacterial antagonists. *Bulletin OILB SROP.* 16: 16-21.
- KIM D. S., D. M. WELLER AND R. J. COOK. 1997. Population dynamics of *Bacillus* sp. L324-92Riz and *Pseudomonas fluorescens* 2-79 RN₁₀ in the rhizosphere of wheat. *Phytopathology.* 87: 559-563.
- KORSTEN L., E. E. DE VILLIERS., R. C. WEHNER AND J. M. KOTZET. 1997. Field spray of *Bacillus subtilis* and fungicides for control of preharvest fruit disease of avocado in South Africa. *Plant Disease.* 81: 455-459.
- KORSTEN L., E. S. DE JAGER AND E. E. DE VILLIERS. 1995. Evaluation of bacterial epiphytes isolated from avocado leaf and fruit surfaces for biocontrol of avocado postharvest diseases. *Plant Dis.* 79:1149-1156.
- LAGUNAS-LAGUNAS J., E. ZAVALA-MEJÍA., S. OSADA-KAWASOE., S. ARANDA-OCAMPO., I. LUNA-ROMERO AND H. VAQUERA-HUERTA. 2001. *Bacillus firmus* como agente de control biológico de *Phytophthora capsici* Leo. en jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Rev Mex de Fitopatol.* 19: 57-61.
- LI H. AND T. YU. 2000. Effect of chitosan on incidence of brown rot, quality and physiological attributes of postharvest peach fruit. *J. Sci. Food Agric.* 81:269-274.

- LIRA-SALDIVAR R. H., M. R. SÁNCHEZ., R. GAMBOA., D. JASSO AND R. RODRÍGUEZ. 2003. Fungitoxic effect of *Larrea tridentata* resin extract from the Chihuahuan and Sonoran Mexican deserts on *Alternaria solani*. *Agrochimica*. 47: 54-57.
- LUNA D., L. M. BUSTAMANTE., G. GONZALEZ., S. J. DOMÍNGUEZ., S. B. BAUTISTA., K. SHIRAI AND M. E. BOSQUEZ. 2001. Treatments on the quality of papaya fruit during storage. Proceedings of the Eighth International Congress on Engineering Food. Technomic Publishing Co. Inc., Lancaster, PA, pp. 1042-1046.
- MATHRE D. E., R. H. JOHNSTON., N. W. CALLAN., S. K. MOHAN., J. M. MARTIN., J. B. MILLER. 1995. Combined biological and diseases of Sh 2 sweet corn. *Plant Dis*. 79:1145-1148.
- MUZZARELLI R. A. A. 1996. Chitosan-based dietary foods. *Carbohydr. Polymers* 29:309-316.
- NEERGAARD P. 1945. *Danish Species of Alternaria and Stemphylium*. London, UK: Oxford University Press. pp 75.
- POISSONNIER J., P. REULET., B. GUERY AND P. TISON. 1995. L' *Alternaria* de la carotte. *Infos-Paris* 112: 42-46.
- RICHARDSON M. J. 1990. An Annotated List of Seed-borne Diseases. 4th ed. Zurich, Switzerland: International Seed Testing Association. pp 25.
- ROMANAZZI G., F. NIGRO., A. HIPÓLITO., D. DI VENERE AND M. SALERNO. 2002. Effect of pre and postharvest chitosan treatments to control storage grey mold of table grapes. *J of Food Science* 67: 1862-1867.
- SMITH K. P. AND R. M. GOODMAN. 1999. Host variation for interactions with beneficial plant-associated microbes. *Ann. Rev. Phytopathol.* 37:473-491.
- STANIER R AND M. DOUDOROFF. 1977. Editorial Aguilar SA, Barcelona España. p 467.
- STRANDBERG J. O. 1992. *Alternaria* species that attack vegetable crops: Biology and options for disease management. In: *Alternaria-Biology*,

Plant Disease and Metabolites, Topics in Secondary Metabolism, Vol. 3. Amsterdam, The Netherlands: Elsevier Science Publishers pp 175.

UENO, K., T. YAMAGUCHI., N. NISHI AND S. TOKURA. 1997. Antimicrobial activity by fractionated chitosan oligomers, p. 156-161. in A. Domard, G. A. F. Roberts, and K. M. Varum (ed.), *Advances in chitin sciences*, vol. 2. Jacques Andre, Lyons, France.

Cuadro 2.- Inhibición de crecimiento micelial *in vitro* de *Alternaria dauci* por aislados de *Bacillus* spp. y suspensiones de Quitosan-Larrea.

Tratamientos aplicados	Inhibición micelial (%)
<i>Bacillus</i> B1	53.44 a
<i>Bacillus</i> B3	48.44 b
<i>Bacillus</i> B9	40.31 c
<i>Bacillus</i> B13	46.25 b
<i>Bacillus</i> B15	0.0 f
Mezcla de <i>Bacillus</i> *	0.0 f
Q-L 2000-2000 ppm	14.06 d
Q-L 2000-1000	4.06 e
Q-L 1000-2000	1.88 ef
Q-L 1000-1000	0.00 f
Testigo	0.00 f

*Mezcla de las cinco aislados de *Bacillus*.

Cuadro 3. Incidencia de *Alternaria dauci* Kühn en plantas de zanahoria por efecto de productos biológicos y sintéticos

Tratamientos	Incidencia de la enfermedad en cinco fechas				
	90	100	110	120	135*
<i>Bacillus</i> B1	85 bc	100 a	100 a	100 a	100 a
<i>Bacillus</i> B3	85 bc	100 a	100 a	100 a	100 a
<i>Bacillus</i> B9	80 c	100 a	100 a	100 a	100 a
<i>Bacillus</i> B13	95 ab	100 a	100 a	100 a	100 a
<i>Bacillus</i> B15	95 ab	100 a	100 a	100 a	100 a
Mezcla de <i>Bacillus</i>	95 ab	100 a	100 a	100 a	100 a
Propiconazol	97.5 ab	100 a	100 a	100 a	100 a
Fluazinam	87.5 abc	100 a	100 a	100 a	100 a
Testigo absoluto	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a

*Días después de la siembra

Cuadro 4. Severidad de *Alternaria dauci* Kühn en campo por efecto de tratamientos biológicos y sintéticos.

Tratamientos	Severidad de la enfermedad				
	90	100	110	120	135*
<i>Bacillus</i> B1	0.640 ab	0.695 d	1.575 b	7.150 b	14.900 c
<i>Bacillus</i> B3	0.683 ab	0.990 cd	1.775 b	9.200 b	17.100 bc
<i>Bacillus</i> B9	0.613 ab	0.690 d	1.705 b	8.250 b	18.000 bc
<i>Bacillus</i> B13	0.815 ab	1.075 bcd	2.325 b	10.100 b	20.200 bc
<i>Bacillus</i> B15	0.753 ab	1.410 bc	2.080 b	11.800 ab	22.100 bc
B1,B3,B9,B13,B15	0.510 b	1.010 cd	1.600 b	6.800 b	21.400 bc
Propiconazol	1.240 a	1.080 bcd	2.000 b	8.600 b	22.750 bc
Fluazinam	0.630 ab	1.615 b	2.425 b	9.950 b	24.350 b
Testigo	1.213 a	3.275 a	4.150 a	18.500 a	35.550 a

*Días Después de la Siembra

Cuadro 5. Efecto de aislados de *Bacillus* ssp. y fungicidas químicos en la promoción del crecimiento de zanahoria cv. Nantes evaluado en dos fechas.

Tratamientos	Altura de Planta (cm)		Peso fresco de Planta (g)		Diámetro de raíz (cm)	
	90	135	90	135	90	135*
	<i>Bacillus</i> B1	36.60 ab	42.53 ab	116.60 ab	224.82 a	5.30 ab
<i>Bacillus</i> B3	40.50 a	46.68 a	112.80 ab	214.75 a	5.69 ab	10.27 ab
<i>Bacillus</i> B9	39.10 ab	44.03 ab	116.93 ab	210.19 a	5.73 ab	10.47 ab
<i>Bacillus</i> B13	40.38 a	46.03 ab	130.50 a	230.60 a	6.23 a	10.58 ab
<i>Bacillus</i> B15	39.98 ab	44.40 ab	123.23 ab	200.10 a	5.63 ab	10.92 ab
B1,B3,B9,B13,B15	38.55 ab	43.73 ab	113.20 ab	254.19 a	5.84 ab	11.46 a
Propiconazol	40.63 a	43.67 ab	129.35 a	219.63 a	5.75 ab	10.10 ab
Fluazinam	35.75 ab	45.10 ab	110.00 ab	275.75 a	5.69 ab	11.03 ab
Testigo	33.05 b	39.93 b	75.65 b	165.53 a	4.57 b	9.32 b

* Días Después de la Siembra

Cuadro 6. Efecto de aislados de *Bacillus* ssp. y fungicidas químicos en la promoción del crecimiento de zanahoria cv. Nantes evaluado en dos fechas.

Tratamientos	Longitud de raíz (cm)		Peso fresco de raíz (g)	
	90	135	90	135*
<i>Bacillus</i> B1	11.11 a	14.24 a	175.23 ab	842.0 ab
<i>Bacillus</i> B3	10.95 a	14.80 a	182.73 ab	919.2 ab
<i>Bacillus</i> B9	11.12 a	14.39 a	191.45 ab	879.5 ab
<i>Bacillus</i> B13	12.04 a	14.64 a	260.53 a	916.8 ab
<i>Bacillus</i> B15	11.39 a	14.92 a	204.59 ab	914.1 ab
B1,B3,B9,B13,B15	11.51 a	14.00 a	214.83 ab	1073.6 a
Propiconazol	11.41 a	14.17 a	212.25 ab	834.5 ab
Fluazinam	11.24 a	15.33 a	197.73 ab	1001.4 ab
Testigo	9.46 a	12.56 a	134.65 b	640.5 b

*Días Después de la Siembra

CONCLUSIONES

Los aislados de *Bacillus* B1 y B3 mostraron el mayor efecto en la inhibición del crecimiento micelial de *A. dauci in vitro* con el 53.4 y 48.4 por ciento respectivamente.

El fluazinam y propiconazol inhibieron al 90 por ciento el crecimiento de *A. dauci* con la menor concentración; además, de inhibir la esporulación del hongo a una concentración de 5 y 10 ppm respectivamente.

El aislado de *Bacillus* B3 presentó en invernadero los mejores resultados para la inhibición del crecimiento de *A. dauci* y para las variables de promoción de crecimiento; diámetro y longitud.

El aislado de *Bacillus* B1 presentó los mejores resultados en campo, con el menor grado de severidad de la enfermedad en 3 fechas de muestreo; seguida de la mezcla de bacterias la cual sobresalió en 2 fechas.

Los aislado de *Bacillus* B3, B13 y la mezcla de bacterias, presentaron el mayor efecto en el crecimiento de la zanahoria en campo con las variables altura de planta, diámetro y peso de raíz y el propiconazol con peso de planta.

LITERATURA CITADA

- Barbieri P. and Galli E. 1993. Effect on wheat root development of inoculatum with an *Azospirillus brasilense* mutant with altered indole-3-acetic acid production. Res. Microbiol. 144:69-75.
- Bari T. and Okin Y. 1993. Tryp conversion to indole-3-acetic acid via indole-3-acetamida in *Azospirillus brasilense* Sp7. Can. J. Microbiol. 39:81-86.
- Bautista-Baños S., García-Domínguez E., Barrera-Necha L., Reyes-Chilpa T. and Wilson C. L. 2003. Seasonal evaluation of the postharvest fungicidal activity of powders and extracts of huamuchil (*Pithecellobium dulce*): action on *Botrytis cinerea*, *Penicillium digitatum* and *Rhizopus stolonifer* of strawberry fruit. Postarv. Biol. Technol. 29: 81-92.
- Belimov A. A., Safronova V. and Minura T. 2002. Responde of spring rape (*Brassica napus* var. *olifera* L.) to inoculation with plant growth promoting rhizobacteria containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase depends on nutrient status of the plant. Can. J. Microbiol. 48:189-199.
- Benner J. P. 1993. Pesticides science; sussex, England; Jonh Wiley and Sons Limited. 39(2):95-102.
- Berney M. F. and Bird G. W. 1992. Distribution of *Heterodara carotae* and *Meloidogyne hapla* in Michigan carrot production. J. Nematol. 24(4):776-778.
- Bhaskara Reddy, M. V., Essaid, A. B., Castaigne, F. and Arul, J. 1997. Effect of chitosan on growth and toxin production by *Alternaria alternata* f. Sp. *lycopersici*. 94th Ann Int. Conf. Am. Soc. Hort. Sci. Vol. 32, Salt Lake City, Utah, USA, p. 237.
- Bic G. and Charmet F. 1985. L association iprodione + carbendazime: un nouveau fongocide contre les septoriosis et d' autres maladies du blé. Compte Redue. 1^o Journées d' Etudes sur les Maladies des Plantes. Versailles. Pp. 555-562.
- Bloemberg G. V. and Lugtenberg B. J. J. 2001. Molecular basis of plant growth promotion and biocontrol by rhizobacteria. Curr. Opin. Plant Biol. 4:343-350.

- Burd G. I. 2000. Plant growth-promoting bacteria that decrease heavy metal toxicity in plants. *Can. J. Microbiol.* 46:237-245.
- Buyer J. S., Roberts D. P. and Russek-Cohen E. 1999. Microbial community structure and function in the spermosphere as affected by soil and seed, type. *Can. J. Microbiol.* 45:138-144.
- Carisse O. and Kushalappa A. C. 1990. Development of an infection model for *Cercospora carotae* on carrot based on temperature and leaf wetness duration. *Phytopathology* 80:1233-1238.
- Cassan F., Bottini R., Schneider G. and Piccoli P. 2001. *Azospirillum brasilense* and *Azospirillum lipoferum* hydrolyz conjugates of GA₂₀ and metabolize that resultant aglycones to GA₁ in seedlings of rice dwarf mutants. *Plant Physiol.* 125:2053-2058.
- Castellanos J. J., Oliva P., Izquierdo E., and Morales N. 1995. Evaluación de *Bacillus subtilis* como biocontrol del patógeno *Alternaria porri* (Ell). Cif en cebolla. In *Bioplag 95*. Habana, Cuba. INIFAT. P 21
- Cattelan A. J., Harlet R. G. and Fuhrmann J. J. 1998. Screening for plant growth-promoting rhizobacteria to promote early soybean growth. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 63:1670-1680.
- Chet I., Ordentlich R., Shapira R. and Oppenheim A. 1990. Mechanism of biocontrol of soil-borne plant pathogens by rhizobacteria. *Plant and Soil.* 129:85-92.
- Cook R. J. and Baker K. F. 1985. The nature and practice of biological control of plant pathogens. The American Phytopathological Society, 2^o ed. St. Paul Minesota. Pp. 57-83.
- Dugdale L. J., Collin H. A., Isaac S., and Gill J. J. B. 1993. Leaf blight resistance in carrot somaclones. *Acta Horticulturae.* 336: 399-401.
- Ellis P.R., Saw P.L., and Crowther T. C. 1991. Development of carrot inbreds with resistance to carrot fly using a single seed descent programme. *Ann. Appl. Biol.* 119:349-357.
- Fridlende M. 1993. Biological control of soilborne plant pathogens by β -(1,3)-glucanase-producing *Pseudomonas cepacia*. *Soil Biol. Biochem.* 25:1211-1221.
- García de Salamone I. E., Inés R. K. and Nelson L. M. 2001. Cytokinin production by plant growth promoting rhizobacteria and selected mutants. *Can J. Microbiol.* 47:404-411.

- Gay P. A. 1992. Antagonistic effect of chitinolytic bacteria against toxin producing fungi. *Phytopathology*. 82:1074.
- Glick B. R. 1995. The enhancement of plant growth by free-living bacteria. *Can. J. Microbiol.* 41:109-117.
- Glick B. R., Patten C. L., Holguin O. and Penrose D. M. 1999 (a). Biocontrol mechanism. (Chapter 7). in: *Biochemical and genetic mechanism used by plant growth promoting bacteria*. Ontario Canada. Imperial Collage Press. Pp. 215-248.
- Glick B. R., Patten C. L., Holguin O. and Penrose D. M. 1999 (b). Auxin production. (Chapter 4). In: *Biochemical and genetic mechanism used by plant growth promoting bacteria*. Ontario Canada. Imperial Collage Press. Pp. 215-248.
- Hernández D. M. and Charlloux M. L. 2001. La nutrición mineral y la biofertilización en el cultivo del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill). *Temas de Ciencia y Tecnología* 5:11-27.
- Hernández J. and Sala L. 1990. Crown rot del plátano. Variantes en el sistema de manipulación. *Comunicaciones*. 4º Symposium Nacional de Agroquímicos. Sevilla, España. Pp. 403-408.
- Hong Y., Glick B. R. and Pasternak J. J. 1991. Plant-microbial interaction under gnotobiotic condition: A scanning electron microscope study. *Current Microbiol.* 23:111-114.
- Hutchinson C. M., McGiffen M. E., Ohr H. D., Sims J. J. and Backer J. O. 1999. Evaluations of methyl iodide as a soil fumigant for root-knot nematode control in carrot production. *Plant Dis.* 83:33-36.
- Idriss E. E., Makarewicz O., Farouk A., Rosner K., Greiner R., Bochow H., Richter T. and Borris R. 2002. Extracellular phytase activity of *Bacillus amyloliquefaciens* FZB45 contributes to its plant-growth-promoting effect. *Microbiology*. 148:2097-2109.
- Jongebloed P. H., Kessel J. and Molhoek G. J. T. 1993. Biological control of *Phytophthora infestans* with compost extracts and selected bacterial antagonists. *Bulletin Oilb Srop.* 16:16-20.
- Kim D. S., Weller D. M. and Cook J. R. 1997. Population dynamics of *Bacillus* sp. L324-92Riz and *Pseudomonas fluorecens* 2-79 RN10 in the rhizosphere of wheat. *Phytopathology*. 87:559-564.
- Kloepper J. W., Lifshitz R. and Zablutowicz M. 1989. Free-living bacterial inocula for enhancing crop productivity. *Trends Biotechnol.* 7:39-44.

- Kloepper. 1980. Enhanced plant growth by siderophores produced by plant growth-promoting rhizobacteria. *Nature*. 286:835-836.
- Konstantinova P. 2002. Development of specific primers for detection and identification of *Alternaria* spp. in carrot material by PCR and comparison with blotter and plating assays. *Mycological Research* 106: 23-33.
- Korsten L., De Villiers E. E., Wehner R. C. and Kotzet J. M. 1997. Field spray of *Bacillus subtilis* and fungicides for control of preharvest fruit disease of avocado in South Africa. *Plant Disease* 81:455-459.
- Lagunas-Lagunas J., Zavaleta-Mejía E., Osada-Kawasoe S., Aranda-Ocampo S., Luna-Romero I. and Vaquera-Huerta H. 2001. *Bacillus firmus* como agente de control biológico de *Phytophthora capsici* Leo. en jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Revista Mexicana de Fitopatología* 19: 57-65.
- Latham L. J. and Jones R. A. 2000. Yield and quality losses in carrots infected with *Carrot virus Y*. In: Proc. Carrot Conf. Aust. E. Davison and A. Mackay, eds. Agriculture Western Australia, South Perth, Western Australia. Pp. 48-49.
- Lazarovits G. and Nowak J. 1997. Rhizobacteria for improvement of plant growth and establishment. *Hort Science*. 32:188-197.
- Li H. and Yu T. 2000. Effect of chitosan on incidence of brown rot, quality and physiological attributes of postharvest peach fruit. *J. Sci. Food Agric.* 81:269-274.
- Mathre D. E., Johnston R. H., Callan N. W., Mohan S. K., Martin J. M. and Miller J. B. 1995. Combined biological and diseases of Sh 2 sweet corn. *Plant Dis.* 79:1145-1148.
- Mayak S., Tirosh T. and Glick B. R. 1999. Effect of wilt-type and mutant plant growth-promoting rhizobacteria the rooting of mung bean cuttings. *J. Plant Growth Regul.* 18:49-53.
- Montes B. R., Cruz C. V., Martinez M. G., Sandoval G. G., Garcia L. R., Zilch D. S., Bravo L. L., Bermúdez T. L. y Flores M. H. E. 2000. Propiedades antifungicas en plantas superiores. Análisis retrospectivo de investigaciones. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 18(2)125-131.
- Muzzarelli R. A. A. 1973. Natural chelating polymers: Alginic acid, chitin and chitosan. Pergamon Press. Oxford England. P 63.
- Neergaard P. 1945. Danish species of *Alternaria* and *Stemphylium*. Oxford University Press. London, UK. P 75.

- Neilands J. B. 1984. Siderophores of bacteria and fungi. *Microbiol. Sci.* 1:9-14.
- Oppenheim A. B. and Chet I. 1992. Cloned chitinases in fungal plant pathogen control strategies. *Trends Biotechnol.* 10:392-394.
- Padilla M. A., Vazquez M. M. del S. y Rodríguez E. R. 1995. Actividad biológica del extracto Hexánico de *Quercus grisea* sobre hongos patógenos de la raíz. En: Memorias del XXII Congreso Nacional de Fitopatología de la Sociedad Mexicana de Fitopatología. Guadalajara, Jalisco. Pp. 23-27.
- Pernezny K., Datnoff L. and Sommerfeld M. L. 1994. Brown stem of celery caused by *Pseudomonas cichorii*. *Plant Dis.* 78:917-919.
- Persello-Cartieaux F., Pascale D., Sarrobert C., Thibaund M. C., Achouak W., Robaglia C. and Nussaume L. 2001. Utilization of mutants to analyze the interaction between *Arabidopsis thaliana* and its naturally root-associated *Pseudomonas*. *Planta.* 212:190-198.
- Pillay V. H. and Howak J. 1997. Inoculum density, temperature and genotype affects on *in vitro* growth promotion and apiphytic and endophytic colonization of tomato (*Lycopersicon esculentum* L) seedling inoculated with a *Pseudomonas* bacterium. *Can. J. Microbiol.* 43:354-361.
- Podile A. R. and Prakash A. P. 1996. Lysis and biological control of *Aspergillus niger* by *Bacillus subtilis* AF-1. *Can J. Microbiol.* 42:533-538.
- Poissonnier J., P. Reulet., B. Guery and P. Tison. 1995. L' Alternaria de la carotte. *Infos-Paris* 112: 42-46.
- Pryor B. M., Davis R. M. and Gilbertson R. L. 2000. A toothpick inoculation method for evaluation of carrot cultivars resistance to *Alternaria radicina*. *HortScience* 35:1099-1102.
- Quintero-S.R., Gioanetto F., Chávez C.E. y Bárcenas O. D. 2002. Curso taller de agricultura orgánica. Universidad Autónoma de Chihuahua. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, CIDACOM, Chihuahua, Chihuahua. P 227.
- Richardson M. J. 1990. An Annotated List of Seed-borne Diseases. 4th ed. Zurich, Switzerland: International Seed Testing Association. pp 25.
- Rotrock C. S. and Goltieb. 1984. Role of antibiosis in antagonism of *Streptomyces hygroscopici* var. *Geldanus* to *Rhizoctonia solani* in soil. *Can. J. Microbiol.* 30:1446-1447.

- Rubatzky V. E., Quiros C. F and Simon P. W. 1999. Carrots and Related Vegetable Umbelliferae. CABI Publishing. New York. P. 67.
- Ryu C. M., Farag M. A., Hu C., Reddy M. S., Wei H. X., Paré P. W. and Kloepper J. W. 2003. Bacterial volatiles promote growth in *Arabidopsis*. P. Nati. Acad. Sci. USA. 100:4927-4932.
- Sandoval V., S.A., Apocada M. A. y Quintero J. A. 1995. Efecto del extracto de semilla de toronja contra *Rhizoctonia solani* y *Erwinia carotovora in vitro*. En: memorias de XXII Congreso Nacional de Fitopatología. Sociedad Mexicana de Fitopatología. P. 84.
- Schippers B., Bakker A. W. and Bakker M. 1987. Interactions of deleterious and beneficial rhizosphere microorganism and effect of cropping practices. Ann. Rev. Phytopathol. 25:339-358.
- Serdani M. 2002. Characterisation of *Alternaria* species-groups associated with core rot apples in South Africa. Mycological Research. 106: 561-569.
- Shah S., Li J., Moffatt B. A. and Glick B. R. 1998. Isolation and characterization of ACC deaminase genes from two different plant growth promoting growth rhizobacteria. Can. J. Microbiol. 44:833-843.
- Simmons E. G. 1995. *Alternaria* themes and variations (112-144). Mycotaxon. 55:55-163.
- Smith K. P. and Goodman R. M. 1999. Host variation for interactions with beneficial plant-associated microbes. Ann. Rev. Phytopathol. 37:473-491.
- Strandberg J. O. 1977. Spore production and dispersal of *Alternaria dauci*. Phytopathology 67: 1262-1264.
- Strandberg J. O. 1992. *Alternaria* species that attack vegetable crops: Biology and options for disease management. In: *Alternaria*-biology, Plant disease and metabolites, topics in secondary metabolism. Elsevier Science Publishers. Amsterdam, The Netherlands. Pp. 175-208.
- Strenhoudt O. and Vanderleyden J. 2000. *Azospirillum*, a free-living nitrogen-fixing bacterium closely associated with grasses; biochemical and ecological aspects. FEMS Microbiol. Rev. 24:487-506.
- Taylor A. G. and Harman G. E. 1990. Concepts and technologicis of selected seed treatments. Ann. Rev. Phytopathol. 28:321-339.
- Ueno, K., Yamaguchi, T., Nishi, N. and Tokura, S. 1997. Antimicrobial actibity by fractionated chitosan oligomers. In A. Domard, G. A. F. Roberts, and K. M.

- Varum (ed.), Advances in chitin sciences, vol. 2. Jacques Andre, Lyons, France. Pp. 156-161.
- Umesh K. C., Davis R. M. and Gilbertson R. L. 1998. Seed contamination thresholds for development of carrot bacterial blight caused by *Xanthomonas campestris* pv. *carotae*. Plant Dis. 82:1271-1275.
- Upadhyay R. S., Visitin L. and Jayaswal P. K. 1991. Environmental factors affecting the antagonism of *Pseudomonas cepacia* against *Trichoderma viridae*. Can. J. Microbiol. 37:880-884.
- Urech P. A., Schwinn F., Speich J. and Staub Th. 1979. The control of airborne diseases of cereals wiht CGA 64250. proceedings. British Crop Protection Conference. 2:508-516.
- Van Loon L. C., Bakker P. A. and Pieterse M. J. 1998. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. Ann. Rev. Phytopathol. 36:456-486.
- Watson M. T., Tian T., Estabrook E. and Falk B. W. 1998. A small RNA resembling the beet western yellows luteovirus ST9-associated RNA is a component of the California carrot motley dwarf complex. Phytopathology. 88:164-170.
- Xie H., Pasternak J. J. and Glick B. R. 1996. Isolation and characterization of mutans of the plant growth-promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR12-2 that overproduce indolacetic acid. Curr. Microbiol. 32:67-71.
- Yoram K. 1991. Plant growth promoting rhizobacteria. (Chapter 32) In: Pp. 717-729.
- Zablotowicz R. M., Press C. M., Lyng N., Brown G. L. and Kloepper J. W. 1992. Compatibility of plant growth promoting rhizobacterial strain with agrochemicals applied to seed. Can. J. Microbiol. 38:45-50.
- Zavaleta M. E. 1990. Efecto de la asociación de *Tagetes erecta* con tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) y chile (*Capsicum annum* L.) sobre poblaciones de áfidos de Tecamachalco, Puebla. En: Memorias del XVII Congreso Nacional de Fitopatología. CONACYT; Culiacán, Sinaloa. P. 100.
- Zhang S. and Gonzalves K. E. J. 1995. Appl. Polym. Sci. 56:687-688.

A P E N D I C E S

APENDICES

FASE DE LABORATORIO.

APÉNDICE 1. Productos químicos evaluados en *in vitro* contra *Alternaria dauci*.

	Inhibición (%)	Dosis (ppm)	Límites Fiduciales	
			Inferior	Superior
Clorotalonil				
50 %		75.65	32.24	127.12
90 %		3193.25	2014.84	6691.24
Fluazinam				
50 %		0.000366	0.000	0.02797
90 %		65.94	17.31	65933.69
Propiconazol				
50 %		0.7493	0.459666	1.076282
90 %		18.1011	11.479154	35.00427
Tiabendazol				
50 %		1728.86	1016.07063	4172.36331
90 %		256379.78	51748.0975	4926422.446
Iprodiona				
50 %		0.003938	0.000018	0.045970
90 %		102.4471	42.2903	448.7556

APÉNDICE 2. Inhibición de crecimiento micelial *in vitro* de *Alternaria dauci* por aislados de *Bacillus* spp. y suspensiones de Quitosan-Larrea.

Tratamientos	R1	R2	R3	R4
Cepa B1	55	53.75	51.25	53.75
Cepa B3	46.25	50	47.5	50
Cepa B9	37.5	42.5	40	41.25
Cepa B13	42.5	47.5	47.5	47.5
Cepa B15	0	0	0	0
Mezcla B1,B3,B9,B13,B15	0	0	0	0
Q-L 2000-2000 ppm	0	0	0	0
Q-L 2000-1000	7.5	0	7.5	1.25
Q-L 1000-2000	13.75	16.25	13.75	12.5
Q-L 1000-1000	0	7.5	0	0
Testigo	0	0	0	0

ANÁLISIS DE VARIANZA.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	10	20936.150391	2093.614990	466.6718	0.000
ERROR	33	148.046875	4.486269		
TOTAL	43	21084.197266			

C.V. = 11.18 %

FASE DE INVERNADERO

Fecha 1

APÉNDICE 3. Efecto de aislados de *Bacillus* ssp. y fungicidas químicos en el peso de planta y raíz en la zanahoria cv. Nantes.

Tratamientos	R1	R2	R3	R4
Aislado B1	72.8000	20.0000	23.6000	24.5000
Aislado B3	73.9000	19.7000	21.2000	22.5000
Aislado B9	64.0000	20.2000	36.1000	36.5000
Aislado B13	63.3000	22.6000	25.5000	26.5000
Aislado B15	28.2000	30.6000	14.6000	16.5000
Mezcla de las 5 Aislados	77.1000	16.7000	33.2000	34.5000
Q-L 2000-2000	77.4000	20.5000	15.4000	16.5000
Mezcla de Sintéticos	46.9000	26.7000	15.3000	16.5000
Testigo absoluto	33.6000	18.9000	12.6000	13.5000

ANALISIS DE VARIANZA

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	8	1194.886719	199.147781	1.1195	0.407
BLOQUES	3	5965.996094	2982.998047	16.7685	0.001
ERROR	24	2134.716797	177.893066		
TOTAL	35	9295.599609			

C.V. = 39.85%

APÉNDICE 4. Efecto de aislados de *Bacillus* ssp. y fungicidas químicos en la altura de planta de zanahoria cv. Nantes evaluado en dos fechas.

Tratamientos	R1	R2	R3	R4
Aislado B1	20.5000	30.5000	19.5000	20.5000
Aislado B3	21.3000	32.7000	17.5000	18.5000
Aislado B9	17.2000	41.0000	20.5000	21.5000
Aislado B13	19.6000	31.5000	21.5000	22.5000
Aislado B15	25.5000	33.0000	21.7000	22.5000
Mezcla de las 5 Aislados	23.7000	40.7000	17.8000	18.6000
Q-L 2000-2000	21.3000	38.3000	17.7000	17.4000
Mezcla de Sintéticos	17.7000	31.3000	22.5000	22.6000
Testigo absoluto	18.3000	28.2000	19.5000	19.3000

ANALISIS DE VARIANZA

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	8	67.513672	11.252278	0.8146	0.579
BLOQUES	3	1036.424805	518.212402	37.5176	0.000
ERROR	24	165.750000	13.812500		
TOTAL	35	1269.688477			

C.V. = 14.80%

APÉNDICE 5. Efecto de aislados de *Bacillus* ssp. y fungicidas químicos en la longitud de raíz de zanahoria cv. Nantes evaluado en dos fechas.

Tratamientos	R1	R2	R3	R4
Aislado B1	12.4000	15.3000	14.2000	15.3000
Aislado B3	13.8000	15.8000	14.0000	14.8000
Aislado B9	12.2000	14.2000	12.2000	13.9000
Aislado B13	12.3000	14.1000	13.6000	14.2000
Aislado B15	12.8000	16.5000	15.3000	16.4000
Mezcla de las 5 Aislados	15.5000	15.2000	11.2000	12.5000
Q-L 2000-2000	11.5000	16.3000	11.3000	12.6000
Mezcla de Sintéticos	11.3000	13.3000	14.0000	15.2000
Testigo absoluto	13.3000	13.7000	15.0000	13.7000

ANALISIS DE VARIANZA

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	8	12.125732	2.020955	0.8677	0.546
BLOQUES	3	17.329102	8.664551	3.7200	0.054
ERROR	24	27.950439	2.329203		
TOTAL	35	57.405273			

C.V. = 11.11%

APÉNDICE 6. Efecto de aislados de *Bacillus* ssp. y fungicidas químicos en el diámetro de raíz de zanahoria cv. Nantes evaluado en dos fechas.

Tratamientos	R1	R2	R3	R4
Aislado B1	1.8000	2.2000	1.4000	1.7000
Aislado B3	1.7000	3.1000	1.5000	1.5000
Aislado B9	1.3000	2.2000	1.9000	1.7500
Aislado B13	1.5000	1.9000	1.8000	1.8500
Aislado B15	2.5000	2.2000	2.2000	1.9000
Mezcla de las 5 Aislados	2.1000	2.6000	1.3000	2.1000
Q-L 2000-2000	1.5000	2.2000	1.5000	1.7500
Mezcla de Sintéticos	1.3000	1.6000	1.6000	1.8000
Testigo absoluto	1.3000	1.8000	2.2000	1.9000

ANALISIS DE VARIANZA

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	8	1.272385	0.212064	1.1083	0.413
BLOQUES	3	1.357162	0.678581	3.5463	0.061
ERROR	24	2.296173	0.191348		
TOTAL	35	4.925720			

C.V. = 23.20%

Fecha 2

APÉNDICE 7. Efecto de aislados de *Bacillus* ssp. y fungicidas químicos en el peso de planta y raíz de zanahoria cv. Nantes.

Tratamientos	R1	R2	R3	R4
Aislado B1	750.0000	1125.000	985.0000	885.000
Aislado B3	800.0000	1550.000	820.0000	935.000
Aislado B9	900.0000	1190.000	815.0000	945.000
Aislado B13	800.0000	1250.000	795.0000	1025.000
Aislado B15	800.0000	1125.000	850.0000	935.000
Mezcla de las 5 Aislados	800.0000	1050.0000	750.0000	925.000
Q-L 2000-2000	800.0000	1100.0000	780.0000	865.000
Mezcla de Sintéticos	600.0000	975.0000	740.000	895.000
Testigo absoluto	560.0000	700.0000	600.0000	685.000

ANALISIS DE VARIANZA

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	8	360732.000000	60122.000000	1.1990	0.362
ERROR	12	701986.000000	50141.855469		
TOTAL	20	1062718.000000			

C.V. = 25.69 %

APÉNDICE 8. Efecto de aislados de *Bacillus* ssp. y fungicidas químicos en la longitud de raíz de zanahoria cv. Nantes.

Tratamientos	R1	R2	R3	R4
Aislado B1	16.2000	18.2000	14.400	16.1000
Aislado B3	15.6000	21.2000	13.700	16.7000
Aislado B9	15.7000	19.5000	14.4000	16.6000
Aislado B13	14.5000	18.6500	16.2500	15.9000
Aislado B15	15.4000	19.1000	14.7000	16.5200
Mezcla de las 5 Aislados	15.4000	17.9000	14.2000	15.2300
Q-L 2000-2000	14.4000	17.1000	13.5000	14.8000
Mezcla de Sintéticos	12.6000	16.5000	13.6000	14.7000
Testigo absoluto	8.9000	14.0000	11.7000	12.0000

ANALISIS DE VARIANZA

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	8	62.115723	10.352620	1.5921	0.221
ERROR	12	91.033203	6.502372		
TOTAL	20	153.148926			

C.V. = 16.78 %

APÉNDICE 9. Efecto de aislados de *Bacillus* ssp. y fungicidas químicos en el diámetro de raíz de zanahoria cv. Nantes.

Tratamientos	R1	R2	R3	R4
Aislado B1	10.9500	10.5500	10.8000	11.1000
Aislado B3	11.0000	12.1000	10.3000	11.2500
Aislado B9	10.6000	11.6000	10.3000	10.8700
Aislado B13	10.9000	10.5000	10.6500	10.8500
Aislado B15	9.6000	11.1000	10.3000	10.4300
Mezcla de las 5 Aislados	9.3000	11.3000	10.2000	10.3100
Q-L 2000-2000	8.8000	10.7000	10.1000	9.78000
Mezcla de Sintéticos	7.9000	9.7000	8.5000	8.88000
Testigo absoluto	5.1000	7.7000	7.1000	6.65000

ANALISIS DE VARIANZA

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	8	43.472168	7.245361	7.8144	0.001
ERROR	15	12.980469	0.927176		
TOTAL	23	56.452637			

C.V. = 9.95 %

APÉNDICE 10. Efecto de aislados de *Bacillus* ssp. y fungicidas químicos en la altura de planta de zanahoria cv. Nantes.

Tratamientos	R1	R2	R3	R4
Aislado B1	27.6000	41.5000	27.0000	28.3000
Aislado B3	27.8000	39.3000	27.1000	27.9600
Aislado B9	28.2000	46.0000	26.4000	27.9700
Aislado B13	28.6000	39.7000	27.3000	28.5000
Aislado B15	28.1000	38.2000	28.0000	28.8000
Mezcla de las 5 Aislados	30.2000	42.3000	26.6000	27.3000
Q-L 2000-2000	29.2000	44.2000	24.7000	26.2000
Mezcla de Sintéticos	27.2000	38.8000	29.2000	30.1000
Testigo absoluto	28.3000	35.8000	22.2000	23.1000

ANALISIS DE VARIANZA

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	8	44.503906	7.417318	1.2460	0.350
BLOQUES	3	839.357422	419.678711	70.4991	0.000
ERROR	24	71.435547	5.952962		
TOTAL	35	955.296875			

C.V. = 7.67%

APÉNDICE 11. Efecto de aislados de *Bacillus* ssp. y fungicidas químicos en la incidencia de *Alternaria dauci* en zanahoria cv. Nantes.

Tratamientos	R1	R2	R3	R4
Aislado B1	50.000	50.000	0.000	0.000
Aislado B3	0.000	0.000	0.000	0.000
Aislado B9	50.000	0.000	50.000	0.000
Aislado B13	50.000	0.000	0.000	50.000
Aislado B15	50.000	50.000	50.000	50.000
Mezcla de las 5 Aislados	50.000	50.000	50.000	50.000
Q-L 2000-2000	50.000	50.000	50.000	50.000
Mezcla de Sintéticos	100.000	50.000	100.000	50.000
Testigo absoluto	100.000	100.000	100.000	100.000

ANALISIS DE VARIANZA

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	8	28888.890625	3611.111328	12.0000	0.000
BLOQUES	3	2777.781250	925.927063	3.0769	0.046
ERROR	24	7222.218750	300.925781		
TOTAL	35	38888.890625			

C.V. = 39.03%

APÉNDICE 12. Efecto de aislados de *Bacillus* ssp. y fungicidas químicos en la severidad de *Alternaria dauci* en zanahoria cv. Nantes. (porcentaje de daño)

Tratamientos	R1	R2	R3	R4
Aislado B1	1.000	0.000	1.000	0.000
Aislado B3	0.000	0.000	0.000	0.000
Aislado B9	1.000	0.000	0.000	1.000
Aislado B13	1.000	1.000	0.000	0.000
Aislado B15	1.000	2.000	0.000	1.000
Mezcla de las 5 Aislados	1.000	1.000	1.000	1.000
Q-L 2000-2000	3.000	0.000	6.000	3.000
Mezcla de Sintéticos	6.000	6.000	3.000	2.000
Testigo absoluto	10.000	8.000	3.000	6.000

ANALISIS DE VARIANZA

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	8	165.388885	20.673611	9.0121	0.000
BLOQUES	3	7.444443	2.481481	1.0817	0.376
ERROR	24	55.055557	2.293982		
TOTAL	35	227.888885			

C.V. = 77.89%

FASE DE CAMPO.

APÉNDICE 13. Efecto de aislados de *Bacillus* ssp. y fungicidas químicos en la altura de planta de zanahoria cv. Nantes a 90 días después de la siembra.

Tratamientos	R1	R2	R3	R4
Aislado B1	40	45,3	42,3	42,53
Aislado B3	48,7	44,3	47	46,66
Aislado B9	49,2	43,7	39,2	44,03
Aislado B13	47,8	47,6	42,7	46,03
Aislado B15	48,3	45,5	39,4	44,4
Mezcla de las 5 Aislados	41,3	46,1	43,8	43,73
Propiconazol 50 ppm	42,3	43,4	45,3	43,66
Fluazinam 250 ppm	47,5	46,7	41,1	45,1
Testigo absoluto	44,7	36	39	40

ANALISIS DE VARIANZA

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	8	126.359375	15.794922	2.3588	0.049
BLOQUES	3	51.070313	17.023438	2.5422	0.079
ERROR	24	160.710938	6.696289		
TOTAL	35	338.140625			

C.V. = 5.88%

APÉNDICE 14. Efecto de aislados de *Bacillus* ssp. y fungicidas químicos en el diámetro de raíz de zanahoria cv. Nantes a 90 días después de la siembra.

Tratamientos	R1	R2	R3	R4
Aislado B1	7,78	8,43	6,97	7,72
Aislado B3	7,53	7,91	7,6	7,7
Aislado B9	6,75	7,34	7	7,03
Aislado B13	8,18	7,88	8,3	8,12
Aislado B15	8,13	7,85	7,27	7,75
Mezcla de las 5 Aislados	7,13	7,69	8,02	7,61
Propiconazol 50 ppm	7,86	7,3	7,67	7
Fluazinam 250 ppm	9,45	8,55	7,1	8
Testigo absoluto	7,89	6,8	8,14	7,5

ANALISIS DE VARIANZA

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	8	4.156006	0.519501	2.0442	0.084
BLOQUES	3	0.490234	0.163411	0.6430	0.598
ERROR	24	6.099121	0.254130		
TOTAL	35	10.745361			

C.V. = 6.55%

APÉNDICE 15. Efecto de aislados de *Bacillus* ssp. y fungicidas químicos en la longitud de raíz de zanahoria cv. Nantes a 90 días después de la siembra.

Tratamientos	R1	R2	R3	R4
Aislado B1	12,6	14,1	13,1	13,26
Aislado B3	10,65	12,08	15,2	12,64
Aislado B9	13,73	12,9	13,3	13,31
Aislado B13	13,66	11,95	12,5	12,7
Aislado B15	11,65	13	13,1	12,58
Mezcla de las 5 Aislados	11,34	14,1	14,95	13,46
Propiconazol 50 ppm	11,71	12,9	13,47	12,69
Fluazinam 250 ppm	14,06	13,05	13,15	13,4
Testigo absoluto	11,4	11,9	12,6	11,5

ANALISIS DE VARIANZA

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	8	8.926270	1.115784	1.3955	0.248
BLOQUES	3	6.230957	2.076986	2.5976	0.075
ERROR	24	19.189941	0.799581		
TOTAL	35	34.347168			

C.V. = 6.94%

APÉNDICE 16. Efecto de aislados de *Bacillus* ssp. y fungicidas químicos en el peso de raíz de zanahoria cv. Nantes a 90 días después de la siembra.

Tratamientos	R1	R2	R3	R4
Aislado B1	175,7	181,4	230,4	113,4
Aislado B3	152,3	171	242,8	164,8
Aislado B9	205,8	137,7	270,6	151,7
Aislado B13	286,5	252	249,8	253,8
Aislado B15	201	205	214,6	197,8
Mezcla de las 5 Aislados	149	278	259,3	173
Propiconazol 50 ppm	254,5	183	223,1	188,4
Fluazinam 250 ppm	200,2	223	108,1	259,6
Testigo absoluto	141	170,6	120,5	106,5

ANALISIS DE VARIANZA

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	8	36960.750000	4620.093750	2.2788	0.056
BLOQUES	3	5459.250000	1819.750000	0.8976	0.541
ERROR	24	48657.500000	2027.395874		
TOTAL	35	91077.500000			

C.V. = 22.84%

APÉNDICE 17. Efecto de aislados de *Bacillus* ssp. y fungicidas químicos en el peso de planta de zanahoria cv. Nantes a 90 días después de la siembra.

Tratamientos	R1	R2	R3	R4
Aislado B1	124	141	123	78,4
Aislado B3	100	109,5	154,3	87,4
Aislado B9	124	114,5	150,5	78,7
Aislado B13	150	143	124,5	140,5
Aislado B15	102	158,5	126,4	106
Mezcla de las 5 Aislados	75,5	141	138	98,3
Propiconazol 50 ppm	106,5	163	146,5	101,4
Fluazinam 250 ppm	102	145	68	125
Testigo absoluto	78	95,5	65,1	64

ANALISIS DE VARIANZA

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	8	9853.781250	1231.722656	2.4130	0.045
BLOQUES	3	7121.875000	2373.958252	4.6506	0.011
ERROR	24	12251.000000	510.458344		
TOTAL	35	29226.656250			

C.V. = 19.60%

APÉNDICE 18. Efecto de aislados de *Bacillus* ssp. y fungicidas químicos en la severidad de *Alternaria dauci* en zanahoria cv. Nantes a 90 días después de la siembra.

Tratamientos	R1	R2	R3	R4
Aislado B1	0,88	0,45	0,59	0,64
Aislado B3	0,98	0,55	0,52	0,68
Aislado B9	0,87	0,72	0,25	0,61
Aislado B13	0,98	0,74	0,73	0,81
Aislado B15	0,99	0,77	0,5	0,75
Mezcla de las 5 Aislados	0,27	0,69	0,575	0,51
Propiconazol 50 ppm	2,16	0,77	1,03	1
Fluazinam 250 ppm	1,1	0,5	0,32	0,6
Testigo absoluto	1,91	0,76	0,68	1,5

ANALISIS DE VARIANZA

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	8	2.204756	0.275594	3.9376	0.004
BLOQUES	3	1.574894	0.524965	7.5005	0.001
ERROR	24	1.679779	0.069991		
TOTAL	35	5.459429			

C.V. = 33.55%

APÉNDICE 19. Efecto de aislados de *Bacillus* ssp. y fungicidas químicos en la incidencia de *Alternaria dauci* en zanahoria cv. Nantes a 90 días después de la siembra.
Incidencia (90 días después de la siembra)

Tratamientos	R1	R2	R3	R4
Aislado B1	90	80	80	90
Aislado B3	90	80	80	90
Aislado B9	90	80	70	80
Aislado B13	90	100	90	100
Aislado B15	90	90	100	100
Mezcla de las 5 Aislados	90	100	100	90
Propiconazol 50 ppm	90	100	100	100
Fluazinam 250 ppm	90	90	80	90
Testigo absoluto	100	100	100	100

ANALISIS DE VARIANZA

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	8	1505.562500	188.195313	5.9342	0.000
BLOQUES	3	88.875000	29.625000	0.9341	0.559
ERROR	24	761.125000	31.713541		
TOTAL	35	2355.562500			

C.V. = 6.18%

APÉNDICE 20. Efecto de aislados de *Bacillus* ssp. y fungicidas químicos en la severidad de *Alternaria dauci* en zanahoria cv. Nantes a 100 días después de la siembra.

Tratamientos	R1	R2	R3	R4
Aislado B1	0,86	0,9	0,46	0,56
Aislado B3	0,86	1	1,1	1
Aislado B9	0,5	0,66	0,8	0,8
Aislado B13	1,16	1,16	1,08	0,9
Aislado B15	1,7	1,5	1,24	1,2
Mezcla de las 5 Aislados	1,14	1,3	0,7	0,9
Propiconazol 50 ppm	0,9	1,2	1,02	1,2
Fluazinam 250 ppm	1,8	1,7	1,56	1,4
Testigo absoluto	2,8	3	3,7	3,6

ANALISIS DE VARIANZA

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	8	20.108486	2.513561	44.8745	0.000
BLOQUES	3	0.051285	0.017095	0.3052	0.823
ERROR	24	1.344315	0.056013		
TOTAL	35	21.504086			

C.V. = 17.99%

APÉNDICE 21. Efecto de aislados de *Bacillus* ssp. y fungicidas químicos en la incidencia de *Alternaria dauci* en zanahoria cv. Nantes a 100 días después de la siembra.

Tratamientos	R1	R2	R3	R4
Cepa B1	100	100	100	100
Cepa B3	100	100	100	100
Cepa B9	100	100	100	100
Cepa B13	100	100	100	100
Cepa B15	100	100	100	100
Mezcla de las 5 cepas	100	100	100	100
Propiconazol 50 ppm	100	100	100	100
Fluazinam 250 ppm	100	100	100	100
Testigo absoluto	100	100	100	100

El programa no arroja análisis de varianza para este conjunto de datos.

APÉNDICE 22. Efecto de aislados de *Bacillus* ssp. y fungicidas químicos en la severidad de *Alternaria dauci* en zanahoria cv. Nantes a 110 días después de la siembra.

Tratamientos	R1	R2	R3	R4
Cepa B1	1,8	1,3	1,3	1,9
Cepa B3	1,6	1,8	1,8	1,9
Cepa B9	1,8	2	1,12	1,9
Cepa B13	2,9	2,4	1,8	2,2
Cepa B15	2,2	2,8	1,22	2,1
Mezcla de las 5 cepas	2	1,6	1	1,8
Propiconazol 50 ppm	1,9	1,6	2,2	2,3
Fluazinam 250 ppm	2,9	3,1	1,4	2,3
Testigo absoluto	4	4,2	5	3,4

ANÁLISIS DE VARIANZA

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	8	20.218796	2.527349	47.1340	0.000
BLOQUES	3	0.031780	0.010593	0.1976	0.897
ERROR	24	1.286892	0.053620		
TOTAL	35	21.537468			

C.V. = 17.67%

APÉNDICE 23. Efecto de aislados de *Bacillus* ssp. y fungicidas químicos en la incidencia de *Alternaria dauci* en zanahoria cv. Nantes a 110 días después de la siembra.

Tratamientos	R1	R2	R3	R4
Aislado B1	100	100	100	100
Aislado B3	100	100	100	100
Aislado B9	100	100	100	100
Aislado B13	100	100	100	100
Aislado B15	100	100	100	100
Mezcla de las 5 Aislados	100	100	100	100
Propiconazol 50 ppm	100	100	100	100
Fluazinam 250 ppm	100	100	100	100
Testigo absoluto	100	100	100	100

El programa no arroja análisis de varianza para este conjunto de datos.

APÉNDICE 24. Efecto de aislados de *Bacillus* ssp. y fungicidas químicos en la severidad de *Alternaria dauci* en zanahoria cv. Nantes a 120 días después de la siembra.

Tratamientos	R1	R2	R3	R4
Aislado B1	7	9,6	5,2	6,8
Aislado B3	10	6,2	12,8	7,8
Aislado B9	8	9,8	8	7,2
Aislado B13	9	9,2	14,6	7,6
Aislado B15	12	18,6	7,4	9,2
Mezcla de las 5 Aislados	9	5,2	4,6	8,4
Propiconazol 50 ppm	9,4	9,6	7,4	8
Fluazinam 250 ppm	12,2	7,6	4,2	15,8
Testigo absoluto	15,4	19,4	15	24,2

ANALISIS DE VARIANZA

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	8	398.055420	49.756927	4.4033	0.002
BLOQUES	3	19.132324	6.377441	0.5644	0.647
ERROR	24	271.197754	11.299907		
TOTAL	35	688.385498			

C.V. = 33.49%

APÉNDICE 25. Efecto de aislados de *Bacillus* ssp. y fungicidas químicos en la incidencia de *Alternaria dauci* en zanahoria cv. Nantes a 120 días después de la siembra.

Tratamientos	R1	R2	R3	R4
Aislado B1	100	100	100	100
Aislado B3	100	100	100	100
Aislado B9	100	100	100	100
Aislado B13	100	100	100	100
Aislado B15	100	100	100	100
Mezcla de las 5 Aislados	100	100	100	100
Propiconazol 50 ppm	100	100	100	100
Fluazinam 250 ppm	100	100	100	100
Testigo absoluto	100	100	100	100

El programa no arroja análisis de varianza para este conjunto de datos.

APÉNDICE 26. Efecto de aislados de *Bacillus* ssp. y fungicidas químicos en la altura de planta de zanahoria cv. Nantes a 135 días después de la siembra.

Tratamientos	R1	R2	R3	R4
Aislado B1	48	35,4	37,8	39,8
Aislado B3	53,4	40,4	45,8	38,6
Aislado B9	36,4	37,4	36,8	40,2
Aislado B13	44,6	42,8	41,8	35
Aislado B15	39,4	36,4	39,8	42,8
Mezcla de las 5 Aislados	41,8	38,4	38	46,8
Propiconazol 50 ppm	38	42,6	39,6	44,6
Fluazinam 250 ppm	37	44,6	39,8	40,2
Testigo absoluto	37,6	34	38,2	38,2

ANALISIS DE VARIANZA

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	8	153.941406	19.242676	1.1987	0.341
BLOQUES	3	37.203125	12.401042	0.7725	0.523
ERROR	24	385.269531	16.052896		
TOTAL	35	576.414063			

C.V. = 9.93%

APÉNDICE 27. Efecto de aislados de *Bacillus* ssp. y fungicidas químicos en la longitud de raíz de zanahoria cv. Nantes a 135 días después de la siembra.

Tratamientos	R1	R2	R3	R4
Aislado B1	14,44	13,7	14,36	14,46
Aislado B3	12,8	15,5	15,5	15,4
Aislado B9	13,14	14,24	14,7	15,5
Aislado B13	13,9	16	14,8	13,84
Aislado B15	12,76	17,2	14,6	15,1
Mezcla de las 5 Aislados	13,2	14,4	14,4	14
Propiconazol 50 ppm	14,8	15,4	13,3	13,16
Fluazinam 250 ppm	15,2	16,2	15,2	14,7
Testigo absoluto	12,8	9,6	12,6	15,24

ANALISIS DE VARIANZA

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	8	19.707520	2.463440	1.5653	0.188
BLOQUES	3	5.776855	1.925619	1.2236	0.323
ERROR	24	37.770508	1.573771		
TOTAL	35	63.254883			

C.V. = 8.75%

APÉNDICE 28. Efecto de aislados de *Bacillus* ssp. y fungicidas químicos en el diámetro de raíz de zanahoria cv. Nantes a 135 días después de la siembra.

Tratamientos	R1	R2	R3	R4
Aislado B1	11,2	9,4	10,24	10,62
Aislado B3	9,82	9,56	11,9	9,82
Aislado B9	9,94	10,48	11,48	10,04
Aislado B13	10	10,78	11,16	10,36
Aislado B15	9,8	11,86	10,92	11,08
Mezcla de las 5 Aislados	9,7	12,02	11,22	12,9
Propiconazol 50 ppm	9,86	10,8	9,6	10,14
Fluazinam 250 ppm	10,06	11,42	11,58	11,06
Testigo absoluto	9,64	8,28	9,62	9,72

ANALISIS DE VARIANZA

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	8	12.054199	1.506775	2.3631	0.049
BLOQUES	3	3.553467	1.184489	1.8576	0.163
ERROR	24	15.303223	0.637634		
TOTAL	35	30.910889			

C.V. = 7.60%

APÉNDICE 29. Efecto de aislados de *Bacillus* ssp. y fungicidas químicos en el peso de planta de zanahoria cv. Nantes a 135 días después de la siembra.

Tratamientos	R1	R2	R3	R4
Aislado B1	239	167	105,6	124,6
Aislado B3	280	163	106	152
Aislado B9	66	154	84	113
Aislado B13	150,6	152,8	100	79,6
Aislado B15	126,8	155	138,6	141
Mezcla de las 5 Aislado s	138	148	97	179,8
Propiconazol 50 ppm	58	158,6	148,2	88
Fluazinam 250 ppm	101,2	107,6	219,4	136,4
Testigo absoluto	63	48	58,4	111

ANALISIS DE VARIANZA

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	8	31413.125000	3926.640625	1.7199	0.145
BLOQUES	3	2714.125000	904.708313	0.3963	0.760
ERROR	24	54795.062500	2283.127686		
TOTAL	35	88922.312500			

C.V. = 36.92%

APÉNDICE 30. Efecto de aislados de *Bacillus* ssp. y fungicidas químicos en el peso de raíz de zanahoria cv. Nantes a 135 días después de la siembra.

Tratamientos	R1	R2	R3	R4
Aislado B1	1046	708	815	799
Aislado B3	714	824	1228,8	910
Aislado B9	792	900	1039,4	793,4
Aislado B13	850	1040,8	1002,4	774
Aislado B15	686,4	1000	940,8	1029
Mezcla de las 5 Aislado s	750,4	1308	999	1237
Propiconazol 50 ppm	790,8	1013	754	780
Fluazinam 250 ppm	869,6	1130	1020	986
Testigo absoluto	668	371,4	688	834,6

ANALISIS DE VARIANZA

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	8	463862.000000	57982.750000	2.1801	0.067
BLOQUES	3	115170.000000	38390.000000	1.4434	0.254
ERROR	24	638314.000000	26596.416016		
TOTAL	35	1217346.000000			

C.V. = 18.29%

APÉNDICE 31. Efecto de aislados de *Bacillus* ssp. y fungicidas químicos en la severidad de *Alternaria dauci* en zanahoria cv. Nantes a 135 días después de la siembra.

Tratamientos	R1	R2	R3	R4
Aislado B1	9,8	12,4	16,4	21
Aislado B3	12,6	12,4	19,4	24
Aislado B9	16,4	16,6	20	19
Aislado B13	14,4	14,4	23	29
Aislado B15	21	21,8	19	26,6
Mezcla de las 5 Aislados	19,2	21,8	21,6	23
Propiconazol 50 ppm	23,2	17,2	23,6	27
Fluazinam 250 ppm	22,4	23,6	18,4	33
Testigo absoluto	34,2	39	28	41

ANALISIS DE VARIANZA

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	8	1133.660156	141.707520	11.8521	0.000
BLOQUES	3	345.656250	115.218750	9.6367	0.000
ERROR	24	286.951172	11.956299		
TOTAL	35	1766.267578			

C.V. = 15.85%

APÉNDICE 32. Efecto de aislados de *Bacillus* ssp. y fungicidas químicos en la incidencia de *Alternaria dauci* en zanahoria cv. Nantes a 135 días después de la siembra.

Tratamientos	R1	R2	R3	R4
Aislado B1	100	100	100	100
Aislado B3	100	100	100	100
Aislado B9	100	100	100	100
Aislado B13	100	100	100	100
Aislado B15	100	100	100	100
Mezcla de las 5 Aislados	100	100	100	100
Propiconazol 50 ppm	100	100	100	100
Fluazinam 250 ppm	100	100	100	100
Testigo absoluto	100	100	100	100

El programa no arroja análisis de varianza para este conjunto de datos.