

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA  
DEPARTAMENTO DE HORTICULTURA



Identificación de Actinomicetos Aislados de Rizosfera de Manzano con  
Actividad Antagónica a *Fusarium* sp.

Por:

**NANCY YASMÍN GARCÍA GONZÁLEZ**

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

**INGENIERO AGRÓNOMO EN HORTICULTURA**

Saltillo, Coahuila, México.

Octubre, 2014

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA  
DEPARTAMENTO DE HORTICULTURA

Identificación de Actinomicetos Aislados de Rizosfera de Manzano con Actividad

Antagónica a *Fusarium* sp.

Por:

**NANCY YASMÍN GARCÍA GONZÁLEZ**


TESIS


Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

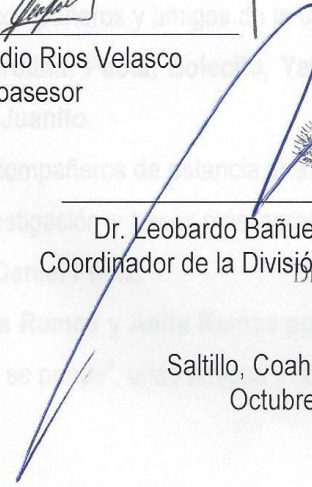
**INGENIERO AGRÓNOMO EN HORTICULTURA**

Aprobada

  
Dr. Gabriel Gallegos Morales  
Asesor Principal

  
Dr. Claudio Rios Velasco  
Coasesor

  
Dr. Valentin Robledo Torres  
Coasesor

  
Dr. Leobardo Bañuelos Herrera  
Coordinador de la División de Agronomía

Saltillo, Coahuila, México.  
Octubre, 2014

## AGRADECIMIENTOS

A mi **ALMA TERRA MATER**, que me dio la oportunidad de pertenecer a esta gran casa de estudios.

Al **Dr. Claudio Rios Velasco**, por brindarme su confianza y amistad, por el apoyo que me brindó en la realización de la investigación y por estar conmigo en los momentos más difíciles.

Al **Dr. Gabriel Gallegos Morales**, por su amistad, confianza y apoyo en la realización de este trabajo de investigación.

Al **Dr. Valentín Robledo Torres**, por brindarme su confianza, amistad y apoyarme en los momentos más difíciles en el transcurso de mis estudios, por brindarme sus consejos y conocimientos en mi estancia en la universidad.

Al **M.C David Ignacio Berlanga**, por brindarme su amistad y confianza, por apoyarme en el trabajo de investigación.

A **María Guadalupe Ovalle**, por asesorarme y brindarme sus conocimientos en el trabajo de laboratorio y sobre todo por brindarme su amistad.

A la maestra **María Imelda Viesca García<sup>†</sup>**, por ayudarme a permanecer en la Universidad y brindarme su amistad incondicional y apoyarme en un momento muy difícil de mi vida.

A mis profesores de la universidad que me brindaron su amistad, **Juana María, Elin David, Luis Alonso, Gustavo Maury Villarreal.**

A mis compañeros y amigos de la universidad **Mary, Lucy, Monce, Chío, Cleo, Eli, Carolina, Paola, Solecito, Yasmin, Olí, Cid, Omar Ortiz, Diego, Jorge Luis y Juanito.**

A mis compañeros de estancia que me ayudaron en la realización de mi trabajo de investigación y hacer más agradable mi estancia; **Lizzeth Barrón, Marisol Caro, Daniel Pérez.**

**Patricia Ramos y Anita Ramos** por ser unas excelentes personas y alentarme a “todo se puede”, unas amigas y compañeras incomparables.

**Bertha Rodríguez**, una amiga de verdad la quiero mucho y la estimo una agradable persona.

A **Jesús Loya** porque sin conocerme me brindo su amistad y confianza, sobre todo su apoyo en mi estancia en CIAD.

A **Ramiro Valdez Licano**, por brindarme su amistad y confianza, por apoyarme en mi trabajo de investigación, Gracias.

A **Rodolfo Guadalupe Valladares**, por su amistad y por hacerme más agradable el trabajo en CIAD y apoyarme en mi trabajo de investigación.

## **DEDICATORIA**

### **A MI HIJO**

**Vadhir Raúl Corral García**, por regalarme una sonrisa y un abrazo cuando más lo necesitaba, TE AMO HIJO.

### **A MI MAMÁ**

**Sra. Isidra González Bautista**, por tus consejos y apoyo en el momento más difícil de mi vida y estar siempre a mi lado.

### **A MIS HERMANOS**

**Ana Laura, Fernando, Gustavo, Juan Antonio, Cesar Aldahír**, porque aunque no estuviéramos juntos confiaron en mí.

### **EN ESPECIAL**

**Raúl René Corral Acosta**

**Raúl Humberto Corral Lara**

**Amada Acosta Madrid**

Porque sin su apoyo no hubiera hecho realidad este trabajo e inclusive terminado la carrera de Ingeniero Agrónomo, MUCHAS GRACIAS.

### **A MI ABUELITA ADOPTIVA**

**Sra. Dora Lara Carabeó** la quiero mucho, le agradezco sus consejos y cada una de las cosas que me ha enseñado.

## RESUMEN

Este trabajo se llevó a cabo en el Laboratorio de “Fisiología de Poscosecha, Patología Vegetal y Control Biológico”, del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD). Unidad Cuauhtémoc, Chihuahua. El objetivo fue aislar e identificar actinomicetos nativos de huertos de manzano, con actividad antagónica al fitopatógeno *Fusarium* sp., aislados en 10 diferentes medios de cultivo artificiales semi-selectivos, Agar Banett, Agar Nutritivo Glicerol, Glicerol Glicina y Agar, Czapek Peptona, Agar, Czapek Agar y 20% de Azúcar, medio de Ashby, Gym *Streptomyces*, Agar Avena, Agar-V8 y medio de Gauze’s No.1, se obtuvo 689 aislados de actinomicetos. Los medios de donde se recuperaron en una mayor cantidad de aislamientos fueron el medio de Gauze’s No.1 con un 19.01 %, Aga-V8 con 19.30 % y Medio de GYM *Streptomyces* con 14.65 % del total de aislados. Las confrontaciones antagónicas se realizaron *in vitro*, en cajas Petri con medio Czapek, donde se observó un 31.64 % de aislados tuvieron actividad antagónica, con un 100 % de inhibición (PICR). La mayoría identificados en el género *Streptomyces*, de los aislados de suelo (97.24 %).

**Palabras Clave:** Actinomicetos, *Streptomyces*, antagonismo, porcentaje de inhibición, medios de cultivo artificiales.

## ABSTRACT

This work was finished in the Laboratory "Postharvest Physiology, Plant Pathology and Biological Control", Center for Food Research and Development, AC (ICAS). State Cuauhtémoc, Chihuahua. The aim was to isolate and identify native actinomycetes from apple orchards with antagonistic activity to plant pathogen *Fusarium* sp., Isolated in 10 different semi-selective means of artificial cultivation, Banett Agar, Nutrient Agar Glycerol, Glycine and Glycerol Agar, Czapek Peptone Agar , Czapek Agar and 20% of sugar, half of Ashby, Gym Streptomyces, Oatmeal Agar, Agar-V8 and a half Gauze's No.1, 689 actinomycetes isolates were obtained. Where media were recovered in higher quantity of isolates were Gauze's medium No.1con one 19.01%, Aga-V8 with 19.30% and Streptomyces GYM medium with 14.65% of all isolates. The antagonistic confrontations were performed in vitro, in Petri dishes with Czapek, where he observed a 31.64% of isolates had antagonistic activity, with 100% inhibition (PICO). Most identified in the genus *Streptomyces*, of the inmates of soil (97.24%).

**Keywords:** Actinomycetes, *Streptomyces*, antagonism, percent inhibition, artificial media.

## INDICE DE CONTENIDO

<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	iii
<b>DEDICATORIAS</b> .....	v
<b>INDICE DE CONTENIDO</b> .....	viii
<b>INDICE DE CUADROS</b> .....	xi
<b>INDICE DE FIGURAS</b> .....	xiii
<b>INDICE DE APENDICE</b> .....	xiv
<b>RESUMEN</b> .....	vi
<b>ABSTRACT</b> .....	vii
<b>INTRODUCCION</b> .....	1
<b>OBJETIVOS</b> .....	2
<b>HIPOTESIS</b> .....	2
<b>REVISION DE LITERATURA</b> .....	3
Origen del Manzano.....	3
Taxonomía del Manzano.....	4
Morfología del Manzano.....	4
Porte.....	4
Hojas.....	4
Flores.....	4
Floración.....	4
Fruto.....	5
Sistema Radicular.....	5
Enfermedades del Manzano.....	5
Enfermedades Radiculares.....	5



Manejo de Enfermedades.....	7
Químico-Legal.....	7
Genético.....	7
Físico.....	8
Cultural.....	8
Biológico.....	8
Control Microbial.....	9
Actinomicetos.....	9
Ubicación Taxonómica de los actinomicetos.....	10
Diversidad.....	11
Características Micro y Macroscópicas.....	12
Identificación por pruebas bioquímicas.....	14
Requerimientos Nutricionales para su crecimiento.....	15
Condiciones Óptimas para su Desarrollo.....	16
Ecología de los Actinomicetos.....	17
Métodos de Evaluación Antagónica.....	17
Mecanismos de Acción.....	19
Metabolitos Bioactivos que le confieren su Antagonismo.....	19
Técnicas Rápidas para su Identificación.....	20
Método de Aplicación en Campo.....	20
<i>Fusarium</i> sp.....	21
<b>Materiales y Métodos.....</b>	<b>23</b>
Sitio del Experimento.....	23
Recolección de Muestras.....	23

Asilamiento de actinomicetos.....	24
Siembra por difusión en placa de muestras de suelo.....	25
Purificación de actinomicetos.....	25
Evaluación de actividad antagónica de actinomicetos.....	25
Identificación Macroscópica y Microscópica.....	27
Análisis Estadístico.....	28
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>29</b>
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>60</b>
<b>LITERATURA CITADA.....</b>	<b>61</b>

## INDICE DE CUADROS

Cuadro	Páginas
1. Principales enfermedades radiculares en manzano, agentes causales, sintomatología y estrategias de control.....	6
2. Clasificación de los actinomicetos de acuerdo con Stackebrandt <i>et al.</i> , (1997).....	11
3. Sitios de recolecta de muestras de suelo en huertos de manzano en el estado de Chihuahua.....	23
4: Medios semi-selectivos usados para el aislamiento de actinomicetos a partir de muestras de suelo de huertos de manzano del estado de Chihuahua.....	24
5. Actinomicetos nativos del Estado de Chihuahua aislado de suelo asociados a rizosfera de árboles de manzano con diferentes medios de cultivo artificiales semi-selectivos (2013-2014).....	42
6. Actinomicetos aislados de suelo asociados a la rizosfera de árboles de manzano del municipio de Namiquipa, Chihuahua (2013-2014).....	43
7. Actinomicetos aislados de suelo asociados a la rizosfera de árboles de manzano del municipio de Guerrero, Chihuahua (2013-2014).....	43
8. Actinomicetos aislados de suelo asociados a la rizosfera de árboles de manzano del municipio de Cuauhtémoc, Chihuahua (2013-2014).....	44
9. Actinomicetos aislados de suelo asociados a la rizosfera de árboles de manzano del municipio de Bachiniva, Chihuahua (2013-2014).....	45
10. Actinomicetos antagónicos a <i>Fusarium</i> sp., aislados en el medio de cultivos artificial semi-selectivo Agar-Bannett (AB), en el estado de Chihuahua.....	47

11. Actinomicetos antagonicos a <i>Fusarium</i> sp., aislados en el medio de cultivo artificial semi-selectivo Agar Nutritivo-Glicerol (ANG), en el estado de Chihuahua.....	8
12. Actinomicetos antagonicos a <i>Fusarium</i> sp., obtenidos de medio semi-selectivo Czapek Peptona-Agar (CPA), del estado de Chihuahua.....	49
13. Actinomicetos antagonicos a <i>Fusarium</i> sp., aislados en el medio de cultivo artificial semi-selectivo Glicerol Glicina Agar (GGA), en el estado de Chihuahua.....	50
14. Actinomicetos antagonicos a <i>Fusarium</i> sp., obtenidos de medio semi-selectivo Czapek Agar con 20 % de Azúcar (CZAS), del estado de Chihuahua.....	51
15. Actinomicetos antagonicos a <i>Fusarium</i> sp., obtenidos de medio de cultivo artificial semi-selectivo Gauzes N.1 (GAUZES), en el estado de Chihuahua.....	52
16. Actinomicetos antagonicos a <i>Fusarium</i> sp., aislados del medio cultivo artificial semi-selectivo Ashby (ASHBY), en el estado de Chihuahua.....	54
17. Actinomicetos antagonicos a <i>Fusarium</i> sp., aislados del medio cultivo artificial semi-selectivo GYM <i>Streptomyces</i> Agar (GYM), en el estado de Chihuahua.....	55
18. Actinomicetos antagonicos a <i>Fusarium</i> sp., aislados del medio de cultivo artificial semi-selectivo "V8-Agar" (V8), en el estado de Chihuahua.....	56

## INDICE DE FIGURAS

	Páginas
<b>Figura 1.</b> Métodos de evaluación antagónica (Atlas <i>et al.</i> 2008).....	18
<b>Figura 2.</b> Estructuras microscópicas de <i>Fusarium sp.</i> .....	22
<b>Figura 3.</b> Seis diluciones de $10^6$ , siembra en placa de 50 $\mu$ L.....	25
<b>Figura 4.</b> Características macroscópicas, (1) de <i>Fusarium sp.</i> , desarrollada en PDA durante siete días, (2) microscópicas.....	26
<b>Figura 5.</b> Ejemplo del crecimiento del antagonista después de 10 d de crecimiento en el medio de cultivo artificial semi-selectivo Czapek Agar con 20% de azúcar.....	26
<b>Figura 6.</b> Confrontación <i>In Vitro</i> de los aislados de actinomicetos contra el asilado <i>Fusarium sp.</i> .....	27
<b>Figura 7.</b> Preparación fija de actinomicetos.....	28
<b>Figura 8.</b> Morfología del crecimiento macroscópica de <i>Streptomyces sp.</i> .....	41
<b>Figura 9.</b> Escala de antagonismo <i>In Vitro</i> de aislados de actinomicetos.....	46

## Índice de Apéndice

	<b>Paginas</b>
<b>Cuadro 19.</b> Morfología Macro y Microscópica de actinomicetos aislados de huertos de manzano en medio de cultivo artificial semi-selectivo Agar Banett (AB), del Estado de Chihuahua.....	<b>72</b>
<b>Cuadro 20.</b> Morfología Macro y Microscópica de actinomicetos aislados de huertos de manzano en medio de cultivo artificial semi-selectivo Agar Nutritivo-Glicerol (ANG), del Estado de Chihuahua.....	<b>76</b>
<b>Cuadro 21.</b> Morfología Macro y Microscópica de actinomicetos aislados de huertos de manzano en medio de cultivo artificial semi-selectivo Czapek Agar Peptona (CPA), del Estado de Chihuahua.....	<b>79</b>
<b>Cuadro 22.</b> Morfología Macro y Microscópica de actinomicetos aislados de huertos de manzano en medio de cultivo artificial semi-selectivo Glicerol Glicina y Agar (GGA), del Estado de Chihuahua.....	<b>82</b>
<b>Cuadro 23.</b> Morfología Macro y Microscópica de actinomicetos aislados de huertos de manzano en medio de cultivo artificial semi-selectivo Czapek Agar y Azúcar (CZAS), del Estado de Chihuahua.....	<b>85</b>
<b>Cuadro 24.</b> Morfología Macro y Microscópica de actinomicetos aislados de huertos de manzano en medio de cultivo artificial semi-selectivo Gauzes No.1 (GAUZES), del Estado de Chihuahua.....	<b>89</b>

**Cuadro 25.** Morfología Macro y Microscópica de actinomicetos aislados de huertos de manzano en medio de cultivo artificial semi-selectivo Gauzes No.1 (GAUZES), del Estado de Chihuahua.....**97**

**Cuadro 26.** Morfología Macro y Microscópica de actinomicetos aislados de huertos de manzano en medio de cultivo artificial semi-selectivo GYM *Streptomyces* Agar (GYM), del Estado de Chihuahua.....**100**

**Cuadro 27.** Morfología Macro y Microscópica de actinomicetos aislados de huertos de manzano en medio de cultivo artificial semi-selectivo Agar Jugo De Vegetales (V8), del Estado de Chihuahua.....**103**

**Cuadro 28.** Crecimiento diario del fitopatógeno *Fusarium* sp., al ser confrontados con cada uno de los actinomicetos.....**109**

## INTRODUCCIÓN

La fruticultura es una de las principales actividades económicas en el estado de Chihuahua, en particular del manzano *Malus domestica* Borkh. La zona manzanera la constituyen los municipios de Cuauhtémoc, Cusihuirachi, Carichi, Guerrero, Namiquipa y Bachíniva, destacando Cuauhtémoc como la región manzanera más importante de Latinoamérica. Sin embargo, La producción es inestable por la presencia de plagas insectiles y enfermedades. Estas últimas son de mayor interés debido a la gran diversidad de patógenos asociados a este frutal, destacando los causantes de enfermedades radiculares. En específico la pudrición de cuello causado por *Phytophthora cactorum* (Lebert y Cohn, 1871), agalla de la corona causado por *Agrobacterium tumefaciens* (Smith y Thousend), Conn 1942, heridas radiculares causadas por *Rosellinia necatrix* Prill. (*Dermatophthora necatrix* (Hartig) Berlese), *Phymatotrichopsis omnivora* (Dugg) Hennebert (Castro y Rodríguez, 1970), *Fusarium* sp. (Gianí *et al.*, 1997), *Rhizoctonia* sp. (Sneh *et al.*, 1991), *Cephalosporium* sp. (Maloy e Inglis, 2000).

El control de estos patógenos ha sido mediante la aplicación de fungicidas y bactericidas químicos, capaces de inhibir el crecimiento del patógeno o generar condiciones adversas para evitar la supervivencia de los mismos en los tejidos del hospedero. Destacándose la aplicación de fenoles, alcaloides glicosídicos, lactosas insaturadas, glicosidos fenólicos y cianogénicos, inhibidores proteicos, fototoxinas, quitinasas y  $\beta$ -1, 3 glucanasas. Sin embargo, estas sustancias inducen la aparición de resistencia a los hospederos, eliminación de microfauna y microflora de suelos agrícolas, con particular énfasis en antagonistas nativos (bacterias, hongos y actinomicetos). Una de las alternativas a esto, es la integración del control biológico para el manejo de fitopatógenos, mediante el uso de hongos (*Trichoderma* sp. y *Gliocadium* sp.), bacterias (*Pseudomonas* sp. y *Bacillus* spp.) y actinomicetos (*Streptomyces* spp.) (Elad *et al.*, 1980). Estos últimos



tienen la capacidad de colonizar la superficie radicular de las plantas protegiéndola contra patógenos (Crawford *et al.*, 1993). Por lo que posiblemente en México, existan muchos actinomicetos con actividad antagónica a fitopatógenos que aún no han sido caracterizados, debido a que su estudio en nuestro país es limitado.

**Objetivo:**

Aislar e identificar actinomicetos nativos de huertos de manzano del estado de Chihuahua, con actividad antagónica al fitopatógeno *Fusarium* sp.

**Hipótesis:**

Se aislará la mayor cantidad de actinomicetos en diferentes medios semi-selectivos, a partir de muestras de suelo y al menos uno mostrará actividad antagónica a contra *Fusarium* sp.

## REVISIÓN DE LITERATURA

### Origen del Manzano

En la actualidad se desconoce el origen del manzano, aunque se cree que procede del cruzamiento y selección de especies silvestres europeos y asiáticos.

Según Ponomarenko *Malus sieversii* (Ledeb) Roem, una especie de manzano silvestre que crece en las regiones montañosas de Asia media, la cual podría ser la especie de la que se originaron las primeras razas de manzano cultivadas desde hace 15,000 a 20,000 años (Ponomarenko y Roem, 1979).

El manzano fue introducido en España por los pueblos del norte de África y durante el proceso de romanización de la península. Es una fruta de mayor difusión a escala mundial debido a su adaptación a diferentes climas y suelos, a su valor alimenticio y terapéutico, a su calidad y a la diversidad de productos que se obtienen en la industria. Siendo China uno de los principales productores seguido por EUA, mientras que México se encuentra en el lugar 22 en producción a nivel mundial (FAO, 2001).

## Taxonomía del Manzano

**Reino:** Plantae

**Subreino:** Tracheobionta

**División:** Magnoliophyta

**Clase:** Magnoliopsita

**Subclase:** Rosidae

**Orden:** Rosales

**Familia:** Rosaceae

**Subfamilia:** Amygdaloideae

**Género:** *Malus*

**Especie:** *M. domestica* (Borkh, 1803)

### Morfología del manzano

**Porte:** Mide hasta 10 m de altura, con copa globosa, corteza cubierta de lenticelas, lisa, de color cenizo-verdoso sobre las ramas y escamosa, gris-parda sobre las partes viejas del árbol. Las ramas se insertan en ángulo abierto sobre el tallo, de color verde oscuro, a veces tendiendo a negruzco o violáceo. Los brotes jóvenes terminan con frecuencia en una espina. Tiene una vida de 60-80 años (Coque, 1996).

**Hojas:** Ovais, cortamente acuminadas, aserradas, con dientes obtusos, blandas, con el haz verde claro y pelos en el haz, de doble longitud que el peciolo, con 4-8 nervios alternados y bien desarrollados.

**Flores:** Hermafroditas, de color rosa pálido, a veces blancas, en grupos de 3 a 6 unidades en el corimbo (Jackson, 2003).

**Floración:** Ocurre generalmente en primavera (abril o mayo), las manzanas más precoces maduran en junio, aunque existen variedades que mantienen el fruto durante la mayor parte del invierno.

**Fruto:** Pomo globoso, con pedúnculo corto y semillas de color pardo brillante.

**Sistema Radicular:** El manzano desarrolla una raíz superficial y una pivotante profunda, puede alcanzar hasta 10 m de profundidad.

### **Enfermedades del Manzano**

Los agentes que causan enfermedades en las plantas se caracterizan por ser infecciosos (bióticos o vivos) y no infecciosos (abióticos o no vivos). En estas últimas, se incluyen bacterias, hongos, fitoplasmas, nematodos y virus, entre otros (Agrocabildo, 2012). Mientras que las no infecciosos incluyen desbalances nutricionales, estrés ambiental y toxicidad química (causada por plaguicidas y contaminantes del aire) (Sánchez-Oliver, 2007).

#### **Enfermedades Radiculares**

El manzano en su sistema radicular presenta diferentes enfermedades causadas por patógenos. En el Cuadro 1, se enlistan las principales, en su mayoría ocasionadas por hongos del suelo, los cuales causan *Damping off* y pudrición de raíces. Muchos de los patógenos que provocan estas enfermedades poseen la capacidad para mantenerse viables aún en condiciones adversas y en presencia o ausencia del cultivo hospedante, esto atribuido a la presencia de estructuras de resistencia como clamidosporas y esclerocios (Grijalba, 2003).

**Cuadro 1:** Principales enfermedades radicales en manzano, agentes causales, sintomatología y estrategias de control.

<b>Enfermedad</b>	<b>Agente causal</b>	<b>Sintomatología</b>	<b>Control</b>
Pudrición de cuello	<i>Phytophthora cactorum</i>	Exudado gomoso brillante, rojizo y olor fermentado, causando la pudrición de la raíz.	Como control cultural, se recomienda eliminar la parte afectada del árbol, evitar la acumulación de agua y mantener suelos drenados. También se recomienda aplicar fungicidas sistémicos.
Agalla de la corona	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	Tumores en la raíz y cuello del tallo de la planta, de color blanco cuando son jóvenes, al ser mayor de 12 cm se convierten en leñosos, duros y rugosos.	Planificación de plantaciones, regulación de la humedad del suelo y buen drenado, desinfección de heridas y buena cicatrización.
Llagas radicales	<i>Rosellinia sp.</i> <i>Armillaria mellea</i>	Presenta áreas necrosadas y estrías negras, árboles débiles y de bajo crecimiento radicular.	Remover árboles infectados, regular la humedad, en caso de heridas realizar desinfección y cicatrización.
Nematodos	<i>Meloidogyne spp.</i> <i>Trichodorus sp.</i>	Causante de lesiones, y transmisor de virus.	Uso de materia orgánica y micorrizas.
Pudrición texana	<i>Phymatotrichopsis omnivora</i>	Causante de marchitez del follaje, coloración amarillenta al principio y cambia a café bronceado, con lesiones en raíces.	Mantener alto el nivel de materia orgánica y fertilidad del suelo, bajar el pH del suelo empleando acidificantes como sulfato de amonio o azufre, barbechos profundos durante periodos secos.
Fusariosis	<i>Fusarium sp.</i>	Pudrición de cuello y raíz, marchitamiento vascular, manchas en hojas, pudrición de frutos.	Aplicación de fungicidas a base de azufre, zinc y cobre.
<i>Damping-off</i> o secadera	<i>Rhizoctonia sp.</i>	Pudrición de raíces y de órganos subterráneos.	Desinfectar con hipoclorito de sodio o yodo agrícola puede ser controlado mediante solarización, húmeda e inoculado hongos biocontroladores del género <i>Trichoderma sp.</i>
Mancha y pudrición gris del fruto.	<i>Cephalosporium sp.</i>	Malformación de tallos y frutos.	Evitar lesiones en tallo y corteza.

## **Manejo de Enfermedades**

### **Químico-legal**

El control legal incluye las medidas de cuarentena, inspección y erradicación de los agentes causales. La cuarentena evita la introducción de plagas y enfermedades peligrosas que no existen en el país o están muy poco difundidas, puede ser externa o interna según el área de protección ya sea de todo el país o de la región dentro del país. Se hacen con base a las siguientes consideraciones: 1) Biológicas: conocer el ciclo de vida del patógeno, su forma y capacidad de supervivencia y condiciones de transporte, su rango de hospederos y medios de propagación, tratamientos necesarios para destruirlas en los productos importados. 2) Geográficas: que consisten en barreras naturales que imposibiliten el ingreso natural de la plaga. 3) Climáticas: considera la posibilidad que tiene la enfermedad o patógeno de desarrollarse en otras zonas ajenas a donde se originó. Y 4) Económicas: estimar el daño que puede ocasionar al país (Sáenz-Peña, 2011)

La erradicación será una destrucción absoluta de la población infectante mediante la destrucción total del cultivo, incluyendo su prohibición por tiempo suficientemente largo que elimine toda posibilidad de supervivencia de la plaga o patógeno.

### **Genético**

El rendimiento del manzano depende de muchos aspectos, sin embargo, se recomienda a los fruticultores usar plantas resistentes a condiciones adversas en particular a fitopatógenos. Los patógenos que infectan a los cultivos generalmente son específicos para causar la enfermedad en esa planta y no en otra. Dicha especificidad es proporcionada por genes que actúan sobre ese hospedante en particular, Agrios (2001) afirma que cada hospedante tiene

un juego de genes que determina su susceptibilidad contra un patógeno y son a su vez específicos para el patógeno. Es decir, algunos microorganismos afectan a muchas especies de plantas por que contienen genes para desarrollar virulencia más amplia sobre diversos hospedantes. Estos genes aparecen por mutación tanto en patógenos como hospedantes y producen resistencia a la infección.

### **Físico**

Es un método orientado a la destrucción del patógeno en forma directa, causándole algún trastorno fisiológico o creando ambientes desfavorables que impidan su desarrollo. Como por ejemplo: 1) Solarización: Se usa la energía solar para aumentar el calor del suelo, y así eliminar hongos y bacterias que causan enfermedades en las plantas. 2) Humedad: En algunos casos es posible reducir la humedad en el espacio cubierto por follaje, mediante la eliminación de las malezas y seleccionando plantas que tienen hábitos de crecimiento foliar abierto o erecto. La humedad alta favorece el desarrollo de los hongos (Maracay, 2010).

### **Cultural**

Una práctica que se usa como protección y tiene efecto sobre el cultivo, aumentando la resistencia de la planta ante plagas y enfermedades. Aunque la importancia de la enfermedad dependerá de la sensibilidad de la variedad.

Dentro de los métodos culturales se incluyen: la elección de variedades menos susceptibles. Eliminar arboles sintomáticos de enfermedades radiculares, fertilización equilibrada evitando el exceso de nitrógeno; evitar riegos pesados, entre otras.

### **Biológico**

Se emplean estos controles en conjunto con las prácticas culturales, ya que ayudan a mejorar la resistencia del hospedante o favorecen el desarrollo de microorganismos que son antagonistas de patógenos. Se contemplan a los

Parásitos, depredadores y competidores, bacterias, hongos, virus, principalmente (Maracay, 2010).

### **Control Microbial**

Los productos químicos usados para el control de fitopatógenos ha provocado la resistencia. Con el fin de reducir el uso de estos y disminuir problemas ambientales se ha integrado el control biológico (Compant *et al.*, 2005). Destacando el uso de microorganismos microbianos se ha convertido en una alternativa biológica viable para el control de plagas y enfermedades en plantas, su actividad se divide en efectos directos e indirectos, los directos se dan por competencia de nutrientes y/o espacio, producción de enzimas líticas, antibióticos y parasitismo. Los indirectos se presentan al incrementar la resistencia por parte de la planta ante el patógeno, generando cambios biológicos y bioquímicos en las plantas tales como tolerancia al estrés y mayor absorción de nutrientes inorgánicos (Gohel *et al.*, 2006).

Los actinomicetos son agentes de control microbial promisorios para ser usados como agentes de control fitopatógeno, debido a que son un gran reservorio de antibióticos y metabolitos bioactivos de los cuales, algunos se emplean como agentes antitumorales, inhibidores enzimáticos y agentes contra parásitos, de ahí su importancia como fuente de metabolitos bioactivos para el control de microorganismos fitopatógenos.

### **Actinomicetos**

Los actinomicetos representan un grupo de microorganismos ampliamente distribuido en ecosistemas naturales y son importantes en la degradación de la materia orgánica (MO). Estos microorganismos son abundantes en diferentes tipos de suelos por lo general, en la superficie del suelo y en profundidades entre 2 a 15 cm, más allá disminuye su abundancia, sin embargo, bajo condiciones extremas disminuyen lentamente su población. Por lo que, es común encontrarlos en suelos con altos contenidos de MO, en concentraciones de  $10^6$  UFC:  $g^{-1}$  de suelo seco. Por lo que, el tamaño de la



comunidad dependerá del tipo de suelo, particularmente de sus características físicas, contenido de MO y de pH (Tate, 2000) (Franco-Correa, 2008). Sin embargo, también se encuentra en ambientes acuáticos, dulces y marinos (Leiva *et al.*, 2004).

Dentro de sus características particulares presentan un olor típico a suelo húmedo por la producción del metabolito llamado geosmina (Ben-Omar *et al.*, 1997), adicionalmente presentan una actividad metabólica alta, debido a que producen terpenoides, pigmentos y enzimas extracelulares. Se encuentran en suelos de casi todos los tipos. Los principales géneros que se aíslan de la mayoría de los suelos son *Nocardia* spp., *Micromonospora* spp. y *Streptomyces* spp., presentes como conidias o hifas vegetativas. Sin embargo, los métodos de aislamiento convencionales muestran que el 95 % de los actinomicetos a partir de suelo pertenecen al género *Streptomyces* (Lacey, 1973).

Los actinomicetos tienen la capacidad de producir enzimas biodegradativas como quitinasas, peroxidasas y otras, involucradas en el micoparasitismo de estos microorganismos, lo cual les confiere el potencial de ser usados como agentes de control biológico.

### **Ubicación taxonómica de los Actinomicetos Bergey's (1957)**

Reino: Procariota

Clase: Actino bacteria

Subclase: Actinobacteridae

Orden: Actinomicetales

Familia: *Streptomycetaceae*

Género: *Streptomyces*

**Cuadro 2.** Clasificación de los actinomicetos de acuerdo con Stackebrandt *et al.*, (1997).

Sub-orden	Familia
<i>Micrococccineae</i>	<i>Micrococcaceae</i> , <i>Brevibacteriaceae</i> , <i>Cellulomonadaceae</i> , <i>Dermabacteria</i> <i>ceae</i> , <i>Dermatophilaceae</i> , <i>Intrasporangiaceae</i> , <i>Jonesiaceae</i> , <i>Microbacteriaceae</i> , <i>Promicromonosporaceae</i>
<i>Actinomycineae</i>	<i>Actinomycetaceae</i>
<i>Frankineae</i>	<i>Frankiaceae</i> , <i>Acidothermaceae</i> , <i>Geodermatophilaceae</i> , <i>Microsphaeraceae</i> , <i>Sporichthyaceae</i> <i>Propionibacterineae</i> <i>Propionibacteriaceae</i> , <i>Nocardioideaceae</i>
<i>Propionibacterineae</i>	<i>Propionibacteriaceae</i> , <i>Nocardioideaceae</i>
<i>Streptomycineae</i>	<i>Streptomycetaceae</i>
<i>Corynebacterineae</i>	<i>Corynebacteriaceae</i> , <i>Dietziaceae</i> , <i>Gordoniaceae</i> , <i>Mycobacteriaceae</i> , <i>Nocardiaceae</i> , <i>Tsukamurellaceae</i>
<i>Micromonosporineae</i>	<i>Micromonosporaceae</i>
<i>Streptosporangineae</i>	<i>Streptosporangiaceae</i> , <i>Nocardioideaceae</i> , <i>Thermomonosporaceae</i>
<i>Pseudonocardineae</i>	<i>Pseudonocardiaceae</i>
<i>Glycomycineae</i>	<i>Glycomycetaceae</i>

### Diversidad

Los actinomicetos se encuentran asociados a la MO. Los suelos alcalinos y neutros son favorables para el desarrollo de esta bacteria, el rango de pH óptimo de estos microorganismos se encuentra entre 6.5 y 8.0. Al ser aerobios crecen favorablemente en suelos bien aireados y secos. Los suelos muy húmedos (>80 %) son perjudiciales para su desarrollo (Farfan y Gutiérrez, 2009).

### **Características micro- y macroscópicas**

En la actualidad, los actinomicetos se encuentran incluidos en el grupo de las bacterias, debido a varias razones: su pared celular está compuesta por peptidoglicano y polisacáridos (Titus y Pereira, 2007; Leveau y Boulx, 2000), son sensibles a los antimicrobianos y a la lisozima, presentan resistencia a los antifúngicos y la disposición de su material genético es típicamente procariota, por poseer flagelos (Salazar *et al.*, 1997), aunque se caracterizan por presentar un alto contenido de guanina y citosina en su ADN, siendo este superior al 55 %. Estas bacterias son aerobias y anaerobias. Son heteromorfas, por lo cual pueden utilizar fuentes de carbono simple, complejos y compuestos moleculares orgánicos tales como ácidos, azúcares, polisacáridos, lípidos, proteínas e hidrocarburos alifáticos. Utilizan como fuentes de nitrógeno al amonio, nitratos, aminoácidos, peptonas y un gran número de proteínas (Leveau y Boux, 2000). Los azúcares presentes en la pared celular de los actinomicetos son arabinosa y galactosa (Hidrin *et al.*, 2001).

El ciclo de la vida de los actinomicetos comprende cuatro importantes procesos fisiológicos: crecimiento vegetativo, diferenciación, senescencia celular y muerte. Tienen la capacidad de formar filamentos ramificados en alguna de sus etapas de crecimiento, atributo que permite diferenciarlas de otras bacterias Gram positivas (Goodfellow y Williams, 1983). En un ciclo típico de crecimiento, las esporas se convierten en hifas filamentosas alargadas, que crecen dentro y encima de la superficie de nutrientes. Las hifas se ramifican y aparece el micelio que se forma gradualmente, ésta fase es conocida como vegetativa de crecimiento. El crecimiento filamentosos de los actinomicetos, está condicionado por las propiedades elásticas de las paredes celulares y las propiedades físicas ambientales. La fase vegetativa esta seguida por una segunda fase de crecimiento aéreo, la cual puede estar acompañada por la producción de antibióticos, en donde se genera una elongación de hifas constituyendo estructuras helicoidales y una división final formando esporas, las cuales componen al ciclo de crecimiento vegetativo (Gorley y Tabor, 2002). El

crecimiento de los actinomicetos es más lento en comparación con otras bacterias, debido a que el tiempo de multiplicación en el cultivo oscila entre 2 y 3 h (Leveau y Boulx, 2000).

La diversidad morfológica de estos microorganismos varía desde formas cocoides o bacilares hasta la formación de un micelio bien desarrollado, algunos géneros pueden formar un micelio complejo generado de esporas envueltas en un esporangio, razón por la cual estas bacterias se desarrollan sobre un medio sólido, una masa de hifas que comprende el micelio de sustrato y el micelio aéreo. La apariencia correosa y pulverulenta de las colonias se debe a la producción de conidias o esporas. Los actinomicetos abarcan una gran proporción de la biomasa microbiana presente en el suelo, a excepción de aquellos que presentan condiciones extremas, por esta razón, el suelo es el mayor reservorio de aislamientos; sin embargo, la disponibilidad de nutrientes constituye un factor que controla su abundancia (Goodfellow y Williams, 1983). La mayoría de los actinomicetos aislados del suelo pertenecen al género *Streptomyces*, siendo los géneros que más fácilmente crecen en medios sintéticos. Estos han sido ampliamente estudiados por la industria farmacéutica debido a su producción de antibióticos (Gorlely y Tabor, 2002). Las bacterias de este género, son aerobias estrictas, catalasa positiva y no se colorean, necesitan de una tinción diferente a la de Ziehl-Neelsen para poder ser observadas microscópicamente, crecen en la superficie de medios simples o complejos (medios de Sabouraud, Bannett, Lowenstein-Jensen), forman filamentos ramificados (hifas) aéreos, poseen cadenas de conidias que no se fragmentan. Solo *Streptomyces*, *Nocardia*, *Actinomadura* y *Nocardiosis* forman micelio aéreo en los cultivos (Hidrin *et al.*, 2001). En medios artificiales muestran crecimiento entre 2 y 10 d post-incubación a 25 °C, aunque algunos pueden desarrollarse entre los 27 a 55 °C, los cuales son muy importantes en la transformación de diversos residuos orgánicos en el proceso de compostaje. Las colonias presentan aspecto ceroso, pulverulento, de color blanco grisáceo, común en la mayoría de los *Streptomyces*, variando de color crema a negro, como sucede con *S. somaliensis*. Sin embargo, estos aspectos no son

específicos y dependen de las condiciones de cultivo (Hidrin *et al.*, 2001). Cabe resaltar que las especies del género *Streptomyces* presentan una esporulación significativa en comparación con otros actinomicetos (Park *et al.*, 2002; Titus y Pereira, 2007).

La presencia de estas bacterias filamentosas y el resto de la microflora del suelo, generan una importante influencia en la fertilidad y por ende en la salud de la planta, estimulando su crecimiento e incrementando su área de absorción superficial de su sistema radicular. Estos microorganismos son capaces de colonizar la rizosfera, ayudan a la planta en la obtención de macronutrientes vitales, tales como fósforo, nitrógeno y potasio a partir del suelo. De ahí radica la su importancia, dado que la productividad y sostenibilidad de los sistemas agrícolas son en gran parte dependientes de los procesos funcionales de las comunidades microbianas del suelo (Jahansson *et al.*, 2004; Ikeda *et al.*, 2006).

### **Identificación por medio de pruebas bioquímicas**

Los métodos bioquímicos que se han utilizado en la identificación de los actinomicetos son: cromatografía en papel para el análisis de aminoácidos, azúcares de utilidad diagnóstica y ácidos micólicos, cromatografía en capa fina en el análisis de componentes de pared celular, cromatografía de gases con espectrometría de masas para el análisis de ácidos grasos de pared celular y cromatografía líquida de alta resolución (HPLC por sus siglas en inglés) en el análisis de ácidos micólicos (Lechevalier y Goodfellow, 1989). En los últimos años se le ha dado gran énfasis a este último método analítico. En 1986, Butler *et al.* desarrollaron un método para el análisis de micolatos de p-bromofenancilo, los cuales son detectados por su patrón de absorbancia ultravioleta (254 nm), logrando diferenciar los patrones cromatográficos de ácidos micólicos de los géneros *Corynebacterium*, *Rhodococcus*, *Nocardia* y *Mycobacterium*. Posteriormente, esta metodología permitió la diferenciación de las especies *Rhodococcus*, *Nocardia* y *Mycobacterium* (Butler y Kilburn, 1987,1988). Debido a esto, fue posible el establecimiento de un esquema de

diferenciación de los ácidos micólicos de especies de micobacterias mediante la comparación del tiempo de retención relativo de los picos y la relación de alturas de éstos, permitiendo la obtención de patrones representativos de micolatos de p-bromofenancilo para cada especie (Butler *et al.*, 1991; Jost *et al.*, 1991- Butler and Thibert *et al.*, 1992). En 1995 utilizando el HPLC en la determinación de derivados fluorescentes de ácidos micólicos (micolatos de 6,7-dimetoxicumarina), se lograron identificar especies del género *Mycobacterium* directamente en muestras clínicas sin someterlas a cultivo, gracias a que la fluorescencia aumentó considerablemente la sensibilidad del análisis (Jost *et al.*, 1995). Recientemente se ha descrito una relación exponencial entre el área total de los picos cromatográficos identificados como ácidos micólicos (ATAM) en un cultivo de *M. tuberculosis* y las UFC/mL obtenidas, mediante el método tradicional de conteo en placa después de incubar un mínimo de 3 semanas en medio Middlebrook 7H10 (Garza-González *et al.*, 1997).

El uso de técnicas moleculares para la detección de actinomicetos en diferentes ambientes, ha mostrado la presencia de organismos de la clase actinobacteria que no han podido ser aislados por técnicas tradicionales de cultivo. Cientos de estos organismos no han sido identificados específicamente y la posición filogenética de algunos subgrupos, muestra que su divergencia corresponde con la de los géneros tradicionales de actinomicetos, indicando una estructura rica en organismos de ésta clase y no cultivable en suelos (Rheims *et al.*, 1999).

### **Requerimientos nutricionales para su crecimiento**

En medios de cultivo artificiales semi-selectivos es importante que contengan fuentes de carbono y nitrógeno, en cantidad suficiente para permitir un crecimiento adecuado de los actinomicetos. Los medios de cultivo más utilizados para el aislamiento del género *Streptomyces* y géneros relacionados, son medios con quitina, agar-almidón-caseína y agar-glicerol-arginina dado que contienen elementos como fósforo, potasio, magnesio, azufre e hierro. A estos medios se le añaden antibióticos como ciclohexamina, nistatina o ácido

nalidíxico, para eliminar hongos y bacterias Gram negativas (Williams y Wellington, 1983).

### **Condiciones óptimas para su desarrollo**

La adición de MO a los suelos, estimula la multiplicación y actividad de los actinomicetos. Los suelos alcalinos y neutros son los más favorables para su desarrollo. Cabe señalar que por debajo de pH 5.0 no se desarrollan. Al ser aerobios principalmente se desarrollan favorablemente en suelos con suficiente aireación, sin mucha humedad, siendo perjudicial para su desarrollo una humedad por arriba del 80%. Los géneros *Streptomyces* spp., *Nocardia* spp. y *Micromonospora* spp., son los más frecuentemente encontrados en el suelo (Titus y Pereira, 1999).

La mayoría de los actinomicetos crecen en medios de cultivo artificiales semi-selectivos como agar nutritivo (AN), agar tripticasa soja (ATS), agar sangre (AS) o agar infusión cerebro-corazón (AICC). Sin embargo, para la diferenciación y el desarrollo de esporas y/o pigmentos se necesita de medios suplementados con quitina coloidal, extracto de levadura avena, almidón con sales inorgánicas, agar con determinados polisacáridos como fuente de carbono, y extracto de levadura o peptona. Por ejemplo, las colonias de algunas especies de *Streptomyces* que crecen como colonias duras, brillantes y pálidas en AN; en medio de avena o sales inorgánicas como almidón pueden crecer como colonias amarillas brillantes con micelio aéreo pulverulento blanco (Bergey *et al.*, 2000).

El crecimiento de las colonias de actinomicetos en medio sólido se observa a los 3 o 4 d de incubación, pero el micelio aéreo maduro con esporas puede observarse entre 7 a 14 d y en algunas cepas en más de 30 d de incubación. El crecimiento de los actinomicetos en medios líquidos estacionarios, se restringe a la formación de una película en la superficie o quizás a la formación de un sedimento algodonoso, dejando el medio líquido transparente. Para el crecimiento en medios líquidos, se recomienda la agitación a velocidades de 200 a 250 rpm con la finalidad de suministrar la

mejor aireación, a diferencia de las bacterias no filamentosas (Prescott, 2002). Los actinomicetos, se caracterizan por no producir mucopolisacáridos como otras mixobacterias (Ben-Omar *et al.*, 1997), de ahí la apariencia seca y no cremosa de las colonias en placas con agar.

### **Ecología de los actinomicetos**

Son microorganismos muy ubicuos que se encuentran en la mayoría de los sustratos naturales, ampliamente distribuidos en una gran diversidad de hábitats, con diferentes tipos de suelo, agua salada y dulce, aire, estiércol, fango de los ríos y fondo de los lagos. Son saprófitos y algunas especies pueden causar enfermedades en plantas, animales domésticos y al hombre (Martin, 1981).

Los actinomicetos son organismos de lento crecimiento que no compiten eficientemente con bacterias u hongos de rápido crecimiento por el carbono disponible en el suelo. Sin embargo, son microorganismos importantes en la mineralización del carbono y nitrógeno y en la descomposición de la MO presente en el suelo debido a la presencia de enzimas hidrolíticas y ligninolíticas, mineralizada en el suelo (Sylvia, 1998).

### **Métodos de evaluación antagonica**

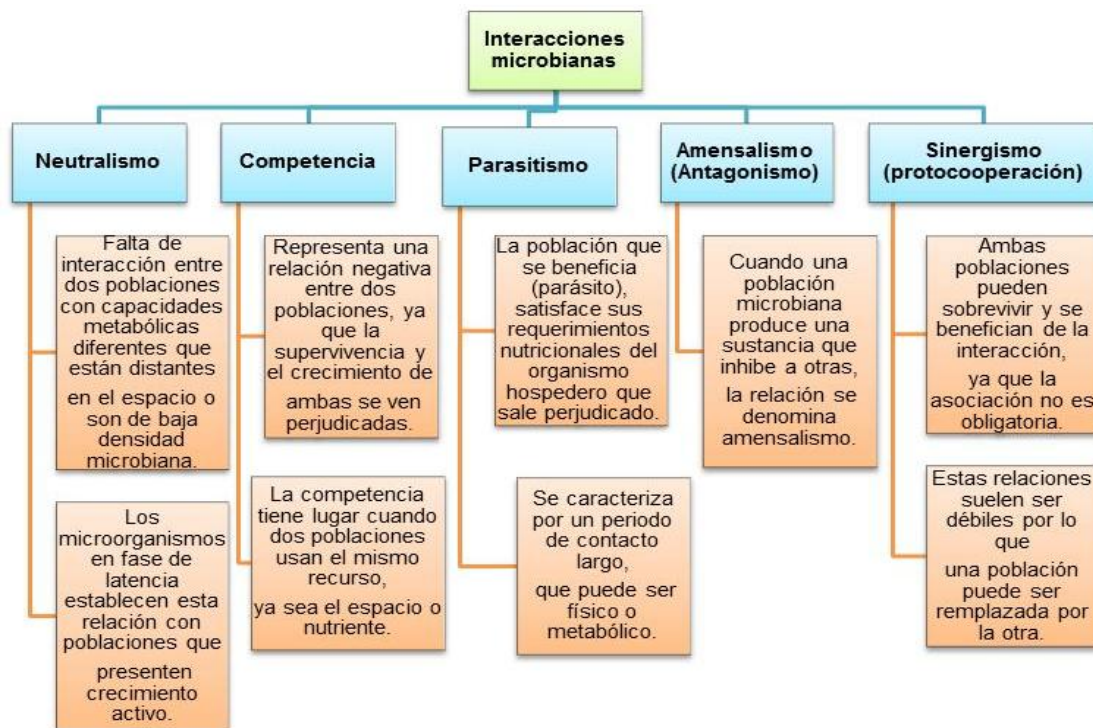
Las posibles interacciones entre poblaciones microbianas pueden ser negativas (competencia y amensalismo), positivas (comensalismo, sinergismo y mutualismo), y/o positivas para una y negativas para la otra (parasitismo y depredación).

Entre los mecanismos de acción que utilizan los microorganismos antagonistas se encuentran, la antibiosis, competencia, parasitismo, lisis celular y resistencia inducida en el hospedero (Fig. 1). Según Farfán-Ayala y Gutiérrez-Triviño (2009), el proceso de antibiosis se da cuando un organismo antagonista inhibe o destruye a otro, por medio de la producción metabólica de moléculas tóxicas volátiles y enzimas líticas, las cuales disuelven o dañan polímeros estructurales como la quitina y  $\beta$ -1,3-glucanos de la pared celular de la mayoría



de los hongos fitopatógenos, produciendo un efecto adverso sobre su desarrollo, actividad metabólica y diferenciación.

En este proceso, no se requiere contacto directo entre el microorganismo antagonista y el patógeno, debido a que el efecto es generado por el antibiótico; razón por la cual, la inhibición del crecimiento del fitopatógeno puede continuar, incluso después de la muerte del antagonista. Por el contrario, el parasitismo involucra el contacto directo entre el hospedero y el parásito, este último sustrae todos los nutrientes necesarios del hospedero para su desarrollo e involucra la producción de enzimas hidrolíticas que degradan la pared celular.



**Figura 1.** Métodos de evaluación antagónica (Atlas *et al.* 2008).

La lisis celular, genera la degradación enzimática total o parcial de la pared celular del patógeno, causando la inhibición del crecimiento microbiano. Así mismo, las plantas pueden sintetizar enzimas hidrolíticas, inducidas por el ataque de hongos fitopatógenos o por la presencia de sustancias químicas como el etileno. Los hongos secretan enzimas de este tipo de manera consecutiva o inducida, causando la hidrólisis de la pared celular de otros

hongos o de su propia pared celular cuando en el medio de cultivo se encuentran como única fuente de carbono (Farfán-Ayala y Gutiérrez-Triviño, 2009).

### **Mecanismo de acción**

En el caso de *Streptomyces* spp., el micelio solubiliza los restos orgánicos del medio en el que crece, debido a las enzimas quitinolíticas que segrega de las colonias, la cual se le conoce como “micelio sustrato” (Charter, 1984). Una vez formado el micelio sustrato, comienza a degradarse y estos productos de degradación sirven de nutrientes para el desarrollo de las hifas aéreas (micelio aéreo). Posteriormente, estas hifas comienzan a plegarse, se enrollan y subdividen mediante la formación de septos, dando lugar a las esporas, donde cada espora contiene una copia única del genoma. Las esporas maduran y adquieren una coloración grisácea y posteriormente se liberan al medio, culminando así su ciclo. Presentan una pared engrosada hidrofóbica que los protege contra la desecación y les permite dispersarse en el medio, al igual que otros microorganismos (González-Champarro, 2002).

### **Metabolitos bioactivos que le confieren su antagonismo**

La genómica de los actinomicetos ha sido una herramienta que debido a su potencial ha favorecido el descubrimiento de enzimas, así como también de rutas metabólicas (Barona, 2007). Los metabolitos secundarios y sustancias inhibitorias, son los encargados de la actividad antagónica, particularmente por la producción de estreptomina, y la uromicina producidas por *Streptomyces* spp. (Hawker, 1964; Broch *et al.*, 1987; Caicedo-Parra, 2012). Existen otros metabolitos difusibles que activan la esporulación como la biosíntesis de sustancias antibióticas como la pamamicina, que además de ser antibiótico acelera la formación del micelio aéreo de *Streptomyces* spp. (Charter, 1989; Kondo *et al.*, 1988).

### **Técnicas rápidas para su identificación**

Los actinomicetos son identificados inicialmente con base en sus características morfológicas y a sus reacciones bioquímicas. Algunas bacterias pueden ser identificadas con pruebas serológicas y/o de susceptibilidad a bacteriófagos. Sin embargo, existen otros métodos más sofisticados tales como la determinación de los rangos de bases de ADN, gel de electroforesis de proteínas celulares, análisis de la pared celular, cromatografía de gases e hibridación de ADN, entre otros (Pickup y Saunders, 1990; O'Donell y Hopkins, 1993; Prosser, 1994; van Elsas y Smalla, 1997).

Debido a la gran diversidad de actinomicetos, se recomiendan pruebas básicas que determinen si son fototróficas, quimiotótrofas, heterótrofas o bien si utilizan carbohidratos por oxidación o fermentación. Estas características junto con otras, tales como la forma y tamaño de la célula, reacciones de Gram, movilidad, requerimiento de oxígeno, producción de endosporas, reacciones de oxidasas y catalasas, formación de cápsulas y presencia o ausencia de cuerpos de inclusión, pueden indicarnos un esquema adecuado de identificación (Hebert, 1982; Lynch, 1983; Richards, 1987).

### **Método de aplicación en campo**

Algunos actinomicetos han sido descritos como agentes de control biológico por la capacidad de producir enzimas biodegradativas tales como quitinasas, glucanasas, peroxidasas entre otras (Tokata *et al.*, 2002). En particular, los del género *Streptomyces* por ser capaces de ejercer un biocontrol sobre hongos fitopatógenos, como *Alternaria* sp., *Botrytis cinerea* y *Rhizoctonia solani*, (Montesinos, 2007). También promueven la nodulación y ayudan a los bacteriodes de *Rhizobium*, a la asimilación de hierro, fijación de nitrógeno en leguminosas, contribuyendo indirectamente a la promoción del crecimiento vegetal (Tokata *et al.*, 2002). Otros géneros como *Frankia* spp., han sido reportados como fijadores de nitrógeno atmosférico (Valdés *et al.*, 2005).

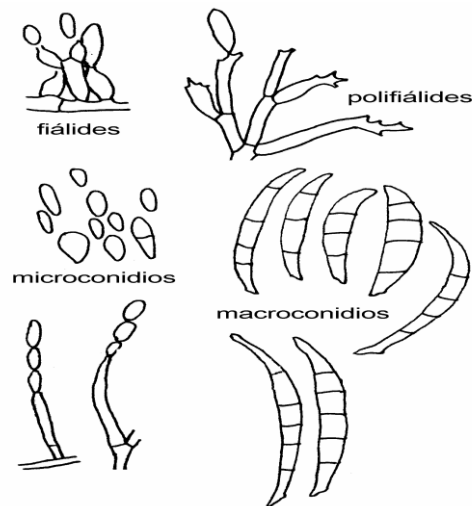
### ***Fusarium sp.***

*Fusarium*, es un género de hongos filamentosos moniliaceos (hialinos) de distribución cosmopolita, usualmente saprófitos del suelo, asociados a la MO en descomposición e insectos, además de ser un parásito facultativo de un amplio rango de plantas hospederas (Giani, 1997; Tostí *et al.*, 2000; Summerell *et al.*, 2001).

La identificación de éste género, se determina mediante sus características morfológicas macro- y microscópicas. Sus colonias crecen rápidamente y presentan diversidad de colores (blanco, rosado pálido, rojo, anaranjado, purpura, celeste, verde aceituna, pardo o no presenta pigmentación), aunque en el reverso puede presentar una densidad alta o baja, algodonosa y los pigmentos que difunden en el agar suelen variar de tonalidad con el pH (Sumerell *et al.*, 2001; Carrillo, 2007).

La forma y tamaño de las esporas son las características principales para su reconocimiento, las esporas están dispersas en el micelio aéreo, en esporodoquios o masas limosas. Las macroconidias son curvadas, multi-septados, con una célula basal apical más o menos puntiaguda y en muchas especies, con una célula basal en forma de pie. Las microconidias son comúnmente unicelulares, elipsoidales, fusiformes, claviformes, piriformes o sub-globosas, similares en ancho a las macroconidias, con una base redondeada o truncada, por lo general formando cabezuelas mucosas, pero en algunas especies en cadenas basipétalas. Cabe señalar, que no siempre se producen ambos tipos de esporas (Moore, 1996; Alexopoulos *et al.*, 1996; Agrios, 2005).

En algunos casos, los conidióforos constan de una célula conidiógena, pero en otros están ramificados y/o verticilados. Las monofialides producen conidias desde una sola abertura y en las polifialides surgen desde más de una abertura en la misma célula (Booth, 1971).



**Figura 2.** Estructuras microscópicas de *Fusarium* sp.

La presencia de una célula basal con forma de pie en las macroconidias, se considera característica de *Fusarium* pero varios géneros de *Coelomycetes* también la presentan. A su vez, pocas especies de *Fusarium* presentan conidias pluriseptadas sin célula basal y son llamadas mesoconidias (Seifert, 2001). Algunas especies presentan clamidosporas terminales, laterales o intercalares, a veces en cadenas. Las células conidiales ocasionalmente se transforman en clamidosporas. Algunas especies también forman esclerocios irregulares, de color beige, ocre, pardo o gris oscuro.

El micelio es ralo o denso, algodonoso, como un filtro o con una zona central de funículos, pero en algunos casos es limoso. Los pigmentos que difunden en el agar suelen variar de color o tono con el pH. Algunas especies presentan zonas concéntricas de distinta morfología macroscópica debido a la secuencia luz obscuridad (Seifert, 2001).

Los teleomórfos producen peritecios y pertenecen a los géneros *Cosmospora* spp, *Gibberella* spp, *Nectria* spp (*Albonectria*, *Haematonectria*), *Monographella* spp y *Plectosporium* spp (Samuels *et al.*, 2001). La mayoría de las especies son heterotálicas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Sitio experimental

El trabajo se llevó a cabo en el Laboratorio “Fisiología de Poscosecha, Patología Vegetal y Control Biológico” del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD), Unidad Cuauhtémoc, Chihuahua.

### Recolección de muestras

La recolección de muestras se realizó en los cuatro principales municipios productores de manzano del estado de Chihuahua (Cuauhtémoc, Bachíniva, Namiquipa y Guerrero), para lo cual se tomaron en cuenta cinco huertos, muestreando de 800-900 g de suelo asociado a la rizosfera de cinco árboles por huerto, posteriormente se realizaron muestras compuestas (250 g), obteniendo un total de 20.

**Cuadro 3.** Sitios de recolecta de muestras de suelo en huertos de manzano en el estado de Chihuahua.

Municipio	Huerto	Localización
Cuauhtémoc	Picacho lote 7	28°29'27"LN; 106°40'08"LO; 2020 msnm
	Picacho lote 6	28°29'31"LN; 106°39'45"LO; 2017 msnm
	Picacho lote 1-A	28°29'23"LN; 106°39'07" LO; 2025 msnm
	Campo 2-A 2 abajo	28°26'40"LN; 106°59'18" LO; 2130 msnm
	Campana (Campo 4)	28°33'49"LN; 106°54'24" LO; 1995 msnm
Bachiniva	San Joaquín	28°51'58"LN; 107°15'57" LO; 1991 msnm
	Rosy (SJ2)	28°51'45"LN; 107°16'08" LO; 1984 msnm
	Betty (SJ3)	28°51'29"LN; 107°16'17" LO; 1977 msnm
	Manuel (SJ4)	28°51'10.69"LN; 107°15'39" LO; 1979 msnm
	La Ciénega	28°46'52"LN; 107°15'21" LO; 2009 msnm
Namiquipa	Carlos Márquez	29° 11' 2.6"W; 107° 25' 14" LO; 1877 msnm
	Manuel Rivera	29° 08' 53"LN; 107° 23' 34" LO; 1868 msnm
	Reyes Nevarez 1	29° 10' 31"; 107° 22' 27" LO; 1900 msnm
	Reyes Nevarez 2	29° 09' 32"LN; 107° 23' 10" LO; 1873 msnm
	Reyes Nevarez 3	29° 08' 59"LN; 107° 23' 30" LO; 1889 msnm
Guerrero	El Encino	28° 33' 23"LN; 107° 27' 21" LO; 2084 msnm
	El Tanque	28° 33' 36"LN; 107° 27' 23" LO; 2082 msnm
	Tres Compadres	28° 32' 5.9"LN; 107° 27' 09.9" LO; 2099msnm
	Ing. Gameros	28° 31' 58"LN; 107° 26' 57" LO; 2096 msnm
	Las Margaritas ( los 56)	28° 33' 31"LN; 107° 29' 37" LO; 2012 msnm

## Aislamiento de actinomicetos

Se utilizaron 10 medios de cultivo artificiales semi-selectivos para el aislamiento de actinomicetos (Cuadro 4).

**Cuadro 4:** Medios semi-selectivos usados para el aislamiento de actinomicetos a partir de muestras de suelo de huertos de manzano del estado de Chihuahua.

Medio	Descripción*	Marca/ Fabricante	Autor/año
Czapek Agar con 20% azúcar	Sacarosa, 30 g; Agar, 15 g NaNO <sub>3</sub> , 3 g; K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> , 1 g KCl, 0.5 g; MgSO <sub>4</sub> (7H <sub>2</sub> O), 0.5 g; FeSO <sub>4</sub> (7H <sub>2</sub> O), 0.01g	SIGMA	Atlas, 2010
Czapek-Peptona agar	Sacarosa, 30 g Agar, 15 g Peptona, 5 g KNO <sub>3</sub> , 2 g Extracto de Levadura, 2 g KCl, 0.5 g, MgSO <sub>4</sub> (7H <sub>2</sub> O), 0.5 g, FeSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O, 0.01 g		Atlas, 2010
Glicerol Glicerina Agar	Agar, 15 g, Glicerina, 2.5 g K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> , 1 g, NaCl, 1 g CaCO <sub>3</sub> , 0.1 g, FeSO <sub>4</sub> , 0.1 g, MgSO <sub>4</sub> , 0.1 g, Glicerol, 20 ml		Atlas, 2010
Agar Banett	Extracto de levadura, 1.0 g, Extracto de carne, 1.0 g N-Z amina A, 2.0 g, (caseína digerida; Sheffield Farms), Agar, 15.0 g Glucosa, 10.0 g, Agua destilada		McClung (1949)
Agar-Nutritivo-Glicerol	Extracto de carne, 3.0 g, Peptona, 5.0 g, Agar, 15.0 g, Glicerol, 20.0 g Agua destilada,		McClung (1949)
Gauze's Medium No.1	Agar, 30 g, Maicena, 20 g KNO <sub>3</sub> , 1.0 g, K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> , 0.5 g, MgSO <sub>4</sub> , 0.5 g, NaCl, 0.5 g, FeSO <sub>4</sub> , 0.01 g		Atlas, 2010
GYM <i>Streptomyces</i> Agar	Agar, 12 g, Extracto de malta, 10 g, Glucosa, 4 g Extracto de levadura, 4 g CaCO <sub>3</sub> , 2 g		Atlas, 2010
Oatmeal Agar	Agar, 15 g Harina de avena 20, g		Atlas, 2010
Medio de Ashby	Sacarosa, 20 g, CaCl <sub>2</sub> , 0.2 g, KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> , 1 g, MgSO <sub>4</sub> , 0.2 g, FeSO <sub>4</sub> , 0.005 g, NaCl, 0.2 g, Agar, 15 g		Atlas, 2010
Agar jugo de vegetales "Medio V8-agar"	Jugo vegetal V8, 180 mL Carbonato de calcio, 2.0 g Agar, 21 g, Agua destilada,		Corbaz <i>et al.</i> , (1963)

**Nota:** \*Proporciones usadas para preparar 1L.

### Siembra por difusión en placa de muestras de suelo

Se realizaron seis diluciones seriadas (1:10), en tubos de ensaye con 9 mL de agua peptonada estéril, se agregó 1 g de suelo (previamente tamizado) a la solución madre, se tomaron 50  $\mu$ L de las diluciones (cuatro, cinco y seis) (Fig. 3), para ser sembradas por medio de la técnica de difusión en placa en cajas de Petri de 90 mm, las cuales contenían medios de cultivo artificiales semi-selectivos para el aislamiento de los actinomicetos.



**Figura 3.** Seis diluciones de  $10^6$ , siembra en placa de 50  $\mu$ L.

### Purificación de actinomicetos

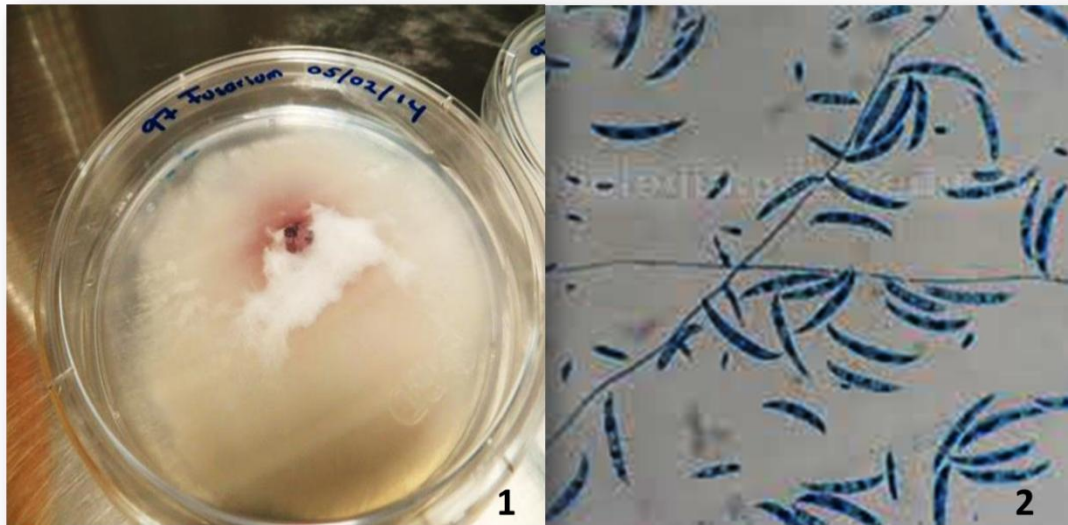
Los microorganismos con apariencia de actinomicetos (características macroscópicas) que crecieron en los medios de cultivo artificiales semi-selectivos, fueron aislados en papa-dextrosa-agar (PDA), e incubados en una cámara de crecimiento ambiental a 28°C durante 10-12 d para permitir su crecimiento.

### Evaluación de actividad antagonica de actinomicetos

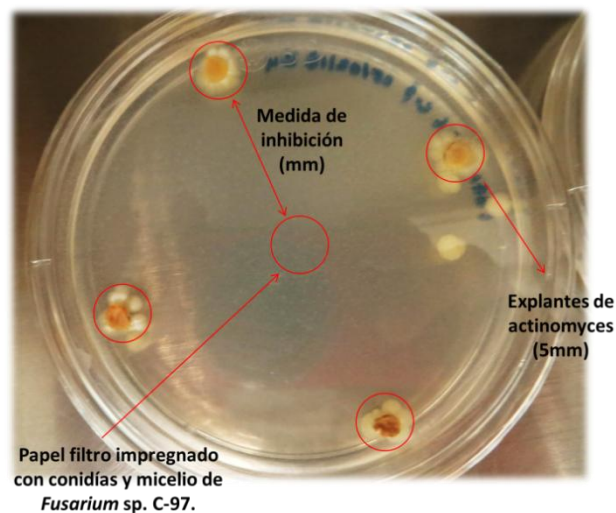
Los actinomicetos se confrontaron *in vitro* contra el hongo fitopatogeno *Fusarium* sp., (aislado 97), previamente identificado (Figura 4), del cepario del Laboratorio de Fisiología de Poscosecha, Patología Vegetal y Control Biológico.



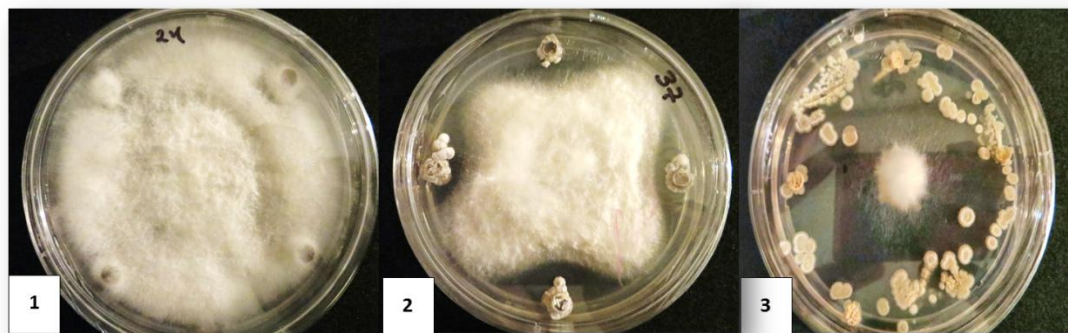
De acuerdo con la metodología descrita por (Castillo, 2001), se colocaron explantes del antagonista de 5 mm de diámetro, los cuales fueron colocados en los cuatro puntos cardinales, en cajas de Petri con PDA, se dejaron crecer por 10 d, en el cual se colocó el patógeno en el centro de la caja (Fig. 6).



**Figura 4.** Características macroscópicas, (1) de *Fusarium* sp., desarrollada en PDA durante siete días, (2) microscópicas.



**Figura 5.** Ejemplo del crecimiento del antagonista después de 10 d de crecimiento en el medio de cultivo artificial semi-selectivo Czapek Agar con 20% de azúcar.

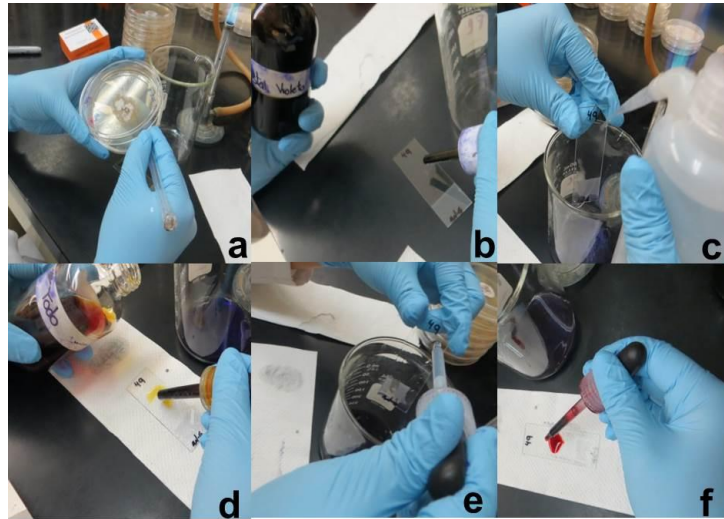


**Figura 6.** Confrontación *In Vitro* de los aislados de actinomicetos contra el aislado *Fusarium* sp.

### **Identificación macroscópica y microscópica**

La identificación macroscópica, se realizó de acuerdo con las características particulares de actinomicetos tales como coloración, pigmentación de medio, crecimiento, textura, (polvosa, algodonosa) entre otras (Duncan y Quintana, 2008).

Para la identificación microscópica de los actinomicetos, se empleó la tinción de Gram (Hans Cristian Gram, 1884), usada para la identificación de bacterias. La cual, consiste en tomar una pequeña porción del material biológico y colocarlo en un portaobjeto, teñidos con los reactivos: cristal violeta de 1 a 2 gotas hasta cubrir la muestra por un minuto, se lavó con agua destilada, lugol de 1 a 2 gotas por un minuto y fue lavado nuevamente con agua destilada y alcohol-acetona por 10 s para eliminar el excedente de yodo, se le colocó safranina de 1 a 2 gotas por 30 seg y lavar con agua destilada (Fig. 7). Finalmente secado y observado al microscopio compuesto (Carl Zeiss) a 1000X.



**Figura 7.** Preparación fija de actinomicetos, a) toma de una porción de material biológico, b) aplicación del cristal violeta, c) lavado con agua destilada (en cada aplicación de colorante), d) aplicación de lugol, e) lavado con la solución de alcohol-acetona, f) aplicación de safranina.

### **Análisis estadístico**

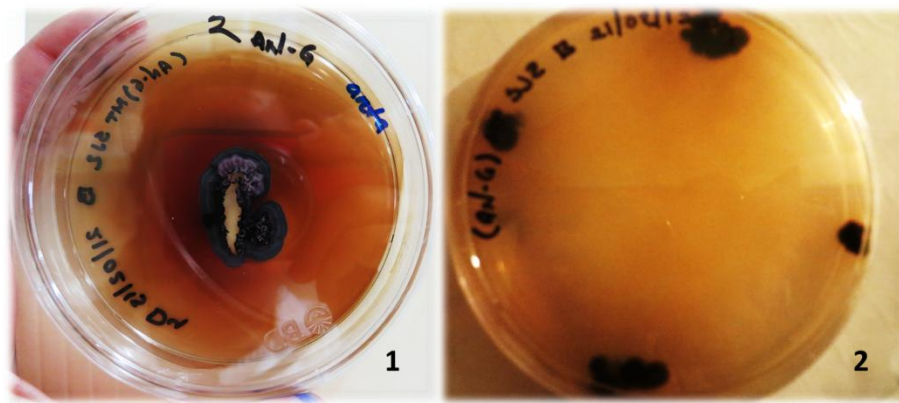
Los datos obtenidos a partir de las confrontaciones de los actinomicetos contra el patógeno. Tales como el halo de inhibición ejercido por el actinomiceto al patógeno y el porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) del hongo, fueron analizados mediante un análisis de varianza (ANVA) y una prueba de comparación de medias por Tukey ( $P \leq 0.05$ ), mediante un diseño completamente al azar, usando el programa estadístico SAS versión 9.1 (SAS, 2001). Donde cada uno de los actinomicetos fue un tratamiento y una caja Petri fue considerada como la unidad experimental.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se obtuvieron 689 aislados de actinomicetos a partir de muestras de suelo asociado a la rizosfera, con diferentes medios semi-selectivos (Cuadro 5). De los cuales 218 mostraron actividad antagónica al ser confrontados contra el fitopatógeno *Fusarium* sp.. Los aislados Gauze's (12, 14, 15, 29, 55, 56, 57, 58, 59, 76, 78, 84 y 87), el aislado 19 del medio GYM y el aislado 18 del medio V8, mostraron el 100 % de PICR, dado que no se registró crecimiento micelial de *Fusarium* sp., a los días 10 y 15 después de colocar el patógeno, resultados similares fueron obtenidos por Fonseca (*et al.*, 2011). Dichos aislamientos son efectivos debido a que disminuyen sustancialmente el crecimiento de patógenos y generan sustancias biocidas o antibióticos que se difunden a través de medio de cultivo. Los aislados con menor PICR fueron los aislados del medio V8 (120, 125, 105, 101, 81, 54, 51, 29 y 14); GYM (80, 60, 21 y 12); ASHBY (49 y 10), Gauze's (126, 120, 110, 90, 83, 60); ANG 24, CPA (45, 33, 23 y 10); CZAS (30 y 26); AB (44, 10 y 5) y GGA (35, 29, 26 y 17); Al respecto Xue, (2013), menciona que algunas cepas de actinomicetos difieren en su capacidad antagónica,

### **Caracterización morfológica de los aislados del género *Streptomyces***

El 75 % de los aislados de *Streptomyces* spp., presentaron micelio aéreo, colonias adheridas al medio de crecimiento, secas, con diferentes colores (Araujo, 1998) Fischer *et al.*, 2003). Así mismo mostraron pigmentación con diversas coloraciones en el anverso de la caja de Petri. Éstas características dependen del medio en el cual se desarrollan (Cross, 1989) (Fig. 8). La coloración varío de beige-café a obscuro-violeta.



**Figura 8.** Morfología del crecimiento macroscópica de *Streptomyces* sp., en los medios de cultivo, 1) PDA y 2) Czapek.

La morfología microscópica de los aislados fue muy diversa, donde se observaron cadenas septadas, en forma de espiral, recta y curva (Anexos 1 a 9), mismas características reportadas por Sahilah, (2010) Evangelista,(2013).

De los 218 actinomicetos antagonicos del suelo asociados a la rizosfera de árboles de manzano en el Estado de Chihuahua los aislados del municipio de Namiquipa fueron los que mostraron mayor actividad antagonica 207 (30.04 %), seguido por Cuauhtémoc, con 134 (19.44 %). El medio de cultivo artificial semi-selectivo más recomendado por Corbaz *et al.*, (1963) y Toussaint, *et al.*, (1997), para el aislamiento de actinomicetos fue el Jugo de Vegetales “V8-Agar”. En este estudio, se aislaron 133 (19.30 %) actinomicetos con este medio, seguido por el medio Gauze’s con 131 aislados (19.01 %) (Xue *et al.*, 2013). Con el medio Agar Avena (Oatmeal), se lograron obtener 6 aislados (0.87%), sin embargo, no contrastó con otros estudios, Gebreyohannes, *et al.*, (2013), Salazar, *et al.*, (2014), Xiao, *et al.*, (2002) y Márquez, *et al.*, (2002) (Cuadro 5).

**Cuadro 5.** Actinomicetos nativos del Estado de Chihuahua aislado de suelo asociados a rizosfera de árboles de manzano con diferentes medios de cultivo artificiales semi-selectivos (2013-2014).

Municipio	Medios Semi-selectivos										Total
	CZAS	CPA	GGA	AN-G	AB	GYM	ASHBY	V8	GOUZES	OATMEAL	
Namiquipa	28(11)	21(5)	13(3)	11(3)	23(11)	22(3)	19(3)	38(15)	31(14)	1	<b>207(68)</b>
Guerrero	8(4)	9(1)	8(2)	12(5)	8(2)	35(4)	14(2)	37(5)	22(7)	1	154(32)
Cuauhtémoc	5(1)	11(5)	14(5)	3(2)	6(3)	24(7)	15(6)	25(7)	31(11)	0	134(47)
Bachiniva	8(6)	12(3)	28(6)	17(8)	15(11)	20(4)	10(3)	33(12)	47(18)	4	194(71)
<b>Total</b>	49(22)	53(14)	63(16)	43(18)	52(27)	101(18)	58(14)	133(39)	131(50)	6	689(218)

CZAS= Czapek agar y 20% de azúcar, CPA=Czapek Peptona y Agar, GGA=Glicerol Glicina y Agar, AN-G= Agar Nutritivo-Glicerol, AB=Agar Banett, GYM=GYM Streptomyces Agar, ASHBY= Medio "Ashby", V8=Agar Jugo de Vegetales V8, GOUZES=Gauzes medio No.1, OATMEAL= Agar Avena.

\*Valores mostrados entre paréntesis corresponden al número de aislados que presentaron antagonismo a *Fusarium* sp.

De los 207 aislados del municipio de Namiquipa, 68 (31.2 %) mostraron actividad antagónica contra *Fusarium* sp. Los medios "V8-Agar" y Gauze's No.1 fueron más efectivos con 38 (18.36 %) y 31 (14.98%), aislamientos respectivamente (Cuadro 6).

**Cuadro 6.** Actinomicetos aislados de suelo asociados a la rizosfera de árboles de manzano del municipio de Namiquipa, Chihuahua (2013-2014).

Municipio	Huerto	Medios semi-selectivos*										Total
		CZAS	CPA	GGA	AN-G	AB	GYM	ASHBY	V8	GOUZES	OATM EAL	
Namiquipa	Carlos Márquez	3(1)	4(0)	2(0)	1(1)	6(5)	2(1)	8(2)	6(1)	9(4)	0	<b>41(15)</b>
	Manuel Rivera	19(8)	12(4)	5(1)	8(1)	13(4)	8(1)	3(0)	14(5)	7(2)	0	<b>89 (26)</b>
	Reyes Nevarez 1	0	0	0	1(0)	0	5(0)	2(0)	9(5)	4(3)	0	<b>21(8)</b>
	Reyes Nevarez 2	2(1)	0	0	0	1(1)	5(1)	3(1)	0	6(2)	1(0)	<b>18(6)</b>
	Reyes Nevarez 3	4(1)	5(1)	6(2)	1(1)	3(1)	2(0)	3(0)	9(4)	5(3)	0	<b>38 (13)</b>
<b>Total</b>		<b>28 (11)</b>	<b>21 (5)</b>	<b>13 (3)</b>	<b>11(3)</b>	<b>23(11)</b>	<b>22(3)</b>	<b>19(3)</b>	<b>38(15)</b>	<b>31(14)</b>	<b>1(0)</b>	<b>207(68)</b>

\*Los valores mostrados en paréntesis, corresponden al número de aislados que mostraron antagonismo a *Fusarium* sp., para ambos cuadros.

De los 154 aislados del municipio de Guerrero 32 (20.77 %) presentaron actividad antagónica a *Fusarium* sp. Los medios GYM y “V8-Agar” fueron los medios más efectivos con 35 (22.73 %) y 37 (24.03 %) aislamientos respectivamente (Cuadro 7).

**Cuadro 7.** Actinomicetos aislados de suelo asociados a la rizosfera de árboles de manzano del municipio de Guerrero, Chihuahua (2013-2014).

Municipio	Huerto	Medios semi-selectivos										Total
		CZAS	CPA	GGA	AN-G	AB	GYM	ASHBY	V8	GOUZES	AOTMEAL	
Guerrero	El Encino	2(1)	2(1)	1(0)	4(3)	2	8(1)	2(0)	13(2)	3(1)	0	<b>37(9)</b>
	El Tanque	5(3)	18(0)	3(2)	3(1)	4(1)	12(2)	2(0)	7(2)	3(1)	0	<b>40(12)</b>
	Tres Compadres	0	0	0	0	1(1)	3(0)	2(1)	5(0)	3(2)	1(0)	<b>15(4)</b>
	Ing. Gameros	0	2(0)	2(0)	1(1)	0	4(0)	3(0)	5(0)	8(2)	0	<b>25(3)</b>
	Las Margaritas	1(0)	4(0)	2(0)	4(0)	1(0)	8(1)	5(1)	7(1)	5(1)	0	<b>37(4)</b>
<b>Total</b>		<b>8(4)</b>	<b>9(1)</b>	<b>8(2)</b>	<b>12(5)</b>	<b>8(2)</b>	<b>35(4)</b>	<b>14(2)</b>	<b>37(5)</b>	<b>22(7)</b>	<b>1(0)</b>	<b>154(32)</b>

De los 134 aislados del municipio de Cuauhtémoc, 47 (35.07 %) presentaron actividad antagónica a *Fusarium* sp. Los medios Gauze´s No.1 y “V8-Agar” fueron los medios más efectivos con 31 (23.13 %) y 25 (18.66%) aislamientos respectivamente (Cuadro 8).

**Cuadro 8.** Actinomicetos aislados de suelo asociados a la rizosfera de árboles de manzano del municipio de Cuauhtémoc, Chihuahua (2013-2014).

Municipio	Huerto	Medios Semi-selectivos										Total
		CZAS	CPA	GGA	ANG	AB	GYM	ASHBY	V8	GOUZES	AOTMEA L	
Cuauhtémoc	Picacho Lote 7	0	1(1)	0	0	0	2(1)	2(0)	4(1)	2(1)	0	<b>11(4)</b>
	Picacho Lote 6	2(1)	0	5(2)	1(1)	2(1)	1(0)	3(1)	7(3)	3(3)	0	<b>24(12)</b>
	Picacho Lote 1-a	0	3(1)	2(0)	1(1)	3(1)	3(0)	7(4)	1(0)	7(3)	0	<b>27(10)</b>
	2 Abajo (campo 2-a)	2(0)	2(1)	6(2)	1(0)	1(1)	13(4)	3(1)	9(0)	13(3)	0	<b>50(12)</b>
	Campana (campo 4)	1(0)	5(2)	1(1)	0	0	5(2)	0	4(3)	6(1)	0	<b>22(9)</b>
<b>Total/medio</b>		<b>5(1)</b>	<b>11(5)</b>	<b>14(5)</b>	<b>3(2)</b>	<b>6(3)</b>	<b>24(7)</b>	<b>15(6)</b>	<b>25(7)</b>	<b>31(11)</b>	<b>0(0)</b>	<b>134(47)</b>

\*Los valores mostrados entre paréntesis corresponden al número de aislados que mostraron antagonismo a *Fusarium* sp.

De los 194 aislados del municipio de Bachiniva, 71 (36.60 %) presentaron actividad antagónica a *Fusarium* sp. Los medios Gauze´s No.1 y “V8-Agar” fueron los medios más efectivos con 47 (24.33 %) y 33 (17.01 %) aislamientos respectivamente (Cuadro 9).



**Cuadro 9.** Actinomicetos aislados de suelo asociados a la rizosfera de árboles de manzano del municipio de Bachiniva, Chihuahua (2013-2014).

Municipio	Huerto	Medios semi-selectivos										Total
		CZAS	CPA	GGA	ANG	AB	GYM	ASHBY	V8	GOUZES	AOT MEAL	
Bachiniva	San Joaquín	1(1)	2(2)	12(2)	4(1)	4(4)	5(2)	3(1)	2(0)	8(0)	0	<b>41(13)</b>
	Rosy (SJ2)	3(1)	6(0)	4(2)	9(4)	2(1)	3(0)	3(0)	2(1)	8(1)	2(0)	<b>42(11)</b>
	Betty (SJ3)	0	1(0)	0	1(1)	0	8(1)	0	9(4)	11(6)	1(0)	<b>31(11)</b>
	Manuel (SJ4)	1(1)	3(1)	0	2(1)	4(3)	0	2(2)	10(4)	9(6)	1(0)	<b>32(18)</b>
	La Ciénega	3(3)	0	12(2)	1(1)	5(3)	4(1)	2(0)	10(3)	11(5)	0	<b>48(18)</b>
Total		8(6)	12(3)	28(6)	17(8)	15(11)	20(4)	10(3)	33(12)	47(18)	4(0)	<b>194(71)</b>

\*Los valores mostrados entre paréntesis corresponden al número de aislados que mostraron antagonismo a *Fusarium* sp.

Los resultados de la confrontación, muestran la capacidad antagónica de los actinomicetos contra *Fusarium* sp. (Lahdempera, 1987). El máximo halo de inhibición que se presentó en las confrontaciones fue de 38 mm (100 %) los actinomicetos del genero *Streptomyces* contra *Fusarium* sp., resultados similares a lo reportado por Xiao (2002) con halos de inhibición del crecimiento radial de patógeno de 35 mm.



**Figura 9.** Escala de antagonismo *In Vitro* de aislados de actinomicetos a) 100% de inhibición del patógeno b) 75% de inhibición, y c) 30% de inhibición del patógeno. Nota: 38 mm corresponde al 100% de inhibición del crecimiento radial.

Los efectos antagónicos, se pudieron apreciar a los dos días después post-incubación de la confrontación (Goudjal, 2014).

De acuerdo con (Olivas, 2004) no todas las bacterias reaccionan a la tinción de Gram, debido a la pared celular. *Streptomyces* sp., tiene pared gruesa y retiene el primer colorante (cristal violeta), los géneros de *Micobacterium* y *Nocardia* por ser de pared delgada se dificulta su identificación con la tinción de Gram, ya que retiene el segundo colorante (safranina) y necesitan de la tinción de Ziehl-Neelsen para poder ser identificadas y ser consideradas actinobacterias.

De acuerdo con la tinción de Gram, los actinomicetos aislados del medio Agar Bannet (AB), resultaron positivos 26 y 1 negativo. Los aislados AB (5, 10 y 44) fueron los que mostraron el mayor PICR con 47.4 %, 40.8 % y 44.1 % respectivamente (Cuadro 10).

**Cuadro 10.** Actinomicetos antagonicos a *Fusarium* sp., aislados en el medio de cultivos artificial semi-selectivo Agar-Bannett (AB), en el estado de Chihuahua.

Municipio	Huerto	Aislado	Técnica de tinción de Gram. <i>Streptomyces</i> sp.		Halo de inhibición de actinomicetos		Crecimiento radial de <i>Fusarium</i> sp. (mm)
			Positivo	Negativo	(mm)	(%)	
Namiquipa	HCM	AB-5	✓	-	18.0a	47.4	20.0
Cuauhtémoc	Lote 1-a	AB-44	✓	-	16.7a	44.1	21.2
Namiquipa	HCM	AB-10	✓	-	15.5a	40.8	22.5
Namiquipa	HCM	AB-26	✓	-	11.7b	31.02.0	26.2
Cuauhtémoc	Campo 2-a	AB-48	✓	-	8.0c	21.1	30.0
Bachiniva	SJ4	AB-42	-	X	7.5cd	19.7	30.5
Namiquipa	HCM	AB-35	✓	-	6.7cde	17.7	31.2
Namiquipa	HNR-3	AB-32	✓	-	6.7cde	17.7	31.2
Namiquipa	SJ	AB-50	✓	-	5.5cdef	14.5	32.5
Bachiniva	Ciénega	AB-15	✓	-	5.2cdefg	13.8	32.7
Bachiniva	SJ	AB-34	✓	-	4.5defgh	11.8	33.5
Namiquipa	HRN-3	AB-16	✓	-	4.0efgh	10.5	34.0
Namiquipa	HMR	AB-49	✓	-	3.0fghi	7.9	35.0
Bachiniva	Ciénega	AB-47	✓	-	3.0fghi	7.9	35.0
Bachiniva	SJ	AB-39	✓	-	3.0fghi	7.9	35.0
Cuauhtémoc	Lote 6	AB-51	✓	-	3.0fghi	7.9	35.0
Bachiniva	SJ4	AB-11	✓	-	2.7fghi	7.2	35.2
Namiquipa	HRN-3	AB-33	✓	-	2.5fghi	6.6	35.5
Namiquipa	HMR	AB-3	✓	-	2.5fghi	6.6	35.5
Bachiniva	SJ	AB-30	✓	-	2.2ghi	6.0	35.7
Bachiniva	Ciénega	AB-13	✓	-	2.2ghi	6.0	35.7
Guerrero	Tres compadres	AB-22	✓	-	2.2ghi	6.0	35.7
Bachiniva	SJ2	AB-36	✓	-	2.2ghi	6.0	35.7
Guerrero	Tanque	AB-21	✓	-	2.2ghi	6.0	35.7
Bachiniva	SJ4	AB-9	✓	-	2.0hi	5.3	36.0
Namiquipa	HMR	AB-28	✓	-	2.0hi	5.3	36.0
Namiquipa	HMR	AB-43	✓	-	1.0i	2.6	37.0

\*Los valores con la misma literal son estadísticamente iguales de acuerdo con Tukey ( $P \leq 0.05$ ).

De acuerdo con la tinción de Gram, 18 de los actinomicetos aislados del medio Agar Nutritivo-Glicerol (ANG), resultaron positivos. El aislado ANG-24 fue el que mostró el mayor PICR (38.2 %) (Cuadro 11)

**Cuadro 11.** Actinomicetos antagónicos a *Fusarium* sp., aislados en el medio de cultivo artificial semi-selectivo Agar Nutritivo-Glicerol (ANG), en el estado de Chihuahua.

Municipio	Huerto	Clave de actinomiceto	Técnica de tinción de Gram. <i>Streptomyces</i> sp.		Halo de inhibición de actinomicetos		Crecimiento radial de <i>Fusarium</i> sp. (mm)
			Positivo	Negativo	(mm)*	(%)	
Bachiniva	SJ2	ANG-24	✓	-	14.5a	38.2	23.5
Namiquipa	HCM	ANG-21	✓	-	13.0ab	34.2	25.0
Bachiniva	SJ2	ANG-39	✓	-	13.0b	34.2	25.7
Namiquipa	HMR	ANG-37	✓	-	8.0c	21.1	30.0
Bachiniva	SJ2	ANG-4	✓	-	8.0c	21.1	30.0
Bachiniva	SJ2	ANG-29	✓	-	8.0c	21.1	30.0
Bachiniva	SJ	ANG-9	✓	-	8.0c	21.1	30.0
Bachiniva	Ciénega	ANG-7	✓	-	3.0d	7.9	35.0
Guerrero	El encino	ANG-33	✓	-	3.0d	7.9	35.0
Bachiniva	SJ4	ANG-10	✓	-	3.0d	7.9	35.0
Cuauhtémoc	Lote 1-A	ANG-5	✓	-	3.0d	7.9	35.0
Bachiniva	SJ2	ANG-2	✓	-	3.0d	7.9	35.0
Cuauhtémoc	Lote-6	ANG-14	✓	-	3.0d	7.9	35.0
Namiquipa	HRN-3	ANG-34	✓	-	3.0d	7.9	35.0
Guerrero	El encino	ANG-23	✓	-	1.5de	3.9	36.5
Guerrero	El encino	ANG-28	✓	-	1.0e	2.6	37.0
Guerrero	Gameros	ANG-31	✓	-	1.0e	2.6	37.0
Guerrero	Tanque	ANG-3	✓	-	1.0e	2.6	37.0

\*Los valores con la misma literal son estadísticamente iguales de acuerdo con Tukey ( $P \leq 0.05$ ).

De acuerdo con la tinción de Gram, 14 de los aislados en el medio Czapek Peptona Agar (CPA), resultaron positivos. El aislado CPA-45 fue el que mostró el mayor PICR (72.4 %) (Cuadro 12).

**Cuadro 12.** Actinomicetos antagónicos a *Fusarium* sp., obtenidos de medio semi-selectivo Czapek Peptona-Agar (CPA), del estado de Chihuahua.

Municipio	Huerto	Clave de actinomiceto	Técnica de tinción de Gram <i>Streptomyces</i> sp.		Halo de inhibición de actinomicetos		Crecimiento radial de <i>Fusarium</i> sp. (mm)
			Positivo	Negativo	(mm)*	(%)	
Cuauhtémoc	Campo 2-a	CPA-45	✓	-	27.5a	72.4	10.5
Bachiniva	SJ4	CPA-23	✓	-	23.5b	61.8	14.5
Guerrero	Tanque	CPA-10	✓	-	14.7c	38.8	23.2
Namiquipa	HMR	CPA-33	✓	-	13.2c	34.9	24.7
Cuauhtémoc	Lote 7	CPA-11	✓	-	13.0cd	34.2	25.0
Namiquipa	HMR	CPA-30	✓	-	10.0d	26.3	28.0
Namiquipa	HMR	CPA-26	✓	-	10.0d	26.3	28.0
Namiquipa	HMR-3	CPA-24	✓	-	2.5e	6.6	35.5
Cuauhtémoc	Campana	CPA-20	✓	-	2.0e	5.3	36.0
Bachiniva	SJ	CPA-5	✓	-	1.0e	2.6	37.0
Cuauhtémoc	Campana	CPA-2	✓	-	1.0e	2.6	37.0
Cuauhtémoc	lote 1-a	CPA-40	✓	-	1.0e	2.6	37.0
Namiquipa	HMR	CPA-50	✓	-	1.0e	2.6	37.0
Bachiniva	SJ	CPA-1	✓	-	1.0e	2.6	37.0

\*Los valores con la misma literal son estadísticamente iguales de acuerdo con Tukey ( $P \leq 0.05$ ).

De acuerdo con la tinción de Gram, 16 de los aislados en el medio Glicerol Glicina y Agar (GGA), resultaron positivos y 1 negativo. El aislado GGA-26 fue el que mostró el mayor PICR (82.2 %). Los aislados negativos a la tinción de Gram, presentaron características propias de actinomicetos, posiblemente se trate de otro género de actinomiceto diferente a *Streptomyces* (Cuadro 13).

**Cuadro 13.** Actinomicetos antagónicos a *Fusarium* sp., aislados en el medio de cultivo artificial semi-selectivo Glicerol Glicina Agar (GGA), en el estado de Chihuahua.

Municipio	Huerto	Clave de actinomiceto	Técnica de tinción de Gram. <i>Streptomyces</i> sp.		Halo de inhibición de actinomicetos		Crecimiento radial de <i>Fusarium</i> sp. (mm)
			Positivo	Negativo	(mm)*	(%)	
Bachiniva	SJ	GGA-26	✓	-	31.2a	82.2	6.7
Bachiniva	Ciénega	GGA-35	✓	-	23.0b	60.5	15.0
Bachiniva	Ciénega	GGA-29	✓	-	18.7c	49.3	19.2
Cuauhtémoc	Lote 6	GGA-17	✓	-	15.0d	39.5	23.0
Namiquipa	HRN-3	GGA-62	✓	-	12.0de	31.6	26.0
Guerrero	Tanque	GGA-12	✓	-	11.7de	30.9	26.2
Cuauhtémoc	Campo 2-a	GGA-50	✓	-	10.7de	28.3	27.2
Bachiniva	SJ	GGA-18	✓	-	6.5f	17.1	31.5
Cuauhtémoc	Campana	GGA-25	✓	-	3.0g	7.9	35.0
Namiquipa	HRN-3	GGA-34	✓	-	1.5g	3.9	36.5
Guerrero	Tanque	GGA-59	✓	-	1.0g	2.6	37.0
Bachiniva	SJ2	GGA-61	✓	-	1.0g	2.6	37.0
Cuauhtémoc	Campo 2-a	GGA-48	✓	-	1.0g	2.6	37.0
Namiquipa	HRN-3	GGA-46	✓	-	1.0g	2.6	37.0
Cuauhtémoc	Lote 6	GGA-45	✓	-	1.0g	2.6	37.0
Namiquipa	HMR	GGA-42	✓	-	1.0g	2.6	37.0
Bachiniva	SJ2	GGA-1	-	X	1.0g	2.6	37.0

\*Los valores con la misma letra son estadísticamente iguales de acuerdo con Tukey ( $P \leq 0.05$ ).

De acuerdo con la tinción de Gram, 18 de los aislados en el medio Czapek Agar con 20 % de azúcar (CZAPEK), resultaron positivos y 4 negativos. El aislado CZAS-30 fue el que mostró el mayor PICR (54.6 %). Los aislados negativos a la tinción de Gram presentaron características propias de actinomicetos, posiblemente se trate de otro género de actinomiceto diferente a *Streptomyces* (Cuadro 14).

**Cuadro 14.** Actinomicetos antagonistas a *Fusarium* sp., obtenidos de medio semi-selectivo Czapek Agar con 20 % de Azúcar (CZAS), del estado de Chihuahua.

Municipio	Huerto	Clave de Actinomiceto	Técnica de tinción de Gram. <i>Streptomyces</i> sp.		Halo de inhibición de actinomicetos		Crecimiento radial de <i>Fusarium</i> sp. (mm)
			Positivo	Negativo	(mm)	(%)	
Bachiniva	Ciénega	CZAS-30	✓	-	20.75a	54.6	17.2
Bachiniva	SJ2	CZAS-26	✓	-	15.5b	40.8	22.5
Cauhtémoc	Lote 6	CZAS-27	-	X	13.7c	36.2	24.2
Guerrero	Tanque	CZAS-5	✓	-	12.5d	32.9	25.5
Namiquipa	HMR	CZAS-14	✓	-	28.0e	26.3	28.0
Bachiniva	Ciénega	CZAS-3	-	X	8.0f	21.1	30.0
Guerrero	El encino	CZAS-6	✓	-	8.0f	21.1	30.0
Namiquipa	HCM	CZAS-7	✓	-	8.0f	21.1	30.0
Namiquipa	HMR	CZAS-15	✓	-	3.0g	7.9	35.0
Bachiniva	SJ4	CZAS-4	✓	-	3.0g	7.9	35.0
Namiquipa	HMR	CZAS-13	✓	-	3.0g	7.9	35.0
Namiquipa	HMR	CZAS-12	✓	-	3.0g	7.9	35.0
Guerrero	Tanque	CZAS-11	-	X	3.0g	7.9	35.0
Bachiniva	SJ	CZAS-1	✓	-	3.0g	7.9	35.0
Namiquipa	HMR	CZAS-16	✓	-	3.0g	7.9	35.0
Bachiniva	Ciénega	CZAS-37	✓	-	1.0h	2.6	37.0
Namiquipa	HMR	CZAS-28	-	X	1.0h	2.6	37.0
Namiquipa	HMR	CZAS-18	✓	-	1.0h	2.6	37.0
Namiquipa	HRN-2	CZAS-17	✓	-	1.0h	2.6	37.0
Namiquipa	HMR	CZAS-20	✓	-	1.0h	2.6	37.0
Guerrero	Tanque	CZAS-19	✓	-	1.0h	2.6	37.0
Namiquipa	HRN-3	CZAS-10	✓	-	1.0h	2.6	37.0

\*Los valores con la misma letra son estadísticamente iguales de acuerdo con Tukey ( $P \leq 0.05$ ).

erdo a la tinción de Gram, 50 de los actinomicetos aislados en el medio de Agar Gauze's No.1, resultaron positivos. Estadísticamente los mejores aislados fueron Gauz (29, 12, 58, 84, 57, 59, 15, 14, 87, 76, 55, 56, 78), de los cuales estos mostraron un 100 % de PICR de *Fusarium* sp.(Cuadro 15).

**Cuadro 15.** Actinomicetos antagónicos a *Fusarium* sp., obtenidos de medio de cultivo artificial semi-selectivo Gauzes N.1 (GAUZES), en el estado de Chihuahua.

Municipio	Huerto	Clave de Actinomiceto	Técnica de tinción de Gram <i>Streptomyces</i> sp.		Halo de inhibición de actinomicetos		Crecimiento radial de <i>Fusarium</i> sp. (mm)
			Positivo	Negativo	(mm)	(%)	
Namiquipa	HRN-2	GAUZES-29	✓	-	38.0a	100	0
Namiquipa	HRN	GAUZES-12	✓	-	38.0a	100	0
Bachiniva	Ciénega	GAUZES-59	✓	-	38.0a	100	0
Bachiniva	SJ3	GAUZES-15	✓	-	38.0a	100	0
Bachiniva	SJ4	GAUZES-14	✓	-	38.0a	100	0
Guerrero	El Encino	GAUZES-56	✓	-	38.0a	100	0
Bachiniva	SJ3	GAUZES-87	✓	-	38.0a	100	0
Namiquipa	HMR	GAUZES-58	✓	-	38.0a	100	0
Namiquipa	HCM	GAUZES-84	✓	-	38.0a	100	0
Cuauhtémoc	Lote 6	GAUZES-78	✓	-	38.0a	100	0
Bachiniva	SJ4	GAUZES-76	✓	-	38.0a	100	0
Bachiniva	Ciénega	GAUZES-55	✓	-	38.0a	100	0
Namiquipa	HRN-2	GAUZES-57	✓	-	38.0a	100	0
Namiquipa	HCM	GAUZES-83	✓	-	31.0b	81.6	7.0
Namiquipa	HCM	GAUZES-110	✓	-	31.0b	81.6	7.0
Bachiniva	Ciénega	GAUZES-60	✓	-	28.5bc	75.0	9.5
Bachiniva	SJ4	GAUZES-126	✓	-	26.7c	70.4	11.2
Bachiniva	SJ3	GAUZES-120	✓	-	16.5d	43.4	21.5
Guerrero	Gameros	GAUZES-90	✓	-	15.5de	40.8	22.5
Namiquipa	HRN-3	GAUZES-96	✓	-	13.0ef	34.2	25.0
Bachiniva	SJ3	GAUZES-1	✓	-	12.5efg	32.9	25.5



**Cuadro 15. Continuación**

Cuauhtémoc	Lote6	GAUZES-30	✓	-	11.7fgh	30.9	26.2
Bachiniva	SJ4	GAUZES-114	✓	-	10.7fgh	28.3	27.2
Bachiniva	SJ3	GAUZES-123	✓	-	10.7fgh	28.3	27.2
Namiquipa	HRN	GAUZES-127	✓	-	10.2fghi	27.0	27.7
Guerrero	3 Compas	GAUZES-11	✓	-	10.0fghij	26.3	28.0
Cuauhtémoc	Campo 2-a	GAUZES-40	✓	-	10.0fghij	26.3	28.0
Namiquipa	HRN-3	GAUZES-63	✓	-	9.2ghijk	24.3	28.7
Guerrero	3 Compas	GAUZES-51	✓	-	9.0iklmn	23.7	29.0
Bachiniva	SJ3	GAUZES-3	✓	-	7.0iklmn	18.4	31.0
Bachiniva	Los 56	GAUZES-50	✓	-	7.0iklmn	18.4	31.0
Cuauhtémoc	Lote 1-a	GAUZES-74	✓	-	6.7klmn	17.8	31.2
Namiquipa	HCM	GAUZES-73	✓	-	6.7klmn	17.8	31.2
Namiquipa	HMR	GAUZES-121	✓	-	6.0klmn	15.8	32.0
Cuauhtémoc	Campo 2-a	GAUZES-69	✓	-	5.7lmn	15.1	32.2
Bachiniva	SJ4	GAUZES-88	✓	-	4.7mno	12.5	33.2
Bachiniva	SJ2	GAUZES-49	✓	-	4.2mnop	11.2	33.7
Namiquipa	HRN-3	GAUZES-44	✓	-	3.0nop	7.9	35.0
Cuauhtémoc	Lote 7	GAUZES-101	✓	-	3.0nop	7.9	35.0
Cuauhtémoc	Campo 2-a	GAUZES-99	✓	-	3.0nop	7.9	35.0
Cuauhtémoc	Lote 1-a	GAUZES-105	✓	-	3.0nop	7.9	35.0
Guerrero	Gameros	GAUZES-4	✓	-	1.5op	3.9	36.5
Bachiniva	Ciénega	GAUZES-46	✓	-	1.5op	3.9	36.5
Bachiniva	Ciénega	GAUZES-93	✓	-	1.0p	2.6	37.0
Guerrero	Tanque	GAUZES-85	✓	-	1.0p	2.6	37.0
Cuauhtémoc	Lote 6	GAUZES-77	✓	-	1.0p	2.6	37.0
Bachiniva	SJ4	GAUZES-94	✓	-	1.0p	2.6	37.0
Cuauhtémoc	Campana	GAUZES-109	✓	-	1.0p	2.6	37.0
Cuauhtémoc	Lote 1-a	GAUZES-19	✓	-	1.0p	2.6	37.0
Namiquipa	HRN	GAUZES-24	✓	-	1.0p	2.6	37.0

\*Los valores con la misma literal son estadísticamente iguales de acuerdo con Tukey ( $P \leq 0.05$ ).

De acuerdo con la tinción de Gram, 14 de los aislados en el medio Ashby (ASBHY), resultaron positivos. El mejor aislado fue ASBHY-44 con un PICR de 88.1 % (Cuadro 16).

**Cuadro 16.** Actinomicetos antagonicos a *Fusarium* sp., aislados del medio cultivo artificial semi-selectivo Ashby (ASHBY), en el estado de Chihuahua.

Municipio	Huerto	Clave de actinomiceto	Técnica de tinción de Gram <i>Streptomyces</i> sp.		Halo de inhibición de actinomicetos		Crecimiento radial de <i>Fusarium</i> sp. (mm)
			Positivo	Negativo	(mm)*	(%)	
Namiquipa	HRN-2	ASHBY-44	✓	-	33.5a	88.1	4.5
Cuauhtémoc	Lote 1-a	ASHBY-40	✓	-	25.0b	65.8	13.0
Bachiniva	SJ4	ASHBY-18	✓	-	22.0c	57.9	16.0
Guerrero	Tres Compas	ASHBY-49	✓	-	16.5d	43.4	21.5
Cuauhtémoc	Lote 1-a	ASHBY-10	✓	-	16.2d	42.8	21.7
Bachiniva	SJ4	ASHBY-37	✓	-	10.2e	27.0	27.7
Cuauhtémoc	Lote 6	ASHBY-41	✓	-	8.0f	21.1	30.0
Bachiniva	SJ	ASHBY-9	✓	-	3.0g	7.9	35.0
Namiquipa	HCM	ASHBY-21	✓	-	3.0g	7.9	35.0
Guerrero	Los 56	ASHBY-52	✓	-	3.0g	7.9	35.0
Cuauhtémoc	Lote 1-a	ASHBY-23	✓	-	3.0g	7.9	35.0
Cuauhtémoc	Campo 2-a	ASHBY-45	✓	-	1.0g	2.6	37.0
Namiquipa	HCM	ASHBY-11	✓	-	1.0g	2.6	37.0
Cuauhtémoc	Lote 6	ASHBY-46	✓	-	1.0g	2.6	37.0

\*Los valores con la misma letra son estadísticamente iguales de acuerdo con Tukey ( $P \leq 0.05$ ).

De acuerdo con la tinción de Gram, 18 de los aislados del medio GYM *Streptomyces* Agar (GYM), resultaron positivos. El mejor aislado fue el GYM-19 con un 100 % PICR (Cuadro 17).

**Cuadro 17.** Actinomicetos antagónicos a *Fusarium* sp., aislados del medio cultivo artificial semi-selectivo GYM *Streptomyces* Agar (GYM), en el estado de Chihuahua.

Municipio	Huerto	Clave de actinomiceto	Técnica de tinción de Gram <i>Streptomyces</i> sp.		Halo de inhibición de actinomicetos		Crecimiento radial de <i>Fusarium</i> sp.
			Positivo	Negativo	(mm) <sup>*</sup>	(%)	
Guerrero	Tanque	GYM-19	✓	-	38.0a	100	0
Cuauhtémoc	Lote 7	GYM-80	✓	-	32.2b	84.9	5.7
Cuauhtémoc	Campo 2-a	GYM-60	✓	-	29.5c	77.6	8.5
Namiquipa	HCM	GYM-12	✓	-	20.5d	53.9	17.5
Bachiniva	SJ	GYM-21	✓	-	18.0d	47.4	20.0
Namiquipa	HRN-2	GYM-5	✓	-	9.0e	23.7	29.0
Cuauhtémoc	Campana	GYM-51	✓	-	8.5e	22.4	29.5
Cuauhtémoc	Campo 2-a	GYM-61	✓	-	8.0e	21.1	30.0
Namiquipa	HMR	GYM-68	✓	-	8.0e	21.1	30.0
Cuauhtémoc	Campana	GYM-94	✓	-	8.0e	21.1	30.0
Guerrero	El encino	GYM-36	✓	-	8.0e	21.1	30.0
Guerrero	Tanque	GYM-31	✓	-	8.0e	21.1	30.0
Guerrero	Los 56	GYM-54	✓	-	5.2f	13.8	32.7
Bachiniva	Ciénega	GYM-96	✓	-	5.0f	13.1	33.0
Bachiniva	SJ	GYM-35	✓	-	3.0fg	7.9	35.0
Cuauhtémoc	Campo 2-a	GYM-6	✓	-	3.0fg	7.9	35.0
Cuauhtémoc	Campo 2-a	GYM-11	✓	-	3.0fg	7.9	35.0
Bachiniva	SJ3	GYM-63	✓	-	1.0g	2.6	37.0

\*Los valores con la misma letra son estadísticamente iguales de acuerdo con Tukey ( $P \leq 0.05$ ).

De acuerdo con la tinción de Gram, 39 de los aislados del medio “V8-Agar” (V8), resultaron positivos. El mejor aislado fue V8-18 con 100% de PICR (Cuadro 18).

**Cuadro 18.** Actinomicetos antagónicos a *Fusarium* sp., aislados del medio de cultivo artificial semi-selectivo “V8-Agar” (V8), en el estado de Chihuahua.

Municipio	Huerto	Clave de actinomiceto	Técnica de tinción de Gram <i>Streptomyces</i> sp.		Halo de inhibición de actinomicetos		Crecimiento radial de <i>Fusarium</i> sp. (mm)
			Positivo	Negativo	(mm)*	(%)	
Guerrero	Tanque	V8-18	✓	-	38.0a	100	0
Guerrero	Tanque	V8-29	✓	-	32.5b	85.5	5.5
Cuauhtémoc	Lote 6	V8-54	✓	-	31.7b	83.5	6.2
Cuauhtémoc	Lote 7	V8-51	✓	-	31.5b	82.9	6.5
Bachiniva	SJ3	V8-101	✓	-	29.0b	76.3	9.0
Namiquipa	HNR	V8-120	✓	-	24.5c	64.5	13.5
Namiquipa	HCM	V8-81	✓	-	16.7d	44.1	21.2
Cuauhtémoc	Lote 6	V8-52	✓	-	16.0de	42.1	22.0
Bachiniva	Ciénega	V8-14	✓	-	15.7def	41.4	22.2
Bachiniva	SJ4	V8-23	✓	-	14.2defg	37.5	23.7
Namiquipa	HNR	V8-125	✓	-	13.5defg	35.5	24.5
Namiquipa	HNR	V8-105	✓	-	13.2defg	34.8	24.7
Namiquipa	HMR	V8-6	✓	-	12.0efgh	31.6	26.0
Namiquipa	HMR	V8-2	✓	-	11.7fgh	30.9	26.5
Namiquipa	HRN-3	V8-42	✓	-	11.5gh	30.3	26.5
Namiquipa	HNR	V8-22	✓	-	11.0gh	28.9	27.0
Bachiniva	SJ4	V8-48	✓	-	8.7hi	23.0	29.2
Guerrero	Los 56	V8-107	✓	-	8.0hi	21.1	30.0
Bachiniva	Ciénega	V8-113	✓	-	6.0ij	15.8	32.0

**Cuadro 18. Continuación**

Namiquipa	HMR	V8-4	✓	-	5.0ijk	13.1	33.0
Bachiniva	SJ3	V8-103	✓	-	3.0jk	7.9	35.0
Bachiniva	SJ3	V8-104	✓	-	3.0jk	7.9	35.0
Bachiniva	SJ3	V8-100	✓	-	3.0jk	7.9	35.0
Cuauhtémoc	Campana	V8-47	✓	-	3.0jk	7.9	35.0
Cuauhtémoc	Campo 2-a	V8-11	✓	-	3.0jk	7.9	35.0
Cuauhtémoc	Campana	V8-56	✓	-	3.0jk	7.9	35.0
Guerrero	Los 56	V8-50	✓	-	3.0jk	7.9	35.0
Bachiniva	SJ2	V8-70	✓	-	3.0jk	7.9	35.0
Bachiniva	Ciénega	V8-115	✓	-	3.0jk	7.9	35.0
Guerrero	El Encino	V8-34	✓	-	1.0k	2.6	37.0
Bachiniva	SJ4	V8-122	✓	-	1.0k	2.6	37.0
Namiquipa	HNR	V8-123	✓	-	1.0k	2.6	37.0
Namiquipa	HRN-3	V8-9	✓	-	1.0k	2.6	37.0
Namiquipa	HMR	V8-64	✓	-	1.0k	2.6	37.0
Guerrero	El Encino	V8-39	✓	-	1.0k	2.6	37.0
Namiquipa	HRN-3	V8-8	✓	-	1.0k	2.6	37.0
Namiquipa	HMR	V8-75	✓	-	1.0k	2.6	37.0
Namiquipa	HRN-3	V8-87	✓	-	1.0k	2.6	37.0
Bachiniva	SJ4	V8-66	✓	-	1.0k	2.6	37.0

\*Los valores con la misma literal son estadísticamente iguales de acuerdo con Tukey ( $P \leq 0.05$ ).

El crecimiento de *Streptomyces* sp., en medios de cultivo con diferentes niveles de NaCl, altera su morfología y comportamiento (Silva-Sousa *et. al.* 2008).

Los actinomicetos mostraron inhibición a *Fusarium* sp., como reportan Castillo, (2004); Lozoya *et al.*, (2006); Villamarin, (2011); Davila-Medina *et al.*, (2013) y Medina *et al.*, (2014). En los que se evaluó la capacidad antagónica de cepas de actinomicetos contra varios patógenos como *Colletotrichum* sp., *Rhizoctonia solani* y *Phytophthora infestans*.

## CONCLUSIONES

De los suelos asociados a la rizosfera de árboles de manzano, se obtuvieron 689 aislados de actinomicetos, de estos 218 mostraron actividad antagónica para el género *Fusarium* sp., bajo condiciones *in Vitro*. La región de Namiquipa fue la que mostró mayor abundancia de aislados (30.04 %) y el municipio de Bachiniva se recuperaron 32.57 % antagonistas (71) de 218 totales.

De los 10 medios de cultivo artificial semi-selectivo, utilizados en este estudio, los mejores para el género de *Streptomyces* fueron "V8-Agar", Gauze's No.1 y GYM *Streptomyces*.

El 90 % de los actinomicetos resultaron positivos a la tinción de Gram. El otro 10% presente las características macroscópicas pero no microscópicas por lo que pueden pertenecer a otro género.

Se obtuvo un 100% de PICR, en aislamientos en el medio de Gauze's , V8-agar y GYM, sin embargo Gauze's obtuvo el mayor porcentaje de antagonistas con 100 % d inhibición (26 %).

Para la confrontación *in vitro* de actinomicetos con patógenos es recomendable la utilización de medio Czapek para favorecer el desarrollo del actinomiceto.

Los actinomicetos que resultaron con el 100% de inhibición pueden ser probados como promotores de crecimiento vegetal, lo que constituye un beneficio adicional en su utilización por los productores agrícolas de la región de Namiquipa y Bachiniva.





## BIBLIOGRAFÍA

- Agamez-Ramos, E., Barrera-Violeth, L., Oviedo-Zumaque. 2009. Evaluation of antagonism and multiplication the *Trichoderma* sp. in the middle static liquid Banana substrate, Acta biological. Colombiana. 14(3):61-70.
- Agrios, GN. 2005: Plant Pathology. El sevier Academic Amsterdam. 922p.
- Agrocabildo, 2010. Palgas y enfermedades del Manzano en Tenerife, 20 p.
- Alden, A. Sene, H. 2007. Chapter; Diseases apples and pears, University of California Statewide Integrated Pest Management Project Division of Agriculture and Natural Resources Publication. pp.148-210.
- Albarracin-Sanabria, N. 2010. Control de Enfermedades, Universidad Central de Venezuela a Facultad de Agronomía Dpto. de Botánica Agrícola catedra de Fitopatología Protección Vegetal III. pp. 66-83.
- Alexopoulos J.C., Mims C.W. Blackwell M. 1996. Introductory Micology. John Wiley and Sons. New York. 868 p.
- Araújo, J.M., y Azevedo, J.L. 1998. Estratégias para isolamento seletivo de actinomicetos. In: Melo, I. S; (Ed.). Ecología microbiana. Jaguariúna: EMBRAPA CNPMA, pp. 351-367.
- Atlas, R. M. y Bartha, R. 2008. Ecología Microbiana y Microbiología ambiental, Madrid, pp. 123-125.
- Barona, F.2007.Actinomicetes, Bacterias patógenas y productoras de antibióticos. México D.F. 50 –51 p.
- Ben-Omar, N; Merroun; M.L M; Arias Penalver, J.M. y González, M.M.T. 1997. Comparative heavy metal biosorption Study of Brewery yeast and *Myxococcus xanthus* Biomass. Chemosphere. pp. 2217-2283.
- Benhamoun, Chet I. 1993. Hyphal Interactions between *Trichoderma harzianum* y *Rhizoctonia solani*: Ultraestructure and Gold cytochemistry of the mycoparasitic process. Phytopathology. 83: 1062-1071.
- Booth, C., 1971. The genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England. 347 p.

- Breed S.R., Murray E.G.D., Smith N.R. 1957. Bergey's Manual of systematic Bacteriology which contains a number of identifying bacteria (seventh, edition), The Williams and Wikins company Co. Baltimore. 2: 707-796.
- Brock, T; Smith, D; Madigan, M. 1987. Microbiología Prentice-Hall, Hispanoamérica S.A. pp. 805-813.
- Butler, J.S., M. Springer, J. Dondon, M. Graffe, y M. Grunberg-Manago 1986. *Escherichia coli* protein synthesis initiation factor IF3 controls its own gene expression at the translational level *in vivo*. J.Mol.Biol. 192:767-780
- Butler. W.R. y J. O. Kilburn. 1988. Identification of major slowly growing pathogenic mycobacteria and *Mycobacterium gordonae* By high-performance liquid chromatography. J. Clin. Microbiol. 26:50-53.
- Butler, W., K. Jost, y J. Kilburn. 1991. Identification of *Mycobacterium* by High Performance Liquid Chromatography. J. Clin Microbiol. 29: 2468-2472.
- Butler, W., Thibert, L., y Kilburn, J. O. 1992. Identification of *Mycobacterium avium* complex strains and some similar species by High Performance Liquid Chromatography J. Clin. Microbial. 30: 2698-2704.
- Caicedo-Parra, R.P. 2012. Producción de compuestos bioactivos de actinomicetos aislados de la rizosfera y rizoplano del trebol blanco (*Trifolium Repens L.*). Para el control de hongos Fitopatógenos, bacterias y levaduras”, Universidad Técnica de Ambato, Facultad de Ciencias y Alimentos, Ecuador. pp. 72-82.
- Camacho-Ramírez, N. Gil-Gómez, J.A. 2008. Evaluación preliminar de modelos de infección cruzada por *Fusarium* sp., aislados de procesos patológicos en plantas, animales y humanos. Trabajo de grado para Microbiólogo Agrícola, Veterinario y Microbiólogo Industrial, Pontifica Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias, Bogotá. 19-21 p.
- Castro F. J. Rodríguez, A. E. 1970. Pruebas Preliminares para el Combate de la pudrición Texana del Durazno en el Bajío, Circular CIAB No. 34, Noviembre. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (SAG). 664 p.
- Castillo-Fabela, E., Gallegos-Morales, G., Hernández-Castillo, F.D., Cepeda-Siller, M., y Zamora-Villa, V.M. 2001. Efectividad de actinomicetos aislados de la

- rizosfera de papa sobre *Rhizoctonia Solani* Kuhn *In Vitro*. Revista Mexicana de Fitopatología, 19: 203-207.
- Castro-F.J., y Rodríguez, A. E., 2009. Pruebas Preliminares para el Combate de la Pudrición texana del durazno en el Bajío, Circular CIAB N.34, Noviembre de 1970. Carrer-Filho, R., Romeiro, S., Amaral, L., García, F., Potencialidad de un actinomiceto de rizosfera de tomateiro como agente biocontrol de doenças, FAO. Horticultura Brasileira 27: 340-344 p.
- Castro, F. y Rodriguez, V. 1970. Preliminary tests on the control of Texas rot of peach in Bajío. Circular del Centro Investigación. Agrícola. El Bajío (*CIAB*). (34). 1-11
- Chárter, K.F. 1984. Morphological and Physiological Differentiation in *Streptomyces*. In *Microbial Development*, Losick, R. and Shapiro, L. New York: Lold Spring Harbor Laboratory. Pp.89-115.
- Charter, K.F. 1989. Multilevel regulation of *Streptomyces* differentiation. *Trends in Genetics* 5: 372-377.
- Charter, K. F. 1989. Sporulation In *Streptomyces*. In *Regulation of procaryotic development*. Smith, L. Slepecky, R. and Setlow, P. Am. Soc. For Microbiology. Pp.61-64.
- Compant, S., Duffy, B., Nowak, J., Clement, C., Barka. E. 2005. Use of Plant Growth-promoting Bacteria for Biocontrol of plant Diseases: Principles, Mechanisms of action, and future Prospects. *Applied and Environmental Microbiology*. 71:4951-4959.
- Coque, M.; Díaz, M. B.; García, J. C. 1996. El cultivo del manzano en Asturias. Centro de Investigación Aplicada y Tecnología Agroalimentaria. Principado de Asturias. Consejería de Agricultura. Oviedo. 223 p.
- Corbaz R., Gregory P.H. and Lacey M.E. 1963. Thermophilic and mesophilic actinomyces in loudly hay. *J. Gen. Microbiol.* 32:449-455.
- Crawford. D., Lynch, J., Whipps, J., Ousley, M. 1993. Isolation and Characterization of actinomycete Antagonists of a Fungal al Root Pathogente Appalied and Enviromental Microbiology. 59: 3899-3905.

- Cross, T. 1989. Growth and examination of actinomycetes: some Guidelines Bergey's manual of systematic bacteriology. Baltimore: Willians & Wilkins. Pp. 2340-2343.
- Dávila, R. L. 2013. Identificación y Diagnostico de actinomicetales patógenos, Universidad de los Andes, pp.19-28 y 40-85.
- Domínguez-Castellanos, M. 2011. Evaluación *In Vitro* de extractos biológicos con actividad antagónica contra bacterias Fitopatogenas, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, pp.31-56.
- Dominguez-Mariscal, M. 2008. Estudio de la variabilidad de morfología en el banco Nacional de Germoplasma de Manzano, Escuela Universitaria Politecnica, La Almunia de Doña Godina, Zaragoza, pp.80-90.
- Elad y Katan J. 1980. *Trichoderma harzianum*. A biocontrol agent effective against *Sclerotium rolfsii* and *Rhizoctonia solani*. Phytopatology 70: 418-422.
- Evangelista-Martinez, Z. 2013. Preliminary Study on some Actinomycetes and Evaluation of their Potential Antagonism against Fungal Pathogens, British Microbiology Research Journal. 4(3): 272-281.
- Gahel, V. Singh, A, Vimal, M. Ashwini, P. y Chnatpar. H. S. 2006. Bioprospecting and antifungal potential of Chitinolytic microorganism. African Journal of Biotechnology. 5:54-72 p.
- Gianni, C., Cerri, A., y Crosti, C. 1997. Inusual clinical features of fingernail infection by *Fusarium oxysporum*. Mycoses, 40(11-12); 455-459.
- García-Serrano, F., Torrent-Bravo, J.A. 2011. Cultivo de uso recreativo adoptado a colectivos con discapacidad, Gandía. Pp.169-189.
- Garza-González. E., Guerrero, M., Olazarán, R., Menchaca, T. y Viader J.M., 1997. Determinación of Drug Susceptibility of Mycobacterium tuberculosis thorough Mycolic Acid Analysis. J. Clin Microbiol. 35: 1287-1289.
- Gohel, V., A. Singh, M. Vimal, P. Ashwini y H.S. Chhatpar. 2006. Bioprospecting and antifungal potential of chitinolytic microorganisms. African Journal of Biotechnology 5(2): 54-72.

- González-Chamarro, M.F. 2002. "Análisis molecular de una nueva poliquetido sintetasa en *Streptomyces antibioticus*", Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Farmacia.
- González-Franco, A.C., Robles-Hernández, L. 2009. Actinomycetes as Biological. 68 p.
- González, A.C., L. Robles. 2009. Actinomycetes as biological control agents of phytopathogenic Fungi. Pp. 64-71.
- Goodfellow, M., y Williams, S. 1983. Ecology of actinomycetes, Reviews Microbiology, 37: 189-126.
- Goodfellow M. 1989. Suprageneric classification of Actinomycetes. In Bergey' s Manual of Systematic Bacteriology. Williams & Wilkins Company, Baltimore. 4. pp. 2333-2339.
- Goudjal, Y., Toumatia, O., Yekkour, A., Sabaou, N. Mathieu, F., Zitouni, A. 2014. Biocontrol of *Rhizoctonia solani* damping-off and promotion of tomato plant growth by endophytic actinomycetes isolated from native plants of Algerian Sahara, Microbiological Research. 59-65 p.
- Gebreyohannes, G., Moges, F. Sahile, S., Raja, N., 2013. Isolation and characterization of potential antibiotic producing actinomycetes from water and sediments of Lake Tana, Ethiopia Asian Pac. J. Trop Biomed, 3(6):426-435 p.
- Grijalva C., R. L. y Robles C., F. 2003. Avances en la producción de hortalizas en invernadero. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias, Centro de Investigaciones Regional del Noroeste, Campo Experimental Caborca. Caborca, Sonora, México. 14-18 p.
- FAO, 2001. Análisis de competitividad, Gobierno del estado de Chihuahua, 22 p. [www.fao.org/statistics/es/](http://www.fao.org/statistics/es/).
- Farfán-Ayala, D. M., Gutiérrez-Triviño, C. 2009. Determinación de la actividad quitinolítica de cepas nativas de actinomicetos y su efecto antagónico sobre microorganismos Fitopatógenos, 37-53 p.
- Franco-Correa, M. 2009. Utilización de los actinomicetos en proceso de biofertilización, Facultad de Ciencias Biológicas UNMSM. Revista. Perú biological. 6(12): 239-242p.

- Fischer, I.H., Kimati, H. Martins, C. M. 2003. Isolamento caracterizacao cultural-morfológica, Patogenicidade e Serologia de *Streptomyces* spp. Da Batata Fitopatologia Brasileira. 28: 650-655.
- Fonseca-Ardila, Y. A., Castellanos-Suárez, D. E., Leon-Sicard, T.E. 2011. Efecto antagónico *In Vitro* de actinomicetos aislados de Purines de Chipaca (*Bidens pilosa* L.) Frente a *Phytophthora infestans* (Mont) De Bary Rev. Facultad Nacional de Agronomía, 64(2): 6111-6119.
- Jaén-Zambrano, O. 2012. Evaluación de Antagonistas Microbianos de fitopatógenos en el cultivo de melón (*Cucumis melo* L.) Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, saltillo, pp.44-79.
- Jackson, J. E. 2003. Biology of Apples and Pears. Universidad de Cambridge. 488 p.
- Johansson, J.F., Paul, L.R., y Finlay, R.D. 2004. Microbial interactions in the mycorrhizosphere and their significance for sustainable agriculture. FEMS Microbiological Ecological. 48: 1-13.
- Josth, K., Dunbar D. y Barth, S., 1995. Identification of *Mycobacterium tuberculosis* y *M. avium* complex Directly from Smear-Positive Sputum *Specimens* and BACTEC 12 B cultures by Hing Performance Liquid Chromatography with Fluorensence Detection and computer-Driven Pattern Recognition Models. J. Cin Microbiol. 33:1270-1277.
- Harvey, P.J. Cambella, B.F. Castro, P.M.Harms, H. Lichfouse, E. Schaffner, A.R. 2002. Phytoremediation of Polyromatic hodrocarbons, amilines and phenols. Environ. Sci. pilot. Res. 9:29-47.
- Harwker, L. 1964. Elementos de Microbiología General. Editorial Acribia, Zaragoza, 292-297:306-309p.
- Herbert, R., 1982. Procedures for the Isolation, cultivation and Identification of bacteria, experimental ecology. 29-50 p.
- Hidrin, N., 2001; Los *Streptomyces*: Actualización y revisión didáctica. Rev. Soc. Ven. Microbiol. 21(1): 36-38 p.
- Ikeda, S. Tow, N. Ezura, H. Minamisawa, K. y Fujimura, T. 2006. Soil microbial

- Community analysis in the environmental risk assessment of transgenic plants. *Plant Biotechnology*. 23: 137-151.
- Khamna, S. Yokota, A., Peberdy, J. Lumyong, S. 2009. Antifungal activity of *Streptomyces* spp. Isolated from rhizosphere of Thai medicinal plants. *International Journal of Integrative Biology*. 197-200.
- Kondo, S. Yasui, k. Natsume, M. Katayama, M. y S. Maumo, 1988. Isolation, physico-chemical properties and biological activity of panamycen-607, an aerial mycelium Inducing Substance from *S. alboring*. *J. Antibiot*. 41:1196-1204.
- Lahdenperä, M. L. 1987. The control of *Fusarium* wilt on carnation with a *Streptomyces* preparation. *Acta Hort. (ISHS)* 216:85-92 p. [http://www.actahort.org/books/216/216\\_11.htm](http://www.actahort.org/books/216/216_11.htm)
- Lacey, J. 1973. Actinomycetes in soils, composts and fodders in Actinomycetales: Characteristics and Practical Importance, G Sykes, FA Skinner pp 231–251.
- Lechevalier HA 1989. The Actinomycetes III, A Practical Guide to Generic Identification of Actinomycetes. *Bergey' s Manual of Systematic Bacteriology*. Williams & Wilkins Company, Baltimore. Pp. 2344-2347.
- Leiva, P.S. Vañez, M. Zaror, L. Rodriguez, H. y Garcia, H. 2004. Antimicrobial Activity of actnomicetes isolated from aquatic enviroments in sotthern Chile. *Rev. Med. Chile*. 132: 151-159.
- Leveau, J.Y., Bouix, M. 2000. *Microbiologia industrial: los microorganismos de interés industrial*. Acribia, Zaragoza, España. 608 p.
- Lozoya, H.M. y Coyote, R. L. 2006; Antagonismo microbiano contra *Phytophthora Infestans* (Mont) de Bary. *Agrociencia*, 40(4): 491-499 p.
- Maloy, O., Inglis, D. 2000. *Cephalosporium stripe*. Washington State University. Retrieved, pp. 09-21.
- Manna A., R. Banerjee and A.K. Paul. 1999. Acumulation of poly (3 hidroxybutiric acid) by some soil *Streptomyces*. *Curr Microbiol*. 39:153-158 p.
- Márquez, M., Martínez, M.M., Franco, M., 2002. Aislamiento de *Trichoderma* sp. y actinomicetes a apartir de suelos de Clavel (*Dianthus caryphyllus*) y evalueacion de su capacidad antagónica *In Vitro* sobre *Fusarium oxysporum* f. sp. dianthi. *Rev. Agronomía Colombia* 19(1-2): 81-87.

- Maracay, N., 2010. Control de enfermedades, Universidad Central de Venezuela Facultad de Agronomía. 3:100 p.
- Martin. A. 1981. Introducción a la microbiología del suelo. Ciudad de México. pp.158
- Medina, A. Koch, A. y Romero, P. 2014. Selección de actinomicetos aislados de suelos paperos de la provincia de Loja, antagonicos a *Phytophthora Infestans* (Mont.) De Bary y *Rhizoctonia solani* Kühn, Mediante ensayos *In Vitro* y pruebas de Invernadero en *Solanum tuberosum* L., Universidad de las Fuerzas Armadas, pp. 1-5.
- Mondino, P., 2008. Manejo integrado de las principales enfermedades del Durazno, 30 p.
- Moore, E., 1996. Fundamentals of the fungi. Edition. Prentice Hall. New Jersey, USA., 574 p.
- Olivas, E. 2004. Manual de Prácticas de Microbiología I,II y Parasitología, Apartado Estudio Microscópico de la Bacterias (UACJ), pp. 13-15.
- Park, J.O., El-Tarabilys, K.A., Ghinsalberti, E.L., Sivasithamparam, K. 2002. Pathogenesis of *Streptovorticillium albireticuli* on *Caenorhabditis elegans* and its antagonism to soil-blame fungal pathogens. Applied Microbiology. 35:361-365 p.
- Peña-Pérez, K., Pulgarin-Castaño, L.M. 2013. Evaluación "*In Vitro*" del potencial biológico Frente al Control del Fitopatogenos en Banano *Ralstonia Solanaceum*. la Universidad Tecnológica de Pereira 24-130 p.
- Pickup, R.W. y Saunders, J.R. 1990. Detection of genetically engineered traits among bacteria in the environment. Trends in Biotechnology 8:329-335 p.
- Ponomarenko, V.V., 1979. Zametka o *Malus sieverssi* (Ledeb). M. Roem. (Rosaceae). Bot Zhurn. 64: 1047-1050.
- Prescott, L. M. 2002. Microbiology. Editorial McGraw Hill. Boston, USA. pp. 524-528.
- Prosser, J. I. 1994. Kinetics of filamentous growth and barnaching. En "The growing Fungus", pp. 301-318.
- Rheim. H. C. Spróer, F.A. Rainey & E. Stackebrandt. 1999. Molecular biological evidence for the occurrence of uncultured members of the Actinomycete line of descent in different environments and geographical locations. Microbiology. 142:2863-2870



- Rodríguez, L., and Julia, V. 2002. Efecto antagónico y biocontrol de algunos microorganismos saprofiticos contra *Rhizoctinia Solani* un Fitopatogeno causante de (Damping Off) en plantas de tomate. 22-27 p.
- Rosa-Hernández, M.C., Arana-Cuenca, A., Mercado-Flores, Y., Evangelista-Martínez, Z. 2008. Actividad microbiana de actinomicetos aislados de suelo de parque Nacional el Chico en el Estado de Hidalgo, Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería, 213-214 p.
- Salazar-Oliver, H., Castro-Zapata, J. 2007. Enfermedades del manzano (*malus* sp)., Lulo (*solamun quitoense*, Lam.) y Mora (*Rubos Glaucos Benth*) en Caldas, 150-160 p.
- Salazar-Loaiza, A.M., Ordoñez-Guerrero, C.A., Hernandez-Serna, D., Castaño-Pulgarin, L.M., Peña-Perez, K., Rodriguez-Nuñez, J. R., Bueno-Lopez, L., 2014. Actinomycetes Isolated from ground of the botanical garden of Pereira Tchnological University. *Scientia Technica*, 19(2):223-229 p.
- Sahilah, A.M., Tnag, S.Y., Zaimawati, M.N., Rosnah, H., Umi-Kalsum, M.S., 2010. Identification and characterization of actinomycetes for biological control of bacterial wilt of *Ralstonia solanacearum* Isolated from tomato, *J. Trop. Agric.* 38(1):103-114 p.
- Silva-Sousa, C., Fermino-Soares, A. C.,Silva-Garrido, M., 2008. Characterization of rhizosphere actinomycetes with potential to promote plant Growt and Biocontrol, *Centro de Ciencias Agrarias, Amambientais e Biologicas*, 65(1); 50-55 p.
- Sáenz-Peña, R. 2011. *Revista Química viva*, Laboratorio Regional de Patología vegetal, prov. De chaco, Argentina, Gómez, E., inductores Abióticos de resistencias contra fitopatogenos, *química Viva* N.1. 6-17 p.
- Salazar-Loaiza, A.M., Ordoñez-Guerrero, C.A. 2013. Aislamiento e Identificación de actinomicetos fijadores de Nitrógeno en suelo del Jardín Botánico de la Universidad Tecnológica de Pereira, 33-37 p.
- Salazar, R., Guevara, J.M., Berjar V., Godoy, A. 1997. Bacteriemia por *Actinomyces*, *Anuales de la Facultad de Medicina*. 58 p.

- Sánchez, O., 2007. Descripción de variedades tradicionales del banco de Germoplasma Nacional de Manzano, Escuela Universitaria Politécnica la Almunia de Doña Godina, 19-231 p.
- Seifert, K., 2001. *Fusarium* and anamorph generic concepts, 15-28 p.
- Sneh, B., Burpee, L., and Ogoshi, A., 1991. Identification of *Rhizoctonia* sp. APS Press. St Paul, Minnesota, USA. 133 p.
- Samaniego-Gaxiola, J. A., 2008. "Efecto del pH en la Sobrevivencia de Esclerocios de *Phymatotrichopsis omnívora* (Dugg.) Hennebert Expuestos a Tilt y *Trichoderma* sp. Revista mexicana de fitopatología 26.1: 32-39.
- Sastoque-Cala, E.L. 2005. Aislamiento y selección de microorganismos productores de Quitinasas a partir de residuos de concha de camarón con potencial biocontrolador, 123 p.
- Stackebrandt, E., Rainey, F.A. and Ward-Rainey, N.L, 1997. Proposal for a new hierarchic Classification system, Actinobacteria Class, nov. International Journal of systematic, bacteriology.479-491 p.
- Summerell, B.A., Hagle, W.M., 2001. Zearalenone mycotoxino mycoestrogen en *Fusarium* sp. 321-331 p.
- Sylvia. D., Fuhrmann, J., Hartel, P., & Zuberer, D. 1998. Principles and applications of soil microbiology, New Jersey. 306 -309 p.
- Titus, A., Pereira, G. N. 1999-2007. The role of actinomycetes in coffee plantation ecology. (online). <http://www.ineedcoffee.com/05/actinomicetes/print.asp>. acceso 21 de enero de 2008.
- Tokala K., C. Strap, D. Jung, et al. 2002. Novel plant-microbe rhizosphere interaction involving *Streptomyces lydicus* the pea plant (*Pisum sativum*). Applied and Environmental Microbiology. 68:2161–2171p.
- Toussaint, V., Valois, D., Dodier, E., Faucher, C., Dery, R., Brzezinski, L., Ruest, C., 1997. Characterization of actinomycetes antagonistic to *Phytophthora fragariae* var. *rubi*, the causal agent of raspberry root rot. 78(2):43-51 p.
- Uzcategui, M. Serrano, J. A. Boiron, P. Rodríguez, V. Cooble, A., Moniee, D. Sánchez, K. Sandoval, H. Reviakina, V. Mercedes, M. y Mendoza, M. 2009.

Clasificación e Identificación de especies de actinomicetos: un estudio Fenotípico comparativo 29.91-97.

Valdés M., N. Perez, P. Estrada, et al. 2005. Non-Frankia Actinomycetes Isolated from Surface-Sterilized Roots of *Casuarina equisetifolia* Fix Nitrogen. *Applied and Environmental Microbiology*. 71, 1:460-466

Vega-Alonso, A., de los S. 1998. Diferenciación de Actinomicetos mediante el análisis de ácidos Micólicos, Maestría en ciencias con Especialidad en Microbiología médica. 1-14 p.

Williams, S; Wellington, E; 1983. Actinomicetes N: Methods of soil analysis, Part 2, USA 969-970p.









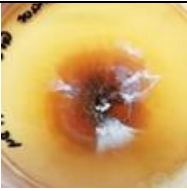


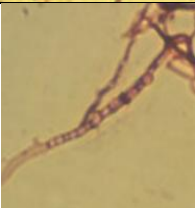
Xiao, K., Kindel, L. L., Samac, D. A., 2002. Biological Control of *Phytophthora* root rots on alfalfa and soybean with *Streptomyces*. *Rev. Biol. Control* 23:285-295 p.


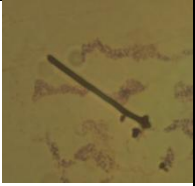

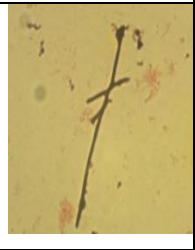








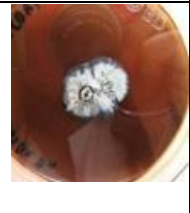

Xue, L., Xue, Q., Chen, Q., Lin, Ch., Shen, G., Zhao, J., 2013. Isolation and evaluation of rhizosphere actinomycetes with potential application for biocontrol of *Verticillium* wilt of cotton, *Crop Protection (ELSEVIER)* 43:231-240pag.


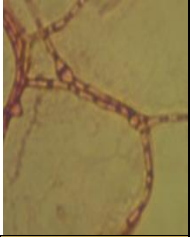







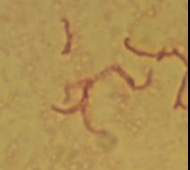




## APÉNDICE


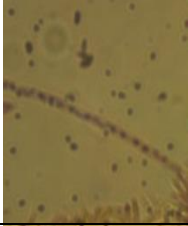

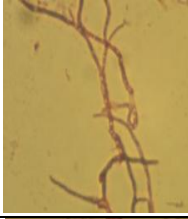



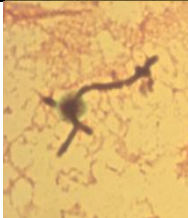




### ANEXO 1:

**Cuadro 19.** Morfología Macro y Microscópica de actinomicetos aislados de huertos de manzano en medio de cultivo artificial semi-selectivo Agar Banett (AB), del Estado de Chihuahua.

"Agar Banett" AB (Mc Clung, 1949)				
Aislados	Características macroscópicas	Características microscópicas		
32	Crecimiento superficial-extendido, coloración inferior café-crema, superior gris-blanco, polvosa, con exudado.		BA	
30	Crecimiento superficial, coloración amarillo, rugosa, seca.		F	
28	Crecimiento superficial, coloración inferior naranja-amarilla, superior blanca, polvosa, semirugoso-seca.		BA	
26	Crecimiento abultado-superficial, coloración inferior café oscuro, superior blanco-gris, medio café, polvosa, con exudado-rugoso.		R	
21	Crecimiento abultado-superficial, coloración naranja-café, poco polvosa, rugosa-seca.		F	
22	Crecimiento abultado-superficial, coloración inferior café, superior gris-morado, halo café, rugosa-seca.		F	

16	Crecimiento abultado-extendido, coloración amarillo huevo, rugosa-gomosa.		R	
13	Crecimiento abultado-superficial, coloración inferior naranja, superior café-crema, medio amarillo, poco polvosa, rugosa-seca.		R	
11	Crecimiento abultado-superficial, coloración inferior amarilla puntos naranjas, superior gris-blanco, polvosa, rugosa-seca-algodonosa.		BA	
5	Crecimiento superficial-dividido, coloración inferior naranja, superior gris-blanca, polvosa, gomosa.		R	
3	Crecimiento superficial extendido coloración inferior verde militar, superior gris-café, poco polvosa, rugoso-seco.		BA	
9	Crecimiento abultado-extendido, coloración inferior morado-negro, superior blanco-morado, halo morado, polvosa, rugosa-seca.		R	
10	Crecimiento superficial, coloración inferior café-oscuro, superior gris-blanco, medio café, polvosa, gomosa-algodonosa.		F	


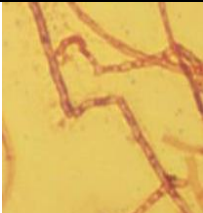
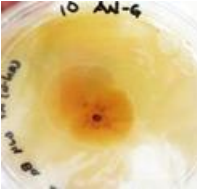


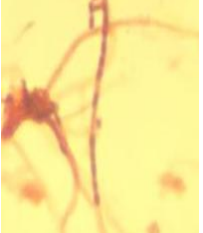


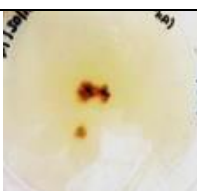

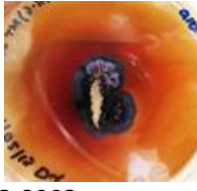

51	Crecimiento abultado, coloración inferior naranja, superior gris-blanco, polvosa, rugosa-seca.		F	
50	Crecimiento semiabultado, coloración inferior verde militar, superior naranja-amarillo, halo gris, rugosa-seca.		R	
49	Crecimiento semiabultado, coloración inferior verde militar, superior naranja-amarillo, halo gris, rugosa-seca.		BA	
48	Crecimiento superficial, coloración blanco, gomosa-seca.		S	
42	Crecimiento superficial, coloración amarillo-crema, rugosa-seca.		BA	
43	Crecimiento abultado-superficial, coloración inferior naranja, superior crema-blanca, polvosa, rugosa con presencia de exudados.		R	
47	Crecimiento abultado, coloración inferior naranja, superior amarillo-blanco, polvosa, rugosa con presencia de exudado.		F	

44	Crecimiento abultado, coloración crema-amarillo, polvosa, rugosa-algodonosa-seca.		R	
39	Crecimiento superficial, coloración inferior naranja-café, superior café, rugosa-seca.		BA	
36	Crecimiento abultado-superficial, coloración inferior café-fiucha, superior gris-morado, medio morado bajito, polvosa, semirugoso-seca.		F	
35	Crecimiento superficial, coloración inferior verde oscuro, superior negro, rugosa-seca.		F	
34	Crecimiento superficial extendido, coloración rojo ladrillo, halo naranja, arenoso-seca.		BA	
33	Crecimiento abultado-superficial, coloración verde-amarilla, rugosa-seca.		R	


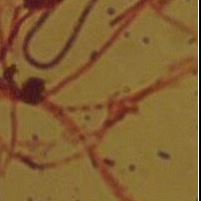







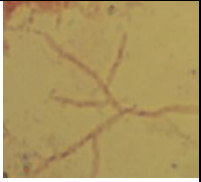






Imágenes microscópicas en dónde; la Recto=R, Flexible=F, Espirales Simpes=S, Espirales extendidos Anchos= (BA).








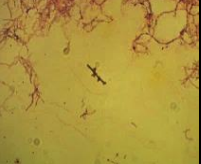
**ANEXO 2:**

**Cuadro 20.** Morfología Macro y Microscópica de actinomicetos aislados de huertos de manzano en medio de cultivo artificial semi-selectivo Agar Nutritivo-Glicerol (ANG), del Estado de Chihuahua.

"Agar Nutritivo Glicerol" AN-G (Mc Clung, 1949)				
Aislados	Características macroscópicas	Características microscópicas		
23	Crecimiento abultado, coloración inferior café, superior gris-naranja, polvoso, rugoso-algodonoso.		F	
10	Crecimiento superficial, coloración rosa-naranja, medio amarilla, seco.		F	
3	Crecimiento abultado, coloración inferior naranja-café, superior gris-blanco, polvoso, rugoso-algodonoso-con exudados.		BA	
4	Crecimiento semiabultado-superficial, coloración inferior café-naranja, superior blanca-gris, medio café, polvosa, rugosa-seca.		F	
5	Crecimiento superficial, coloración naranja, seca-rugosa.		R	
2	Crecimiento abultado, coloración inferior negro-purpura, superior rosa-morado, medio naranja café, halo morado, rugosa-seca.		R	






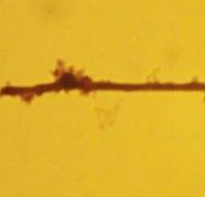

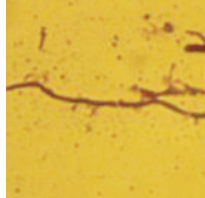



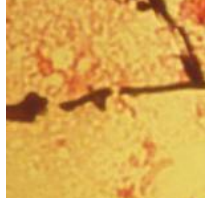
24	Crecimiento superficial, coloración inferior naranja, superior rosa pastel, gomosa.		BA	
9	Crecimiento abultado, coloración café oscuro, medio naranja café, rugosa-seca.		R	
14	Crecimiento abultado-superficial, coloración inferior verde oscuro, superior gris-negro, rugoso-seco.		F	
21	Crecimiento superficial, coloración naranja-café, seca.		S	
7	Crecimiento superficial, coloración café, seca.		F	
29	Crecimiento superficial, coloración amarillo-café, rugosa-seca.		BA	
31	Crecimiento abultado, coloración café-amarilla, seca-rugosa.		R	
33	Crecimiento superficial, tonalidades de blancas-café, poco polvosa, rugosa-seca.		F	


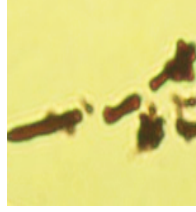

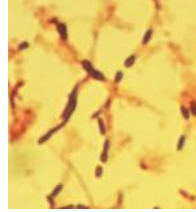

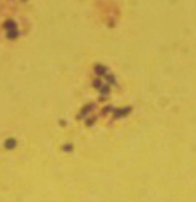
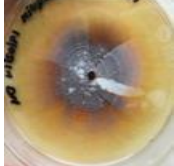
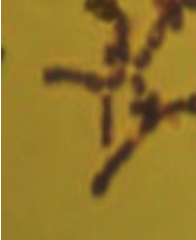

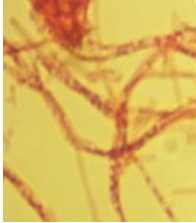

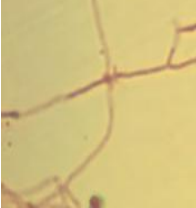
34	Crecimiento poco abultado, coloración blanca-rosada, polvosa, rugosa, con presencia de exudaciones.		R	
37	Crecimiento superficial-abultado, coloración inferior café, superior blanco-gris, polvosa, rugosa-seca.		R	
39	Crecimiento superficial, coloración inferior café, superior blanca-café, medio amarillo, polvosa, rugosa-seca.		R	
28	Crecimiento superficial, coloración crema, seca-poco rugosa.		S	


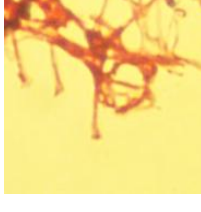

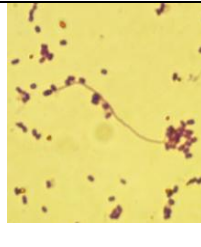
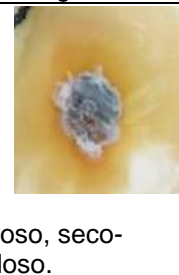
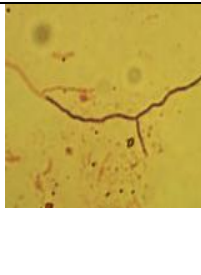
Imágenes microscópicas en dónde; la Recto=R, Flexible=F, Espirales Simples=S, Espirales extendidos Anchos= (BA).

**ANEXO 3.**

**Cuadro 21.** Morfología Macro y Microscópica de actinomicetos aislados de huertos de manzano en medio de cultivo artificial semi-selectivo Czapek Agar Peptona (CPA), del Estado de Chihuahua.

"Czapek Agar Peptona" CPA				
aislados	Características macroscópicas		Características microscópicas	
40	Crecimiento superficial, coloración naranja, rugosa-seca.		S	
33	Crecimiento superficial-algodonoso, coloración inferior amarillo-café, superficial gris-blanco, polvosa, seca.		R	
30	Colonia pequeña-superficial, coloración inferior crema, superior amarillo, seca-rugosa.		F	
20	Crecimiento superficial-expandido, coloración inferior naranja salmón, superior blanca-rosada, polvosa, algodonosa-rugosa.		R	
24	Crecimiento abultado, coloración inferior café, superior gris-café, polvosa, rugosa-seca.		F	


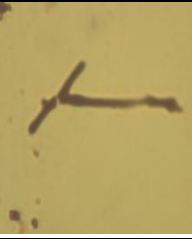


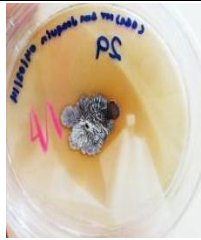







23	Crecimiento superficial, coloración inferior verde seca, superior crema-amarillo, rugosa-seca.		R	
26	Crecimiento superficial-expandido, coloración inferior naranja-crema, superior crema, polvosa, seca-poco algodonosa.		BA	
2	Crecimiento superficial, coloración inferior crema-naranja, superior amarillo, semirugoso-seco.		BA	
1	Crecimiento superficial-expandido, coloración inferior naranja, superior gris-blanco, medio amarillo, polvosa, algodonosa-seca.		S	
11	Crecimiento abultado-expandido, coloración inferior naranja, superior gris-café, polvosa, rugosa-seca.		F	
10	Crecimiento superficial, coloración inferior café-naranja, superior blanca-gris, polvosa, algodonosa-seca.		F	

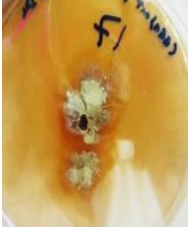
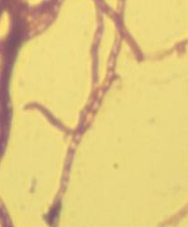

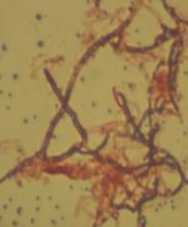









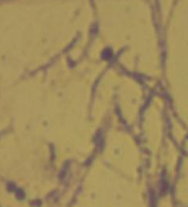
5	Crecimiento superficial, coloración verde militar, poco polvosa, rugoso-seco.		R	
45	Crecimiento superficial-abultado, coloración inferior purpura, superior blanco, medio café, polvosa, seca-rugosa.		S	
50	Crecimiento superficial, coloración inferior amarillo-verde, superior gris-blanco, polvoso, seco-granuloso.		F	








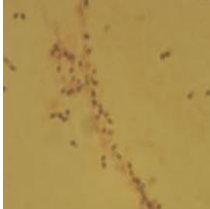
Imágenes microscópicas en dónde; la Recto=R, Flexible=F, Espirales Simples=S, Espirales extendidos Anchos= (BA).

**Anexo 4.**

**Cuadro 22.** Morfología Macro y Microscópica de actinomicetos aislados de huertos de manzano en medio de cultivo artificial semi-selectivo Glicerol Glicina y Agar (GGA), del Estado de Chihuahua.

"Glicerol Glicina y Agar" GGA				
Aislado	Características Macroscópicas		Características Microscópicas	
35	Crecimiento semiabultado-superficial, coloración de verde-crema, rugoso-seco.		F	
34	Crecimiento superficial, coloración inferior de naranja-amarillo-gris, superior de gris-crema, polvosa, seco.		BA	
29	Crecimiento abultado-superficial, coloración inferior café, superior blanca-café, polvosa, rugoso-seco.		F	
26	Crecimiento abultado-superficial, coloración amarillo-café, rugoso-seca.		F	
25	Crecimiento superficial, coloración inferior café-amarillo, superior crema-blanco, medio amarillo, polvosa, seco.		S	
18	Crecimiento abultado, coloración inferior naranja-roja, superior café-naranja, seco.		F	

17	Crecimiento superficial, coloración inferior amarillo-naranja, superior blanco-amarillo, polvosa, seco-semirugoso.		F	
12	Crecimiento superficial, coloración inferior café-crema, superior café-blanco, poco polvosa, seco.		BA	
1	Crecimiento superficial, coloración inferior café, superior blanco-café, polvosa, seco.		R	
62	Crecimiento abultado, coloración inferior rosa-naranja, superior rosa-rojo, seco-rugoso.		F	
61	Crecimiento abultado, coloración inferior gris, superior negro-café, rugoso-seco.		F	
42	Crecimiento abultado, coloración inferior rosa-morado, superior blanco-morado, medio vino, halo naranja, polvosa, rugoso-seco.		F	
45	Crecimiento abultado, coloración inferior crema, superior amarillo-café, rugoso-seco.		BA	


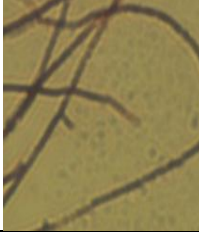
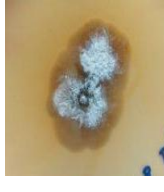




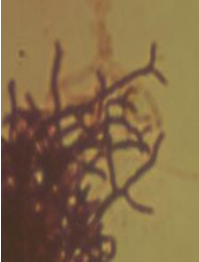

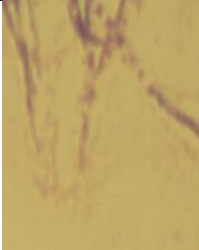
46	Crecimiento superficial, coloración amarilla, gomosa.		R	
48	Crecimiento abultado, coloración blanca-amarilla, rugoso-seco.		BA	
50	Crecimiento lento-superficial, colonia pequeña, coloración crema, seca.		F	
59	Crecimiento pequeño, coloración naranja, rugosa, seco.		S	


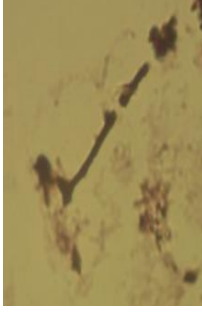
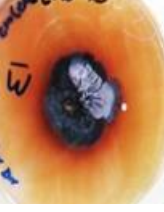







Imágenes microscópicas en dónde; la Recto=R, Flexible=F, Espirales Simples=S, Espirales extendidos Anchos= (BA).








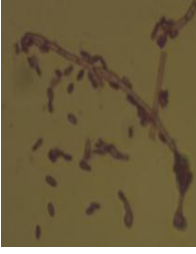

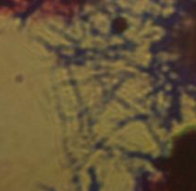




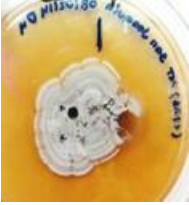
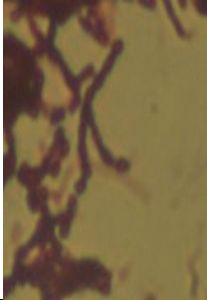

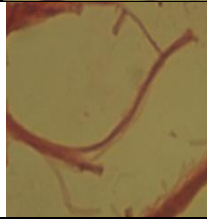


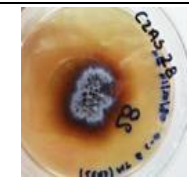
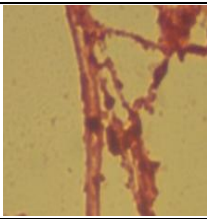


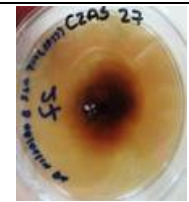

**Anexo 5.**

**Cuadro 23.** Morfología Macro y Microscópica de actinomicetos aislados de huertos de manzano en medio de cultivo artificial semi-selectivo Czapek Agar y Azúcar (CZAS), del Estado de Chihuahua.

"Czapek Agar y Azúcar" CZAS				
Asilados	Características Macroscópicas		Características Microscópicas	
15	Crecimiento superficial, coloración inferior rojo-rosado, superior café bajo, seca.		F	
4	Crecimiento superficial, coloración inferior café, superior café-gris, rugoso.		F	
28	Crecimiento superficial, coloración inferior café claro, superior amarillo, medio amarillo, seco-rugoso.		BA	
19	Crecimiento superficial-abultado, coloración inferior va de negro-café claro, superior café-blanca, poco polvosa, rugoso-seco.		BA	
37	Crecimiento superficial-abultado, coloración inferior naranja-café, superior amarilla-naranja, rugosa-seca.		F	

30	Crecimiento superficial-abultado, coloración inferior puntos cafés, amarillo-crema, superior de crema-café, medio crema-amarillo, poco polvosa, rugosa-arenosa-seca.		R	
12	Crecimiento abultado, coloración inferior café-purpura, superior de purpura-blanco, tinción de medio café claro, polvosa, rugosa-seca.		F	
11	Crecimiento ramificado-abultado, coloración inferior crema-amarillo, superficial crema-café, medio amarillo-cremita, rugosa-con exudados.		F	
20	Crecimiento superficial-abultado, coloración inferior naranja-amarilla, superior crema-naranja, polvosa, rugosa-seca.		F	
7	Crecimiento superficial-al centro abultado, coloración inferior naranja-amarilla, superior blanca-café, poco polvosa al centro, rugosa al centro-seca.		R	





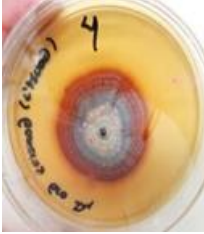
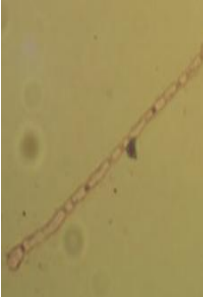




3	Crecimiento superficial, coloración inferior café-verde, superior blanco-café, polvosa, rugosa-granulosa-seca.		S	
18	Crecimiento superficial-abultado, coloración inferior amarillo-naranja, superior blanca-naranja, rugoso-seco.		BA	
17	Crecimiento superficial-abultado, coloración inferior café-purpura, superior café-blanco, medio café, polvosa, rugosa-algodonosa-con presencia de exudados.		F	
16	Crecimiento superficial-ramificado, coloración inferior café oscuro-crema, superior crema-café, rugoso-seca.		BA	
10	Crecimiento abultado, coloración café, rugosa-seca.		F	
14	Crecimiento superficial, coloración amarillo-blanco, gomosa.		F	



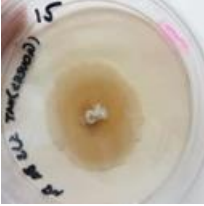

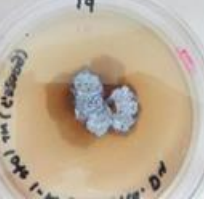






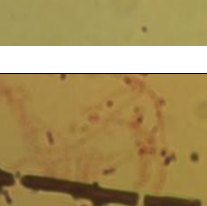

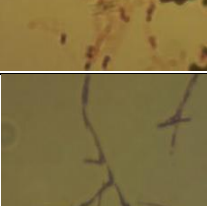
1	Crecimiento superficial-expandido, coloración inferior café-amarilla, superficial blanca-gris, medio verde militar, polvosa, seca.		S	
6	Crecimiento abultado-superficial, coloración verde-crema, rugosa-seca.		F	
13	Crecimiento superficial, coloración de rojo-rosa mexicano, poco polvosa-seca.		R	
27	Crecimiento superficial, coloración café-crema, polvosa, seca-rugosa-granulosa.		BA	
5	Crecimiento abultado-superficial, coloración café-crema, polvosa, seca-rugosa.		F	
26	Crecimiento superficial-poco abultado, coloración inferior anaranjado-amarillo, superior café-crema, rugoso-seco.		F	


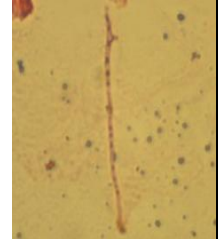


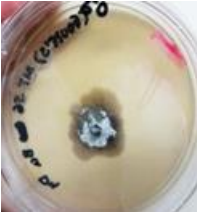


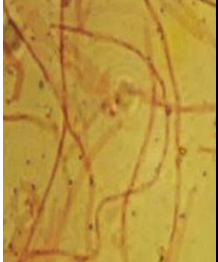






Imágenes microscópicas en dónde; la Recto=R, Flexible=F, Espirales Simples=S, Espirales extendidos Anchos= (BA).




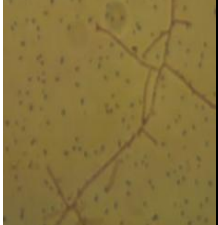
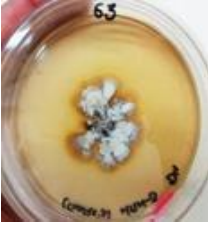
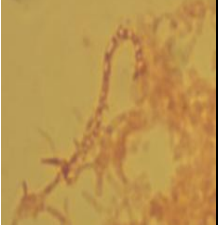

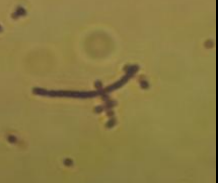





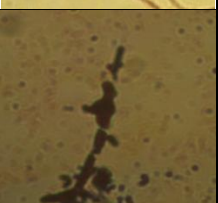
**Anexo 6.**

**Cuadro 24.** Morfología Macro y Microscópica de actinomicetos aislados de huertos de manzano en medio de cultivo artificial semi-selectivo Gauzes No.1 (GAUZES), del Estado de Chihuahua.


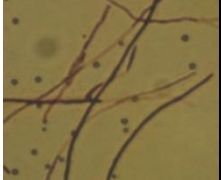












Medio de "GAUZE'S No 1" (Gauze's)		
Aislados	Características macroscópicas	Características microscópicas
1	Crecimiento abultado-extendido, coloración inferior naranja-café, superior amarillo-café, polvosa, rugosa-seca. 	R 
3	Crecimiento superficial, colonia pequeña, coloración inferior gris, superior naranja-gris, medio gris, rugosa-seca. 	R 
4	Crecimiento superficial-radial, coloración inferior café-naranja, superior naranja-morado, medio amarillo, poco polvosa, semialgodonosa-seca. 	R 
11	Crecimiento superficial-alargado, coloración inferior café claro al centro oscuro, superior blanco, rugoso-seco. 	S 
12	Crecimiento superficial expandido, coloración amarillo, gomosa, al centro seca-rugosa. 	S 















14	Crecimiento abultado, colonia pequeña, coloración amarillo-verde, rugoso-seca.		BA	
15	Crecimiento superficial, coloración crema, gomosa-rugosa.		BA	
19	Crecimiento superficial-abultado, coloración inferior café-crema, superior blanca-gris, polvosa, rugosa-seca- poco gomosa.		F	
29	Crecimiento abultado-superficial, coloración inferior naranja-verde, superior naranja-amarillo-café, rugosa-arenosa-seca.		R	
30	Crecimiento abultado-superficial, coloración inferior rosa-morado, superior blanca-café, polvosa, granulosa-rugosa-seca.		R	
40	Crecimiento superficial expandido, coloración crema, polvosa, algodonosa-con presencia de exudados.		R	
44	Crecimiento superficial, coloración inferior gris oscuro, superior gris-naranja, medio grisáceo, rugoso-seco.		F	






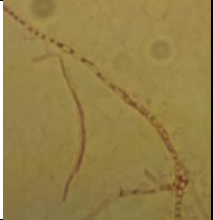





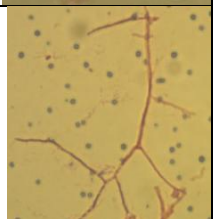

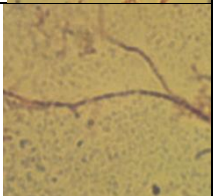
46	Crecimiento abultado, coloración inferior café, superior amarillo-gris en formas radiales, medio café, rugosa-seca.		R	
49	Crecimiento superficial, coloración inferior crema-café, superior crema blanca, polvosa, algodonosa con exudados.		BA	
50	Crecimiento superficial poco abultado, coloración café-blanco, polvosa al centro, rugosa-seca.		S	
51	Crecimiento superficial expandido, coloración inferior naranja, superior blanco, polvosa, algodonosa-rugosa-seca.		F	
55	Crecimiento superficial circular, coloración inferior crema, superior crema-amarillo, seca-poco rugosa.		R	
56	Crecimiento por colonias pequeñas, coloración crema, seca-semirugoso.		F	
58	Crecimiento superficial, coloración inferior negro-naranja, superior escala de gris-naranja, polvosa, algodonosa-seca.		R	


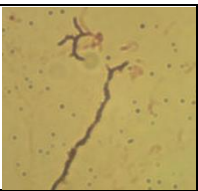
59	Crecimiento abultado, colonia pequeña, coloración gris, poco polvosa, rugosa-seca.		F	
60	Colonias pequeñas, crecimiento abultado, coloración inferior gris-verde, superior café-blanca, halo café, poco polvosa, rugosa-seca.		R	
63	Crecimiento superficial, coloración inferior amarillo café, superior crema-blanco, polvosa, rugosa-algodonosa con presencia de exudación.		BA	
69	Crecimiento superficial radial, coloración crema, polvosa, seca.		F	
73	Crecimiento abultado-superficial, coloración café oscura-negra, halo café oscuro, rugoso-seco.		R	
74	Crecimiento superficial, coloración amarilla, seca-semirugoso.		F	
76	Crecimiento superficial-poco abultado, coloración crema, poco polvosa, rugosa-seca.		BA	



77	Crecimiento superficial extendido, coloración amarilla y crema, poco polvosa, rugosa-seca.		R	
78	Crecimiento superficial por colonias-semiabultado, coloración inferior crema negro, superior blanca-gris, polvosa, rugosa-algodonosa-seca.		BA	
83	Crecimiento superficial-poco abultado, coloración inferior amarillo, superior blanca, polvosa, algodonosa-seca.		R	
84	Crecimiento superficial, coloración crema, poco polvosa circular, seca-semirugoso.		F	
85	Crecimiento superficial en pequeñas colonias, coloración inferior crema, superior café blanco, polvosa, seca-rugosa.		F	
87	Crecimiento abultado, coloración amarilla en el borde, café al centro, rugosa-seca.		R	
88	Crecimiento superficial-ramificado, coloración crema, medio café bajo, poco polvosa, rugosa-seca.		F	

90	Crecimiento superficial, coloración inferior naranja-verde, superior café-gris, polvosa, algodonosa-seca-arenosa.		BA	
93	Colonia pequeña con crecimiento abultado, coloración inferior amarilla-naranja, superior amarilla, rugosa-seca.		F	
94	Crecimiento superficial, coloración inferior amarillo huevo, superior amarillo-naranja, polvosa, seca-rugosa.		R	
96	Crecimiento abultado en pequeñas colonias, coloración crema-amarillo, rugosa-seca.		F	
99	Crecimiento superficial pequeño, coloración inferior gris, superior blanca, seca-algodonosa.		F	
101	Crecimiento superficial-abultada, coloración inferior crema, superior blanca, seca-arenosa.		BA	
105	Crecimiento superficial-abultado, coloración inferior naranja-verde, superior gris-blanca, polvosa, arenosa-rugosa-seca.		F	

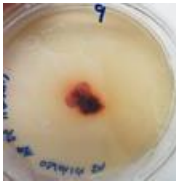






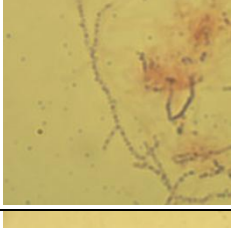




109	Crecimiento abultado pequeño, coloración inferior naranja, superior amarillo-blanco, poco polvosa, rugosa-seca.		F	
110	Crecimiento superficial-abultado, coloración inferior verde-café, superior blanco, polvosa, rugosa-seca-algodonosa.		F	
121	Crecimiento semiabultado-superficial, coloración amarilla, rugoso-seca.		F	
120	Crecimiento semiabultado, coloración inferior naranja, superior amarillo-blanco, rugoso-seco.		R	
114	Crecimiento superficial-abultado, coloración inferior de rosa-crema, superior rosa-salmón, granuloso-seco.		S	
126	Crecimiento abultado, coloración inferior amarillo-verde, superior blanco, polvosa, arenoso-seco.		R	
123	Crecimiento superficial-abultado, coloración verde-gris, rugoso-seca.		F	


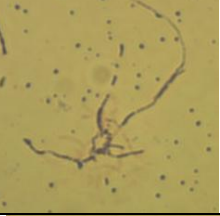

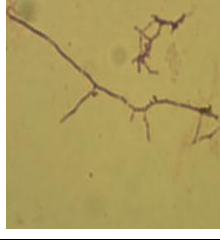

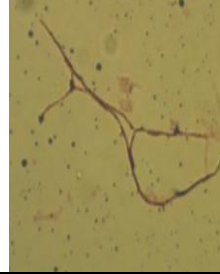



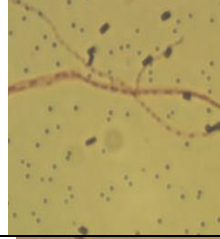




127	Crecimiento superficial, en pequeñas colonias, coloración amarillo-naranja, seco-rugosa.		BA	
-----	--	---	----	---



Imágenes microscópicas en dónde; la Recto=R, Flexible=F, Espirales Simples=S, Espirales extendidos Anchos= (BA).

**Anexo 7.**

**Cuadro 25.** Morfología Macro y Microscópica de actinomicetos aislados de huertos de manzano en medio de cultivo artificial semi-selectivo Ashby (ASHBY), del Estado de Chihuahua.

Medio de "ASHBY" (Ashby)				
Aislamiento	Características Macroscópicas	Características Microscópicas		
9	Colonia pequeña, de crecimiento abultado, coloración inferior naranja salmón y superior rojo, con halo naranja, seco rugoso.		R	
10	División en colonias pequeñas, coloración inferior de crema-amarillo y superior de blanco-gris, algodonoso-rugoso-seco.		R	
11	Crecimiento superficial-poco abultado, coloración inferior crema y superior de crema-blanco, semirugoso-seco.		F	
18	Crecimiento poco abultado, coloración inferior crema y superior café crema-blanco, poco polvosa, rugosa-mielosa.		BA	
21	Crecimiento abultado, coloración inferior de rojo-naranja, superior de rosa-rojo, halo naranja, seca-rugosa.		BA	
23	Crecimiento abultado, coloración inferior de rojo-naranja, superior rojo, halo naranja, seco-rugoso.		F	


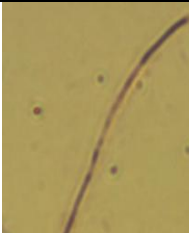










37	Crecimiento superficial, coloración inferior café, superior de crema-gris, halo de café-rosa, semirugoso-seco.		F	
40	Crecimiento abultado, coloración inferior de crema-naranja, superior de crema-blanco, polvosa, rugoso-granuloso-seco.		F	
41	Crecimiento superficial-semiabultado, coloración inferior café-amarillo, superior amarillo-crema, poco polvosa, rugosa-arenosa, seca.		BA	
46	Crecimiento superficial, coloración inferior amarillo-blanco, superior gris-blanco, polvosa, algodonosa-seca.		S	
45	Colonia pequeña, crecimiento superficial, coloración inferior crema, superior crema-gris, polvosa, seca.		F	
44	Crecimiento superficial, coloración inferior verde-amarillo, superior blanca-gris, halo amarillo, seco-poco rugoso.		F	
49	Crecimiento superficial, coloración inferior amarillo-crema, superior amarillo-crema, rugoso-seco.		R	

52	Crecimiento superficial-poco abultado, coloración inferior naranja, superior blanca, medio amarillo claro, polvosa, rugoso-seco.		<p data-bbox="1092 281 1114 308">F</p> 
----	--	---	--




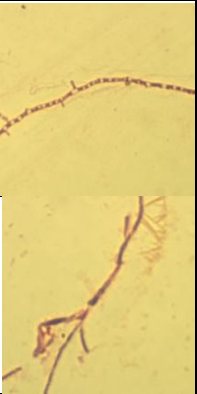
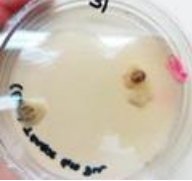

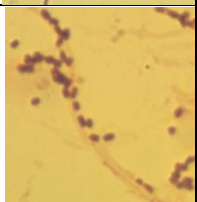

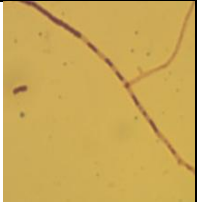


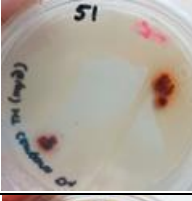


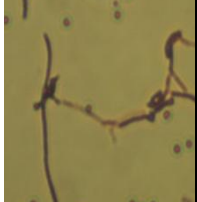
Imágenes microscópicas en dónde; la Recto=R, Flexible=F, Espirales Simples=S, Espirales extendidos Anchos= (BA).




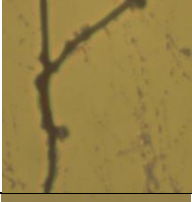



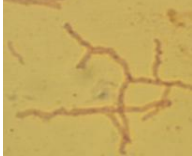
**Anexo 8.**

**Cuadro 26.** Morfología Macro y Microscópica de actinomicetos aislados de huertos de manzano en medio de cultivo artificial semi-selectivo GYM *Streptomyces* Agar (GYM), del Estado de Chihuahua.

"GYM <i>Streptomyces</i> Agar" GYM		
Aislado	Características macroscópicas	Características microscópicas
54	Crecimiento superficial-poco abultado, coloración inferior verde soldado, superior blanco-crema, medio amarillo, polvosa, arenosa-rugosa-seca. 	F 
5	Crecimiento superficial-poco abultado, coloración inferior verde, superior crema-amarillo, gomosa-seca. 	BA 
19	Crecimiento superficial, coloración amarillo-crema, poco polvosa, granulosa-seca. 	R 
12	Crecimiento superficial-ramificado, coloración crema, gomosa-seca. 	F 
11	Crecimiento superficial, colonia pequeña, coloración inferior crema, superior café blanco, poco polvosa, seca. 	F 
21	Crecimiento superficial-abultado, coloración inferior naranja con punto café, superior amarillo-blanco, poco polvosa, arenosa-rugosa-seca. 	BA 









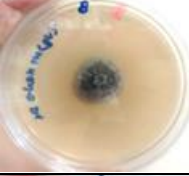
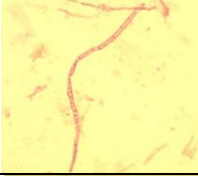


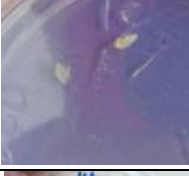


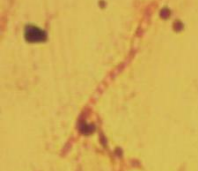
35	Crecimiento superficial, coloración inferior café, superior amarilla, medio gris, rugosa-seca.		F	
36	Crecimiento superficial-abultado, coloración amarillo-crema, poco polvosa, rugosa-seca-poco algodonosa.		F	
31	Crecimiento superficial, coloración inferior crema, superior amarillo, poco rugosa-seca.		F	
6	Crecimiento superficial, coloración crema, polvosa, seca.		BA	
94	Crecimiento superficial, coloración inferior con radiales gris, naranja, crema, superior gris-crema, polvosa, seca-granulosa.		R	
96	Crecimiento abultado, coloración inferior naranja, superior rojo, medio naranja, seca rugosa.		F	
51	Crecimiento abultado, coloración inferior naranja-roja, superior roja, medio naranja, seca rugosa.		F	
60	Crecimiento superficial-abultado, coloración inferior café, superior purpura-blanco, medio café, poco polvosa, rugosa-seca.		F	





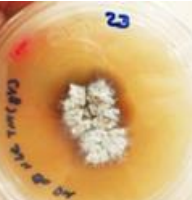


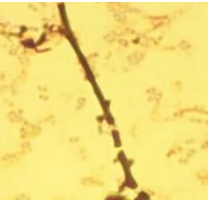






63	Crecimiento superficial, coloración crema-verde militar, medio gris opaco, semirugoso-seca.		F	
61	Crecimiento superficial, coloración amarilla, seco-semirugoso.		F	
68	Crecimiento abultado, coloración café, seca-rugosa.		BA	
80	Crecimiento superficial, coloración crema-gris, polvosa, seca-rugosa al centro.		BA	

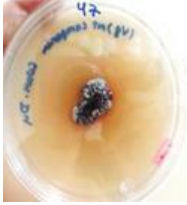
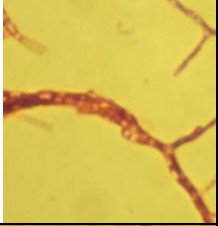

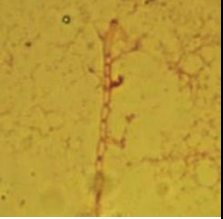





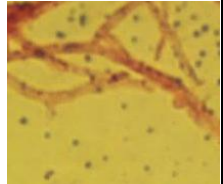




Imágenes microscópicas en dónde; la Recto=R, Flexible=F, Espirales Simples=S, Espirales extendidos Anchos= (BA).





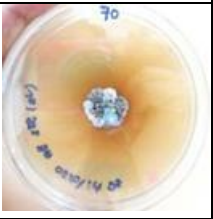
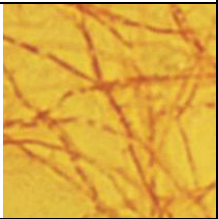




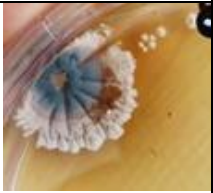
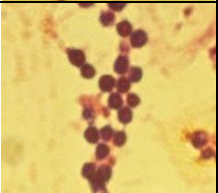

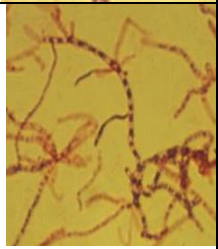
**Anexo 9.**




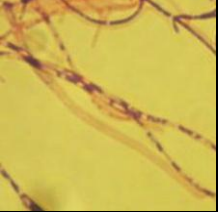

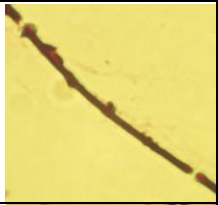
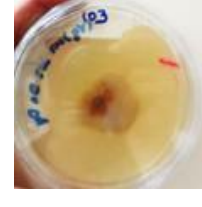
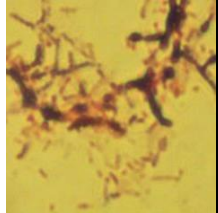

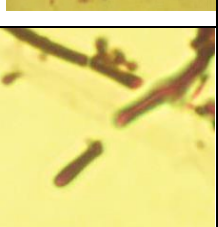
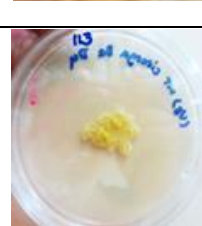


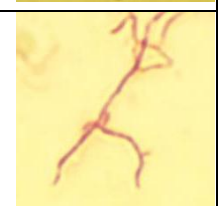
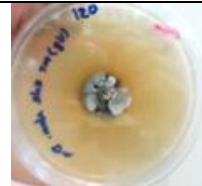

**Cuadro 27.** Morfología Macro y Microscópica de actinomicetos aislados de huertos de manzano en medio de cultivo artificial semi-selectivo Agar Jugo De Vegetales (V8), del Estado de Chihuahua.






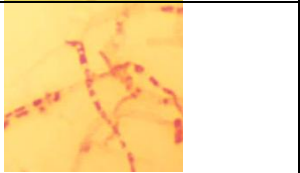
Agar jugo de vegetales "medio V8" (Corbaz, Gregory y Lacay, 1963)				
Aislado	Características Macroscópicas		Características Microscópicas	
2	Colonias pequeña superficial, coloración tanto inferior como superior crema, semi-rugosa-seca.		BA	
4	Colonia pequeña abultada, coloración inferior naranja fuerte-superior rosa-rojiza, rugosa seca.		F	
9	Superficial, coloración inferior crema- superior crema-café, seca.		F	
8	Crecimiento superficial radial, con coloración inferior de gris-verde seco-superior gris-crema, rugoso-seco.		F	
6	Crecimiento superficial, coloración crema tanto inferior como superior, poco rugosa-seca.		F	
11	Crecimiento superficial, colonia pequeña, coloración crema, seca.		F	
14	Crecimiento semiabultado-superficial, coloración tanto de ambos lados de rosa-crema, rugoso-seca.		F	

18	Crecimiento ramificado-superficial, coloración de ambos lados crema, seco-poco rugoso.		BA	
22	Crecimiento superficial-poco abultado al centro, con tinción en medio amarillo seco, con poco polvosa, rugosa-arenosa-mielosa.		R	
23	Crecimiento abultado-superficial, coloración inferior crema naranja-superior blanco-crema, polvosa, algodonosa-granulosa-seca.		BA	
29	Crecimiento ramificado-superficial, coloración crema, seca-poco rugosa.		R	
39	Crecimiento superficial, coloración inferior cafetuchosuperior crema, rugoso-seco.		F	
34	Crecimiento abultado, colonia pequeña, coloración inferior amarilla-superior amarillo-blanco, polvosa, rugosa-arenosa-seca.		R	
42	Colonia pequeña, crecimiento superficial, coloración crema, seca.		F	

47	Crecimiento abultado alargado, coloración inferior café oscuro-superior morado-blanco, halo rosa-lila, polvosa, de rugosa-seca.		F	
50	Crecimiento superficial-grueso, coloración inferior amarillo naranja-superior crema-blanco, halo transparente, polvosa, rugosa-seca.		R	
51	ZCrecimiento abultado gruesa, coloración inferior crema con manchas naranjas-superior blanca, polvosa, poco rugosa-seca.		F	
52	Crecimiento abultado-superficial, coloración inferior rosa-crema, superior lila, poco polvosa, arenosa-rugosa-seca.		F	
56	Crecimiento semiabultado, coloración café-blanca, seca rugosa.		F	
54	Crecimiento abultado-superficial, coloración café moca, rugosa-seca.		F	
48	Crecimiento superficial, coloración verde crema, poco rugosa- seca.		R	

64	Colonias pequeñas con crecimiento abultado-superficial, coloración inferior naranja salmón-superficial rojo-naranja, halo naranja, rugoso-seco.		F	
66	Crecimiento superficial en colonias grandes, coloración inferior verde soldado-superior blanco café, halo café, polvosa, rugoso-seco.		BA	
70	Crecimiento abultado, coloración inferior café oscuro-crema, superior café blanco, polvosa, rugosa-mielosa.		F	
75	Crecimiento superficial alargado, coloración inferior naranja-superficial rojo-naranja, halo naranja, rugoso-seco.		F	
81	Crecimiento superficial, coloración inferior gris-crema, superior gris-blanco, polvosa, algodonosa-mielosa.		BA	
87	Crecimiento superficial, coloración inferior café, superior al centro verde-aro blanco-crema, rugosa-seca.		BA	
100	Crecimiento superficial alargado-semiabultado, coloración inferior café, superior lila-blanco, medio lila, halo café, poco polvosa, rugosa-seca.		F	

107	Crecimiento superficial, coloración inferior naranja-crema, superior crema-naranja, polvosa, Semi-rugosa-seca.		S	
105	Crecimiento superficial-semiabultado, coloración inferior café crema-superior blanco, polvosa, centro rugoso-seca.		F	
104	Crecimiento en pequeñas colonias abultadas, coloración crema, rugoso-seco.		R	
103	Crecimiento superficial, coloración inferior naranja al centro-crema-superior naranja-crema, poco rugoso-seco.		BA	
101	Crecimiento abultado pequeño, coloración inferior rosado-crema, superior rosadito-amarillo, polvosa, rugosa-arenosa-seca.		R	
113	Crecimiento abultado-ramificado superficial, coloración inferior crema-superficial amarilla, rugoso-seca.		R	
115	Crecimiento superficial, coloración crema, seco-poco rugoso.		F	
120	Crecimiento superficial, coloración inferior verde soldado-superficial blanco verde, polvosa, arenosa-rugosa-seca.		F	

125	Crecimiento abultado en pequeñas colonias, coloración inferior amarillo-superior naranja-amarilla, rugoso-seco.		BA	
123	Crecimiento superficial poco abultado, coloración crema, rugoso-seco.		BA	
122	Crecimiento superficial, coloración crema, seca.		F	

Imágenes microscópicas en dónde; la Recto=R, Flexible=F, Espirales Simples=S, Espirales extendidos Anchos= (BA).



## Anexo 10:

**Cuadro 28.** Crecimiento diario del fitopatógeno *Fusarium* sp., al ser confrontados con cada uno de los actinomicetos.

Clave de Actinomiceto	Crecimiento radial diario (mm) día									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
(GGA)-MT-SJ2-D5-(1)	1	3.75	16.5	24.25	25	26	35	35	37	37
(GGA)-MT-TANQUE-GRO-D4-(12)	0.5	4.25	7	9	13	17	17.25	19	25	26.25
(GGA) MT 6 C-P D4 (17)	1	3	6	9.25	11.5	13	16	17.5	19.75	23
(GGA) MT SAN JOAQUIN D4 (18)	0.5	4	15.5	22.5	25	26	30	30	30	31.25
(GGA) MT CAMPANA CUAH. D4 (25)	1.5	5.5	14	19.75	22.5	27	30	30	35	35
(GGA) MT SAN JOAQUIN D4 (26)	0.5	1	2	3	3.5	5	6.5	6.5	6.5	6.75
(GGA) MT CIENEGA D4 (29)	0.5	3	6.25	8	10.5	12.75	14.25	16.5	17.25	19.25
(GGA) MT HRN-3 D4 (34)	1	6	15.25	21.75	24.25	24	33.75	33.75	35.25	36.5
(GGA) MT CIENEGA D4 (35)	0.5	3	7	8.5	10.25	12.5	15	15	15	15
(GGA) M8 HMR D4 (42)	0	3.25	9.25	17	22.75	25.25	27.5	30	35	37
(GGA) MT CAMPO 6 C-P D4 (45)	1.5	1.75	8	16	23	25	26.5	30	35	37
(GGA) MT CAMPO 2-A D4 (48)	1.25	3.5	10.5	17	21.75	24.25	25.25	30	35	37
(GGA) MT CAMPO 2-A D5 (50)	1	1.5	6	11.25	14.25	18	20.5	23	25	27.25
(GGA) MT TANQUE GRO D4 (59)	0	1	10	17	23.75	24.5	30	30	35	37
(GGA) MT SJ2 D5 (61)	0.5	1.75	10	16	19.5	22.5	26.5	30	32.5	37
(GGA) MT HRN-3 D4 (62)	0	1	6.5	15	15.25	17.75	20	20	23	26
(AB) MT 6HMR D4(3)	0.5	3.75	7.5	12	20.5	24.25	26.5	30.75	34.25	35.5
(AB) MT HCM D4(5)	0	1.5	4	6	9.75	12.25	13.5	16	18	20
(AB) MT M8 SJ4 D4(9)	1	9.75	15.5	20	28.25	28.75	30.25	34	36	36
(AB) MT HCM MT D(10)	0	4.5	9.25	12.25	15.25	17.5	18.5	19.75	21.25	22.5
(AB)-MT-SJ4-Ba-D5-(11)	2	6.25	12.25	18	23.75	28.25	31.25	31.5	34.75	35.25
(AB)-MT-cienega-D4-(13)	1.25	6.75	12.25	20	25	27.75	31	31.5	34.5	35.75
(AB)-MT-cienega-D4-(15)	0.5	6.25	14.25	21	25.5	28	28.5	29.5	31.5	32.75
(AB)-MT-HRN-3-D4-(16)	2	6.5	13.5	22	27	30	30	30.5	33	34
(AB)-MT-tanquegro-D4-(21)	1	7.5	12.5	20	23	27	30	33	35	35.75
(AB)-MT-3-CMS-gro-D5-(22)	2	7.5	13.75	20	25	27.5	32.5	35	35.25	35.75

(AB)-MT-HCM-D5-(26)	1	4.5	8.25	12.25	14.25	16.75	21.5	23.25	24	26.25
(AB)-MT-M8-HMR-D4-(28)	0.5	5.75	13.5	20	23.25	24	25.75	31	34.75	36
(AB)-MT-san-joaquin-D4-(30)	0.5	5.25	14	21.5	24.5	25.75	35	35.5	35.75	35.75
(AB)-MT-HRN-2-D4-(32)	0.5	5	12.75	19.5	23	28	28.5	29	30.75	31.25
(AB)-MT-HRN-3-D4-(33)	2	5.5	14.25	21.5	25	28.5	35	35.25	35.5	35.5
(AB)-MT-san-joaquin-D4-(34)	1.25	4.5	11.75	18.5	22	24.25	27	28.75	31.5	33.5
(AB)-MT-HCM-D4-(35)	0	3.25	8.75	13	17	21	24.5	27.25	29.25	31.25
(AB)-MT-SJ2-Ba-D4-(36)	1.75	7.5	16.25	23.5	28	28.75	35	35	35.75	35.75
(AB)-MT-SAN-JOAQUIN-D4-(39)	0	3	9.75	16.75	23.25	27	30	30	34	35
(AB)-MT-SJ4-Ba-D4-(42)	0	3	6.75	13	19.5	25	28	30	30	30.5
(AB)-M2-HMR-D4-(43)	0.5	3.75	9.75	18	23.25	24.25	26	30	35	37
(AB)-MT-1-A-C-P-D4-(44)	0.5	0.5	0.875	4	8	12	15	17	20	21.25
(AB)-MT-CIENEGA-D4-(47)	0.5	2	6	16.5	21	25	29	30	35	35
(AB)-MT-CAMPO-2-A-D4-(48)	0	0	0	0.375	3.25	10	15.5	20.5	26.5	30
(AB)-M8-HMR-D4-(49)	0	0.5	5.25	12.75	18.5	22.25	25.25	27.5	31.25	35
(AB)-MT-SAN-JOAQUIN-D4-(50)	0	0.125	6	13	19.25	20.75	26.25	29	31.25	32.5
(AB)-MT-6-C-P-D4-(51)	0	0	6	12.5	18.25	20.5	24.75	27.75	29.5	35
(CZAS)-MT-SAN-JOAQUIN-D4-(1)	0	2.75	7.75	14.25	18	22.75	25	35	35	35
(CZAS)-MT-CIENEGA-D4-(3)	0.5	5.5	11	17	22	26.5	26.25	30	30	30
(CZAS)-MT-SJ4-BA-D4-(4)	0	3.5	10	12.5	17	25	24.25	30	30	35
(CZAS)-MT-TANQUE-GRO-D5-(5)	0	2.75	7.25	9.75	13	17	19.75	22.25	25.25	25.5
(CZAS)-MT-EL-ENCINO-GRO-D4-(6)	0	5.5	11.5	16.75	19	22.75	27.25	28.5	30	30
(CZAS)-MT-HCM-D4-(7)	0	4.25	11	14.5	18.75	23	24.5	30	30	30
(CZAS)-MT-HRN-3-D4-(10)	0.5	5.25	10	16.25	20	25.25	28.25	35	35	37
(CZAS)-MT-TANQUE-GRO-D4-(11)	0	4.5	7	13.25	19.25	24	25	30	30	35
(CZAS)-M5-HMR-D4-(12)	0	5.5	10	15	22	25	26	30	35	35
(CZAS)-T1-HMR-D4-(13)	0.5	7.5	13	19.25	23	26	26.75	30	35	35
(CZAS)-M10-HMR-D4-(14)	0	4.25	7.5	17.5	20	23.75	25	25.25	25.5	28
(CZAS)-M8-HMR-D4-(15)	2	7.25	14.5	20	25	30	30.25	30.25	35	35
(CZAS)-M7-HMR-D4-(16)	0	2.25	6	8	13.25	17	19.5	25	25	35
(CZAS)-MT-HRN-2-D4-(17)	0.5	5	10	16.75	23.5	24.75	30	37	37	37

(CZAS)-M9-HMR-D6-(18)	0	7.5	14	19.5	27.5	33.25	33.25	35	37	37
(CZAS)-MT-TANQUE-GRO-D5-(19)	0	2.25	7.5	13.25	19	23	27.25	35	35	37
(CZAS)-T2-HMR-D4-(20)	0	7.25	12.5	19.5	27.5	32.5	35	35	37	37
(CZAS)-MT-SJ2-BA-D4-(26)	0	3.25	5.75	8.25	10.5	14	16.5	18	22.5	22.5
(CZAS)-MT-6-C-P-D4-(27)	0	2.75	5.75	8.25	11.5	15	16	19.75	23.5	24.25
(CZAS)-T1-HMR-D4-(28)	0	1.75	7	11.5	18.75	24	30	35	37	37
(CZAS)-MT-CIENEGA-D4-(30)	0	1	3.5	5	8.25	10.25	12	13	16.25	17.25
(CZAS)-MT-CIENEGA-D4-(37)	0.5	5.5	13.75	21.25	25.25	28	30	35	35	37
(CPA)-MT-san-joaquin-D4-(1)	1.5	9.5	17	25	27.5	23.75	35	35	35	37
(CPA)-MT-campana-D5-(2)	1.5	8.5	16.5	23.75	30	31.25	35	35	35	37
(CPA)-MT-san-joaquin-D4-(5)	1.5	9	14.5	20.25	25.75	28	35	35	35	37
(CPA)-MT-el-encino-gro-D4-(10)	1.5	7	14	21	21.5	21.25	23.25	23.25	23.25	23.25
(CPA)-MT-lote-7-cuah.-Pic.-D4-(11)	1.5	11.25	16.5	22	23.25	24.75	24	24.75	24.75	25
(CPA)-MT-campana-C.-D4-(20)	1.5	9	15.75	22	23.75	27.25	32	35	35	36
(CPA)-MT-SJ4-Ba-D4-(23)	0	2.25	5.75	7	7.75	11.5	11.75	13.25	13.75	14.5
(CPA)-MT-HRN-3-D4-(24)	1.5	8	14	19	24	28.25	28.5	35	35	35.5
(CPA)-MT-HMR-Na-D4-(26)	1.5	10.5	18	24	25	24.5	25	26	27	28
(CPA)-MT-HMR-D4-(30)	1.5	9	16.25	23	24.5	25.5	25.5	28	28	28
(CPA)-MT-M9-HMR-D4-(33)	1.5	10.75	14.75	18.25	20.75	23.5	24.25	24.75	24.75	24.75
(CPA)-MT-1-AC-P-D5-(40)	0	6	11	16	25	25.75	35	35	37	37
(CPA)-MT-CAMPO-2-A-D6-(45)	1	2	2.75	4.75	5	7	8.5	8.75	9.5	10.5
(CPA)-T4-HMR-D4-(50)	1.125	7.75	13.75	21.5	25.75	25.75	27.5	30	35	37
(AN-G)-MT-SJ2-Ba-D4-(2)	0	5	13.5	19.5	26.25	30	30	31.25	35	35
(AN-G)-MT-tanque-gro-D4-(3)	0	3	9.25	15	19.5	26	26	35	37	37
(AN-G)-MT-SJ2-Ba-D4-(4)	0	1.75	8	14.5	21	24	26	27.25	27.5	30
(AN-G)-MT-1-A-C-P-D5-(5)	0	2.5	10	17	24	25	27	27.75	30	35
(AN-G)-MT-cienega-D4-(7)	0	2.25	8.75	14.75	21.25	27.75	28.75	29.5	30	35
(AN-G)-MT-san-joaquin-D4-(9)	0	4.5	10.5	17	20.75	25.75	26.5	27.25	30	30
(AN-G)-MT-SJ4-Ba-D4-(10)	0	1	7	13.25	22	26.5	29.25	32.25	33.75	35
(AN-G)-MT-6-C-P-D4-(14)	0	6	14	18.25	23.25	24	25	26	35	35
(AN-G)-MT-HCM-D4-(21)	0	4.5	12	19	23.25	25	25	25	25	25
(AN-G)-MT-el-encino-gro-D4-(23)	0	2.75	10	15.5	20.5	23.75	24.5	33.75	33.75	36.5

(AN-G)-MT-SJ2-Ba-D4-(24)	0	0	1.75	4.25	8.75	14.25	14.25	17.25	20.75	23.5
(ANG)-MT-ELENCINO-GRO-D4-(28)	0	2	8.5	14.25	20.5	22.5	30	30	35	37
(AN-G)-MT-SJ2-Ba-D4-(29)	0	1.25	7.75	11	21.25	22	27.25	28	28.5	30
(AN-G)-MT-GAMEROS-GRO-D6-(31)	0	2.5	8.5	16	21.5	25.25	31	31	35	37
(AN-G)-EL-ENCINO-GRO-D4-(33)	0	0	3.75	9.5	14.25	19.5	21.75	28	30	35
(AN-G)-MT-HRN-3-D4-(34)	0	2	9.25	16.25	20.25	24.5	30	30	30	35
(AN-G)-M3-HMR-D4-(37)	0	0.5	4.75	10.5	17	21.5	25.75	28.75	29.5	30
(AN-G)-MT-SJ2-Ba-D4-(39)	0	0	1	4.5	9.75	13.25	17	23	24.5	25.75
(GOUZES)-MT-SJ3-Ba-D4-(1)	0	0	2	7.25	11.25	15	19	20.25	25.5	25.5
(GOUZES)-MT-SJ3-Ba-D4-(3)	0	6	12.5	18.75	24.25	26.25	27	28.5	31	31
(GOUZES)-MT-GAMEROS-GRO-D4-(4)	0	6.25	13.25	18.75	21.25	22.25	22.25	22.25	35	36.5
(GOUZES)-MT-3-COMPAS-GRO-D4-(11)	0	6.75	11	15.5	18.5	22.25	23.5	25.25	28	28
(GOUZES)-MT-HRN-NAM.-D4-(12)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
(GOUZES)-MT-SJ4-Ba-D4-(14)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
(GOUZES)-MT-SJ3-Ba-D4-(15)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
(GOUZES)-MT-LOTE-1-A-CUAH.-PICH.-D4-(19)	0	1.25	6.5	14	20.25	25	27	27	35	37
(GOUZES)-MT-HRN-NAM.-D4-(24)	0	4.5	11.5	17	22.5	25	25	26.5	35	37
(GOUZES)-MT-HRN-2-D4-(29)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
(GOUZES)-MT-LOTE-6-CUAH.-PICH.-D4-(30)	0	2.75	6	8.5	12	15	18	21.75	25	26.25
(GOUZES)-MT-CAMPO-2-A-CUAH.-D5-(40)	0	4	9.25	13	18	20	24.5	24.5	27.5	28
(GOUZES)-MT-HRN-3-D4-(44)	0	7	12	16	20.25	24.25	26.25	26.25	30	35
(GOUZES)-MT-CIENEGA-Ba-D4-(46)	0	0	6	12.5	18.5	23	27	28	35	36.5
(GOUZES)-MT-SJ2-Ba-D4-(49)	0	4	12	17.25	23	23.75	24.75	24.75	31.25	33.75
(GOUZES)-MT-LOS-56-gro-D4-(50)	0	1.75	7.75	14	19.5	20.5	23	23	31	31
(GOUZES)-MT-3-COMPAS-GRO-D5-(51)	0	0.5	4.75	10.25	15.25	19.75	23.25	27.75	29	29
(GOUZES)-MT-CIENEGA-Ba-D4-(55)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
(GOUZES)-MT-EL-ENCINO-GRO-D4-(56)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
(GOUZES)-MT-HRN-2-D5-(57)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

(GOUZES)-HMR-D5-(58)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
(GOUZES)-MT-CIENEGA-Ba-D4-(59)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
(GOUZES)-MT-CIENEGA-Ba-D4-(60)	0	0.5	2.25	3.5	4.5	5.25	5.25	8.5	9.25	9.5	
(GOUZES)-MT-HRN-3-D4-(63)	0	9.5	16	20.75	21.75	24.25	26	28	28.75	28.75	
(GOUZES)-MT-CAMPO-2-A-CUAH.-D4-(69)	0	5.25	11.5	16	20.25	23.25	25.75	25.75	32.25	32.25	
(GOUZES)-MT-HCM-D5-(73)	0	2.5	9.25	16.5	20	24	27	27	31.25	31.25	
(GOUZES)-MT-LOTE-1-A-CUAH.-PIC.-D4-(74)	0	6.75	14	21.25	24.75	25.75	28.25	28.25	29.75	31.25	
(GOUZES)-MT-SJ4-Ba-D4-(76)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
(GOUZES)-MT-LOTE-6-CUAH.-PIC.-D4-(77)	0	6.25	14.5	21	26.25	26.25	27.25	28.25	37	37	
(GOUZES)-MT-LOTE-6-CUA.-PIC.-D6-(78)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
(GOUZES)-MT-HCM-D5-(83)	0	0.5	2.5	3	3	5	5	7	7	7	
(GOUZES)-MT-HCM-D4-(84)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
(GOUZES)-MT-TANQUE-GRO-D5-(85)	0	6.75	13.25	21	26	27	30	35	35	37	
(GOUZES)-MT-SJ3-Ba-D4-(87)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
(GOUZES)-MT-SJ4-Ba-D5-(88)	0	3	8.5	15.5	21.5	25	28	29.25	33.25	33.25	
(GOUZES)-MT-GAMEROS-GRO-D4-(90)	0	6.75	10.5	12.5	15	15.5	18.25	19	21.25	22.5	
(GOUZES)-MT-CIENEGA-Ba-D4-(93)	0	4.25	14.25	20.25	26.5	30	30	30	35	37	
(GOUZES)-MT-SJ4-Ba-D4-(94)	1	2.75	10.5	16.75	24	25	25	27	35	37	
(GOUZES)-MT-HRN-3-D4-(96)	1.25	7.5	12.75	14.75	16.5	19.5	21.5	23.5	25	25	
(GOUZES)-MT-CAMPO-2-A-CUAH.-D4-(99)	0	2.75	8.75	14	19	23	24	25	30	35	
(GOUZES)-MT-LOTE-7-CUAH.-D4-(101)	0	1.5	5	10	15	17	20	20	30	35	
(GOUZES)-MT-LOTE-1-A-C-P-D4-(105)	0	2	10.5	16	22	23.5	26.25	26.25	28	35	
(GOUZES)-MT-CAMPANA-CUAH.-D5-(109)	1	3.75	11.25	17.5	23	25	28	30	35	37	
(GOUZES)-MT-HCM-D4-(110)	0.125	0.125	0.125	0.125	0.5	1.75	4.25	6	6	7	
(GOUZES)-MT-SJ4-Ba-D5-(114)	1.5	11.5	17.75	18.5	19.5	22.75	24.25	26.5	26.75	27.25	
(GOUZES)-MT-SJ3-Ba-D4-(120)	0.5	6	12	12	12	14.5	16.5	18.25	21.25	21.5	
(GOUZES)-MT-HMR-Nam.-D4-(121)	2	11.5	15.5	15.75	17.5	20.75	24.75	27.5	30	32	
(GOUZES)-MT-SJ3-Ba-D4-(123)	1	4.75	11.5	12.25	15	17	19.5	22.5	27.25	27.25	
(GOUZES)-MT-SJ4-Ba-D4-(126)	0.5	7.25	7.25	10.25	10.25	10.25	10.25	10.75	10.75	11.25	
(GOUZES)-MT-HNR-NAM.-D4-(127)	2	7.75	16.5	16.75	18.5	20	21.7	23.75	27.5	27.75	

							5			
(ASHBY)-MT-SJ-Ba-D4-(9)	1.75	7.5	12.5	17.75	22	25.5	28.7 5	31.5	35	35
(ASHBY)-MT-LOTE-1-A-C-P-D4-(10)	1	3.75	8	12.5	14.75	17	19.2 5	19.25	19.75	21.75
(ASHBY)-MT-HCM-D5-(11)	1.75	9.25	15	22.25	27.25	30	30	30	35	37
(ASHBY)-MT-SJ4-Ba-D5-(18)	0.5	1.5	4	6.75	8	9.25	11.7 5	14	14.25	16
(ASHBY)-MT-HCM-D4-(21)	1.25	7	12	16.5	21.5	23.25	27	30	30	35
(ASHBY)-MT-LOTE-1-A-C-P-D5-(23)	1.5	8.75	13.75	18.5	23.5	25	27	33	34	35
(ASHBY)-MT-SJ4-Ba-D4-(37)	0.5	4	8	11.5	15.25	18.5	21.5	24	27.25	27.75
(ASHBY)-MT-LOTE-1-A-C-P-D5-(40)	0.5	2.25	3.25	4.75	6.25	7.25	9.5	10	11.5	13
(ASHBY)-MT-LOTE-6-CUAH.-D5-(41)	2	5.75	14.75	15	16.5	18.75	22.5	25	30	30
(ASHBY)-MT-HRN-2-D4-(44)	0	1.5	1.5	1.75	3.5	3.5	3.75	4	4	4.5
(ASHBY)-MT-CAMPO-2-A-D4-(45)	2	6.5	17.5	18	21	23.25	24.5	30	35	37
(ASHBY)-MT-LOTE-1-A-C-P-D6-(46)	1.75	8	16.75	18.5	21.5	24	27	30	35	37
(ASHBY)-MT-3-COMPAS-D4-(49)	1.25	10.75	14.25	14.75	16.75	18.25	19.2 5	20.75	20.75	21.5
(ASHBY)-MT-LOS-56-GRO-D4-(52)	1.5	13.5	16.75	16.75	18	21.5	23.7 5	27	30	35
(GYM)-MT-HRN-2-D4-(5)	2	10.5	16	16.75	17.5	20.5	23	24.25	27.5	29
(GYM)-MT-CAMPO-2-A-D4-(6)	1.5	12.5	15	16	17.25	20.25	21.2 5	26.25	31.25	35
(GYM)-MT-CAMPO-2-A-D4-(11)	2	8.75	16	17.5	19.25	21.5	22.5	27	30	35
(GYM)-MT-HCM-D4-(12)	2	6	13.5	11.25	12	13.25	14.7 5	16.75	16.75	17.5
(GYM)-MT-TANQUE-GRO-D4-(19)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
(GYM)-MT-SJ-Ba-D4-(21)	1	4.25	10	10.5	11.25	14.5	16.2 5	19	20	20
(GYM)-MT-TANQUE-GRO-D4-(31)	1.5	6.5	14.25	15.25	18	22	25	28.5	29.5	30
(GYM)-MT-SJ-Ba-D4-(35)	1.5	8.5	15.75	16.75	19	19.25	22.5	27.25	30	35
(GYM)-MT-EL-ENCINO-GRO-D5-(36)	1.75	12	15.5	16	18.5	20.75	24.2 5	25.75	27.75	30
(GYM)-MT-CAMPANA-D4-(51)	2	10.5	18	19.5	22	23.25	27.2 5	28	28.75	29.25
(GYM)-MT-LOS-56-GRO-D4-(54)	1.5	9.75	16.25	17.25	20.25	23	26	27	30	32.75
8GYM)-MT-CAMPO-2-A-D5-(60)	0.5	1	2	4	5.5	6.5	7.25	7.75	8	8.5
(GYM)-MT-CAMPO-2-A-D5-(61)	2	7.5	15.25	17.25	21.5	22.75	26	27	28.25	30
(GYM)-MT-SJ3-Ba-D4-(63)	2	9.5	18.25	20.25	23.25	23.25	23.5	28	35	37
(GYM)-MT-HMR-NAM.-D4-(68)	2	7.5	17.5	19.25	22	23.25	25.7 5	26	29.25	30
(GYM)-MT-LOTE-7-D4-(80)	0.5	0.5	1	2	3.5	3.75	5.25	5.5	5.5	5.75

(GYM)-MT-CAMPANA-D5-(94)	2	8	17.75	18.5	19.5	23.5	24.25	24.25	28.5	30
(GYM)-MT-CIENEGA-Ba-D4-(96)	1.75	11.5	18	18	21	24.75	26.75	29	30.5	33
(V8)-MT-HMR-NAM.-D4-(2)	4	7.5	11.25	15	15.75	17.75	21.25	24.25	24.5	26.25
(V8)-MT-HMR-NAM.-D4-(4)	3	9.5	14.25	21	22.75	25	28.5	29.5	31.5	33
(V8)-MT-HMR-NAM.-D4-(6)	1.5	7.75	11.75	13.5	16.25	17.75	20	23.5	25.5	26
(V8)-MT-HRN-3-D4-(8)	2.75	8	14.75	22.25	25	25	25	30	35	37
(V8)-MT-HRN-3-D4-(9)	2.75	9.75	17.5	22.25	24.25	26	30	30	35	37
(V8)-MT-CAMPO-2-A-CUAH.-D4-(11)	2	7.5	13.5	20	20.25	21.75	25	25	30	35
(V8)-MT-CIENEGA-Ba-D4-(14)	2.25	5.5	9.25	14.75	16.25	17.25	18	21.5	23.75	22.25
(V8)-MT-TANQUE-GRO-D4-(18)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
(V8)-MT-HRN-NAM.-D4-(22)	3	9.25	17	22.75	23.75	24.5	25	26	26.5	27
(V8)-MT-SJ4-Ba-D4-(23)	0.5	3.5	7.75	10.5	12.75	16	20	20	21.75	23.75
(V8)-MT-TANQUE-GRO-D4-(29)	0	0	0	0.375	1.5	1.75	2.25	3.5	3.75	5.5
(V8)-MT-EL-ENCINO-GRO-D4-(34)	1	7.25	13.5	19.25	23.75	30	30	30	35	37
(V8)-MT-EL-ENCINO-GRO-D5-(39)	2.25	8.75	14	20	24	28	30	35	35	37
(V8)-MT-HRN-3-D4-(42)	3	12	17.25	19.5	21.5	23.75	24.25	25.25	25.75	26.5
(V8)-MT-CAMPANA-CUAH.-D4-(47)	2.25	5.25	10.75	16	21	22.75	30	30	30	35
(V8)-MT-SJ4-Ba-D4-(48)	1.75	6.5	9.25	13	17	20	23	24.75	25	29.25
(V8)-MT-LOTE-7-CUAH.-D4-(51)	0	0.875	1.5	2.25	2.5	3.25	4.75	5.5	6	6.5
(V8)-MT-LOTE-6-CUAH.-D4-(52)	1	3.25	6	7.75	11.25	13.5	17	18.5	20.25	22
(V8)-MT-LOTE-6-CUAH.-D4-(54)	0	0.5	1	1	1.75	3	3.25	4.25	5.25	6.25
(V8)-MT-LOTE-6-CUAH.-D4-(55)	3.25	8.25	12.5	18	23	26	28.5	30	35	35
(V8)-MT-CAMPANA-CUAH.-D4-(56)	3.25	8.25	12.5	18	23	26	28.5	30	35	35
(V8)-MT-HMR-NAM.-D4-(64)	1.75	8.75	15.75	23	26	26	30	33	35	37
(V8)-MT-SJ4-Ba-D4-(66)	3	8.75	15.5	19	20.75	25.25	27.5	30	35	37
(V8)-MT-SJ2-BA-D5-(70)	3	9.75	14.5	20	23.75	27.5	30	31	33	35
(V8)-MT-HMR-NAM.-D4-(75)	4.25	10.5	17.75	23.5	26	28.25	31.5	31.5	35	37
(V8)-MT-HCM-D4-(81)	2	4.25	8.75	9.75	13.5	14	16	18.5	19	21.25
(V8)-MT-HRN-3-D4-(87)	3.25	10.25	17.75	25	27	27.75	27.75	30	35	37
(V8)-MT-SJ3-Ba-D4-(100)	1.75	7.25	12.5	16.25	20	20.25	25	30	30	35
(V8)-MT-SJ3-Ba-D4-(101)	1.25	2	3.25	4	4.75	6	8	8.5	8.75	9
(V8)-MT-SJ3-Ba-D4-(103)	3.75	9.5	16	20	23.5	23.5	30	30	30	35
(V8)-MT-SJ3-Ba-D4-(104)	3.75	10	17.5	23.25	24.75	25.5	30	30	30	35

(V8)-MT-HNR-NAM.- D4-(105)	2.75	6.5	12.25	15	18.5	21	22	23	24.5	24.75
(V8)-MT-LOS-56- GRO-D4-(107)	2.75	8.5	13.5	18.75	22	25	26.2 5	30	30	30
(V8)-MT-CIENEGA- Ba-D4-(113)	2.75	8.25	12.75	18.25	19.5	22	24.7 5	25.75	30	32.5
(V8)-MT-CIENEGA- Ba-D4-(115)	2	7	14.25	19.25	20	25	27.2 5	27.75	29.5	35
(V8)-MT-HNR-NAM.- D4-(120)	0	0.5	2	4	4.5	6.25	10	10.5	11.75	13.5
(V8)-MT-SJ4-Ba-D5- (122)	3.75	10	16.75	25	30	30	30	30	35	37
(V8)-MT-HNR-NAM.- D4-(123)	3	8.75	17	21.25	22	22	30	30	35	37
(V8)-MT-HNR-NAM.- D4-(125)	1.75	5.5	9.25	11.5	14	16	18.7 5	21.25	23	24.5