



COLEGIO DE POSTGRADUADOS
INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE FITOSANIDAD

FITOPATOLOGÍA

**BÚSQUEDA DE CONTROL BIOLÓGICO DE *Phytophthora capsici*
EN CHILE MEDIANTE ALTA DIVERSIDAD MICROBIANA,
CONSIDERANDO AL PATOSISTEMA COMO SISTEMA
ADAPTATIVO COMPLEJO**

EDUARDO MOLINA GAYOSSO

T E S I S

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE**

DOCTOR EN CIENCIAS

Montecillo, Texcoco, Edo. de México, 2010


La presente tesis titulada: "Búsqueda de control biológico de *Phytophthora capsici* en Chile mediante alta diversidad microbiana, considerando al patosistema como sistema adaptativo complejo", realizada por el alumno Eduardo Molina Gayosso bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTOR EN CIENCIAS

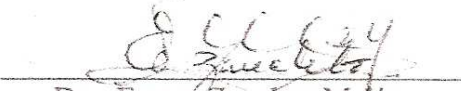
FITOSANIDAD

FITOPATOLOGÍA

Consejero:


Dr. Roberto García Espinosa

Asesor:


Dra. Emma Zavaleta Mejía

Asesor:


Dra. Reynald Rojas Martínez

Asesor:


Dr. Jesús Pérez Moreno

Asesor


Dr. José Guadalupe Valenzuela Ureta

BÚSQUEDA DE CONTROL BIOLÓGICO DE *Phytophthora capsici* EN CHILE
MEDIANTE ALTA DIVERSIDAD MICROBIANA, CONSIDERANDO AL
PATOSISTEMA COMO SISTEMA ADAPTATIVO COMPLEJO

Eduardo Molina Gayosso, Dr.

Colegio de Postgraduados, 2010

Los sistemas adaptativos complejos son abiertos, en el sentido de la termodinámica, y no son lineales, lo que significa que no son frecuentes las relaciones causa-efecto y que sus parámetros comúnmente cambian por lo que son impredecibles, por lo tanto, sus problemas no pueden ser resueltos como si se tratara de sistemas lineales. Sin embargo, es común el análisis lineal en las ciencias de la vida, lo que ha llevado, en el caso del control de enfermedades en las plantas, a controles lineales cuyas consecuencias son, por ejemplo, la anarquía biológica, el uso de resistencia vertical y la protección vegetal a través de químicos. El limitado éxito de las soluciones lineales en el control biológico de las enfermedades con origen en el suelo se debe, principalmente, a que la homeostasis natural del suelo limita el establecimiento del antagonista o limita su función antagónica además de que los microorganismos usados son específicos para ciertos patógenos. Bajo un enfoque no-lineal, es posible superar estos obstáculos mediante el uso de antagonistas en consorcios, ya que se observó que a mayor complejidad de antagonistas las plantas resultaron más sanas y productivas. La primera parte de este trabajo trata sobre el surgimiento del control biológico mediante la complejidad ascendente de antagonistas y su repetibilidad bajo diferentes condiciones iniciales. Se logró establecer y que funcionaran en el suelo antagonistas a *Phytophthora capsici*, arreglados en consorcios de 8 cepas de productores de antibióticos cada uno, integrado por actinomicetos; bacterias y hongos, además de 8 cepas de hongos micoparasíticos; solos y en todas sus posibles combinaciones. Los experimentos se establecieron en dos localidades, donde se introdujo a los consorcios de antagonistas en los sustratos de germinación de chile (*Capsicum annum*). La incorporación de antagonistas a los sustratos de germinación facilita su establecimiento y tiene como propiedad emergente el control biológico de la enfermedad inducida por *P. capsici*, fenómeno que es repetible bajo diferentes condiciones iniciales, además, la complejidad de antagonistas indujo un efecto de promoción de crecimiento en las plantas de chile. En la segunda parte de este

trabajo, se empleó una composición microbiana obtenida de raíces de plantas de chile de tres genotipos: resistente (CM-334), susceptible (var. Joe E. Parker) y jalapeño comercial (Itsco®, susceptible), cultivadas en suelo de chinampa; y de una variedad de chile criollo (traída viva con su cepellón, de Tehuacán, Pue.). También se reintrodujo esta microflora en los sustratos de germinación, con el objetivo de mejorar las posibilidades de su persistencia en el ambiente y, por lo tanto, la estabilidad en la rizósfera reduciendo los daños de *P. capsici*. Los tratamientos con los diferentes grupos de aislamientos obtenidos a partir de una variedad de chile resistente (CM-334), a diferencia de los obtenidos de la variedades susceptibles, son los que presentaron la mayor supervivencia de plantas, una vez reintroducidos en almácigos de una variedad susceptible (Jalapeño Itsco®). El control biológico ejercido por consorcios, aislados específicamente de la rizósfera fue prometedor; el efecto sobre la enfermedad inducida por *P. capsici* fue mayor cuando la variedad de chile, a partir de la cual se obtuvieron los aislamientos de los posibles agentes de control, fue resistente al patógeno o cuando los aislamientos fueron obtenidos de la rizósfera de una planta de material criollo obtenida de Tehuacán, Pue. (posible centro de origen del cultivo). El lugar de origen de los microorganismos usados como agentes de control es importante, lo es también la rizósfera del tipo de planta del cual van a ser aislados, ya que como se demostró aquí, las comunidades microbianas tuvieron diferente efecto en el control biológico de acuerdo a la variedad de chile usada (susceptible o resistente), independientemente de que hayan sido sembradas y cultivadas en el mismo suelo (suelo de chinampa).

Palabras clave: control biológico, *Phytophthora capsici*, teoría de sistemas, CM-334, teoría de la complejidad.

SEARCH FOR BIOLOGICAL CONTROL OF *Phytophthora capsici* IN CHILE
THROUGH HIGH MICROBIAL DIVERSITY, CONSIDERING TO THE
PATHOSYSTEM AS A COMPLEX ADAPTIVE SYSTEM

Eduardo Molina Gayosso, Dr.

Colegio de Postgraduados, 2010

Complex adaptive systems are open, in the sense of thermodynamics, and are not linear, which means that the cause-effect relationships are infrequent and often their parameters change so they are unpredictable, therefore, their problems can not be solved as if they were linear systems. However, linear analysis is common in life sciences, which has led, in the case of control of diseases in plants, to linear controls, such as biological anarchy, the use of vertical resistance and plant protection through chemicals. The limited success of the linear solutions in the biological control of soil-borne diseases is mainly due to natural soil homeostasis that limits the establishment of the antagonist or limits its function; in addition the antagonistic microorganisms used are specific to certain pathogens. Under a non-linear approach, it is possible to overcome these obstacles through the use of antagonists in consortia, as it was observed that the greater complexity of plant antagonists they were more healthy and productive. The first part of this work deals with the rise of biological control by increasing complexity of antagonists and its repeatability under different initial conditions. It was possible to establish and operate in the soil antagonists to *Phytophthora capsici*, arranged in consortia of eight strains of antibiotic producers, each composed of actinomycetes, bacteria and fungi, and 8 strains of mycoparasitic fungi, alone and in all possible combinations. The experiments were established in two locations, where it was introduced antagonistic microorganisms consortia into the chilli pepper germination substrates (*Capsicum annuum*). The addition of antagonists into germination substrates facilitates the chilli pepper establishment and has the emergent property of biological control of the disease induced by *P. capsici*, a phenomenon that is repeatable under different initial conditions; in addition, the complexity of antagonists induced a growth promotion effect on pepper plants. In the second part of this work, it was used a microbial composition obtained from roots of chilli pepper plants of three genotypes: resistant (CM-334), susceptible (var. Joe E. Parker) and commercial jalapeño (Itsco ®, susceptible), all of

them, cultivated in chinampa soil, and a variety of chilli pepper native plant (brought alive with its root ball from Tehuacán, Pue.). Also, the microflora was reintroduced in the substrates for germination, with the aim of improve its environment persistence and, therefore, their stability in the rhizosphere reducing damage by *P.capsici*. Treatments with different groups of isolates obtained from a variety of chile resistant (CM-334), unlike those obtained from the susceptible varieties, are the ones who had the highest survival of plants, once reintroduced in seedbeds of a susceptible variety (Jalapeño Itsco ®). Biological control exercised by consortia, isolated specifically from the rhizosphere was promising; the effect on the disease induced by *P. capsici* was higher when the variety of chilli pepper, from which the possible control agents were obtained, was resistant to the pathogen, or when the isolates were obtained from the rhizosphere of native plant material obtained from Tehuacán, Pue. (possibly, center of origin of this crop). The place of origin of the microorganisms used as biological control agents is important, so is the rhizosphere of the type of plant which will be isolated, since, as demonstrated here, the microbial communities had different effects on biological control according to the variety of chilli pepper used (susceptible or resistant), independently whether they have been sown and cultivated in the same soil (soil chinampa).

Keywords: biological control, *Phytophthora capsici*, systems theory, CM-334, complexity theory.

Al valor y fortaleza de mi hija Sharon, que a su temprana edad tiene la madurez suficiente para saber que tan difícil puede ser la vida...

A la inocencia de mi hijo Ivan, que todos los días me recuerda que tan importante es mantener la curiosidad y alegría por los pequeños detalles...por hacerme divertido al regresar a su edad en el poco tiempo que pasamos juntos...

A mi compañera de la vida...gracias Clau. Por estar siempre ahí, por ser mi socia y mi amiga, mi cómplice y mi conciencia, por contribuir en mi vida a través de muchos pequeños y grandes detalles.

A mi Goya. ¿Puede ser el agradecimiento más grande que el amor? Lo que soy te lo debo a ti mamá. Gracias por enseñarme desde mis primeros pasos lo fácil que puede ser vivir si lo hacemos sin miedo. Por seguirnos cuidando y manteniendo a la familia unida.

A la memoria de gente que se fue durante estos últimos años y con los que no pude compartir este pequeño éxito: con cariño para mi "mama Licha"...te extraño abue. A mi amiga del alma Angelica Ordoñez.

Y a todas aquellas personas que de una u otra forma contribuyeron a que yo haya sido lo que fui y lo que nunca fui, lo que soy y lo que nunca seré.

A la gran aventura que es el vivir...

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo económico brindado durante mis estudios.

Al Consejo Mexiquense de Ciencia y Tecnología (COMECYT) por el apoyo económico que me otorgó en la última parte de la elaboración de éste trabajo.

Al Dr. Roberto García Espinosa por las horas y horas interminables de conversación, por hacerme receptor de su conocimiento y por enseñarme a ser una mejor persona. Por confiar en mí.

A mis asesores: Dra. Emma Zavaleta Mejía, Dra. Reyna Rojas Martínez, Dr. Jesús Pérez Moreno y Dr. José G. Valenzuela Ureta, por contribuir en mi formación profesional.

Al Colegio de Postgraduados por acogerme en sus aulas y laboratorios. Por darme la oportunidad de realizar mis estudios de postgrado.

A la Dra. Pilar Rodríguez Guzmán por darme la oportunidad de desarrollarme como profesional.

A la Dra. Hilda Silva Rojas por introducirme en el fascinante mundo de la biología molecular.

A la Dra. Juliana Bautista Calles y al Dr. Manuel Huerta Lara por estar siempre ahí, al pendiente de mi persona y mis estudios. Gracias mi querida hermana.

A la M. en C. Petra Andrade Hoyos mi gratitud por su colaboración en aspectos profesionales y personales, por su amistad y hermandad, por contribuir con comentarios y sugerencias a este trabajo.

Al Sr. Hugo y al Sr. Juan por apoyarme en trabajos de campo e invernadero en el Colegio de Postgraduados. Gracias por su amistad.

Al Sr. Roberto Romero por su apoyo en laboratorio y por su amistad, gracias “Don Rober”

A mis amigos y amigas: Citlaly, Clarissa , Cindy, Manuel Hernández, Berenice, Cony, Rosario, Betty, Efro, Lupita, Julio, Clemente, Chema, Jorge, Antonio, Dagoberto, Santiago, Benjamín, Marco, Nacho, Lidia, Pilar, Samantha, Armando, Lupita y todos aquéllos que sin querer he omitido.

CONTENIDO

1 INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Los sistemas adaptativos complejos.....	1
1.2 El frecuente fracaso del control biológico y el enfoque de sistemas.....	1
1.3 La complejidad ascendente y la autoorganización del patosistema, un sistema complejo	2
1.4 La capacidad selectiva de la rizósfera sobre los microorganismos edáficos y la resistencia del cultivo	3
1.5 Estado trófico de los fitopatógenos con origen en el suelo	5
2 JUSTIFICACIÓN.....	7
3 OBJETIVOS.....	8
3.1 Objetivo General.....	8
3.2 Objetivos Particulares.....	8
4 HIPÓTESIS	9
5 MARCO TEÓRICO	10
5.1 Fracaso del control biológico	10
5.1.1 Sus razones y la influencia del reduccionismo.....	10
5.1.2 Teoría general de sistemas.....	11
5.1.3 Teoría de la complejidad	13
5.2 El control biológico bajo el enfoque holístico.....	15
5.2.1 Propiedades emergentes y supresividad a enfermedades	16
5.3 Supresividad como base teórica del control biológico	16
5.3.1 Los suelos de chinampa y la supresión a enfermedades.....	17
5.3.2 Centro de origen del chile (<i>Capsicum annuum</i>), fitopatógenos y agentes de control.....	18
5.3.3 Organismos y complejos de organismos antagónicos	19
5.3.4 Estrategia reproductiva de los fitopatógenos con origen en el suelo y el control biológico	20
5.4 Puntos de atracción en la rizósfera y de regulación en el control biológico	22
5.4.1 Selección de la rizósfera de sus organismos asociados	22
6 MATERIALES Y MÉTODOS.....	25
6.1 Control biológico de <i>Phytophthora capsici</i> usando números crecientes de antagonistas aislados de suelo de chinampa.....	25
6.1.1 Microorganismos	25
6.1.2 Sustratos de germinación.....	26
6.1.3 Experimentos de campo	27
6.1.3.1 El Ajengibre, Puebla.....	27
6.1.3.2 Campos experimentales UACH	27
6.1.4 Variables.....	27
6.2 Comunidades de hongos de diferentes procedencias, su establecimiento en la rizósfera y el manejo biológico de <i>P. capsici</i>	29
6.2.1 Cultivo de plantas de chile de tres variedades (comercial, susceptible y resistente a <i>P. capsici</i>) en suelo de chinampa.....	29
6.2.2 Colecta de plantas de chile criollo en el Valle de Tehuacán, Puebla	29

6.2.3 Aislamiento y purificación de microorganismos habitantes de la rizósfera y endófitos	30
6.2.3.1 Endófitos.....	31
6.2.4 Conservación de los aislamientos.....	32
6.2.5 Multiplicación individual en suelo y pruebas de patogenicidad en chile	32
6.2.6 Preparación de mezclas de suelos inoculados, llenado de charolas con los diferentes suelos tratados, siembra y cuidado de plántulas	33
6.2.7 Transplante en campo y cuidado agronómico	33
6.2.7.1 Experimento con los aislamientos obtenidos de raíces de una variedad de chile jalapeño comercial (Itsco®).....	34
6.2.7.2 Experimentos con los aislamientos obtenidos de raíces de una variedad de chile resistente a <i>P. capsici</i> (criollo Morelos CM-334).....	34
6.2.7.3 Experimentos con los aislamientos obtenidos a partir de raíces de una variedad de chile jalapeño susceptible (Var. Joe E. Parker) a <i>P. capsici</i>	35
6.2.7.4 Experimentos con los aislamientos obtenidos a partir de raíces de una variedad de chile criollo colectada en el Valle de Tehuacán, Puebla.....	35
7 RESULTADOS	37
7.1 Control Biológico de <i>Phytophthora capsici</i> usando números crecientes de aislamientos de antagonistas.....	37
7.1.1 El Ajengibre, Puebla.....	37
7.1.2 Campos experimentales UACH	40
7.2 Comunidades de hongos de diferentes procedencias, su establecimiento en la rizósfera y el manejo biológico de <i>P. capsici</i>	44
7.2.1 Aislamientos obtenidos a partir de las raíces de una variedad de chile comercial sembrada en suelo de chinampa.....	44
7.2.1.1 Experimento en invernadero.....	45
7.2.2 Aislamientos obtenidos a partir de las raíces de una variedad de chile resistente (CM-334) sembrada en suelo de chinampa	48
7.2.2.1 Experimento en Xochitepec, Morelos	49
7.2.2.2 Primer experimento en invernadero, CP.....	52
7.2.2.3 Experimento en campo, CP	53
7.2.2.4 Segundo experimento en invernadero, CP	55
7.2.3 Aislamientos obtenidos a partir de las raíces de una variedad de chile susceptible (var. Joe E. Parker) sembrados en suelo de chinampa.....	56
7.2.3.1 Experimento en campo, CP	57
7.2.4 Aislamientos obtenidos a partir de las raíces de una variedad de chile criollo del Valle de Tehuacán, Pue.	61
7.2.4.1 Experimento en campo, CP	62
8 DISCUSIÓN.....	69
8.1 Control Biológico de <i>Phytophthora capsici</i> usando números crecientes de aislamientos de antagonistas.....	69
8.2 Comunidades de hongos de diferentes procedencias, su establecimiento en la rizósfera y el control biológico de <i>P. capsici</i>	73
9 CONCLUSIONES.....	77
10 BIBLIOGRAFÍA.....	78

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Estado reproductivo hipotético de un fitopatógeno con origen en el suelo en relación al ciclo de su hospedante.	5
Figura 2. Zonas de la raíz de las cuales fueron tomadas las muestras para la obtención de microorganismos asociados.	30
Figura 3. Altura promedio de plantas de chile por tratamiento, 98 ddt, en El Ajengibre, Puebla.	38
Figura 4. a) Planta con síntomas de enfermedad en sistema radical; b) Oogonios de <i>Phytium</i> spp. observados en aislamientos puros a los que se indujo su producción.	38
Figura 5. Porcentaje promedio de supervivencia de plantas de chile por tratamiento, 98 ddt, en El Ajengibre, Puebla.	39
Figura 6. Porcentaje promedio de supervivencia de plantas de chile por tratamiento 32 ddt en campos experimentales de la UACH.	40
Figura 7. Frecuencia de supervivencia de plantas de chile en experimentos realizados en El Ajengibre y la UACH.	41
Figura 8. Frecuencia de supervivencia de plantas de chile en experimentos previos realizados por Bautista (2008) en el Colegio de Postgraduados y la UACH en los diferentes tratamientos.	43
Figura 9. Porcentaje promedio de germinación por grupo de microorganismos aislados de la raíz de una variedad de chile comercial (Itasco®) sembrada en suelo de chinampa.	45
Figura 10. Altura promedio por tratamiento de plantas de chile, 75 ddt, en invernadero, con diferentes grupos de microorganismos aislados de la raíz de una variedad de chile comercial (Itasco®) sembrada en suelo de chinampa.	46
Figura 11. Supervivencia promedio de plantas de chile, 75 ddt en invernadero, por tratamiento con diferentes grupos de microorganismos aislados de una variedad de chile comercial (Itasco®) sembrada en suelo de chinampa.	47
Figura 12. Porcentaje promedio de germinación por grupo de microorganismos aislados de la raíz de una variedad de chile resistente a <i>P. capsici</i> (CM-334) sembrada en suelo de chinampa.	49
Figura 13. Biomasa aérea promedio (g) de dos variedades de plantas de chile, 57 ddt, en Xochitepec, Mor., por tratamiento con diferentes grupos de microorganismos (aislamientos provenientes de una variedad de chile resistente a <i>P. capsici</i> , CM-334 sembrada en suelo de chinampa).	51
Figura 14. a) Crecimiento cameliforme de <i>Phytophthora</i> spp. aislado en Xochitepec, Mor., y b) oosporas pleróticas observadas en aislamientos puros a los que se indujo su producción.	51

ÍNDICE DE FIGURAS (continuación)

	Página
Figura 15. Porcentaje promedio de supervivencia de dos variedades de plantas de chile, 57 ddt, en Xochitepec, Mor., por tratamientos con diferentes grupos de microorganismos (aislamientos provenientes de una variedad de chile resistente a <i>P. capsici</i> , CM-334 sembrada en suelo de chinampa).	52
Figura 16. Porcentaje promedio de supervivencia de dos variedades de plantas de chile en invernadero, 66 ddt, por tratamiento con diferentes grupos de microorganismos (aislamientos provenientes de una variedad de chile resistente a <i>P. capsici</i> , CM-334 sembrada en suelo de chinampa).	53
Figura 17. Porcentaje promedio de supervivencia de dos variedades de plantas de chile, en el Colegio de Postgraduados, 72 ddt, por tratamiento con diferentes grupos de microorganismos (aislamientos provenientes de una variedad de chile resistente a <i>P. capsici</i> , CM-334 sembrada en suelo de chinampa).	54
Figura 18. Porcentaje promedio de supervivencia de dos variedades de plantas de chile, en invernadero, 74 ddt, por tratamiento con diferentes grupos de microorganismos (aislamientos provenientes de una variedad de chile resistente a <i>P. capsici</i> , CM-334 sembrada en suelo de chinampa).	55
Figura 19. Porcentaje promedio de germinación por grupo de microorganismos aislados de la raíz de una variedad de chile susceptible a <i>P. capsici</i> (var. Joe E. Parker) sembrada en suelo de chinampa.	57
Figura 20. Porcentaje promedio de supervivencia de dos variedades de plantas de chile, en el Colegio de Postgraduados, 122 ddt, por tratamiento con diferentes grupos de microorganismos (aislamientos provenientes de una variedad de chile susceptible a <i>P. capsici</i> , var. Joe E. Parker sembrada en suelo de chinampa).	58
Figura 21. Biomasa aérea promedio (g) de dos variedades de plantas de chile, en el Colegio de Postgraduados, 122 ddt, por tratamiento con diferentes grupos de microorganismos (aislamientos provenientes de una variedad de chile susceptible a <i>P. capsici</i> , var. Joe E. Parker sembrada en suelo de chinampa).	59
Figura 22. Rendimiento promedio (g) de dos variedades de plantas de chile, en el Colegio de Postgraduados, 122 ddt, por tratamiento con diferentes grupos de microorganismos (aislamientos provenientes de una variedad de chile susceptible a <i>P. capsici</i> , var. Joe E. Parker sembrada en suelo de chinampa).	60
Figura 23. Peso de raíces promedio (g) de dos variedades de plantas de chile, en el Colegio de Postgraduados, 122 ddt, por tratamiento con diferentes grupos de microorganismos (aislamientos provenientes de una variedad de chile susceptible a <i>P. capsici</i> , var. Joe E. Parker sembrada en suelo de chinampa).	60

ÍNDICE DE FIGURAS (continuación)

	Página
Figura 24. Porcentaje promedio de germinación por grupo de microorganismos aislados de la raíz de una variedad de chile criollo del Valle de Tehuacán, Puebla.	62
Figura 25. Porcentaje promedio de supervivencia de dos variedades de plantas de chile, 107 ddt, en el Colegio de Postgraduados, por tratamiento con diferentes grupos de microorganismos (aislamientos de una variedad de chile criollo del Valle de Tehuacán, Puebla).	64
Figura 26. Frecuencia de supervivencia de plantas de chile criollo en experimentos realizados en diferentes localidades y con tratamientos de microorganismos obtenidos a partir de diferentes variedades de chile, sembradas en suelo de chinampa o de Tehuacán, Pue.	66
Figura 27. Frecuencia de supervivencia de plantas de chile jalapeño, en experimentos realizados en diferentes localidades y con tratamientos de microorganismos obtenidos a partir de diferentes variedades de chile, sembradas en suelo de chinampa o de Tehuacán, Pue.	67

ÍNDICE DE CUADROS

	Página
Cuadro 1. Antagonistas usados en los experimentos.	25
Cuadro 2. Composición de microorganismos en cada uno de los tratamientos.	26
Cuadro 3. Altura promedio de las plántulas en los diferentes tratamientos al momento del trasplante.	37
Cuadro 4. Tratamientos con supervivencia mayor al 50% en El Ajengibre y la UACH (ocho de treinta en total), complementados con los de experimentos previos realizados por Bautista (2008) en el Colegio de Postgraduados y la UACH (cuatro de diecinueve en total).	43
Cuadro 5. Número total de aislamientos en cada sección aislados de raíces de una variedad de chile comercial sembrada en suelo de chinampa.	44
Cuadro 6. Porcentaje de germinación en almácigo de una variedad de chile comercial en los diferentes tratamientos.	46
Cuadro 7. Número total y de cada sección de microorganismos aislados de la rizósfera de una variedad de chile resistente a <i>P. capsici</i> (CM-334) sembrada en suelo de chinampa.	48
Cuadro 8. Porcentaje de germinación en almácigo, en dos variedades de chile, en los diferentes tratamientos (aislamientos provenientes de una variedad de chile resistente a <i>P. capsici</i> , CM-334 sembrada en suelo de chinampa).	50
Cuadro 9. Porcentaje de germinación en almácigo del experimento en el CP, en dos variedades de chile, en los diferentes tratamientos de microorganismos (aislamientos provenientes de una variedad de chile resistente a <i>P. capsici</i> , CM-334 sembrada en suelo de chinampa).	54
Cuadro 10. Número total y de cada sección de aislamientos de microorganismos de la rizósfera de una variedad de chile susceptible a <i>P. capsici</i> (var. Joe E. Parker) sembrada en suelo de chinampa.	56
Cuadro 11. Porcentaje de germinación en almácigo para el experimento en el CP, en dos variedades de chile, en los diferentes tratamientos de microorganismos (aislamientos provenientes de una variedad de chile susceptible a <i>P. capsici</i> , var. Joe E. Parker sembrada en suelo de chinampa).	58
Cuadro 12. Número total y de cada sección de microorganismos aislados de la rizósfera de una variedad de chile criollo del Valle de Tehuacán, Puebla.	61
Cuadro 13. Porcentaje de germinación en almácigo para el experimento en el CP, en la variedad de chile jalapeño, en los diferentes tratamientos de microorganismos (aislamientos de una variedad de chile criollo del Valle de Tehuacán, Puebla).	63

ÍNDICE DE CUADROS (continuación)

	Página
Cuadro 14. Porcentaje de germinación en almácigo para el experimento en el CP, en la variedad de chile criollo, en los diferentes tratamientos de microorganismos (aislamientos de una variedad de chile criollo del Valle de Tehuacán, Puebla).	63
Cuadro 15. Observaciones de efectos positivos (+) o negativos (-) encontrados en los extremos de los datos de supervivencia de 13 experimentos, 7 de campo y 6 de invernadero, obtenidos en dos variedades de chile, como resultado de la influencia de aislamientos provenientes de diferentes suelos y obtenidos en variedades susceptible y resistente sembrados en suelo de chinampa y criollo colectado en Tehuacán, Pue.	68

1 INTRODUCCIÓN

1.1 Los sistemas adaptativos complejos

Los sistemas adaptativos complejos son usualmente sistemas abiertos en el sentido de la termodinámica e involucran sistemas complejos no-lineales, lo que significa que los parámetros del sistema comúnmente cambian y, por lo tanto, son impredecibles. No-lineal, también significa que las salidas son mayores a los ingresos y que el todo es mayor que la suma de sus partes. Lo que hace “al todo” ser mayor que sólo la suma de sus partes son los componentes adicionales, que son llamados las propiedades emergentes (Capra, 1999; Robinson, 2002). La autoorganización es también una propiedad de los sistemas complejos y es, en los seres vivos, la fuerza que conduce su adaptación. Hay una obvia razón por la cual no se pueden resolver problemas no-lineales con soluciones lineales: las soluciones lineales no sirven porque los sistemas no-lineales son impredecibles (Briggs y Peat, 1994; Robinson, 2002). Muchos de los problemas en las ciencias agrícolas han resultado del deseo de tratar a las ciencias blandas (todas las ciencias de la vida, incluyendo biología, medicina, economía, psicología y sociología) como si fueran ciencias duras (física, química, astronomía y matemáticas). Esto ha llevado a análisis lineales y por lo tanto a controles lineales cuyas consecuencias son, por ejemplo, la anarquía biológica, el uso de resistencia vertical y la protección vegetal a través de químicos. Los agroecosistemas y los patosistemas vegetales son sistemas no-lineales por lo que deben ser analizados y manejados de acuerdo a su propia naturaleza compleja, permitiendo que dichos sistemas se autoorganicen tanto como sea posible (Capra, 1999; Robinson, 2002).

1.2 El frecuente fracaso del control biológico y el enfoque de sistemas

El éxito del control biológico de las enfermedades con origen en el suelo en cultivos agrícolas ha sido limitado, en virtud de que, regularmente, ha buscado la introducción y establecimiento de sólo un aislamiento de determinada cepa antagónica que, en grandes cantidades, es introducida en el suelo contra una especie de fitopatógeno con origen en el suelo (Papavizas, 1992). Ese limitado éxito se debe, principalmente, a que los microorganismos usados son específicos, sin reconocer que las enfermedades con origen en el suelo son, normalmente, inducidas por varias especies simultáneamente, sobre todo en los casos de las llamadas enfermedades complejas, además de que la homeostasis natural

del suelo limita el establecimiento del antagonista o limita su función antagónica (Gindrat, 1979; Raupach y Kloepper, 1998). Desde los primeros intentos de control biológico de enfermedades de la raíz, el enfoque ha sido totalmente reduccionista, consistente en intentar el control de una sola especie patogénica con una sola especie antagónica. No se puede manejar un sistema de elevada complejidad como es el patosistema edáfico, con base en la introducción masiva de sólo una especie antagónica (Bautista *et al.*, 2008). Adicionalmente, Robinson (2002) señala que la anarquía biológica es la pérdida de control biológico, sin embargo, las técnicas ortodoxas de control biológico son las que inducen precisamente el establecimiento de esa anarquía biológica. Una manera de contrarrestar el limitado éxito del control biológico es mediante el uso de antagonistas en consorcios (Janisiewicz, 1996; Johnson y Stockwell, 1998; Raupach y Kloepper, 1998; Fravel, 2005; García, 2007; Larkin, 2007; Bautista, 2008). García (2007), en trabajos con complejos de antagonistas, observó que a mayor complejidad de antagonistas las plantas resultaron más sanas y productivas frente a la marchitez del jitomate causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici* y a la marchitez del chile causada por *Phytophthora capsici*. De igual manera Bautista (2008) observó que al inocular los sustratos de almácigos con números crecientes de hasta 32 aislamientos y someter a las plántulas a un suelo infestado con *P. capsici* los tratamientos con cualquier combinación de antagonistas presentaron menor incidencia de marchitez en comparación con el testigo, Bautista concluyó entonces, que el éxito de los complejos de antagonistas estuvo determinado por el empleo de los antagonistas en consorcios, y no necesariamente por la cantidad de aislamientos empleados.

1.3 La complejidad ascendente y la autoorganización del patosistema, un sistema complejo

Incrementar la diversidad de antagonistas a fitopatógenos con origen en el suelo, en estos experimentos, está fundamentado en la propiedad de autoorganización de los sistemas de elevada complejidad (Capra, 1999). La supresividad a ciertas especies de patógenos, observada de manera general en los ecosistemas naturales, se debe a la elevada complejidad tanto estructural como de comportamiento de las especies de microorganismos que en ellos interactúan. La ocurrencia de epidemias es una indicación de desbalance del ecosistema, por lo que la supresión a enfermedades puede ser vista como una manifestación de estabilidad del ecosistema (van Bruggen y Semenov, 2000). En los experimentos realizados

por García (2007) y Bautista (2008), con una visión holística, se logró un cambio estructural y, por lo tanto, de comportamiento en el patosistema. El manejo de complejidad ascendente en los sustratos de germinación en almácigos de Chile es una opción viable en el control de la enfermedad causada por *P. capsici*, sin embargo, como corresponde a los sistemas de elevada complejidad, la incertidumbre suele ser parte del comportamiento. En este sentido, y siguiendo este pensamiento sistémico, la primera parte de éste trabajo trata de responder a la pregunta: el fenómeno de control biológico mediante la complejidad ascendente de antagonistas, ¿es repetible, bajo diferentes condiciones iniciales?

Bajo el enfoque de la teoría de sistemas (Capra, 1999) no se puede considerar a los sistemas vivos como entidades separadas, sus propiedades no pueden ser reducidas a las de sus partes más pequeñas, los sistemas vivos son totalidades integradas. Los ecosistemas y los agroecosistemas son sistemas complejos no-lineales en los que los parámetros comúnmente cambian, por lo que son impredecibles. Es esta impredecibilidad la que hace que las actuales soluciones lineales para problemas fitosanitarios de raíces, como por ejemplo la aplicación de biocidas, tengan una eficacia cuestionable. En el caso del control biológico de enfermedades con origen en el suelo lo errático de los resultados, en la práctica, es debido al pobre establecimiento de los agentes de control en las raíces (Becker *et al.*, 1988; Knudsen *et al.*, 1997).

1.4 La capacidad selectiva de la rizósfera sobre los microorganismos edáficos y la resistencia del cultivo

El pobre establecimiento de los agentes de control biológico en la rizósfera es producto del desconocimiento que se tiene de su relación con las plantas. Comúnmente, son aislados del volumen del suelo y no de la rizósfera de donde se esperaría una mayor afinidad. Se percibe en la actualidad que es necesario un reconocimiento entre la planta y los microorganismos inductores de resistencia, o promotores de crecimiento, para que los eventos de inducción de resistencia o promoción de crecimiento tengan lugar (Kuč, 2001; Pieterse *et al.*, 2001; Krechel *et al.*, 2002). Este reconocimiento es a través de los compuestos liberados por las raíces por lo que, de esta manera, se espera que diferente composición de los exudados radicales seleccionen diferentes comunidades rizosféricas (Foster, 1986; Walker *et al.*,

2003; Garbeva *et al.*, 2004). Esto refuerza la idea de que la rizósfera tiene potencial como punto de regulación de fitopatógenos con origen en el suelo.

Si la supresión a enfermedades de algunos suelos es vista como una manifestación de su estabilidad (van Bruggen y Semenov, 2000), entonces se puede hipotetizar que la rizósfera de las plantas está compuesta de microambientes que están ocupados por organismos que fueron capaces de colonizar y establecerse en cada nicho de acuerdo a su muy particular composición de exudados radicales, y en donde el control biológico surge como propiedad emergente de la suma de todas las interacciones de sus elementos.

En este sentido, se esperaría que la capacidad de las plantas de asociarse selectivamente con determinados microorganismos, constituya uno de los posibles mecanismos que determinan en las plantas susceptibilidad o resistencia a fitopatógenos con origen en el suelo. En el control biológico, se ha buscado que los microorganismos usados como agentes de control incidan directamente sobre las poblaciones iniciales de los fitopatógenos mediante los mecanismos que ejercen antagonismo en el ambiente (Knudsen *et al.*, 1997; Guetsky *et al.*, 2002). Sin embargo, los microorganismos actúan en las plantas mediante la inducción de resistencia (Kuc, 2001; Pieterse *et al.*, 2001), también es probable que actúen en relación a una resistencia más general, de tipo horizontal. La expresión de resistencia vertical en las plantas es, en teoría, independiente de las condiciones ambientales, en cambio, la expresión de resistencia horizontal depende de las condiciones ambientales. Existe poca información en México respecto a la naturaleza de la expresión de resistencia en Chile a *P. capsici* y, aunque existen reportes de la naturaleza cualitativa (vertical) de la misma en unos cuantos ejemplos (Pinto, 1967; Ortega *et al.*, 1995), en la mayoría de las poblaciones de Chile cultivadas en el país, seguramente lo que priva es resistencia cuantitativa (horizontal), la cual es afectada por las condiciones ambientales, incluyendo entre éstas a las poblaciones de microorganismos edáficos. En otras palabras, la expresión de la resistencia puede ser afectada por las poblaciones microbianas del suelo en lo que Robinson (1996) considera un efecto sinérgico, en el que el control biológico refuerza a la resistencia y ésta, refuerza al control biológico. Entonces, es posible que de acuerdo a su amplia base genética, las variedades criollas regionales, con base en su capacidad selectiva de asociaciones

microbianas, tengan la mayor diversidad de microorganismos asociados a sus raíces y que debido a ello presenten resistencia a fitopatógenos con origen en el suelo: control biológico y resistencia se dan apoyo mutuo.

1.5 Estado trófico de los fitopatógenos con origen en el suelo

Otro aspecto importante en el análisis de los patosistemas es la forma como los fitopatógenos logran persistir en el ambiente. Los fitopatógenos con origen en el suelo son mayormente estrategias r (Robinson, 1996) y persisten en el suelo a través de estructuras de resistencia. La figura 1 muestra el estado reproductivo hipotético de un fitopatógeno con origen en el suelo. Conforme el ciclo del cultivo avanza, su crecimiento va acompañado del aumento en la densidad poblacional del patógeno con la subsiguiente caída hacia el final del ciclo del cultivo o por la devastación completa debida al patógeno. La ausencia progresiva de hospedantes causa, en el patógeno, la producción masiva de estructuras de resistencia. Este estado pasivo-dormante del fitopatógeno puede contribuir al éxito del control biológico: los agentes de control pueden incidir directa y más efectivamente en sus estructuras de resistencia, a través de antagonismo, e indirectamente a través de la planta modificando la quimiotaxis positiva o activando sus mecanismos de defensa. El control biológico debiera ser preventivo, previo a la explosión demográfica del patógeno.

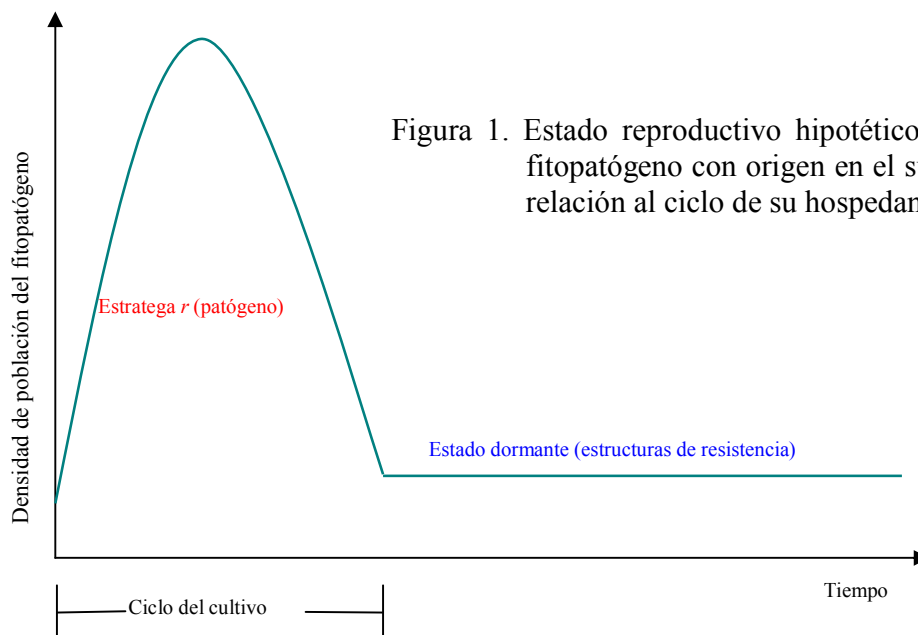


Figura 1. Estado reproductivo hipotético de un fitopatógeno con origen en el suelo en relación al ciclo de su hospedante.

Bajo esta perspectiva holística, la segunda parte de este trabajo trata sobre la composición microbiana obtenida de raíces de plantas de chile de tres variedades: resistente, susceptible y jalapeño comercial (susceptible), cultivadas en suelo de chinampa; y de una variedad de chile criollo (traída viva con su cepellón, de Tehuacán, Puebla, y mantenida en el invernadero en el Colegio de Postgraduados para el aislamiento de la microflora asociada a sus raíces), así como de su reintroducción en los sustratos de germinación, con el objetivo de mejorar sus posibilidades de persistencia en el ambiente y, por lo tanto, su estabilidad en la rizósfera, lo que permitiría el surgimiento del control biológico como propiedad emergente producto de su autoorganización.

2 JUSTIFICACIÓN

En los agroecosistemas, las enfermedades de la raíz constituyen uno de los mecanismos de regulación en el funcionamiento del sistema como un todo y la supresividad como otro punto de regulación o de control que puede permitir atenuar o remediar los problemas que causan estas enfermedades; lo difícil es encontrar el equilibrio: como manipular (introducción, establecimiento y funcionamiento en la rizósfera) las poblaciones microbianas responsables de regular el comportamiento de las especies patogénicas de las raíces.

El control biológico tradicional nos ofrece la garantía de que *in vitro* el agente de control elimina a los patógenos (o propágulos) que habitan el suelo, sin embargo, comúnmente se sabe poco acerca de su comportamiento en los diferentes ambientes edáficos y menos aún en relación con la rizósfera de las plantas.

La composición y riqueza de las especies de microorganismos en la rizósfera es dependiente de microambientes. Se ha documentado, que debe haber un reconocimiento previo entre la planta y los microorganismos, tanto inductores de resistencia como promotores de crecimiento, para que los eventos de inducción de resistencia y promoción de crecimiento tengan lugar (Kuc, 2001; Pieterse *et al.*, 2001; Krechel *et al.*, 2002), lo que sugiere la existencia de nichos específicos para comunidades microbianas. Por lo anterior, se pretende establecer microorganismos en la rizósfera, que además de ejercer una función conjunta de supresión frente a diversos patógenos con origen en el suelo, promuevan el crecimiento vegetal y sean capaces de sobrevivir a la homeostasis natural del suelo.

Esta propuesta, se aleja de la búsqueda convencional de control biológico de enfermedades de la raíz en la medida en que busca que la autoorganización, producto de mecanismos de regulación, sea el resultado de la instauración de complejidad de microorganismos en la rizósfera de plantas de Chile (*Capsicum annuum* L.), con la idea de que la rizósfera es la principal línea de defensa de las raíces en contra del ataque de patógenos.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo General

Comprobar que el control biológico de fitopatógenos con origen en el suelo, mediante la inducción de complejidad creciente de antagonistas es repetible bajo diferentes condiciones iniciales; además, establecer comunidades de microorganismos en la rizósfera de plantas de chile, de tal manera que la propiedad emergente que resulta de la combinación de los diferentes elementos biológicos, así como de la ocupación de los diferentes nichos ecológicos, dé como resultado la disminución de incidencia y daños causados por *P. capsici*.

3.2 Objetivos Particulares

- Definir si el fenómeno de control biológico a fitopatógenos del suelo, mediante la mezcla de antagonistas con complejidad ascendente, es repetible bajo diferentes condiciones iniciales.
- Obtener aislamientos de hongos del rizoplano, del interior de la raíz (endófitos) y de meristemas radicales, a partir de plantas de chile con diferente grado de resistencia a *P. capsici* (susceptible, resistente y comercial), cultivadas en suelo de chinampa (sitio probado de carácter supresor a enfermedades con origen en el suelo).
- Obtener aislamientos de hongos del rizoplano, del interior de la raíz (endófitos) y de meristemas radicales, a partir de plantas de chile colectadas en el Valle de Tehuacán, Pue.
- Determinar si las mezclas de los diferentes grupos de aislamientos inducen control biológico, cuando las plántulas de chile germinadas en los sustratos que las contienen son transplantadas en suelos infestados con *P. capsici*.

4 HIPÓTESIS

- La incorporación de microorganismos antagónicos a los sustratos de germinación tiene como propiedad emergente el control biológico de la enfermedad inducida por *Phytophthora capsici*.
- El aumento en diversidad, dentro de los complejos de microorganismos, conduce al control biológico de la enfermedad causada por *P. capsici*.
- El control biológico mediante el establecimiento de antagonistas con complejidad ascendente es repetible bajo diferentes condiciones iniciales.
- La complejidad de antagonistas induce un efecto de promoción de crecimiento en las plantas de Chile.
- El efecto de control ejercido por consorcios de agentes microbianos es mayor y más consistente en la práctica, si los agentes de control biológico son aislados de la rizósfera de las plantas y de su interior (endófitos) que del volumen del suelo.
- Los microorganismos asociados a la rizósfera de una variedad de Chile resistente a *P. capsici* propician el surgimiento del fenómeno de control biológico, una vez reintroducidos en almácigos de una variedad susceptible.
- La inoculación con consorcios microbianos causa disminución de la germinación en almácigos, pero las plantas sobrevivientes tienen mayor capacidad de supervivencia en condiciones de campo.
- Los aislamientos a partir de suelo supresor son más eficientes en el efecto de control ejercido sobre *P. capsici*, que aquéllos aislados de otro suelo.

5 MARCO TEÓRICO

5.1 Fracaso del control biológico

5.1.1 Sus razones y la influencia del reduccionismo

El control biológico en fitopatología ha tenido un éxito limitado debido principalmente a dos razones de tipo ecológico. La primera de ellas está relacionada con la manera en cómo se determina la cepa antagonista como agente de control biológico: esta búsqueda está basada en la habilidad de cualquier aislamiento de controlar sólo una enfermedad y algunas veces, solamente en un cultivo (Papavizas, 1992). Este fundamento, reduccionista, ignora el hecho de que las enfermedades con origen en el suelo son, normalmente, inducidas por varias especies simultáneamente, como ocurre con las llamadas enfermedades complejas. La segunda, se relaciona con la habilidad de cada cepa antagonista de tolerar y persistir en el ambiente. Debido a la homeostasis natural del suelo no es frecuente lograr el establecimiento del antagonista introducido en cantidades aumentadas (Gindrat, 1979).

En fitopatología, Baker y Cook definen el control biológico, en 1974, como: "...la reducción de la densidad de inóculo o de las actividades inductoras de enfermedad de un patógeno o parásito en su estado activo o dormante, por uno o más organismos, que se logra de manera natural o a través de manipulación del ambiente, el hospedante, el antagonista o por introducción en masa de uno o más antagonistas..." Desde entonces, el control biológico ha buscado la introducción y establecimiento generalmente de sólo un aislamiento de determinada cepa antagonista que, en grandes cantidades, es introducido en el suelo contra uno o varios fitopatógenos con origen en el suelo. Tanta ha sido la investigación con fines económicos en torno al control biológico que han salido al mercado productos basados en diversas cepas antagonistas. Desai y colaboradores (2002), reportan una lista de 39 productos para biocontrol usados en el mundo, de los cuales, la mayoría son para enfermedades con origen en el suelo. En condiciones de campo, raras veces se ha conseguido el control eficiente de fitopatógenos (Suslow y Schroth, 1982; Schippers *et al.*, 1987; Capper y Higgins, 1993) y pocos agentes de biocontrol han mostrado estabilidad en la práctica comercial a pesar de los muchos trabajos publicados. El beneficio del control

biológico se puede valorar en términos de éxitos o fracasos. En términos económicos, los beneficios cuando los hay, son tan espectaculares como los ecológicos. Se ha calculado un retorno aproximado por cada dólar invertido en control biológico de una plaga de 30:1, mientras que para el control químico la relación es 5:1 (De Bach, 1977; Hokkanen, 1985). Esta retribución económica potencial ha estimulado el surgimiento de compañías, que por charlatanería, han desvirtuado la utilización del control biológico en la producción de cultivos y con esto su desarrollo científico y tecnológico.

El problema parece ser el reduccionismo con el que se enfoca la búsqueda del control biológico, el pretender manejar todo un sistema de elevada complejidad, con base en sólo una especie antagónica, aumentada masivamente e introducida directamente al suelo. El reduccionismo no capta la importancia del diseño organizativo de las interacciones (Capra, 1999). El estudio del comportamiento de los ecosistemas edáficos debería empezar con la pregunta: ¿cuál es su diseño de organización?

5.1.2 Teoría general de sistemas

La teoría general de sistemas se basa en el reconocimiento de que todos los sistemas tienen características en común. Es también el reconocimiento de que las entidades son un todo organizado, con la integración de sus componentes subsidiarios y nunca como la agregación mecánica de partes aislables, con simples relaciones causales. Un patrón, o modelo, es un arreglo de unidades, entonces un sistema es un patrón de patrones en donde cada patrón es llamado un nivel de sistema (subsistema) (Robinson, 2002). Estos subsistemas se encuentran inmersos en redes que a su vez se encuentran en redes mayores, todas interactuando dentro y entre ellas (Capra, 1999; Robinson, 2002). Una característica esencial de un subsistema es que tiene propiedades emergentes. Una propiedad emergente es frecuentemente descrita diciendo que el todo es más que la suma de sus partes. Hay dos componentes en un nivel de sistema dado, las partes por un lado, las cuales hacen “el todo” y, por otro lado, están los componentes adicionales, los emergentes, los cuales hacen “al todo” mayor que sólo la suma de sus partes. Estos son los componentes adicionales que son llamados las propiedades emergentes. “El todo es mayor que la suma de sus partes”, ésta es la esencia del pensamiento de la complejidad de sistemas (Capra, 1999; Robinson, 2002).

En un sistema vivo, cualquier comportamiento, a cualquier nivel de sistema, es una propiedad emergente de ese sistema (Laszlo, 1972; Capra, 1999; Robinson, 2002). La vida misma es una propiedad emergente. Cualquier punto a donde sea fijada la mirada se observa un sistema (o subsistema) con sus muy particulares propiedades emergentes. El orden, para el funcionamiento de los sistemas, es jerárquico, donde un subsistema funciona en supraordenación a todos sus subsistemas, en coordinación con todos los subsistemas de su mismo nivel y en subordinación a los controles de los niveles más altos (Robinson, 2002). Todos los sistemas requieren de balance y, para mantenerlo, disponen de mecanismos de regulación o de control. La homeostasis en los sistemas resulta en el mantenimiento de un estado estable y su mecanismo de control es llamado retroalimentación negativa, la cual se refiere a la manera en como las “salidas” en los sistemas, controlan las “entradas”. La estabilidad de los ecosistemas es una estabilidad dinámica, mantenida por homeostasis y retroalimentación negativa (Capra, 1999; Robinson, 2002). La combinación de todos los mecanismos de homeostasis en un sistema, produce la propiedad emergente de la resiliencia, que significa que un sistema puede tener grandes oscilaciones a partir de su óptimo, pero siempre regresa a su estado inicial. En el caso de los ecosistemas, si hay daño dentro de los límites de las capacidades de resiliencia, éste es reversible y el ecosistema se recupera (Robinson, 2002). El funcionamiento de los mecanismos de regulación o de control, depende de la comunicación entre los subsistemas mediante una continua retroalimentación que mantiene al sistema informado del avance de los procesos. Los controles pueden ser o autónomos o impuestos por el hombre. La característica esencial de los sistemas hechos por el hombre es la operación de controles determinísticos. Al hecho de pretender manejar todo un sistema con base en sólo un subsistema se conoce en teoría general de sistemas como suboptimización (Robinson, 1987) la cual, en análisis de sistemas, conduce a conclusiones falsas y en manejo de sistemas, conduce a daños materiales. Los sistemas biológicos básicamente pueden ser divididos en los niveles: ecosistema, comunidad, población, individuo, órgano, célula, molécula y átomo. Cada nivel presenta propiedades emergentes que no pueden ser reducidas a, ni predichas de, sus componentes individuales (Capra, 1999; Robinson, 2002). Sin embargo, los límites de los sistemas, pueden ser establecidos arbitrariamente de acuerdo a la conveniencia del científico que estudia el sistema, de tal modo que a un

ecosistema, por ejemplo, se le pueden establecer límites geográficos, climáticos, biológicos o conceptuales. Límites equiparables pueden ser establecidos para cada nivel de organización de los sistemas (Robinson, 2002).

5.1.3 Teoría de la complejidad

La teoría de la complejidad se desarrolló de manera independiente de la teoría general de sistemas e involucra sistemas adaptativos complejos que son usualmente sistemas abiertos en el sentido de la termodinámica. La teoría moderna de la complejidad involucra sistemas complejos no-lineales, que significa que los parámetros del sistema comúnmente cambian, característica ésta, que hace que los sistemas no-lineales sean impredecibles. En cambio, en el contexto de la teoría de la complejidad, lineal significa que los parámetros son fijos. En el contexto de sistemas adaptativos complejos, lineal también significa que las salidas son proporcionales a los ingresos, y que el todo es igual a la suma de sus partes. No-lineal significa que las salidas son mayores a los ingresos y que el todo es mayor que la suma de sus partes, incluyendo una parte extra: las propiedades emergentes. En cualquier nivel de sistemas, habrá propiedades que no existen en los niveles más bajos. Las propiedades emergentes pueden ser vistas o estudiadas solamente en sus propios niveles del sistema, pero nunca en los niveles más bajos. Un ejemplo formidable para explicar esto es la diferencia entre un cuerpo muerto y un cuerpo vivo. El cuerpo muerto es la “suma de las partes” mientras que la propiedad de vivir o vida es la propiedad emergente. La muerte es la pérdida de la propiedad emergente, por lo que la descomposición orgánica es la pérdida de las partes. Una descripción alternativa es llamar a las partes “estructura” y a las propiedades emergentes “comportamiento”. En los sistemas vivos, la muerte es entonces una pérdida irreversible de comportamiento y la descomposición es una pérdida irreversible de estructura (Robinson, 2002). Los científicos sistémicos reconocen que los sistemas vivientes no pueden ser explicados y analizados solamente en términos de sus partes, deben serlo en términos de sus partes y sus emergentes. Lo que el pensamiento sistémico (holístico) ha hecho es revertir la relación entre las partes y el todo. En contraparte, el reduccionismo se basa en la creencia de que “el todo” puede ser analizado en términos de “las partes”. La ciencia reduccionista tiende a estar interesada en las partes y en rechazar a los emergentes. En el contexto de patosistemas vegetales, el emergente más prominente es

el sistema de cerradura que surge de la relación gen-por-gen, el cual aparece sólo en el nivel de patosistema y se encuentra al nivel de dos poblaciones en interacción: hospedante y parásito (Robinson, 2002). La autoorganización también es, una propiedad de los sistemas complejos. Los sistemas adaptativos complejos, tales como los sistemas vivos, son capaces de adaptarse porque ellos tienen la propiedad de autoorganización. La autoorganización o autorregulación depende de la retroalimentación y, más específicamente, de la retroalimentación negativa. Esta complejidad corresponde al principio ecológico de que la diversidad lleva a la estabilidad. No obstante, los sistemas complejos, sistemas no-lineales, son fácilmente dañados por sobre-control. Un control humano excesivo de un sistema con autoorganización daña dicho sistema. Esto frecuentemente ocurre porque los científicos tienden a aplicar soluciones lineales a problemas no-lineales. Hay una razón obvia por la cual no se pueden resolver problemas no-lineales con soluciones lineales: las soluciones lineales no sirven porque los sistemas no-lineales son impredecibles (Briggs y Peat, 1994; Robinson, 2002). Las soluciones lineales no toman esta impredecibilidad en cuenta. Una solución lineal para un problema no-lineal puede también involucrar el simple, pero total control de sólo un subsistema. Este control involucra ciencia lineal aplicada a sólo un subsistema de un sistema complejo, adaptativo y no-lineal. En comparación, una solución no-lineal es holística y lleva a la autoorganización del sistema. Esta solución holística, al ser aplicada guía a la autoorganización en la dirección requerida. Este es el origen del concepto de agroecosistemas de autoorganización. Las disciplinas científicas que están involucradas con los sistemas lineales son usualmente llamadas ciencias “duras” y éstas incluyen a la física, química, astronomía y matemáticas. Se caracterizan por que es posible realizar medidas muy precisas de sus componentes y porque es posible predecir de manera precisa su comportamiento. En contraste, las disciplinas científicas que están involucradas con sistemas no-lineales son usualmente llamadas ciencias “blandas”. Estas incluyen todas las ciencias de la vida como la biología, medicina, economía, psicología y sociología. Se caracterizan por que es difícil medir sus componentes con precisión y las predicciones de su desarrollo son difíciles o imposibles de realizar. Debido a lo anterior, de acuerdo con Robinson (2002), es común la creencia de que las ciencias “duras” son más fundamentales, más precisas, más importantes, más “científicas” y, generalmente, superiores a las ciencias

“blandas”. Por ello, muchos científicos (durante el siglo XX) trataron a las ciencias “blandas” como si fueran ciencias “duras”, lo que significó tratar sistemas no-lineales como si fuesen sistemas lineales. Muchos de los problemas en las ciencias agrícolas han resultado del deseo de tratar a estas ciencias blandas como si fuera una ciencia dura. Esto ha llevado a análisis lineales y, por lo tanto, a controles lineales cuyas consecuencias son, por ejemplo, la anarquía biológica, el uso de resistencia vertical y la protección vegetal a través de químicos. Se debe reconocer que los ecosistemas, los agroecosistemas y los patosistemas vegetales son sistemas no-lineales, por lo que deben ser analizados de acuerdo a su propia naturaleza o de manera más precisa, se debe permitir que dichos sistemas se autoorganicen tanto como sea posible (Capra, 1999; Robinson, 2002). De acuerdo con Kuhn (1962), en el quehacer científico ha habido un cambio de paradigma, lo que quiere decir que la ciencia está ahora empezando a cambiar de su enfoque analítico y mecánico, frecuentemente llamado enfoque “mecanicista”, a aquél que involucra los sistemas adaptativos complejos, los sistemas no-lineales. Los aspectos más importantes de la ciencia ahora involucran sistemas en los cuales las salidas son mayores que las entradas y en donde el todo es mayor que la suma de sus partes (Robinson, 2002).

5.2 El control biológico bajo el enfoque holístico

Una manera de contrarrestar el limitado éxito del control biológico es mediante el uso de antagonistas en consorcios (Janisiewicz, 1996; Fravel, 2005; García, 2007; Larkin, 2007; Bautista *et al.*, 2008), que pueden proporcionar mayor efectividad en el control biológico de la enfermedad que el que se ha logrado por aplicación de antagonistas individuales. Briggs y Peat (1994) mencionan que para inducir cambios profundos en el comportamiento de un sistema complejo, es necesario hacer cambios profundos en su estructura. No se puede manejar un sistema de elevada complejidad como es el patosistema edáfico, con base en la introducción masiva de sólo una especie antagonica (Bautista *et al.*, 2008). La fitopatología actual debe enfocarse en hacer cambios profundos en la estructura de los patosistemas para así poder alterar su comportamiento. Zavaleta-Mejía (1999) comenta que un manejo ambientalmente sano de las enfermedades en las plantas se podrá lograr aceptando que el objetivo principal no debe ser el de eliminar al patógeno inductor de enfermedad sino más bien que, a pesar de su presencia, se logre obtener rendimientos económicamente

redituables, además de que se debe entender más acerca de la naturaleza de la enfermedad y de la fisiología de la planta.

5.2.1 Propiedades emergentes y supresividad a enfermedades

Bajo el enfoque holístico y de la teoría de la complejidad, la supresividad del suelo es una propiedad emergente del sistema que resulta de su propia complejidad. El fenómeno no puede ser explicado y menos manejado diseccionando el sistema para conocer los componentes elementales, ya que ninguno de esos componentes, por sí solo, puede explicarla. La supresividad, puede ser considerada como parte de la capacidad de homeostasis de los ecosistemas estables, es decir, de su resistencia al cambio; resistencia que impide o frena la introducción o el éxito de especies foráneas y logra resistencia a otros cambios (García, 2000). La supresividad de suelos a enfermedades de raíz implica un cierto balance en la ecología del suelo que resulta en estabilidad de su productividad en razón del impacto reducido de enfermedades que, normalmente, podrían ser destructivas en determinada región y cultivo. Los fitopatógenos con origen en el suelo constituyen parte integral de las comunidades microbianas y la ocurrencia de epidemias es una indicación de desbalance del ecosistema, por lo que la supresión a enfermedades puede ser vista como una manifestación de estabilidad del ecosistema (van Bruggen y Semenov, 2000).

5.3 Supresividad como base teórica del control biológico

Cada suelo posee alguna habilidad para limitar enfermedades por lo que deben ser considerados como un continuo, desde fuertemente supresor hasta altamente conductivo. En suelos conductivos, la incidencia de la enfermedad es severa, aún a baja densidad de inóculo del patógeno, mientras que en suelos supresores la incidencia de la enfermedad es baja aún con alta densidad de inóculo del patógeno. Los suelos supresores se definen como aquéllos en los cuales el desarrollo de la enfermedad no se presenta, aún si el patógeno es introducido en presencia de un hospedante susceptible y bajo condiciones climáticas favorables para el desarrollo de la enfermedad (Hornby, 1983; Alabouvette *et al.*, 1985). La supresión de las enfermedades se lleva a cabo por la combinación de factores bióticos y abióticos. Factores inherentes a las propiedades químicas y físicas del suelo (materia orgánica, pH, salinidad, textura, estado nutrimental, entre otras) juegan un papel

preponderante en el carácter supresor de algunos suelos, así como factores ambientales. No obstante, el factor biológico ha sido el más ampliamente estudiado debido a que ha sido considerado como fuente de agentes de control biológico (Hornby, 1983; Chen *et al.*, 1988; Weller *et al.*, 2002; Garbeva *et al.*, 2004; Borneman y Becker, 2007). En las últimas décadas, el término “suelos supresores” ha sido definido en términos de la capacidad antagónica de organismos edáficos a fitopatógenos con origen en el suelo (Schneider, 1982; Mazzola, 2004). Con el desarrollo de nuevas técnicas en los diferentes campos de la bioquímica y fisiología celular actualmente se han podido caracterizar funciones ecológicas de los diferentes grupos microbianos del suelo, y el antagonismo es sólo una de las tantas relaciones biológicas que puede resultar en supresividad (Weller *et al.*, 2002; Mazzola, 2004; Kobayashi y Crouch, 2009). De esta manera, la capacidad supresiva es, la mayor de las veces, una función directa o indirecta de los microorganismos por medio de diferentes mecanismos como competencia, antibiosis, depredación y la inducción de resistencia en las plantas, entre otras (Kumari y Srivastava, 1999; van Elsas *et al.*, 2002).

Para Capra (1999), el concepto de autoorganización emerge como el concepto central de la visión sistémica de la vida. La teoría moderna de la complejidad postula que a través de la organización espontánea los sistemas de elevada complejidad encuentran por sí mismos las formas óptimas de organización y funcionamiento. La supresividad, es un ejemplo de la propiedad de autoorganización de los sistemas de elevada complejidad. Es probable que la supresividad a enfermedades, observada de manera general en ecosistemas naturales, se deba a la elevada complejidad tanto estructural como de comportamiento de las especies de microorganismos que en ellos interactúan. Es factible entonces que en los agroecosistemas el manejo de las enfermedades surja al estimular la complejidad, por ejemplo, al incrementar la diversidad de microorganismos en la rizósfera.

5.3.1 Los suelos de chinampa y la supresión a enfermedades

Las propiedades supresivas de los suelos de chinampa a diversas enfermedades con origen en el suelo están bien documentadas. Lumsden y colaboradores (1987) reportan a los suelos de chinampa como supresores a *Pythium aphanidermatum* y *Pythium ultimum*. Comentan que el factor biológico en estos suelos es determinante en el surgimiento de la supresividad

debido a que esta característica se pierde al irradiar el suelo con rayos *gamma*; comentan además, que del total de microorganismos aislados (actinomicetos, bacterias y hongos) muy pocos muestran, por sí solos, una reducción en la incidencia de *damping-off* en pepino en invernadero. Los suelos de chinampa también han sido reportados como supresores a *Meloidogyne* spp. (Marban *et al.*, 1992) y *Rhizoctonia solani* (García-E., 1994). Lo anterior sugiere que es la combinación de todos los elementos microbianos en el suelo de chinampa, con las plantas, lo que resulta en supresividad, y no la actividad biológica de sólo una especie antagónica. Heredia *et al.* (1988), al hacer un estudio comparativo en las comunidades fúngicas en plantas de espinaca cultivadas en el sistema de chinampas comentan que la diversidad y abundancia de hongos en la rizósfera siempre es significativamente más alto en comparación con el suelo no-rizosférico y que esto es independiente de la edad del cultivo. Los suelos de chinampa y su productividad, libre de enfermedades, sugieren que las plantas son los indicadores de supresividad y no los niveles poblacionales de patógenos en el suelo.

5.3.2 Centro de origen del chile (*Capsicum annuum*), fitopatógenos y agentes de control

El centro de origen del género *Capsicum* está en Sudamérica. Aunque su actual distribución hace difícil determinar su región de origen, se postula que pudo haber sido en Bolivia, Argentina o Brasil. Estudios biogeográficos y arqueobotánicos indican que durante la dispersión del género *Capsicum* a lo largo del continente americano algunas de las especies fueron domesticadas independientemente en lugares diferentes, tal y como sucedió para la especie *C. annuum* que, aunque se propone su domesticación en Colombia (Pickersgill, 1986), es más probable que haya sido domesticada en México (IBPGR, 1983; Hernández-Verdugo *et al.*, 1999; Eshbaugh, 1976). Adicionalmente, en México, *C. annuum* tiene amplia distribución geográfica, es importante por su producción, variabilidad de formas y amplia diversidad de usos, lo que ha ubicado a México como su centro de diversidad, en donde los estados de Puebla, Morelos y Querétaro presentan la mayor diversidad de chiles cultivados y silvestres (Walker y Bosland, 1999). Desde el punto de vista de la fitopatología, los centros de origen y diversificación son importantes, ya que debido a cuestiones evolutivas se esperaría encontrar a todos los parásitos del cultivo y, por lo tanto,

se esperaría que también estuvieran los agentes de control biológico, ya sea microorganismos o insectos (Gassmann y Schroeder, 1995; Robinson, 2002; Shah y Pell, 2003). En el caso de las enfermedades con origen en el suelo, no tendría por qué ser diferente. Robinson (2002) comenta que la anarquía biológica es la pérdida de control biológico, que puede ocurrir por el uso indiscriminado de biocidas o cuando un parásito es movido de su centro de origen. Es posible que los agentes de control biológico potenciales para *Phytophthora capsici* se encuentren en el centro de origen, o en el centro de diversificación del Chile, que para el caso de México es el Valle de Tehuacán, Puebla (Walker y Bosland, 1999).

5.3.3 Organismos y complejos de organismos antagónicos

De entre los organismos antagónicos que mayormente son usados como agentes de control biológico destacan *Trichoderma* spp., *Pseudomonas* spp., *Bacillus* spp., *Streptomyces* spp. y aislamientos no patogénicos de diversas especies de fitopatógenos (Sivan *et al.*, 1984; Loper, 1988; Park *et al.*, 1988; Nelson y Craft, 1992; Guetsky *et al.*, 2002; Howell, 2003; Ezzizyani *et al.*, 2004; Jacobsen *et al.*, 2004; Schmidt *et al.*, 2004).

Es claro que la mayoría de los patógenos tiene antagonistas naturales, así que el control biológico debería ser una actividad relativamente sencilla. Sikora (1992), reporta que a pesar de que del 7 al 10% de bacterias aisladas de los sistemas radicales de papa y jitomate tienen actividad antagónica en contra de los nemátodos agalladores de raíz, estos todavía constituyen un problema difícil de controlar en algunas zonas agrícolas.

Diversos autores han empleado antagonistas en consorcios para lograr el aumento en la eficiencia contra diversos fitopatógenos; contra enfermedades poscosecha en manzana (Janisiewicz, 1996); combinando diferentes mecanismos de supresión (Dandurand y Knudsen, 1993); estimulando la actividad antagónica del agente de control biológico, (Guetsky *et al.*, 2002); incorporándolos al suelo junto con mejoradores (Larkin, 2007); en el diseño y comercialización de productos basados en control biológico (Fravel, 2005); en la inducción de resistencia sistémica a diversas enfermedades (Jetiyanon y Kloepper, 2002); y

recientemente en el control biológico de la necrosis viral del girasol (Srinivasan y Mathivanan, 2009).

García (2007) trabajó con complejidad ascendente de antagonistas (6, 12 y 18). Al tratar de disminuir o evitar la marchitez del jitomate causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici*. Observó que a mayor complejidad de antagonistas las plantas resultaron más sanas y productivas. Similarmente, otro trabajo realizado con números ascendentes de antagonistas (0, 10, 20 y 30), como medio de contrarrestar daños causados por la marchitez, resultó en una mayor supervivencia de plantas de chile y jitomate al ser transplantadas en suelo fuertemente infestado con *P. capsici*. Bautista (2008) observó que, en campo, al inocular los sustratos de almácigos con 0, 8, 16, 24 y 32 aislamientos y someter a las plántulas a un suelo naturalmente infestado con *P. capsici* los tratamientos con cualquier combinación de antagonistas presentaron menor incidencia de marchitez, en comparación con el testigo. Concluyó que el éxito de los complejos de antagonistas estuvo determinado por el empleo de los antagonistas en consorcios, y no necesariamente por la cantidad de aislamientos empleados. Los trabajos anteriores no pretendieron manejar un sistema de elevada complejidad, con base en sólo una especie antagonista, aumentada masivamente e introducida directamente en el suelo, sino que emplearon antagonistas en consorcios para lograr el aumento en la eficiencia contra fitopatógenos. Los resultados señalan la importancia de la actividad microbiana generada por los antagonistas introducidos en los tratamientos e indican que la diversidad y complejidad de los microorganismos introducidos, aumentan las probabilidades de inducir un buen control biológico a ciertos fitopatógenos con origen en el suelo.

5.3.4 Estrategia reproductiva de los fitopatógenos con origen en el suelo y el control biológico

Los fitopatógenos con origen en el suelo son mayormente estrategias *r*, desde el punto de vista de su reproducción, así, pueden explotar un abasto alimentario efímero en forma muy efectiva mediante una explosión demográfica seguida de una caída en el nivel poblacional cuando el abasto alimentario desaparece (Robinson, 1996). En ausencia de hospedantes sólo muy pocos individuos sobreviven, usualmente en un estado especial de dormancia,

pero quedan suficientes como para inducir otra explosión poblacional en el siguiente ciclo del cultivo hospedante. Es interesante hacer notar, que aún en suelos altamente infestados, los microorganismos fitopatógenos de raíces constituyen una muy pequeña fracción del total de la población de microorganismos del suelo (Curl, 1986). A pesar de su extremadamente baja frecuencia, el impacto de estos microorganismos en el crecimiento de las plantas puede ser enorme, destruyendo totalmente los cultivos en algunos casos. A diferencia, los estrategas K , que habitan el suelo, se multiplican lentamente, forman estructuras de resistencia, tienen buena capacidad saprofitica, con tamaños de población más o menos constantes que están gobernadas por la capacidad de carga del ambiente. A pesar de estas diferencias, es un error pensar que todas las especies pueden ser clasificadas firmemente en una u otra de estas categorías. De hecho, hay un *continuum* o espectro. La mayoría de los organismos presenta una estrategia intermedia entre ambos extremos, y combinan en diferentes proporciones características de ambos tipos de estrategia. Ejemplo de ello son los microorganismos con origen en el suelo. Para los fitopatógenos, la combinación de características de ambos tipos de estrategia reproductiva está en función de la disponibilidad de hospedantes y les confiere gran plasticidad en relación a un ambiente tan complejo como lo es el sistema edáfico. El control biológico debe ser puesto en práctica sin olvidar la estrategia reproductiva del fitopatógeno. El impacto de los factores de mortalidad varía según el tipo de estrategia reproductiva. Mientras que los estrategas r en su fase exponencial de crecimiento están más expuestos a factores de mortalidad, que actúan en forma independiente de la densidad de población, como por ejemplo, clima adverso, sus estructuras de resistencia en su fase dormante se encuentran protegidos de estos factores, y su mortalidad está más influida por factores como la presencia de organismos competidores, alelopáticos, parásitos o depredadores (Arauz, 1998). Es claro que el control biológico debe ser preventivo. El balance entre la producción de estructuras de reposo, la actividad saprofitica del patógeno y la declinación de sus poblaciones debido a actividades antagónicas, finalmente determina la habilidad del patógeno para sobrevivir en la ausencia del hospedante.

5.4 Puntos de atracción en la rizósfera y de regulación en el control biológico

Al mencionar que un punto de regulación en los patosistemas puede ser el empleo de diferentes consorcios de antagonistas en los sustratos de germinación de chile, Bautista y colaboradores (2008) dejaban entrever la importancia de la rizósfera como punto de regulación y como atractor en el funcionamiento del control biológico. Los patosistemas, son subsistemas del agroecosistemas y son de naturaleza compleja. Si se quiere cambiar el comportamiento de un patosistema se requiere un cambio estructural, el cual debe ser llevado a cabo en la rizósfera. Los cambios deben estar fundamentados en la propiedad de autoorganización de los sistemas de elevada complejidad (Capra, 1999). Los sistemas naturales a menudo realizan movimientos rígidos y repetitivos y, luego, en un punto crítico, exhiben una conducta radicalmente nueva. Briggs y Peat (1994) definen atractor como una región del espacio de fases que ejerce una atracción “magnética” sobre un sistema, y que parece arrastrar el sistema hacia sí. Es por medio de varios atractores que los sistemas resisten al cambio o que un sistema puede ser modificado (Kay, 2000).

5.4.1 Selección de la rizósfera de sus organismos asociados

Varios estudios en diferentes especies vegetales y en diferentes localidades, usando métodos tradicionales y moleculares, indican que las plantas son el factor de mayor influencia en la determinación de la estructura y comportamiento de las comunidades microbiales en la rizósfera. En casos específicos, demuestran también estar influenciadas por la especie, la zona radical y la edad de la planta (Garbeva *et al.*, 2004). Nelson (2004) comenta que los exudados de la espermósfera (homóloga de la rizósfera) dirigen las actividades microbiales que se desarrollan en esta zona, muchas de las cuales tienen impacto de larga duración en el crecimiento y desarrollo de la planta, así como en su sanidad. Micallef y colaboradores (2009) comentan que en *Arabidopsis thaliana* las secreciones radicales tienen una base genética y que estos patrones en secreción tienen implicaciones en las comunidades microbiales asociadas; sugieren que las variaciones alélicas de las diferentes accesiones que fueron usadas en los ensayos, pueden conferir una ventaja selectiva en ciertos ambientes debido a que las asociaciones microbianas también fueron selectivas. Demostraron también que las poblaciones microbianas son influenciadas

por compuestos secretados por las raíces y que las accesiones usadas tuvieron asociaciones de comunidades microbianas reproducibles.

A través de la exudación de una amplia variedad de compuestos, las raíces pueden regular las comunidades microbiales en el suelo (Nardi *et al.*, 2000). Es por ello, que la habilidad para secretar un vasto arreglo de compuestos en la rizósfera es una de las características más notables de las raíces. Entre el 5 y el 21% de todo el carbón fijado fotosintéticamente es transferido a la rizósfera a través de exudados radicales (Marschner, 1995). Algunos compuestos identificados en las raíces, que demuestran tener un importante rol en las interacciones raíz-microorganismo, incluyen flavonoides, presentes en los exudados radicales de leguminosas y que activan genes de *Rhizobium meliloti* responsables de los procesos de nodulación (Peters *et al.*, 1986). Algunos autores hipotetizan que los flavonoides pueden ser responsables también, de la colonización por hongos formadores de endomicorriza (Becard *et al.*, 1992; Trieu *et al.*, 1997). Sin embargo, no hay información disponible de la localización espacial del proceso de exudación radical. Se ha sugerido que el patrón de exudación no es homogéneo a lo largo del eje radical. La liberación de fitosideróforos en respuesta a la deficiencia por fierro parece estar concentrada en las zonas apicales de la raíz (Marschner *et al.*, 1987). La liberación de aniones orgánicos parece también seguir un patrón heterogéneo a lo largo de la raíz (Hoffland *et al.*, 1989), el cual es consistente con la presencia de un gradiente de pH de los meristemas a la base (Fischer *et al.*, 1989).

Consecuentemente, esta posible diferencial en exudación a lo largo del eje radical, y su rol en la determinación de asociaciones microbianas con las raíces, pudiera ser de gran utilidad en la búsqueda de control biológico en el sentido en que la planta pudiera seleccionar (sin ningún criterio antropocéntrico) indirectamente, a través de sus exudaciones, la combinación de microorganismos que mayormente contribuyan a su crecimiento y sanidad. En este sentido, los suelos supresores parecen tener gran potencial debido a que precisamente la combinación del factor biológico de estos suelos con las raíces de las plantas tiene como propiedad emergente la supresión de enfermedades. Los suelos de los centros de origen o diversificación de los cultivos también pudieran tener gran potencial

debido a que ahí habitan también sus patógenos y los enemigos naturales de éstos. De esta manera, se pudiera esperar que el cultivar plantas de chile en suelo de chinampa, o colectar de su centro de diversificación, con el objetivo de ser usadas como “plantas trampa” de microorganismos para después aislarlos de las raíces y reintegrarlos a los sustratos de germinación, pudiera ser una opción en el control biológico de la enfermedad causada por *P. capsici*.

6 MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Control biológico de *Phytophthora capsici* usando números crecientes de antagonistas aislados de suelo de chinampa

6.1.1 Microorganismos

Los microorganismos antagónicos a *Phytophthora capsici* y *Pythium* spp. usados fueron tomados de la colección del laboratorio de Ecología de Enfermedades de la Raíz del Colegio de Postgraduados (Cuadro 1), mismos que fueron utilizados en trabajos realizados por Bautista, 2008.

Cuadro 1. Antagonistas usados en los experimentos.

Actinomicetos antagónicos (A)	Bacterias antagónicas (B)	Hongos antagónicos (Ha)	Hongos micoparásitos (Hm)
APcAct1	BChPc 1	<i>Gliocladium</i> H05	<i>Rhizopus</i> H20
APcAct2	BChPc 2	<i>Gliocladium</i> H24	<i>Trichoderma</i> H40
APcAct 13	BChRhZ 4.1	<i>Gliocladium</i> H34	<i>Trichoderma</i> H41
APhy 13	BChRhZ 13.2	<i>Gliocladium</i> H58	<i>Trichoderma</i> H43
APcAct 37	BChRhZ 15.1	<i>Gliocladium</i> H63	<i>Rhizopus</i> H49
APcAct 44	BChRhZ 19	<i>Fusarium</i> H69	<i>Rhizopus</i> H62
APcAct 51	BChRhZ 29	<i>Fusarium</i> H74	<i>Fusarium</i> H70
APcAct 53	BChRhZ 29.1	<i>Penicillium</i> H77	<i>Rhizopus</i> H75

Los aislamientos, se reactivaron usando los siguientes medios: para bacterias, medio Agar Nutritivo®; para actinomicetos, Agar Nutritivo® basificado a pH 11 con hidróxido de potasio y para hongos, el medio papa-dextrosa-agar (PDA®) acidificado con ácido láctico. La temperatura de incubación se ajustó a 28°C en el caso de bacterias y hongos y 32°C para actinomicetos.

Una vez reactivados, cada aislamiento se multiplicó, sembrando una rodaja del medio de cultivo conteniendo a cada uno de los antagonistas, en 500 gramos de suelo (adicionando 1% de harina de maíz) en jarras conserveras de 1 L, previamente esterilizado por cuatro horas a 15 libras de presión durante dos días consecutivos, y conservados a temperatura ambiente.

6.1.2 Sustratos de germinación

En bolsas de polietileno negro, se mezclaron cinco kilogramos de sustrato base (suelo:peat moss, 1:1, V:V, esterilizado 15 lb, 4 hrs por dos días consecutivos) con 500 g de suelo en el que se multiplicó cada uno de los 32 antagonistas; por consiguiente, se prepararon 32 bolsas, cada una con un aislamiento diferente.

De cada bolsa con microorganismos individuales, se tomaron tres kilogramos de sustrato infestado para formar grupos con ocho aislamientos, de acuerdo a su grupo y forma de acción (A=ocho cepas de actinomicetos antagónicos; B=ocho cepas de bacterias antagónicas; Ha=ocho cepas de hongos antagónicos y Hm=ocho cepas de hongos micoparasíticos) para formar los cuatro complejos de ocho antagonistas. Dos semanas después, se tomaron tres kilogramos de cada uno de estos complejos de ocho antagonistas y se prepararon los sustratos de acuerdo a las combinaciones posibles y no repetidas de 16, 24 y 32 antagonistas (Cuadro 2).

Cuadro 2. Composición de microorganismos en cada uno de los tratamientos.

Tratamientos		Número de microorganismos
T	Testigo	0
A	Actinomicetos antagonistas	8
B	Bacterias antagonistas	8
Ha	Hongos antagonistas	8
Hm	Hongos micoparasíticos	8
B+A	Bacterias+actinomicetos antagonistas	16
B+Ha	Bacterias+hongos antagonistas	16
B+Hm	Bacterias+hongos micoparasíticos	16
A+Ha	Actinomicetos+hongos antagonistas	16
A+Hm	Actinomicetos+hongos micoparasíticos	16
Ha+Hm	Hongos antagonistas+hongos micoparasíticos	16
B+A+Ha	Bacterias+actinomicetos+hongos antagonistas	24
B+A+Hm	Bacterias+actinomicetos+hongos micoparasíticos	24
B+Ha+Hm	Bacterias+hongos	24
A+Ha+Hm	Actinomicetos+hongos antagonistas+hongos micoparasíticos	24
B+A+Ha+Hm	Bacterias+actinomicetos+hongos antagonistas+hongos micoparasíticos	32

Dos semanas después de realizadas las mezclas de grupos, se llenaron charolas para almácigo de 200 cavidades y se sembraron semillas de una variedad comercial de chile jalapeño (Itsco®). Treinta días después de la siembra (dds) se registró la emergencia de las plántulas. Una vez germinadas, las plántulas se fertilizaron con solución Nitrofosca-16® (1.66 g por litro de solución), una vez por semana.

6.1.3 Experimentos de campo

Se establecieron experimentos de campo en dos diferentes localidades: a) El Ajengibre, Municipio Venustiano Carranza, en la Sierra Norte del Estado de Puebla, y b) en campos experimentales de la Universidad Autónoma Chapingo (UACH).

6.1.3.1 El Ajengibre, Puebla

En El Ajengibre, el bioensayo consistió en un diseño experimental de bloques al azar con 16 tratamientos y 5 repeticiones cada una de ellas conformada por parcelas de 3 m² con 2 surcos y 10 plántulas por unidad. Se realizó una única fertilización con Nitrofosca-16® 35 ddt, se adicionó individualmente sobre la superficie del suelo aproximadamente 5 g del fertilizante a 5 cm de la base del tallo.

6.1.3.2 Campos experimentales UACH

En campos experimentales de la UACH, el bioensayo consistió en un diseño experimental de bloques al azar con 16 tratamientos y 7 repeticiones cada una de ellas conformada por un único surco de 5 m de largo y 0.6 m de ancho en donde se transplantaron 20 plántulas, 10 a cada lado del surco con una distancia de 50 cm entre plantas. Se realizó una única fertilización de Nitrofosca-16® 12 ddt, se adicionó individualmente sobre la superficie del suelo aproximadamente 5 g del fertilizante a 5 cm de la base del tallo.

6.1.4 Variables

Para ambos experimentos, previo al transplante, se tomaron valores de porcentaje de germinación y de altura de las plántulas.

En El Ajengibre se tomaron datos de altura de plantas y porcentaje de supervivencia 35, 64 y 98 días después del transplante (ddt). Se midió la altura a partir de la base del tallo hasta el ápice.

En campos experimentales de la UACH se registró el porcentaje de supervivencia de plantas a los 12 ddt y 32 ddt.

Para los dos bioensayos, se realizó análisis de varianza para las variables altura, biomasa aérea, rendimiento y peso de raíces. En el caso de las variables supervivencia y porcentaje de germinación se empleó la prueba no-paramétrica de Kruskal-Wallis. Se empleó el paquete estadístico SAS.

Los datos de supervivencia se organizaron en clases (rangos) que fueron usadas para construir gráficas de frecuencias de supervivencia, con el fin de analizar en conjunto grupos de datos de dos o más experimentos.

Finalmente, los datos de los experimentos de El Ajengibre y la UACH, así como los obtenidos por Bautista durante los años 2004 y 2005 fueron comparados mediante una gráfica de clases de supervivencia y sus frecuencias, para estimar si existe un patrón de correspondencia entre la mayor supervivencia y el número de antagonistas con los cuales fueron inoculados los substratos usados en los almácigos.

6.2 Comunidades de hongos de diferentes procedencias, su establecimiento en la rizósfera y el manejo biológico de *P. capsici*

6.2.1 Cultivo de plantas de chile de tres variedades en suelo de chinampa

Suelo de chinampa colectado en Xochimilco, México, D.F., (almacenado a 10°C y colectado 4 días previos a su uso) fue usado para llenar macetas de 3 Kg de capacidad. Se sembraron 10 semillas en cada maceta de 3 genotipos de chile: jalapeño comercial (Itsco®), jalapeño susceptible (var. Joe E. Parker) y Criollo Morelos (CM-334). Cada variedad se sembró con 1 semana de diferencia y en cada maceta se dejó sólo la plántula más vigorosa. Las macetas sembradas con los diferentes genotipos de chile (2 repeticiones por variedad) se regaron con agua destilada y se fertilizaron cada 2 semanas con una solución de Nitrofosca-16® (500 ml por maceta, 1.66 g por litro de solución). Se tomó la muestra total de raíz (de las dos repeticiones) 70 días después de la siembra (dds).

6.2.2 Colecta de plantas de chile criollo en el Valle de Tehuacán, Puebla

Se colectaron 3 plantas completas de chile criollo cuidando de tomar el sistema radical con el menor daño posible junto con la mayor cantidad de suelo. Al momento de la colecta, las plantas estaban en producción de fruto. La colecta se realizó en la región del Valle de Tehuacán en el estado de Puebla, con la finalidad de obtener aislamientos de hongos de su sistema radical. Se tomó la muestra total de raíz (2 plantas), 2 días después de la colecta para su procesamiento. Adicionalmente, fragmentos del sistema radical fueron sembrados en medio selectivo a *Phytophthora*. El aislamiento obtenido fue purificado y cultivado en medio V8 para inducir formación de estructuras morfológicas. La identificación filogenética del aislamiento se realizó mediante extracción de ADN y amplificación de la región correspondiente al Espacio Transcrito Interno del Ribosoma (ITS). Los productos de PCR amplificados se verificaron por electroforesis en geles de agarosa al 1.2% y se secuenciaron en ambas direcciones

6.2.3 Aislamiento y purificación de microorganismos habitantes de la rizósfera y endófitos

Predominantemente se aislaron los hongos que crecieron en las raíces de chile en las tres variedades, aunque se aislaron también actinomicetos, siendo purificados e incluidos en los ceparios. Todo el procedimiento se realizó en condiciones de esterilidad.

Una vez obtenidas las raíces se lavaron ligeramente con agua desionizada e inmediatamente seccionadas y sembradas en medio de cultivo. Las zonas elegidas de la raíz para dicho propósito fueron el cuello, los meristemos de raíces tomados al azar en todo el sistema radical (cortados aproximadamente de 0.5 cm de longitud) y secciones de raíz de 1.5 cm de largo tomadas al azar en todo el sistema radical, de esta última sección se tomaron muestras de 3 cm largo que fueron tratadas superficialmente con NaOCl_3 , como paso preliminar en la obtención de organismos endófitos y que será descrito más adelante (figura 2).

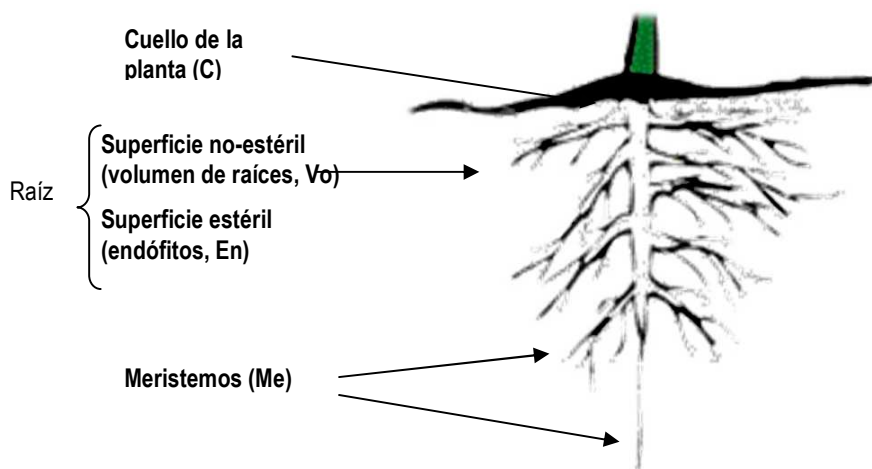


Figura 2. Zonas de la raíz de las cuales fueron tomadas las muestras para la obtención de microorganismos asociados.

El medio de cultivo empleado en el aislamiento y purificación de los microorganismos fue papa-dextrosa-agar (PDA) al que se le adicionó 250 mg/L ampicilina y 150 mg/L sulfato de estreptomicina previo al vaciado en las cajas Petri. Los segmentos de raíz fueron dispuestos radialmente en las cajas Petri conteniendo el PDA de tal manera que se colocaron 10 raíces por caja. De cada sección de raíz se prepararon 20 cajas.

De las cajas Petri que contenían las raíces se tomaron muestras de colonias, sembrándose consecutivamente en otras mediante el método de dilución por estría en caja Petri. La verificación visual se realizó por lotes de cajas sembradas de la misma edad en donde el producto final era la obtención de morfotipos totalmente diferentes.

6.2.3.1 Endófitos

Segmentos de raíz sana de 3 cm de largo se sumergieron en una solución de NaOCl₃ al 1% por 1.5 minutos, inmediatamente después se sumergieron en agua estéril tres veces consecutivas durante 1 minuto. Al terminar el proceso de lavado, se retiró el exceso de agua de las raíces con papel estéril.

Se cortó y se eliminó dos extremos en cada segmento (1 cm por cada lado), de tal manera que las raíces a sembrar tenían 1 cm de largo. Cuando el grosor de la raíz lo permitió se hizo un corte longitudinal. Cada uno de estos segmentos se sembró de manera radial en cajas Petri que contenía medio PDA al 10% (4 g/L PDA y 16 g/L agar-agar) más antibióticos (250 mg/L ampicilina y 150 mg/L sulfato de estreptomicina).

Las cajas sembradas se incubaron a 28°C en oscuridad. El micelio observable fue transferido y purificado en medio PDA 100% (20 g/L PDA) más antibióticos (250 mg/L ampicilina y 150 mg/L sulfato de estreptomicina), siguiendo el procedimiento descrito anteriormente para las otras secciones de la raíz.

En resumen, las secciones de las cuales se aislaron los microorganismos, y que constituyeron los diferentes tratamientos, quedaron como sigue: Organismos aislados del cuello de la planta (C); organismos aislados de meristemas radicales (Me); organismos aislados del volumen de raíz (superficiales) (Vo); organismos endófitos (En). Un tratamiento adicional fue la mezcla de las diferentes secciones (C+Me+Vo+En).

6.2.4 Conservación de los aislamientos

La conservación de los diferentes aislamientos se realizó en suelo esterilizado. Tubos de ensaye de 10 ml de capacidad se llenaron dos tercios de su capacidad con suelo previamente tamizado a través de malla #20 y con un contenido de humedad cercano a capacidad de campo. Los tubos, cerrados con tapones de algodón, se esterilizaron en autoclave a 15 lb de presión por 2 horas durante 2 días consecutivos. El suelo se tomó de zonas cubiertas con pasto dentro del Colegio de Postgraduados. Segmentos de medio infestado con los diferentes aislamientos fue adicionado a cada uno de los tubos con sustrato estéril para después incubar a 28°C durante 48 hrs, se realizó por triplicado por aislamiento. Los tubos fueron almacenados en oscuridad.

6.2.5 Multiplicación individual en suelo y pruebas de patogenicidad en chile

Para dilucidar el posible efecto negativo de cada aislamiento en la germinación y crecimiento de plántulas de chile, se realizó su multiplicación en suelo para posteriormente sembrar en él semillas de chile. Para ello se utilizó una mezcla (200 g) suelo:peat moss, V:V 1:1, esterilizado 15 lb, 4 hrs por 2 días consecutivos contenida en frascos de aproximadamente 300 cc de capacidad. Los frascos con sustrato estéril fueron inoculados individualmente con cada uno de los aislamientos y mantenidos a 28°C en oscuridad. Se verificó el crecimiento del hongo a partir de los segmentos de medio infestado, en caso contrario se descartaba el frasco y se iniciaba nuevamente la inoculación usando un frasco con sustrato estéril. Tres semanas después de inoculados los frascos, y en condiciones asépticas, se retiraron de cada uno de ellos 20 gramos de sustrato y se colocaron en cajas Petri estériles para posteriormente sembrar 10 semillas de chile jalapeño de una variedad comercial (Itsco®). El número de semillas germinadas se registró cada semana durante 5 semanas y se calculó el porcentaje de germinación promedio para cada aislamiento de cada sección de la raíz.

Para el caso de los aislamientos obtenidos a partir de raíces de plantas criollas colectadas en Tehuacán, Pue., se tomó esta prueba de patogenicidad como criterio de selección de aquellos aislamientos en los que la germinación fue mayor al 50% y en donde las semillas germinadas sobrevivían. Estos aislamientos se multiplicaron en suelo usando el método

descrito anteriormente y mezclados como se describe a continuación. Estas mezclas conforman tratamientos adicionales en el experimento de campo y están marcados con un asterisco (*).

6.2.6 Preparación de mezclas de suelos inoculados, llenado de charolas con los diferentes suelos tratados, siembra y cuidado de plántulas

Las mezclas se realizaron de acuerdo al origen de los aislamientos, de tal manera que se tenía un suelo inoculado con todos los organismos que provenían del cuello de la planta, uno para los que provenían de los meristemos, uno de endófitos y uno de los microorganismos que se aislaron de la superficie de la raíz. Las diferentes mezclas se hicieron en bolsas negras de plástico en las que se colocó previamente 3 Kg de sustrato estéril (suelo:peat moss, V:V 1:1, esterilizado 15 lb, 4 hrs por dos días consecutivos). Después de vaciar el contenido de los frascos de acuerdo a las diferentes regiones de aislamiento, el volumen total fue ajustado a 15 Kg usando el mismo sustrato estéril. Sólo en el caso de que el número de aislamientos fue pequeño (menor a 30) el volumen final fue ajustado gradualmente adicionando a la mezcla 2 Kg de sustrato estéril cada semana hasta completar 15 Kg y en el caso de que fuera mayor a 100 aislamientos el volumen final se ajustaba a 20 Kg. Una vez hechas las diferentes mezclas se llenaron con cada una de ellas cuatro charolas de almácigo de 200 cavidades. En dos charolas se sembraron semillas de una variedad comercial de chile jalapeño (Itsco®), en las restantes, semillas de una variedad criollo de la región de Atlacholoaya, Morelos. Treinta días después de la siembra (dds) se registró la emergencia de las plántulas. Una vez germinadas, las plántulas se fertilizaron con la adición de solución Nitrofosca-16® (1.66 g por litro de solución) por charola, una vez por semana.

6.2.7 Transplante en campo y cuidado agronómico

Los experimentos se establecieron en invernadero y campo, en el Colegio de Postgraduados (CP) en Montecillo, Texcoco, y en campo en Xochitepec, Morelos.

6.2.7.1 Experimento con los aislamientos obtenidos de raíces de una variedad de chile jalapeño comercial (Itsco®)

El experimento que incluía a estos aislamientos fue establecido en invernadero. El bioensayo consistió en un diseño experimental completamente al azar con 6 tratamientos y 20 repeticiones, cada una conformada por macetas de 5 Kg que contenían suelo agrícola tomado dentro del *campus* y 5 plántulas de chile de la variedad comercial (Itsco®). Una semana después del transplante, se adicionó a cada maceta 10 g de suelo infestado con *P. capsici* (Pc 105, a una concentración de 400 propágulos infectivos por gramo de suelo). Los datos de altura de las plantas y el número de plantas sobrevivientes fueron tomados 75 días después del transplante.

6.2.7.2 Experimentos con los aislamientos obtenidos de raíces de una variedad de chile resistente a *P. capsici* (criollo Morelos CM-334)

El experimento que incluía a los aislamientos obtenidos de raíces de una variedad resistente fue establecido en Xochitepec, Morelos y repetido nuevamente en el CP. En ambas localidades, el bioensayo consistió en un diseño experimental completamente al azar con 2 variedades de chile jalapeño comercial (Itsco®) y el criollo Morelos (Atlacholoaya), 6 tratamientos y 10 repeticiones, cada una conformada por un surco de 1 m de largo y 0.6 m de ancho en donde se transplantaron 10 plántulas, 5 a cada lado del surco con una distancia de 20 cm entre plantas. En Xochitepec, se tomaron valores de biomasa aérea y supervivencia 57 ddt y en el CP, valores de supervivencia 72 ddt.

Paralelo a cada uno de los experimentos en campo, e incluyendo los mismos tratamientos, se establecieron 2 experimentos en invernadero en el CP. Para ambos casos, el bioensayo consistió en un diseño experimental completamente al azar con 6 tratamientos, dos variedades de chile, jalapeño comercial (Itsco®) y el criollo Morelos (Atlacholoaya); 8 repeticiones cada una de ellas conformada por macetas de 5 Kg que contenían suelo agrícola tomado dentro del CP y 5 plántulas de chile. Una semana después del transplante, se adicionó a cada maceta 10 g de suelo infestado con *P. capsici* (Pc 105, a una concentración de 400 propágulos infectivos por gramo de suelo). Para ambos experimentos se evaluó la supervivencia de las plantas en los diferentes tratamientos 66 y 74 ddt.

6.2.7.3 Experimentos con los aislamientos obtenidos a partir de raíces de una variedad de chile jalapeño susceptible (Var. Joe E. Parker) a *P. capsici*

El experimento que incluía a los aislamientos obtenidos de raíces de una variedad susceptible fue establecido en el Colegio de Postgraduados. El bioensayo consistió en un diseño experimental completamente al azar con 2 variedades de chile, jalapeño comercial (Itsco®) y el criollo Morelos (Atlacholoaya); 6 tratamientos y 10 repeticiones, cada una de ellas conformada por un surco de 1 m de largo y 0.6 m de ancho en donde se transplantaron 10 plántulas, 5 a cada lado del surco con una distancia de 20 cm entre plantas. Después de 122 días a partir de la fecha del trasplante se tomaron valores de biomasa aérea, supervivencia, rendimiento y el peso fresco de raíces.

6.2.7.4 Experimentos con los aislamientos obtenidos a partir de raíces de una variedad de chile criollo colectada en el Valle de Tehuacán, Puebla

El experimento que incluía a los aislamientos obtenidos de raíces de una variedad de chile criollo colectada en Tehuacán, Puebla, fue establecido en el Colegio de Postgraduados. El bioensayo consistió en un diseño experimental completamente al azar con 2 variedades de chile jalapeño comercial (Itsco®) y el criollo Morelos (Atlacholoaya); 8 tratamientos, 10 repeticiones, cada una de ellas conformada por un surco de 1.5 m de largo y 0.9 m de ancho en donde se transplantaron 10 plántulas, 5 a cada lado del surco con una distancia de 40 cm entre plantas. Después de 107 días a partir de la fecha del trasplante se tomaron valores de supervivencia.

En los experimentos realizados en invernadero se fertilizó con la adición de 1 L de solución Nitrofosca-16® (1.66 g por litro de solución) por maceta, una vez cada 2 semanas.

En los experimentos realizados en campo se realizó la fertilización de las plantas con Triple-17® individualmente, cada 2 semanas, por adición sobre la superficie del suelo de aproximadamente 5 g del fertilizante a 5 cm de la base del tallo.

Para los diferentes bioensayos, se realizó análisis de varianza cuando las variables evaluadas fueron: altura de plantas, biomasa aérea, rendimiento y peso fresco de raíces. Los datos de porcentaje de supervivencia y porcentaje de germinación fueron analizados mediante estadística no paramétrica empleando la prueba de Kruskal-Wallis. Se empleó el paquete estadístico SAS.

Los datos de los experimentos fueron ordenados por frecuencias dentro de clases de supervivencia para posteriormente elaborar una gráfica. Mediante la gráfica, y conociendo el número de organismos incluidos en cada tratamiento, se estimó si existe un patrón de correspondencia entre la mayor supervivencia y el número de antagonistas con los cuales fueron inoculados los substratos usados en los almácigos.

7 RESULTADOS

7.1 Control Biológico de *Phytophthora capsici* usando números crecientes de aislamientos de antagonistas

7.1.1 El Ajengibre, Puebla

La germinación de semillas en el tratamiento B ocurrió dos días antes que los demás tratamientos. La totalidad de los tratamientos en el almácigo presentaron el 100% de germinación, sin embargo, al momento del transplante (30 dds) se observó una muerte de plántulas de 30 y 40% en los tratamientos B y A+Hm, respectivamente.

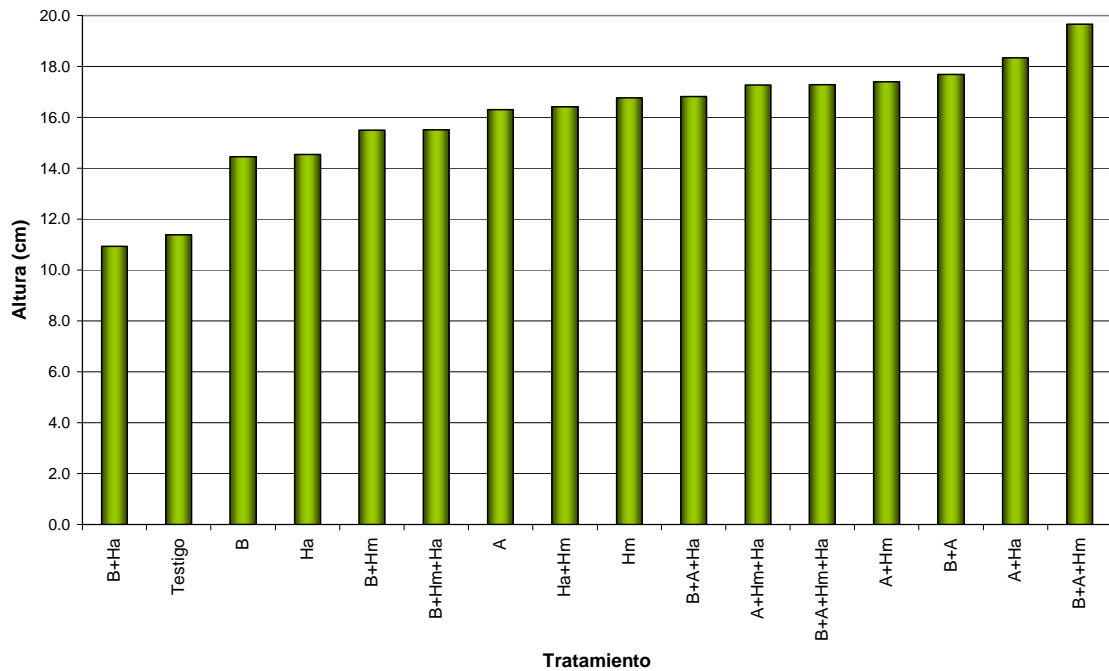
La altura en el almácigo fue mayor en los tratamientos B+A+Hm y B+A+Ha hasta en un 63% respecto al testigo. Lo opuesto se observó, y con la misma proporción para el tratamiento B+Hm (cuadro 3).

Cuadro 3. Altura promedio de las plántulas en los diferentes tratamientos al momento del transplante.

Tratamiento	Altura (cm)
B+Hm	7.0
B+A+Ha+Hm	8.0
B+A	9.0
B	10
B+Ha+Hm	10.1
Testigo	11.0
Ha+Hm	11.5
B+Ha	12.0
A+Ha	12.0
A+Ha+Hm	12.0
A+Hm	12.5
Ha	13.5
Hm	13.5
A	14.0
B+A+Hm	14.5
B+A+Ha	18.0

Los datos de campo muestran la mayor altura para los tratamientos B+A+Hm, A+Ha y B+A, superando en 72%, 61% y 55% al testigo, respectivamente (figura 3). Aunque en general se observa que 14 de los 15 tratamientos tuvieron mayor altura respecto al testigo.

Se extrajeron plantas con síntomas severos de marchitez y pudrición de raíces y se sembraron en medio selectivo para el aislamiento de *Phytophthora* y *Phytium*. Los resultados muestran que el probable agente inductor de la muerte de plantas en el Ajengibre, Pue., fue *Phytium* spp. (figura 4).



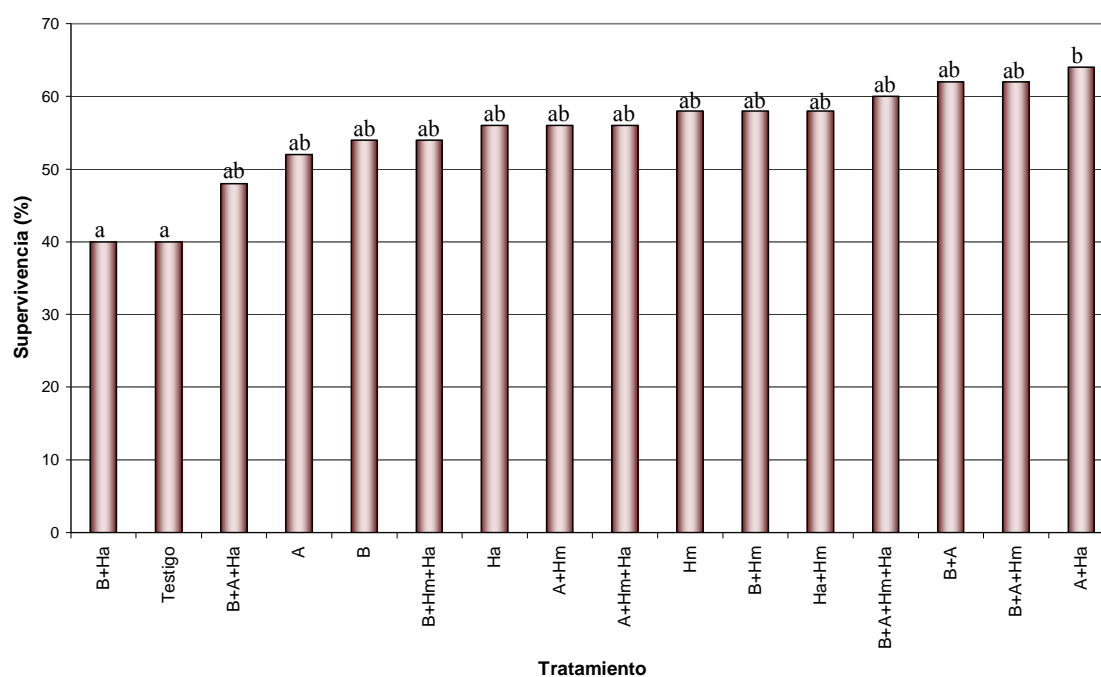
C.V. 42.86

Figura 3. Altura promedio de plantas de chile por tratamiento, 98 ddt, en El Ajengibre, Puebla.



Figura 4. a) Planta con síntomas de enfermedad en sistema radical; b) oogonios de *Phytium* spp. observados en aislamientos puros a los que se indujo su producción.

Los tratamientos que incluyeron números crecientes de antagonistas en el sustrato de germinación mostraron, desde un efecto nulo hasta un efecto muy positivo con relación a la supervivencia cuando las plántulas de chile fueron trasplantadas en condiciones de campo y, por lo tanto, a diferentes patógenos con origen en el suelo. A los 98 ddt la mayor supervivencia de las plantas de chile sólo fue significativamente mayor para el tratamiento A+Ha, superando al testigo en 38% ($p < 0.05$) (figura 5).



Letras entre columnas denotan diferencia (Kruskal-Wallis, $p \leq 0.05$).

Figura 5. Porcentaje promedio de supervivencia de plantas de chile por tratamiento, 98 ddt, en El Ajengibre, Puebla.

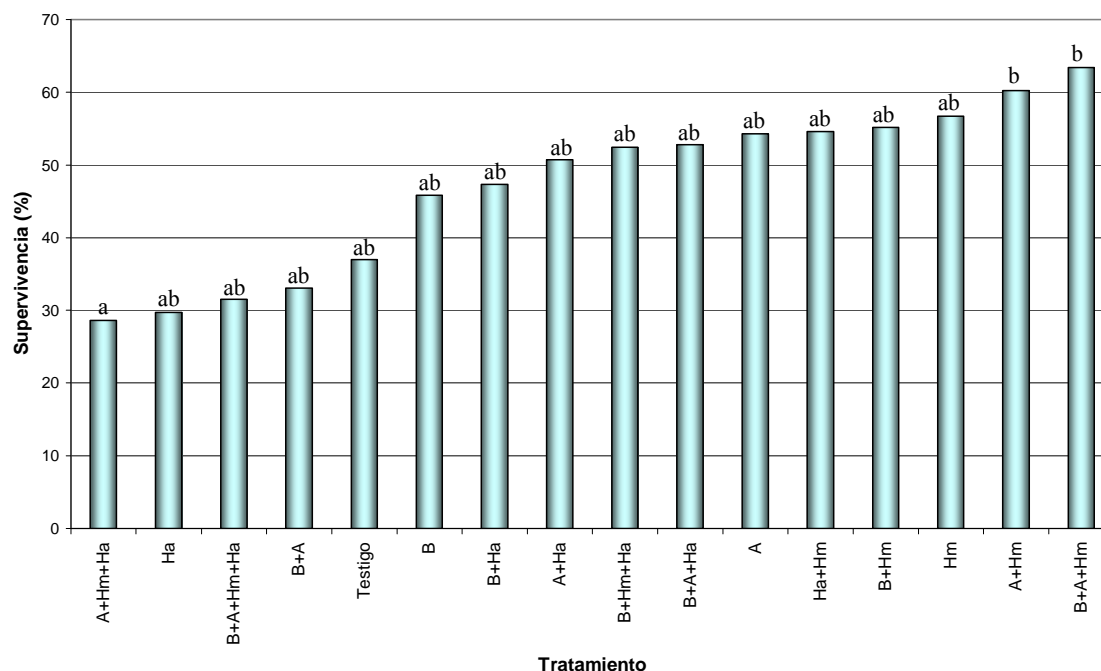
Los tratamientos a los sustratos de los almácigos con 16 y 24 antagonistas tienen la mayor altura y supervivencia en las condiciones en las cuales crecieron en el Ajengibre, Puebla. Estos tratamientos tienen en común al grupo compuesto por los ocho actinomicetos antagonísticos.

7.1.2 Campos experimentales UACH

La germinación fue del 100% en todos los tratamientos y su altura promedio estuvo en un rango de entre 13 y 15 cm.

La siembra de raíces de plantas con síntomas de marchitez, extraídas a los 12 ddt en medio selectivo para el aislamiento de especies de *Phytophthora*, permitió el aislamiento consistente de cepas de este hongo a partir de las cinco muestras sembradas.

La supervivencia de plántulas a los 32 ddt se muestra en la figura 6. En comparación con el testigo, 11 de los tratamientos muestran un porcentaje mayor de supervivencia, mientras que 4 de los tratamientos caen por debajo del valor para el testigo. Sin embargo, tales diferencias fueron significativas con respecto al testigo, sólo para los tratamientos A+Hm y B+A+Hm, donde las plántulas sobrevivieron 63 y 60%, respectivamente, lo que representa una supervivencia con respecto al testigo del 39 y 36%. En comparación con la menor supervivencia, observada en el tratamiento A+Hm+Ha, los tratamientos B+A+Hm y A+Hm tuvieron hasta el doble del valor de supervivencia ($p < 0.05$).



Letras entre columnas denotan diferencia (Kruskal-Wallis, $p \leq 0.05$)

Figura 6. Porcentaje promedio de supervivencia de plantas de chile por tratamiento 32 ddt en campos experimentales de la UACH.

La presión ejercida por el parasitismo fue mayor en el experimento realizado en los campos experimentales de la UACH, comparado con el del Ajengibre. El valor de supervivencia para los testigos en los dos experimentos fue cercano o igual a 40%. La mayor supervivencia en los dos experimentos no superó el 65%. A los 32 ddt, en el testigo ya habían muerto el 60% de las plantas, mientras que para el experimento de El Ajengibre, este porcentaje de plantas muertas se obtuvo hasta los 98 ddt. A pesar de esta diferencial en la presión por parasitismo, los tratamientos B+A+Hm, A+Ha y A+Hm tuvieron los mayores valores de supervivencia.

La frecuencia con la que los tratamientos se ubican dentro de los diferentes valores de clases para supervivencia en los dos experimentos se muestra en la figura 7.

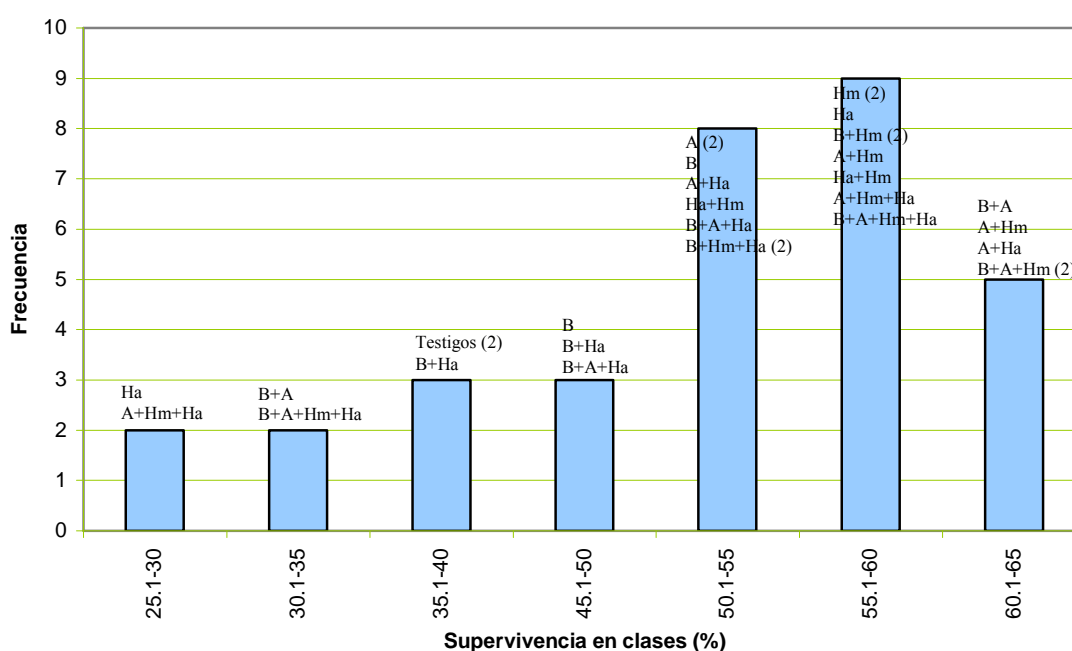


Figura 7. Frecuencia de supervivencia de plantas de Chile en experimentos realizados en El Ajengibre y la UACH.

De los 32 tratamientos que conforman los dos experimentos, 25 de ellos tuvieron mayor supervivencia en comparación con los testigos, quienes tuvieron el mismo comportamiento en las dos localidades. El número de aislamientos incluidos en cada uno de esos 25

tratamientos, varía desde 8 hasta 32. La eficiencia de algunos tratamientos al aumentar la supervivencia respecto al testigo cambió al modificarse las condiciones en las cuales se desarrollo el experimento. De esta manera, el tratamiento que incluye a los cuatro grupos de microorganismos (32 aislamientos) redujo la supervivencia de las plantas de chile en el experimento de los campos experimentales de la UACH, mientras que el mismo tratamiento incrementó la supervivencia en el experimento en El Ajengibre. El aspecto del histograma, formado por las frecuencias con las que los tratamientos cayeron dentro de clases de supervivencia, muestra una distribución sesgada hacia las clases de mayor supervivencia, dejando a los testigos en el área de menor supervivencia, es decir, de mayores daños por muerte de plantas.

El cuadro 4 muestra que en las dos localidades (El Ajengibre y la UACH), los tratamientos con mayor supervivencia incluyeron al grupo de los actinomicetos (A), y a los grupos de hongos micoparásitos y hongos antagónicos (Hm y Ha), respectivamente.

En comparación con los trabajos realizados previamente por Bautista (2008), se observa que también el grupo de actinomicetos antagónicos y hongos micoparásitos son predominantes en los tratamientos que incrementan la supervivencia de plantas en campo e invernadero en presencia de *P. capsici* o de otros fitopatógenos con origen en el suelo (como en el caso de la localidad de El Ajengibre) (cuadro 4).

Al organizar la frecuencia de supervivencia en clases, en los datos de los diferentes tratamientos de los experimentos realizados previamente por Bautista (2008) se observa que del total de 19 tratamientos diferentes a los testigos, 10 mostraron mayor frecuencia de supervivencia (figura 8). La eficiencia de los tratamientos es diferente en cada localidad, el tratamiento que incluye a los 32 antagonistas (B+A+Hm+Ha) se localiza en dos diferentes clases de supervivencia por arriba del correspondiente para el testigo. De igual manera que en la figura 5, se observa una gran variación en el número de antagonistas que conforman los tratamientos de mayor supervivencia que fue desde 8 hasta 32. En este caso, el aspecto del histograma formado por las frecuencias con las que los tratamientos cayeron dentro de clases de supervivencia, muestra una distribución sesgada hacia las clases de menor

supervivencia, con los testigos en esta misma área, lo que denota mayor parasitismo en las condiciones bajo las cuales se realizaron estos experimentos.

Cuadro 4. Tratamientos con supervivencia mayor al 50% en El Ajengibre y la UACH (ocho de treinta en total), complementados con los de experimentos previos realizados por Bautista (2008) en el Colegio de Postgraduados y la UACH (cuatro de diecinueve en total).

Localidad	Tratamientos			
El Ajengibre (2007)	B+A+Hm+Ha	B+A	B+A+Hm	A+Ha
UACH (2007)	B+Hm	Hm	A+Hm	B+A+Hm
UACH (Bautista, 2005)		A+Ha+Hm	A+Hm	B+A+Hm+Ha A
Invernadero CP (Bautista, 2005)				A

Menor supervivencia \longrightarrow Mayor supervivencia

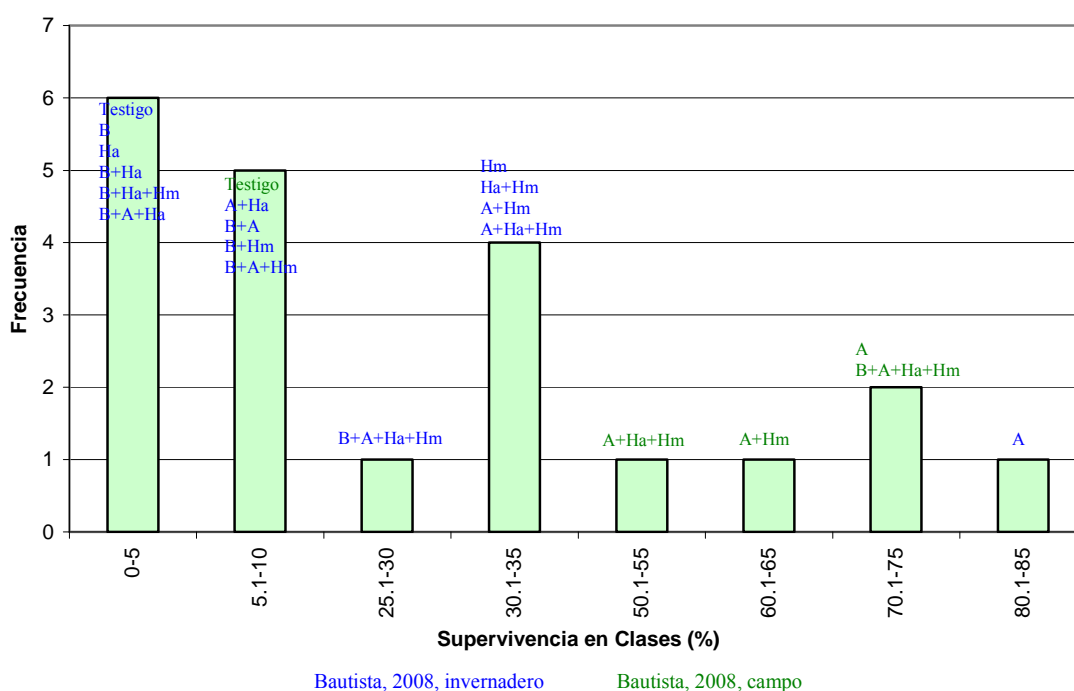


Figura 8. Frecuencia de supervivencia de plantas de Chile en experimentos previos realizados por Bautista (2008) en el Colegio de Postgraduados y la UACH en los diferentes tratamientos.

7.2 Comunidades de hongos de diferentes procedencias, su establecimiento en la rizósfera y el manejo biológico de *P. capsici*

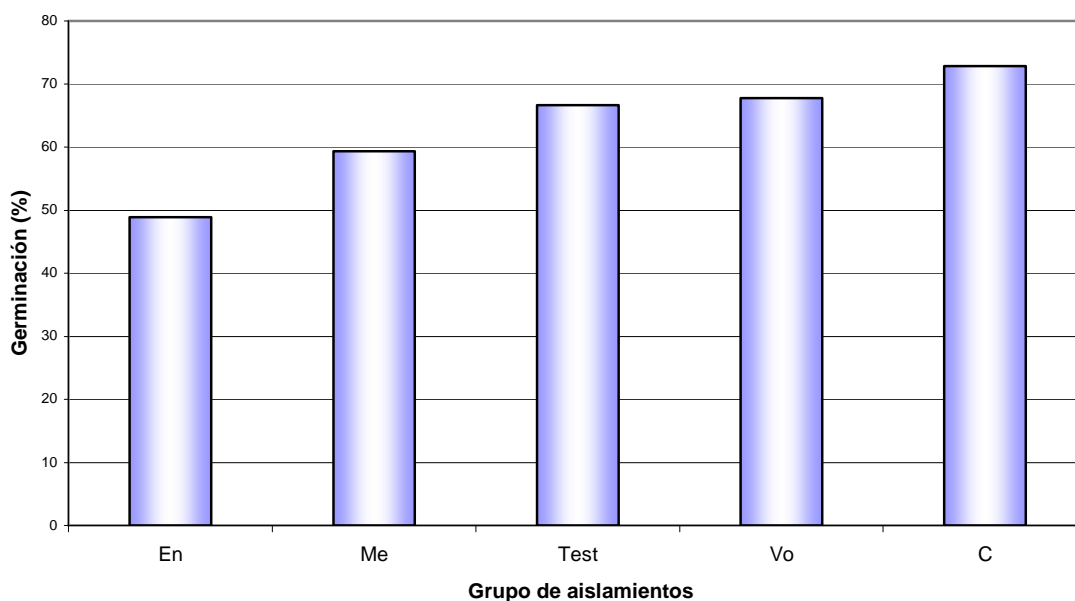
7.2.1 Aislamientos obtenidos a partir de las raíces de una variedad de chile comercial sembrada en suelo de chinampa

El número total de aislamientos de las diferentes secciones de la raíz de la variedad de chile comercial sembradas en suelo de chinampa fue de 73. De los meristemos de las raíces fue de donde se obtuvo la mayor cantidad de aislamientos (32), mientras que los endófitos aislados fueron solamente 9. Los aislamientos para el cuello y para las raíces tomadas al azar del volumen total de raíces fueron de 14 y 18, respectivamente (cuadro 5).

Cuadro 5. Número total de aislamientos en cada sección aislados de raíces de una variedad de chile comercial sembrada en suelo de chinampa.

Sección de raíz	Número de aislamientos
Endófitos (En)	9
Aislamientos del cuello de la planta (C)	14
Aislamientos del volumen de raíz (Vo)	18
Aislamientos de meristemos radicales (Me)	32
C+Me+Vo+En (Mezcla)	73

Con cada uno de los diferentes microorganismos, aislados de zonas específicas del rizoplano y del interior de la raíz, se realizó una prueba para confirmar si los aislamientos afectaban la germinación de semillas de chile. La germinación promedio en los diferentes grupos de aislamientos se muestra en la figura 9. Para el grupo endófitos la germinación fue menor en comparación con los demás tratamientos. La mayor germinación fue del 70% y corresponde a los aislamientos del cuello de la planta.



Test=testigo, Me=meristemos, En=endófitos, Vo=volumen de raíces, C=cuello de la planta

Figura 9. Porcentaje promedio de germinación por grupo de microorganismos aislados de la raíz de una variedad de chile comercial (Itsco®) sembrada en suelo de chinampa.

7.2.1.1 Experimento en invernadero

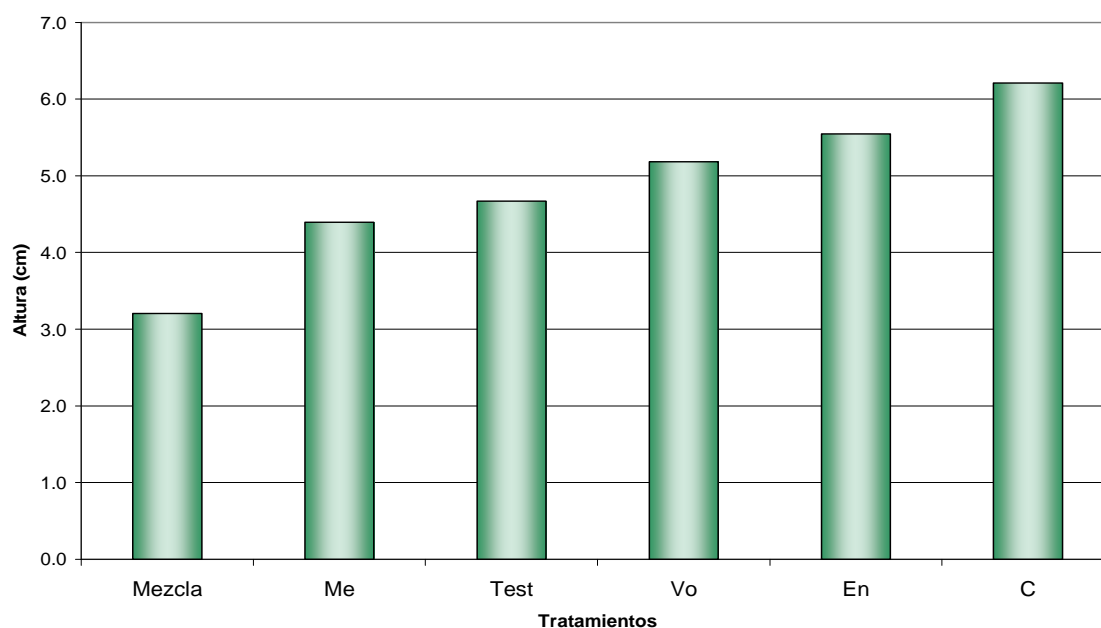
La germinación en almácigo, 30 dds, fue mayor en el testigo que en el tratamiento con los aislamientos del cuello de la planta ($p < 0.05$). En los demás tratamientos no se observó diferencia de manera consistente en relación al testigo (cuadro 6).

La figura 10 muestra la altura promedio en cada tratamiento 75 ddt. No se observó diferencia en altura en los tratamientos en relación al testigo. Sin embargo, el tratamiento C tuvo en promedio, la mayor altura superando al testigo en cerca del 33% y en 95% en relación al tratamiento con menor altura en promedio, que fue la mezcla de los diferentes tratamientos. Los tratamientos Mezcla y Me tuvieron menor altura en relación al testigo por 31% y 6%, respectivamente.

Cuadro 6. Porcentaje de germinación en almácigo de una variedad de chile comercial en los diferentes tratamientos.

Sección de raíz	Germinación (%)
Aislamientos del cuello de la planta (C)	50.0 ^c
C+Me+Vo+En (Mezcla)	64.0 ^{ab}
Aislamientos de meristemos radicales (Me)	66.5 ^{ab}
Endófitos (En)	70.5 ^{ab}
Aislamientos del volumen de raíz (Vo)	71.0 ^{ab}
Testigo (Test)	73.5 ^a

Letras entre filas denotan diferencia (Kruskal-Wallis, $p \leq 0.05$)



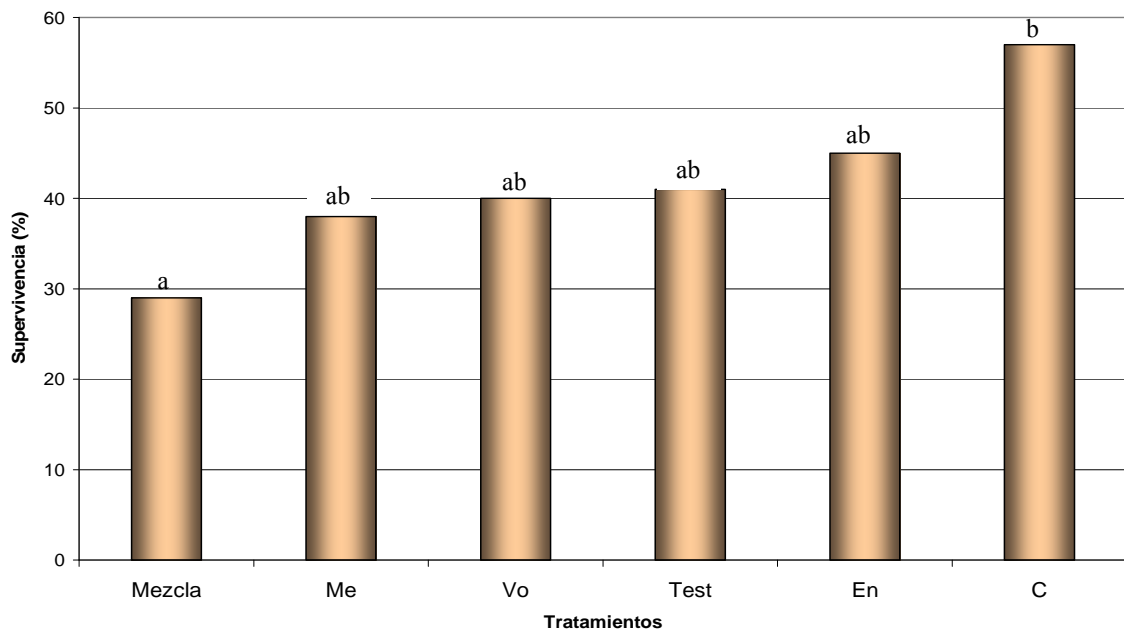
C.V. 57.59 Test=testigo, Me=meristemos, En=endófitos, Vo=volumen de raíces, C=cuello de la planta

Figura 10. Altura promedio por tratamiento de plantas de chile, 75 ddt, en invernadero, con diferentes grupos de microorganismos aislados de la raíz de una variedad de chile comercial (Itsco®) sembrada en suelo de chinampa.

La siembra de raíces de plantas con síntomas de marchitez y pudrición de raíces en medio selectivo para el aislamiento de especies de *Phytophthora*, permitió el aislamiento

consistente de la cepa de este hongo a partir de las muestras sembradas. Los resultados corroboran que el agente inductor de la muerte de plantas fue *Phytophthora*.

La supervivencia a los 75 ddt fue mayor para el tratamiento C, con un incremento en relación al testigo del 39% y del 97%, en relación al tratamiento que incluía a la mezcla de todos los aislamientos ($p < 0.05$). Tres de los tratamientos (Mezcla, Me y Vo) tuvieron valores en supervivencia que estuvieron por debajo del promedio para el testigo (figura 11).



Letras entre columnas denotan diferencia (Kruskal-Wallis, $p \leq 0.05$).
Test=testigo, Me=meristemas, En=endófitos, Vo=volumen de raíces, C=cuello de la planta

Figura 11. Supervivencia promedio de plantas de Chile, 75 ddt en invernadero, por tratamiento con diferentes grupos de microorganismos aislados de una variedad de Chile comercial (Itscó®) sembrada en suelo de chinampa.

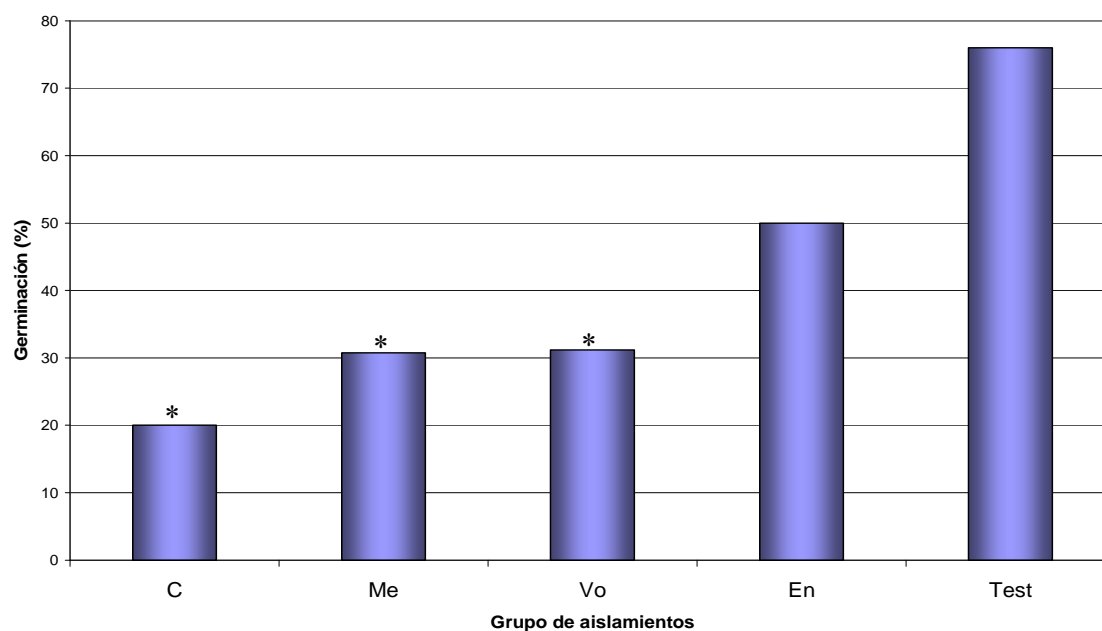
7.2.2 Aislamientos obtenidos a partir de las raíces de una variedad de chile resistente (CM-334) sembrada en suelo de chinampa

El cuadro 7 muestra el número de aislamientos de acuerdo a cada una de las secciones de la raíz de las cuales fueron aisladas. El total de los aislamientos fue de 124, que corresponde a la suma de los aislamientos de las 4 secciones. De estos, un poco más de la mitad (67) corresponde a los meristemos radicales; aislamientos del volumen de la raíz con 43, del cuello de la planta con 12 y sólo dos endófitos aislados.

Cuadro 7. Número total y de cada sección de microorganismos aislados de la rizósfera de una variedad de chile resistente a *P. capsici* (CM-334) sembrada en suelo de chinampa.

Sección de raíz	Número de aislamientos
Endófitos (En)	2
Aislamientos del cuello de la planta (C)	12
Aislamientos del volumen de raíz (Vo)	43
Aislamientos de meristemos radicales (Me)	67
C+Me+Vo+En (Mezcla)	124

El porcentaje promedio de germinación en aislamientos individuales se muestra en la figura 12. El menor porcentaje en germinación lo presentaron los aislamientos de los tratamientos C (20%), Me (31%) y Vo (31%), siendo significativamente diferente ($p < 0.05$) a la germinación observada en las semillas sembradas en suelo estéril, cuya germinación fue de 76%. En el tratamiento En, la germinación fue del 50% sin mostrar diferencia significativa con el testigo.



El * en columnas denota diferencia respecto al testigo de acuerdo a la prueba de Kruskal-Wallis ($p \leq 0.05$)
 Test=testigo, Me=meristemos, En=endófitos, Vo=volumen de raíces, C=cuello de la planta

Figura 12. Porcentaje promedio de germinación por grupo de microorganismos aislados de la raíz de una variedad de chile resistente a *P. capsici* (CM-334) sembrada en suelo de chinampa.

7.2.2.1 Experimento en Xochitepec, Morelos

La germinación en las dos variedades de chile fue muy variable. En la variedad jalapeño, el porcentaje de germinación menor fue del 38% en el tratamiento Me; mientras el tratamiento Vo presentó el mayor porcentaje en germinación en comparación con los tratamientos En, Mezcla, Me y el testigo ($p < 0.05$). En la variedad criollo, no se aprecia diferencia significativa entre los tratamientos, a excepción del tratamiento Vo que mostró la menor germinación en comparación con los demás tratamientos ($p < 0.05$). Sin embargo, la tendencia es que el mayor porcentaje de germinación es para el tratamiento Mezcla (80%) (cuadro 8).

Cuadro 8. Porcentaje de germinación en almácigo, en dos variedades de chile, en los diferentes tratamientos (aislamientos provenientes de una variedad de chile resistente a *P. capsici*, CM-334 sembrada en suelo de chinampa).

Sección de raíz	Jalapeño	Criollo
Aislamientos del cuello de la planta (C)	71.5 ^{ab}	72.0 ^{ab}
Aislamientos de meristemos radicales (Me)	37.5 ^c	68.5 ^{ab}
Aislamientos del volumen de raíz (Vo)	77.5 ^a	53.0 ^c
Endófitos (En)	63.0 ^b	65.0 ^{bc}
Testigo (Test)	62.0 ^b	71.5 ^{ab}
C+Me+Vo+En (Mezcla)	49.0 ^c	80.5 ^a

Letras entre filas denotan diferencia (Kruskal-Wallis, $p \leq 0.05$).

La biomasa aérea de las plantas, 57 ddt, no mostró diferencias significativas entre los tratamientos para las dos variedades de chile (figura 13). En la variedad criollo, el mayor valor en biomasa aérea fue para el tratamiento Vo. En la variedad jalapeño todos los tratamientos fueron iguales en la producción de biomasa aérea.

Se sembraron raíces de plantas con síntomas de marchitez y pudrición de raíces en medio selectivo para el aislamiento de especies de *Phytophthora*. La cepa aislada presentó un crecimiento cameliforme en medio de cultivo V8, oosporas pleróticas de color café oscuro, anteridio amphigino y esporangios ovalados; características morfológicas que sugieren que se trata de *P. capsici*. Los resultados muestran que el probable agente inductor de la muerte de plantas fue *Phytophthora* (figura 14).

La supervivencia, al igual que la biomasa aérea, no mostró diferencias entre los tratamientos dentro de las dos variedades (figura 15). Para la variedad criollo, los valores de supervivencia se ubicaron entre 36% para el tratamiento C y 46% para el tratamiento Vo. En la variedad jalapeño fueron aún más bajos, 4% para el tratamiento con la mezcla de todos los aislamientos y 12% para el testigo. La supervivencia se evaluó 57 ddt, la evaluación más temprana en toda la serie de experimentos realizados, esto sugiere que el agente inductor de enfermedad, probablemente *P. capsici*, era altamente patogénico.

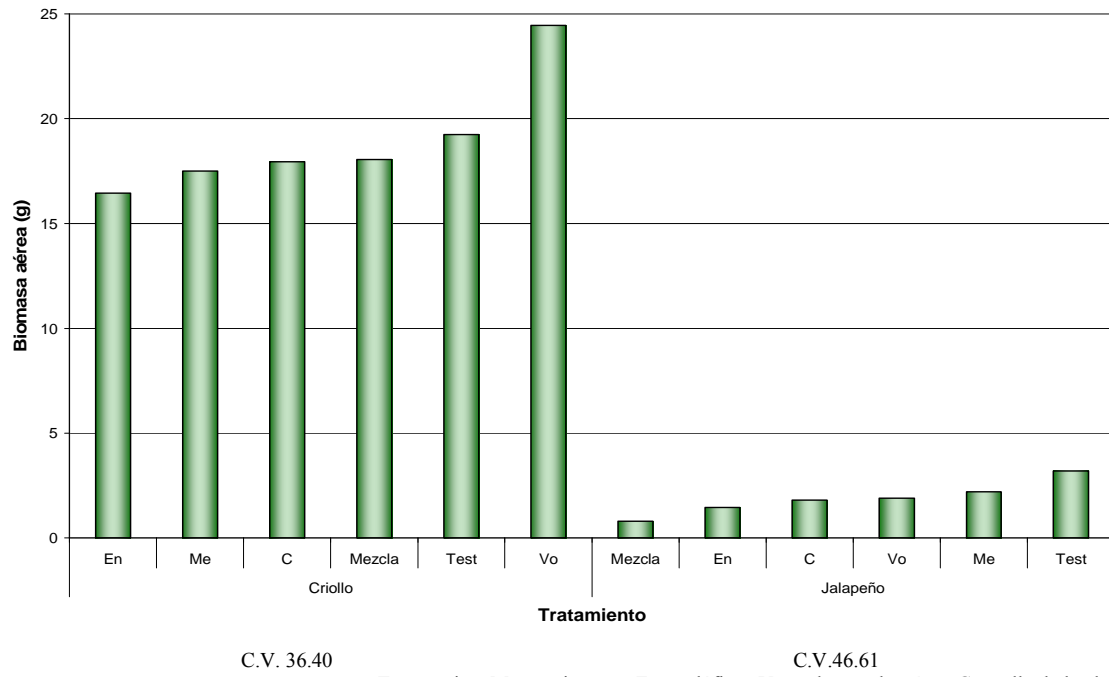


Figura 13. Biomasa aérea promedio (g) de dos variedades de plantas de chile, 57 ddt, en Xochitepec, Mor., por tratamiento con diferentes grupos de microorganismos (aislamientos provenientes de una variedad de chile resistente a *P. capsici*, CM-334 sembrada en suelo de chinampa).

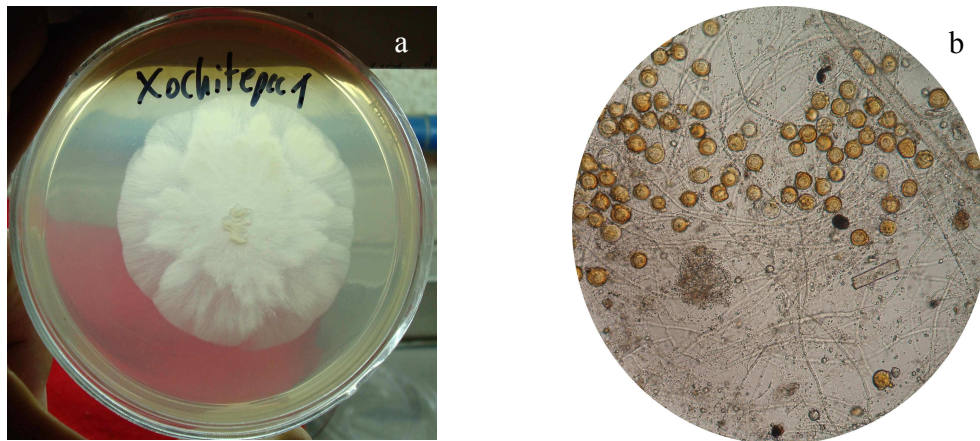
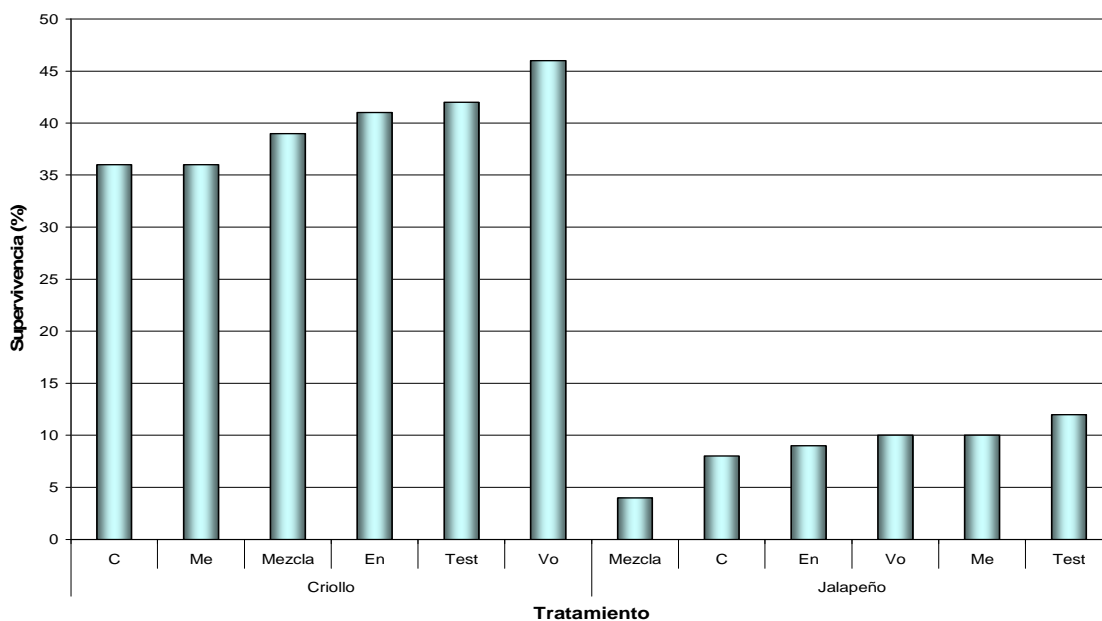


Figura 14. a) Crecimiento cameliforme de *Phytophthora* spp. aislado en Xochitepec, Mor., y b) oosporas pleróticas observadas en aislamientos puros a los que se indujo su producción.



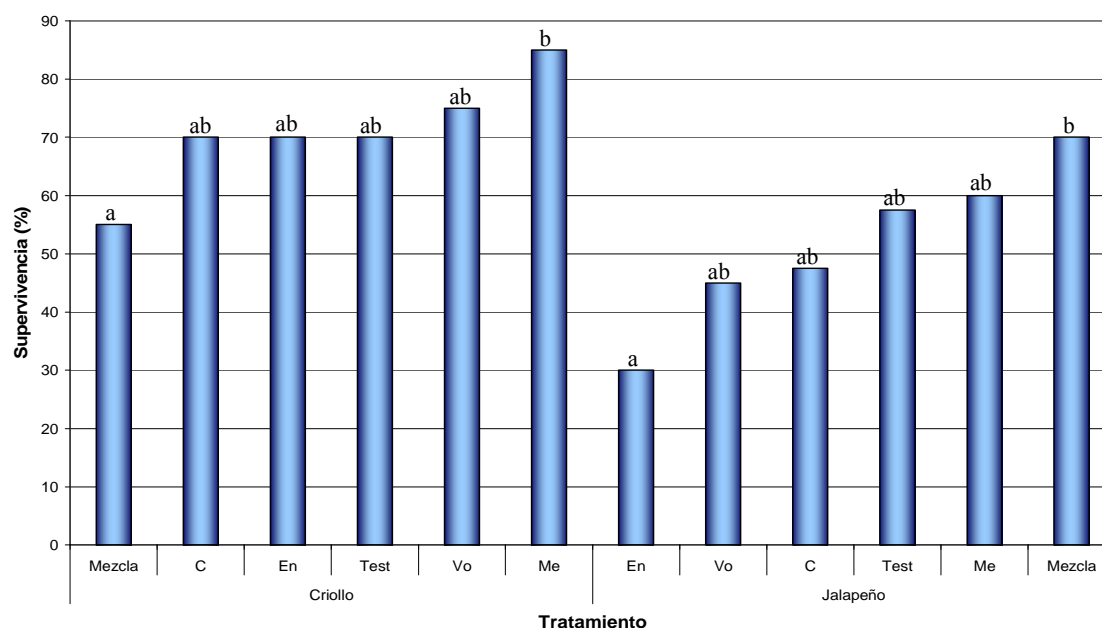
C.V. 21.42 C.V. 95.77
 Test=testigo, Me=meristemas, En=endófitos, Vo=volumen de raíces, C=cuello de la planta

Figura 15. Porcentaje promedio de supervivencia de dos variedades de plantas de chile, 57 ddt, en Xochitepec, Mor., por tratamientos con diferentes grupos de microorganismos (aislamientos provenientes de una variedad de chile resistente a *P. capsici*, CM-334 sembrada en suelo de chinampa).

7.2.2.2 Primer experimento en invernadero, CP

En éste y en el siguiente experimento en invernadero se corroboró la presencia del agente inductor de la muerte de plantas mediante la siembra de raíces de plantas con síntomas de marchitez en medio selectivo para el aislamiento de especies de *Phytophthora*, permitiendo su aislamiento a partir de las muestras sembradas.

En la variedad criollo, a 66 ddt, el tratamiento Me fue el mayor en supervivencia aunque sólo significativamente en comparación con el tratamiento Mezcla ($p < 0.05$). En el caso de la variedad jalapeño, la Mezcla fue la de mayor supervivencia duplicando el valor de la supervivencia del tratamiento En ($p < 0.05$) (figura 16).



Letras entre columnas denotan diferencia (Kruskal-Wallis, $p \leq 0.05$).
 Test=testigo, Me=meristemos, En=endófitos, Vo=volumen de raíces, C=cuello de la planta

Figura 16. Porcentaje promedio de supervivencia de dos variedades de plantas de chile en invernadero, 66 ddt, por tratamiento con diferentes grupos de microorganismos (aislamientos provenientes de una variedad de chile resistente a *P. capsici*, CM-334 sembrada en suelo de chinampa).

7.2.2.3 Experimento en campo, CP

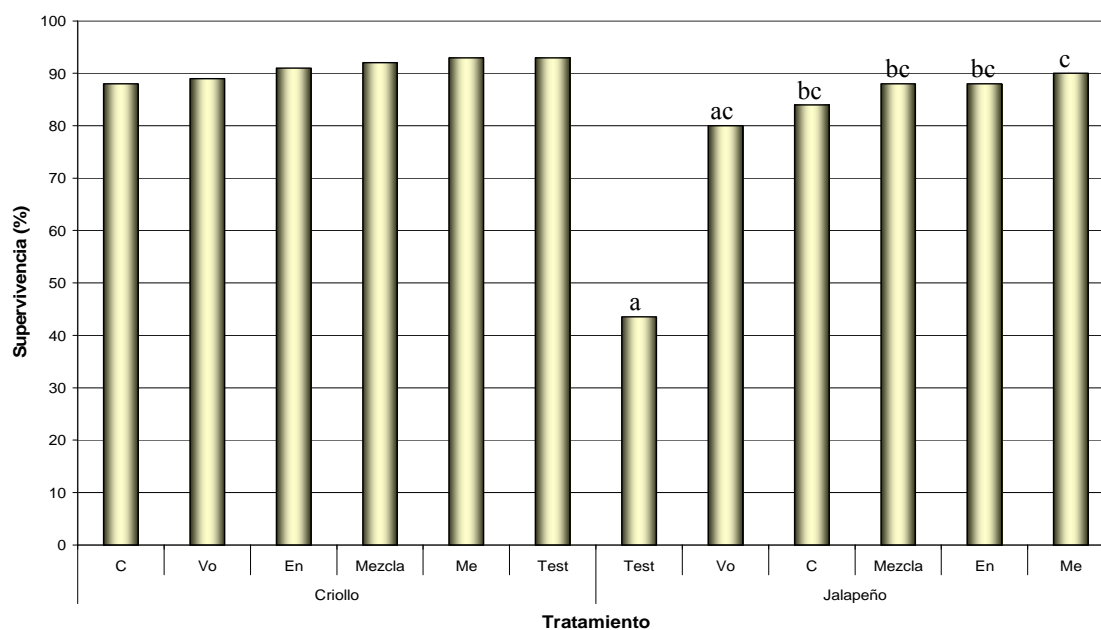
Previo al transplante se tomaron datos de germinación en los diferentes tratamientos, los resultados se muestran en la cuadro 9. En la variedad jalapeño el tratamiento Me fue el de mayor germinación (83.5%) siendo diferente ($p < 0.05$) de los tratamientos C, Mezcla y Vo con 67, 64 y 47.5% en germinación, respectivamente. En la variedad criollo, la Mezcla tuvo el mayor valor en germinación (85.5%) y fue significativamente diferente ($p < 0.05$) de los tratamientos C y testigo con 73 y 69.5%, respectivamente.

A 72 ddt, la supervivencia en la variedad criollo en todos los tratamientos, estuvo alrededor del 90%. Por el contrario, se observaron marcadas diferencias para la variedad de chile jalapeño. La mayor supervivencia la presentaron los tratamiento Me, En, Mezcla y C, con valores entre 90% y 84%, respectivamente, siendo diferentes ($p < 0.05$) al testigo (figura 17).

Cuadro 9. Porcentaje de germinación en almácigo del experimento en el CP, en dos variedades de chile, en los diferentes tratamientos de microorganismos (aislamientos provenientes de una variedad de chile resistente a *P. capsici*, CM-334 sembrada en suelo de chinampa).

Sección de raíz	Jalapeño	Criollo
Aislamientos del cuello de la planta (C)	67.0 ^b	73.0 ^{ac}
Aislamientos de meristemos radicales (Me)	83.5 ^c	79.5 ^{abc}
Aislamientos del volumen de raíz (Vo)	47.5 ^a	82.5 ^{ab}
Endófitos (En)	76.0 ^{bc}	84.0 ^{ab}
Testigo (Test)	80.0 ^c	69.5 ^c
C+Me+Vo+En (Mezcla)	64.0 ^b	85.5 ^b

Letras entre filas denotan diferencia (Kruskal-Wallis, $p \leq 0.05$).

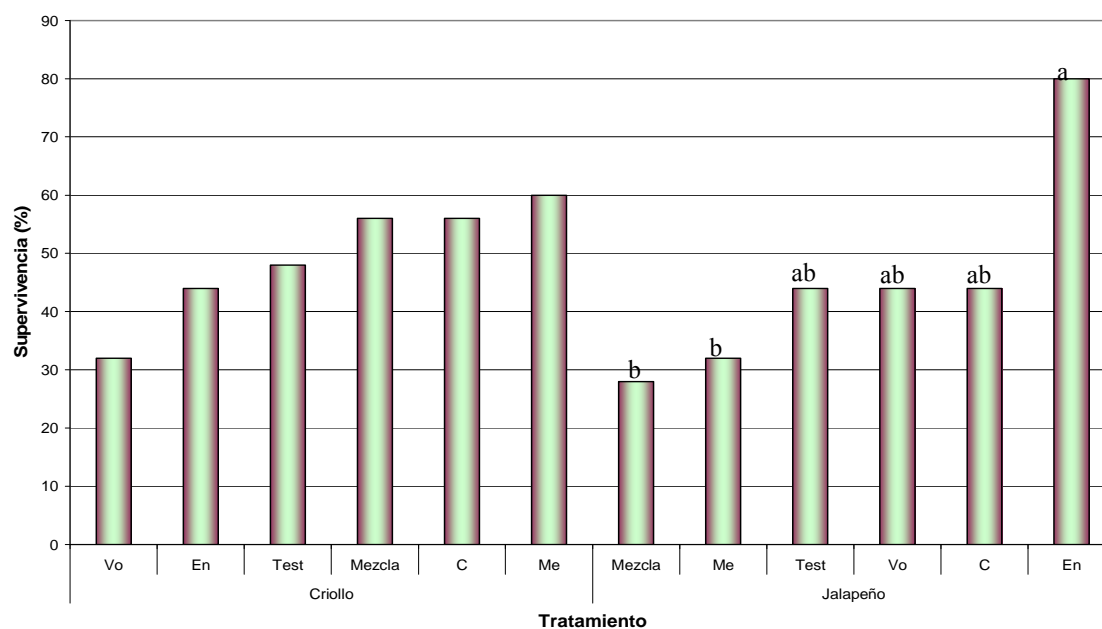


C.V. 6.42 Letras entre columnas denotan diferencia (Kruskal-Wallis, $p \leq 0.05$).
 Test=testigo, Me=meristemos, En=endófitos, Vo=volumen de raíces, C=cuello de la planta

Figura 17. Porcentaje promedio de supervivencia de dos variedades de plantas de chile, en el Colegio de Postgraduados, 72 ddt, por tratamiento con diferentes grupos de microorganismos (aislamientos provenientes de una variedad de chile resistente a *P. capsici*, CM-334 sembrada en suelo de chinampa).

7.2.2.4 Segundo experimento en invernadero, CP

En invernadero, la supervivencia en la variedad criollo no fue diferente entre los tratamientos ($p < 0.05$), sin embargo, se observa una tendencia a mayor supervivencia en los tratamientos Me, C y Mezcla en relación al testigo. En la variedad jalapeño, el tratamiento En fue mayor que los tratamientos Mezcla y Me ($p < 0.05$), aunque en relación a los tratamientos C, Vo y el testigo la diferencia no fue tan sensible, aunque esta puede ser de un poco más del 30% (figura 18).



C.V. 24.58

Letras entre columnas denotan diferencia (Kruskal-Wallis, $p \leq 0.05$).

Test=testigo, Me=meristemas, En=endófitos, Vo=volumen de raíces, C=cuello de la planta

Figura 18. Porcentaje promedio de supervivencia de dos variedades de plantas de chile, en invernadero, 74 ddt, por tratamiento con diferentes grupos de microorganismos (aislamientos provenientes de una variedad de chile resistente a *P. capsici*, CM-334 sembrada en suelo de chinampa).

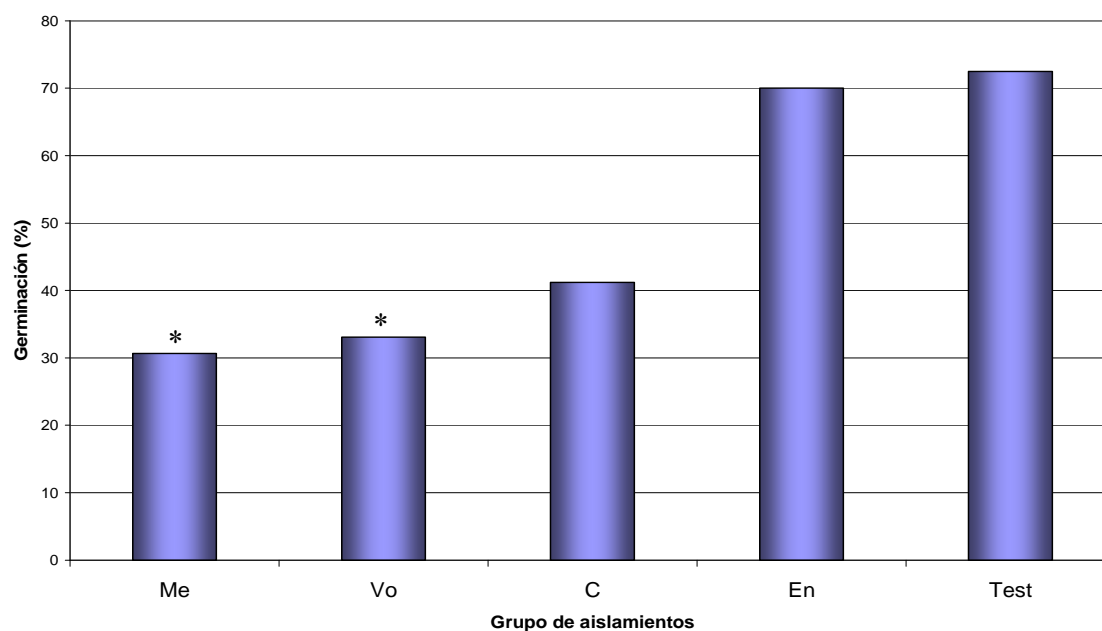
7.2.3 Aislamientos obtenidos a partir de las raíces de una variedad de chile susceptible (var. Joe E. Parker) sembrados en suelo de chinampa

El total de los organismos aislados de las diferentes secciones de las raíces de chile susceptible fue de 138. De estos, 74 son la para la sección Me, 45 para Vo, 17 para C y 2 para la sección En (cuadro 10).

Cuadro 10. Número total y de cada sección de aislamientos de microorganismos de la rizósfera de una variedad de chile susceptible a *P. capsici* (var. Joe E. Parker) sembrada en suelo de chinampa.

Sección de Raíz	Número de aislamientos
Endófitos (En)	2
Aislamientos del cuello de la planta (C)	17
Aislamientos del volumen de raíz (Vo)	45
Aislamientos de meristemos radicales (Me)	74
C+Me+Vo+En (Mezcla)	138

Los aislamientos del tratamiento Me, tuvieron en promedio, una germinación del 30% siendo significativamente diferente ($p < 0.05$) al testigo que presentó una germinación de un poco más del 70%. El tratamiento Vo, con una germinación del 33% tuvo el mismo comportamiento. En el caso del tratamiento C, la germinación fue de 41%, aunque no fue significativamente diferente al testigo. Después del testigo, la mayor germinación la presentó el tratamiento En (79%) (figura 19).



El * en columnas denota diferencia respecto al testigo de acuerdo a la prueba de Kruskal-Wallis ($p \leq 0.05$)
 Test=testigo, Me=meristemos, En=endófitos, Vo=volumen de raíces, C=cuello de la planta

Figura 19. Porcentaje promedio de germinación por grupo de microorganismos aislados de la raíz de una variedad de chile susceptible a *P. capsici* (var. Joe E. Parker) sembrada en suelo de chinampa.

7.2.3.1 Experimento en campo, CP

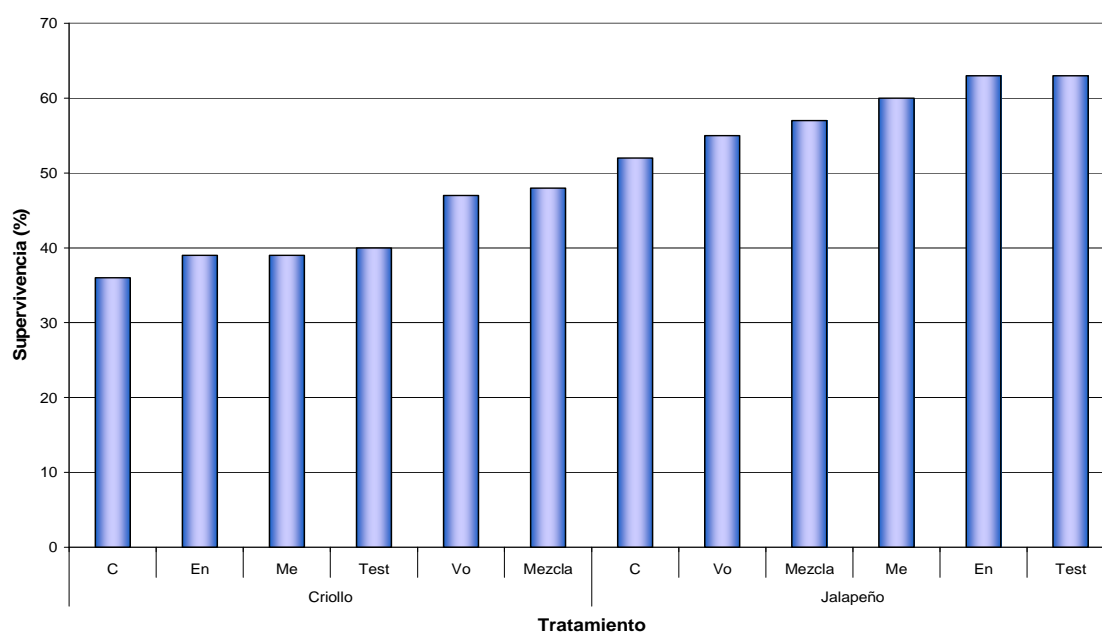
Se observaron en las charolas de almácigo porcentajes de germinación de hasta 95%, en los tratamientos Mezcla, Vo y testigo de la variedad jalapeño, siendo muy diferentes de los menores valores que corresponden a los tratamientos C y Me con valores de 50% y 75%, respectivamente ($p < 0.05$). En la variedad criollo, el mayor valor en la variable fue para el tratamiento Vo, siendo diferente de los demás tratamientos ($p < 0.05$). El menor valor se registró para el tratamiento C con 56% de germinación, siendo significativamente diferente de los demás tratamientos (cuadro 11).

La supervivencia 122 ddt no fue diferente ($p < 0.05$) entre tratamientos en cada una de las variedades de chile (figura 20). Sin embargo, en la variedad criollo, se observa la tendencia de mayor supervivencia en los tratamientos Mezcla y Vo, mientras que en la variedad jalapeño es mayor para los tratamientos Me, En y el testigo.

Cuadro 11. Porcentaje de germinación en almácigo para el experimento en el CP, en dos variedades de chile, en los diferentes tratamientos de microorganismos (aislamientos provenientes de una variedad de chile susceptible a *P. capsici*, var. Joe E. Parker sembrada en suelo de chinampa).

Sección de raíz	Jalapeño	Criollo
Aislamientos del cuello de la planta (C)	50.0 ^d	55.5 ^c
Aislamientos de meristemos radicales (Me)	75.0 ^c	85.0 ^b
Aislamientos del volumen de raíz (Vo)	93.0 ^a	97.5 ^a
Endófitos (En)	83.5 ^{bc}	87.5 ^b
Testigo (Test)	90.0 ^{ab}	88.0 ^b
C+Me+Vo+En (Mezcla)	95.0 ^a	85.0 ^b

Letras entre filas denotan diferencia (Kruskal-Wallis, $p \leq 0.05$).



C.V. 17.33

C.V. 17.41

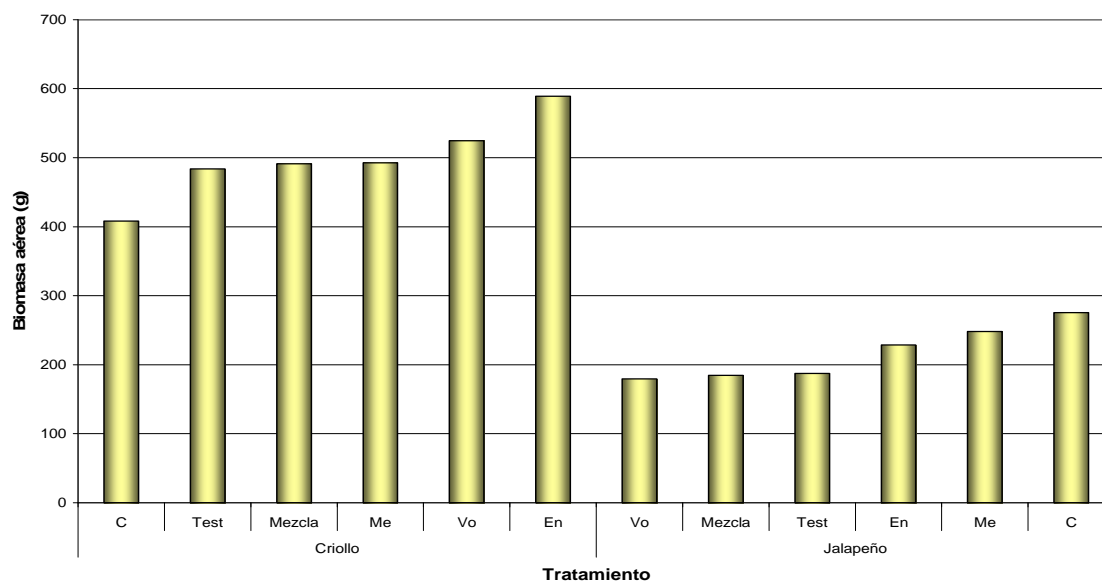
Test=testigo, Me=meristemos, En=endófitos, Vo=volumen de raíces, C=cuello de la planta

Figura 20. Porcentaje promedio de supervivencia de dos variedades de plantas de chile, en el Colegio de Postgraduados, 122 ddt, por tratamiento con diferentes grupos de microorganismos (aislamientos provenientes de una variedad de chile susceptible a *P. capsici*, var. Joe E. Parker sembrada en suelo de chinampa).

La biomasa aérea entre los tratamientos dentro de cada variedad no fue diferente ($p < 0.05$). La tendencia en la variedad criollo para los tratamientos En y Vo es la de acumular más biomasa aérea; y en el caso de la variedad jalapeño, los tratamientos C y Me (figura 21).

El rendimiento promedio fue siempre mayor para la variedad jalapeño que para la criollo. Aunque el valor de la variable para los diferentes tratamientos en cada variedad es igual. Para la variedad criollo, el rendimiento más alto lo presentó el tratamiento mezcla que resultó, en promedio, casi lo doble que el correspondiente valor para el testigo. En la variedad jalapeño, aunque sin diferencia entre tratamientos, los valores para los tratamientos En y Me son los más altos (figura 22).

El desarrollo de las raíces fue el mismo sin importar el tratamiento dentro de las dos variedades de chile. En la variedad criollo, el mayor peso de la raíz lo presentan los tratamientos En y Vo. Mientras que en la variedad jalapeño, los tratamientos En y Me (figura 23).

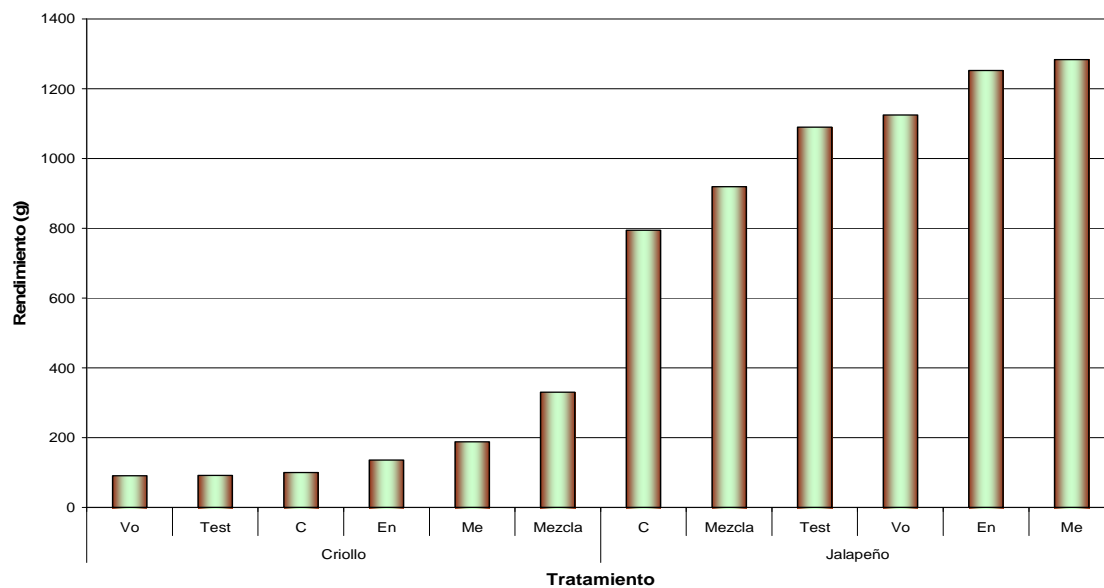


C.V. 23.66

C.V. 29.91

Test=testigo, Me=meristemas, En=endófitos, Vo=volumen de raíces, C=cuello de la planta

Figura 21. Biomasa aérea promedio (g) de dos variedades de plantas de chile, en el Colegio de Postgraduados, 122 ddt, por tratamiento con diferentes grupos de microorganismos (aislamientos provenientes de una variedad de chile susceptible a *P. capsici*, var. Joe E. Parker sembrada en suelo de chinampa).

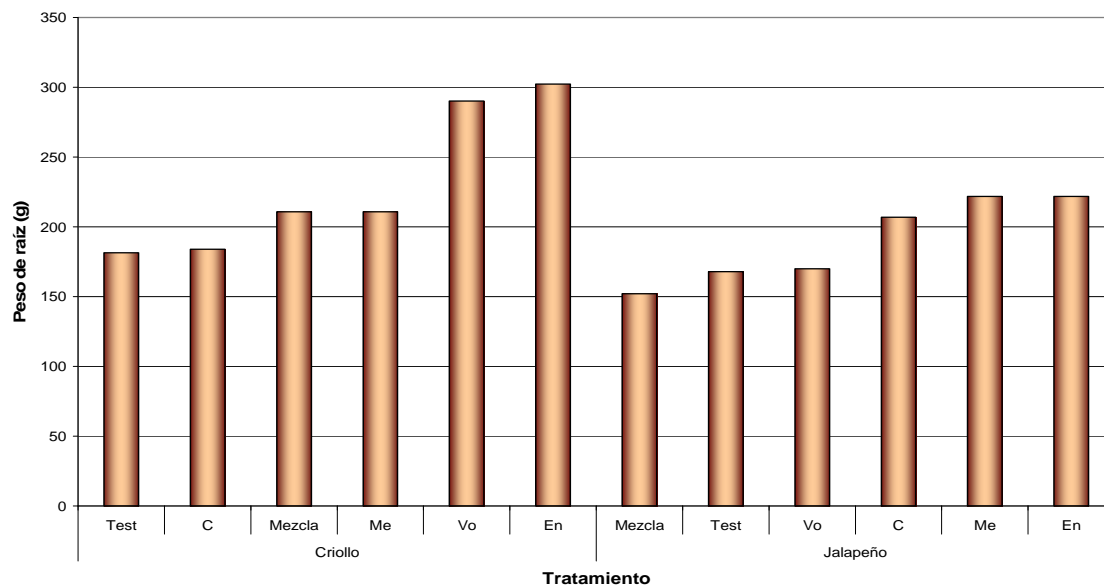


C.V.66.87

C.V. 30.05

Test=testigo, Me=meristemos, En=endófitos, Vo=volumen de raíces, C=cuello de la planta

Figura 22. Rendimiento promedio (g) de dos variedades de plantas de chile, en el Colegio de Postgraduados, 122 ddt, por tratamiento con diferentes grupos de microorganismos (aislamientos provenientes de una variedad de chile susceptible a *P. capsici*, var. Joe E. Parker sembrada en suelo de chinampa).



C.V.22.54

C.V. 19.37

Test=testigo, Me=meristemos, En=endófitos, Vo=volumen de raíces, C=cuello de la planta

Figura 23. Peso de raíces promedio (g) de dos variedades de plantas de chile, en el Colegio de Postgraduados, 122 ddt, por tratamiento con diferentes grupos de microorganismos (aislamientos provenientes de una variedad de chile susceptible a *P. capsici*, var. Joe E. Parker sembrada en suelo de chinampa).

7.2.4 Aislamientos obtenidos a partir de las raíces de una variedad de chile criollo del Valle de Tehuacán, Pue.

La cepa aislada y purificada a partir de raíces de las plantas colectadas presentó un crecimiento cameliforme en medio de cultivo V8, aunque hasta el momento no se ha podido inducir la formación de estructuras que puedan ayudar en su caracterización morfológica. La identificación filogenética del aislamiento indica que posiblemente se trate de un microorganismo del género *Pythium*. La secuencia del aislamiento presentó un porcentaje de similitud de 89% con la secuencia depositada en GenBank AY598714 correspondiente a *Pythium indigoferae*. Se necesita la amplificación de otros genes nucleares (por ejemplo, tubulina) e implementar estudios basados en su morfología para establecer su correcta identidad.

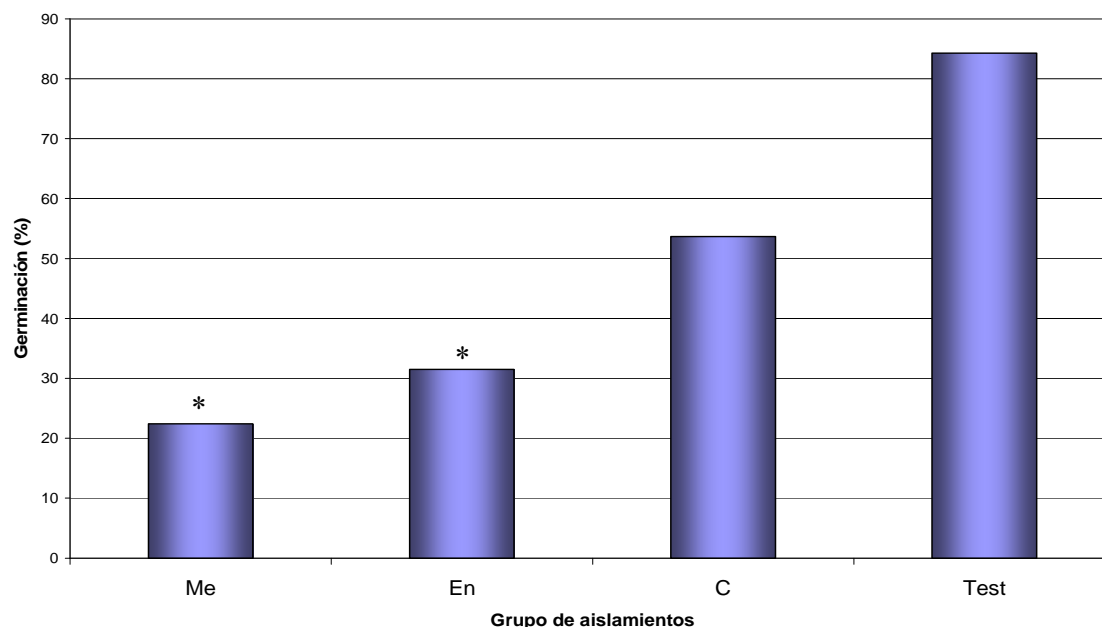
El total de los organismos aislados de las diferentes secciones de las raíces de chile susceptible fue de 317. De estos, 107 son para la sección Me, 108 para Vo, 49 para C y 53 para la sección En (cuadro 12).

Cuadro 12. Número total y de cada sección de microorganismos aislados de la rizósfera de una variedad de chile criollo del Valle de Tehuacán, Puebla.

Sección de raíz	Número de aislamientos
Endófitos (En)	53
Aislamientos del cuello de la planta (C)	49
Aislamientos del volumen de raíz (Vo)	108
Aislamientos de meristemas radicales (Me)	107
C+Me+Vo+En (Mezcla)	317

En la prueba individual de germinación, el mayor promedio fue para el testigo (84%) siendo significativamente diferente ($p < 0.05$) de los promedios de los tratamientos Me

(22%) y En (31%). El tratamiento C no fue significativamente diferente al testigo y presentó una germinación promedio de 54% (figura 24).



El * en columnas denota diferencia respecto al testigo de acuerdo a la prueba de Kruskal-Wallis ($p \leq 0.05$).
 Test=testigo, Me=meristemas, En=endófitos, Vo=volumen de raíces, C=cuello de la planta
 Vo=no se realizó

Figura 24. Porcentaje promedio de germinación por grupo de microorganismos aislados de la raíz de una variedad de chile criollo del Valle de Tehuacán, Puebla.

7.2.4.1 Experimento en campo, CP

En almácigos, el porcentaje de germinación para la variedad de chile jalapeño fue mayor en el testigo y en el tratamiento Me, y a excepción del tratamiento Me*, éstos fueron sensiblemente diferentes del resto de los tratamientos ($p < 0.05$). Los menores porcentajes en germinación se encuentran entre 34 y 11%, siendo la mezcla de todos los aislamientos el que presenta el menor valor ($p < 0.05$) (cuadro 13).

Para la variedad de chile criollo, la germinación en almácigo fue mayor ($p < 0.05$) en el tratamiento Me* (90%) siendo muy similar al testigo (82%) y al tratamiento En (79%), sin embargo fue significativamente diferente de C* que presentó el menor valor (54%) (cuadro 14).

Cuadro 13. Porcentaje de germinación en almácigo para el experimento en el CP, en la variedad de chile jalapeño, en los diferentes tratamientos de microorganismos (aislamientos de una variedad de chile criollo del Valle de Tehuacán, Puebla).

Sección de raíz	Jalapeño
Testigo (Test)	61 ^a
Aislamientos de meristemos radicales (Me)	61 ^a
Me*	50 ^{ab}
Endófitos (En)	34 ^{cb}
En*	32 ^c
C*	31 ^c
Aislamientos del cuello de la planta (C)	27 ^c
Aislamientos del volumen de raíz (Vo)	24 ^{cd}
C+Me+Vo+En (Mezcla)	11 ^d

Letras entre filas denotan diferencia (Kruskal-Wallis, $p \leq 0.05$).

*Tratamientos conformados por un grupo de aislamientos seleccionados con base en la prueba de germinación individual en cada tratamiento. Se seleccionaron aquéllos en donde la germinación fue mayor al 50% y todas las semillas germinadas sobrevivían.

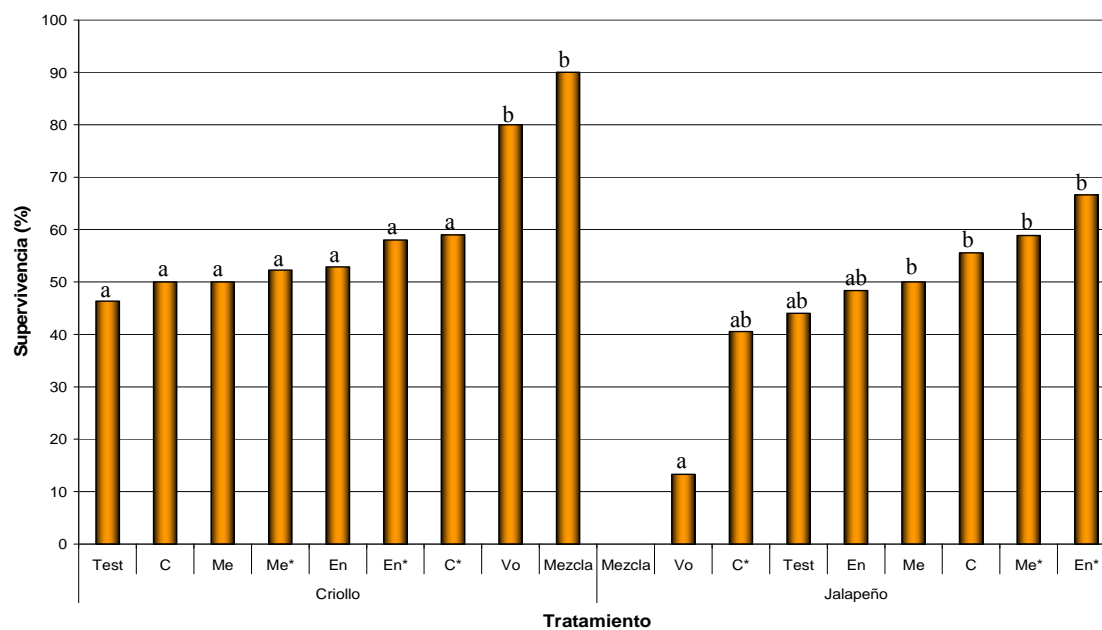
Cuadro 14. Porcentaje de germinación en almácigo para el experimento en el CP, en la variedad de chile criollo, en los diferentes tratamientos de microorganismos (aislamientos de una variedad de chile criollo del Valle de Tehuacán, Puebla).

Sección de Raíz	Criollo
Me*	90 ^a
Testigo (Test)	82 ^{ab}
Endófitos (En)	79 ^{abc}
Aislamientos de meristemos radicales (Me)	71 ^{bcd}
Aislamientos del cuello de la planta (C)	67 ^{bcd}
C+Me+Vo+En (Mezcla)	63 ^{cd}
Aislamientos del volumen de raíz (Vo)	62 ^d
En*	59 ^d
C*	54 ^d

Letras entre filas denotan diferencia (Kruskal-Wallis, $p \leq 0.05$).

*Tratamiento conformado por un grupo de aislamientos seleccionados con base en la prueba de germinación individual en cada tratamiento. Se seleccionaron aquéllos en donde la germinación fue mayor al 50% y todas las semillas germinadas sobrevivieron.

La supervivencia en campo 107 ddt, en la variedad de chile jalapeño, fue mayor en los tratamientos En*, Me*, C y Me en comparación con el tratamiento Vo ($p < 0.05$), sin embargo, no fue sensiblemente diferente en comparación con el testigo (figura 25). La supervivencia en esta variedad osciló entre valores de 13% y 67%. En el caso del tratamiento conformado por la mezcla de todos los aislamientos, las semillas presentaron un porcentaje bajo de germinación, además de que las plántulas al momento del transplante presentaban poco vigor por lo que no sobrevivieron al transplante. Para la variedad de chile criollo, los tratamientos con mayor supervivencia fueron para los tratamientos Mezcla y Vo (90% y 80%, respectivamente), siendo diferentes ($p < 0.05$) para el resto de los tratamientos y en donde el testigo tuvo el menor valor en supervivencia (46%) (figura 25).



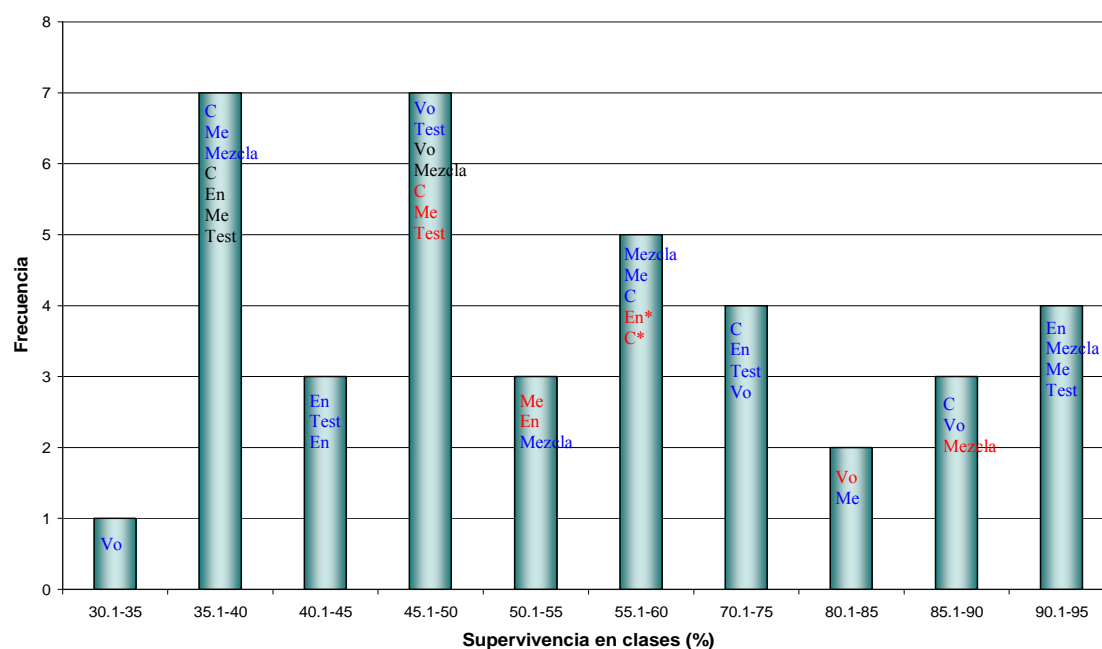
Letras entre columnas denotan diferencia (Kruskal-Wallis, $p < 0.05$).

Test=testigo, Me=meristemas, En=endófitos, Vo=volumen de raíces, C=cuello de la planta

*Tratamiento conformado por un grupo de aislamientos seleccionados en base a la prueba de germinación individual en cada tratamiento. Se seleccionaron aquellos en donde la germinación fue mayor al 50% y todas las semillas germinadas sobrevivían.

Figura 25. Porcentaje promedio de supervivencia de dos variedades de plantas de chile, 107 ddt, en el Colegio de Postgraduados, por tratamiento con diferentes grupos de microorganismos (aislamientos de una variedad de chile criollo del Valle de Tehuacán, Puebla).

Para apreciar la tendencia de los diferentes tratamientos establecidos con aislamientos de diferente origen en experimentos realizados bajo condiciones enteramente distintas (aislamientos a partir de una variedad de chile resistente CM-334, sembrada en suelo de chinampa, o, a partir de una variedad de chile susceptible, Joe E. Parker, sembrada en suelo de chinampa, o, a partir de una variedad criolla colectada en Tehuacán, Pue.), los datos de supervivencia por tratamiento se ordenaron en frecuencias dentro de clases de supervivencia para cada variedad de chile. Para la variedad de chile criollo se observa que el menor valor de supervivencia fue de 30% y el mayor fue de 95%. Cuatro de los seis testigos se ubican por debajo del 50% de supervivencia. Los valores de supervivencia ubicados en los intervalos 85.1-90 y 90.1-95.0 corresponden al experimento con los aislamientos a partir de una variedad de chile resistente que, como se describe anteriormente, se realizó bajo condiciones de bajo parasitismo. Sin embargo, los mayores valores en supervivencia siguen siendo para los tratamientos con aislamientos obtenidos a partir de una variedad de chile resistente y para la variedad de chile criolla colectada en Tehuacán, Pue. (figura 26). El histograma muestra que, aparte de los 6 testigos, 19 de los 33 tratamientos (correspondientes a 6 experimentos, 2 de invernadero y 4 de campo) se ubican en supervivencias por arriba del 50%, en donde aquéllos que estaban constituidos por aislamientos obtenidos a partir de una variedad de chile resistente fueron los más frecuentes.



Origen de los tratamientos:

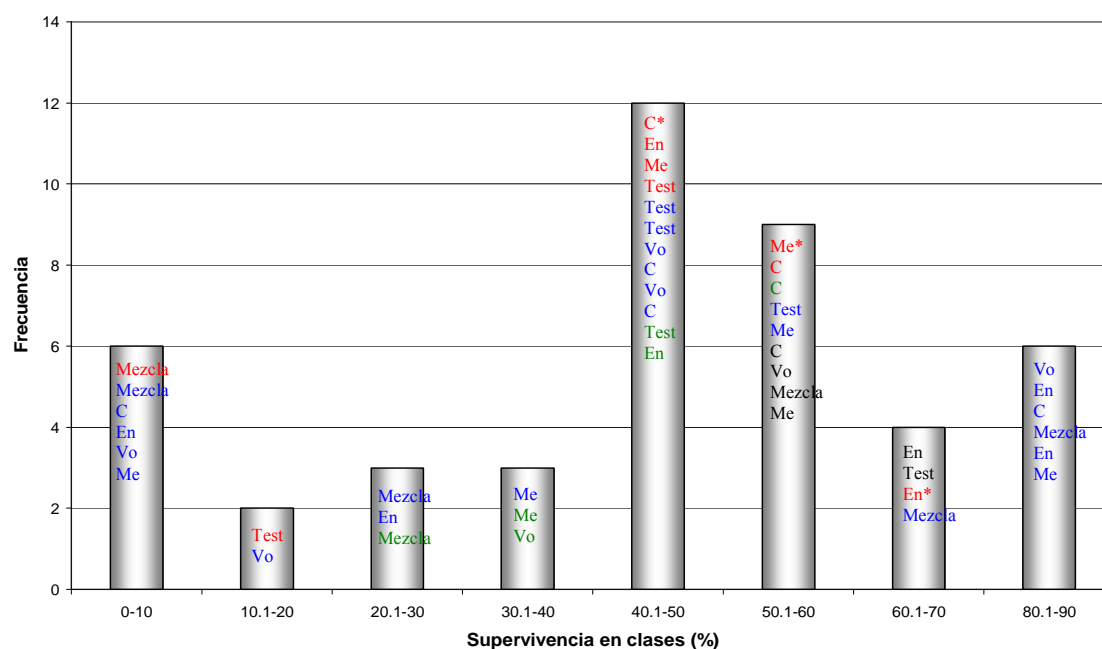
A partir de una variedad de chile resistente (CM-334) sembrada en suelo de chinampa.

A partir de una variedad de chile susceptible (Joe E. Parker) sembrada en suelo de chinampa.

A partir de una variedad criolla colectada en Tehuacán, Pue.

Figura 26. Frecuencia de supervivencia de plantas de chile criollo en experimentos realizados en diferentes localidades y con tratamientos de microorganismos obtenidos a partir de diferentes variedades de chile, sembradas en suelo de chinampa o de Tehuacán, Pue.

En general, los valores de supervivencia, para la variedad de chile jalapeño se ubicaron entre valores de 0% y hasta 90%. Cuatro de los siete testigos, de los siete experimentos que incluye el análisis (4 experimentos de campo y 3 de invernadero) se encuentran en la clase de supervivencia de 40-50%, en donde se ubica, también, el mayor valor en frecuencia. El histograma muestra que aparte de los testigos, 17 de los 38 tratamientos tuvieron supervivencia por arriba del 50%. Nuevamente, los valores en supervivencia más frecuentes fueron para los tratamientos que incluyeron a los aislamientos obtenidos a partir de una variedad de chile resistente y para la variedad de chile criolla colectada en Tehuacán, Pue. (figura 27).



Origen de los tratamientos:

A partir de una variedad de chile comercial jalapeño (Itasco®), sembrada en suelo de chinampa.

A partir de una variedad de chile resistente (CM-334), sembrada en suelo de chinampa.

A partir de una variedad de chile susceptible (Joe E. Parker), sembrada en suelo de chinampa.

A partir de una variedad criolla colectada en Tehuacán, Pue.

Figura 27. Frecuencia de supervivencia de plantas de chile jalapeño, en experimentos realizados en diferentes localidades y con tratamientos de microorganismos obtenidos a partir de diferentes variedades de chile, sembradas en suelo de chinampa o de Tehuacán, Pue.

Los datos obtenidos respecto al efecto de los tratamientos sobre la supervivencia en los 13 experimentos desarrollados en la presente investigación (6 con chile criollo y 7 con chile Jalapeño), se resume en el cuadro 15, pero sólo incluye los extremos de máxima y mínima supervivencia, como indicativos de efectos positivo o negativo por parte del número total de aislamientos incluidos en los distintos tratamientos y de acuerdo a la zona de la raíz de donde fueron aislados, al origen del suelo en el que fueron sembradas las plantas para obtener de ellas los aislamientos y a la variedad de chile de la cual fueron aislados. El efecto positivo o negativo sobre la supervivencia fue evaluado empleando variedades jalapeño comercial (Itasco®) y criollo Morelos (Atlacholoaya). En la variedad criollo (Atlacholoaya) se observan efectos positivos cuando el origen de los aislamientos fue el chile criollo colectado en Tehuacán y la variedad resistente CM-334 y en menor medida, la variedad susceptible (Joe E. Parker). En la variedad jalapeño, los efectos positivos se

observan notablemente cuando el origen de los tratamientos fue la variedad resistente (CM-334) y en menor grado cuando el origen fue la planta colectada en Tehuacán. También se observa que no importa la zona de la cual fueron aislados, el efecto positivo, cuando lo hay, se obtiene con aislamientos tanto del interior (En), como del exterior (Vo, Me, C) de la planta o incluso de la suma de todos los aislamientos que conformaron los tratamientos (C+Me+Vo+En).

Cuadro 15. Observaciones de efectos positivos (+) o negativos (-) encontrados en los extremos de los datos de supervivencia de 13 experimentos, 7 de campo y 6 de invernadero, obtenidos en dos variedades de chile, como resultado de la influencia de aislamientos provenientes de diferentes suelos y obtenidos en variedades susceptible y resistente sembrados en suelo de Chinampa y criollo colectado en Tehuacán, Pue.

Zona radical de aislamiento	Variedad de planta usada en el aislamiento de microorganismos			
	Comercial jalapeño (Itasco®), sembrada en suelo de chinampa	Resistente (CM-334) sembrada en suelo de chinampa	Susceptible (Joe E. Parker) sembrada en suelo de chinampa	Criollo (Colectado en Tehuacán, Pue.)
Endófitos (En)	9	-+++ 2	2	+ 53
Cuello (C)	+ 14	+ 12	- - 17	+ 49
Volumen (Vo)	18	- + 43	45	+ - 108
Meristemos (Me)	32	+++ + 67	74	+++ 107
C+Me+Vo+En (Mezcla)	- 73	- -+++ 124	+ - 138	+ - 317

Semilla usada en los bioensayos:

Chile comercial jalapeño (Itasco®).

Chile criollo Morelos (Atlacholoaya).

El número de morfotipos aislados en cada zona radical se encuentra en la parte superior derecha de cada celda.

8 DISCUSIÓN

8.1 Control Biológico de *Phytophthora capsici* usando números crecientes de aislamientos de antagonistas

Se acepta la hipótesis de que la incorporación de microorganismos antagónicos a los sustratos de germinación facilita su establecimiento y tiene como propiedad emergente el control biológico de la enfermedad inducida por *Phytophthora capsici*, ya que se evidenció una mayor frecuencia de supervivencia, en ambos experimentos, El Ajengibre y en la UACH, en los tratamientos que introdujeron antagonistas en la forma de complejos; en otras palabras, siempre fue mejor inocular con complejos de microorganismos antagónicos que sembrar plantas sin ningún tratamiento. Por ejemplo, en El Ajengibre, la diferencia entre el tratamiento de mayor supervivencia y el testigo es de más del 38%; diferencia que, en grandes extensiones del cultivo, podría significar miles de plantas vivas. De igual forma, en el caso de la UACH, la diferencia entre el mayor valor en supervivencia y el testigo fue de casi 37%. Estos resultados coinciden con los obtenidos por Raupach y Kloepper (1998) quienes indican que el tratamiento con mezclas de rizobacterias puede incrementar la protección en contra de las enfermedades causadas por *Rhizoctonia solani* y *Fusarium spp.* y mejorar la consistencia del control biológico en condiciones de campo, ya que es poco probable que un sólo antagonista sea activo en todos los tipos de suelos y agroecosistemas. De igual manera, se ha reportado que el tratamiento con mezclas de antagonistas reduce la severidad de diversas enfermedades: *Phytophthora infestans* en jitomate (Lourenço *et al.*, 2006); *Fusarium Oxysporum* f. sp. *lycopersici* en jitomate (Srivastava *et al.*, 2009); en las enfermedades de la mazorca del cacao inducidas por *Moniliophthora roreri*, *Crinipellis pernicioso* y *Phytophthora palmivora* (Krauss y Soberanis, 2001); y en contra de *Alternaria solani* en jitomate (Latha *et al.*, 2009).

Partiendo del principio ecológico de que la diversidad lleva a la estabilidad, se planteó la hipótesis de que el aumento en la diversidad microbiana en los sustratos de almácigo traería consecuentemente la aparición del control biológico de *P. capsici*, sin embargo, se observó que se obtiene un aumento en la supervivencia de las plantas igual con tratamientos que

incluían sólo 8 aislamientos que si se incluían 32, lo que indica que no es la cantidad sino el tipo de microorganismos lo que induce un efecto en la disminución de la enfermedad, lo que lleva a rechazar la hipótesis. Similarmente, Bautista (2008) comenta que el éxito de los complejos de antagonistas, usados en sus experimentos, no estuvo determinado por la cantidad de aislamientos empleados sino por el empleo de los antagonistas en consorcios. Raupach y Kloepper (1998) comentan que el usar consorcios de antagonistas aumenta ligeramente la supervivencia en cultivos de pepino que si se usan los agentes de control por separado, pero que el verdadero éxito del uso de mezclas de antagonistas radica en una mayor consistencia de los resultados en la práctica del control biológico.

Un control biológico eficiente debería ser aquél que cumpliera su función de manera consistente en una amplia variedad de condiciones edáficas y ambientales. En este sentido, es aceptada la hipótesis de que el control biológico, mediante el establecimiento de antagonistas con complejidad ascendente, es repetible bajo diferentes condiciones iniciales, esto debido a que las condiciones iniciales edáficas y ambientales en los experimentos fueron distintas: mientras que El Ajengibre se localiza en el trópico, Chapingo se encuentra en un clima templado a 2250 m.s.n.m. Las condiciones fitosanitarias también fueron diferentes, en Chapingo se corroboró la presencia de *Phytophthora* que posiblemente fue la causa de muerte de plantas de Chile; en el Ajengibre, no se confirmó su presencia pero el nicho vacío en este ecosistema es ocupado por *Phytium* que fue la posible causa de muerte de plantas. Las comunidades microbianas tuvieron la misma composición en los diferentes tratamientos en los sustratos, entonces las condiciones iniciales fueron las mismas sólo en los almácigos. Así que de acuerdo a los resultados obtenidos y comparados con los de años anteriores (Bautista, 2008) se observa una tendencia hacia una mayor supervivencia resultado del control biológico a través de tratamientos con complejos de antagonistas. De acuerdo a la teoría general de sistemas, la composición de especies en la comunidad persistente es una propiedad emergente de la complejidad inicial y se deriva de las interacciones entre todas las especies originales de la comunidad. Es claro que en los experimentos realizados en los campos experimentales en Chapingo y en El Ajenjibre no es de esperar el mismo tipo de comportamiento en los tratamientos, pero sí, un comportamiento similar en relación a los grupos de organismos que actuaron en el

abatimiento de la enfermedad causada por *P. capsici*. De manera similar, Bautista (2008) encontró que el grupo de los actinomicetos y hongos micoparasíticos fueron predominantes en los tratamientos que incrementan la supervivencia. La mayor frecuencia en supervivencia y el efecto en promoción de crecimiento, evidencian que los microorganismos inoculados en los sustratos de germinación fueron capaces de sobrevivir en la rizósfera y cambiar las condiciones dentro de ésta. Posiblemente, la mayor supervivencia en algunos tratamientos muestra un posible cambio en el comportamiento, al haber cambiado la estructura del patosistema mediante el uso de antagonistas en consorcios.

Los tratamientos a los sustratos de germinación, con números crecientes de antagonistas, causan un efecto positivo en el crecimiento de las plantas, lo que es evidencia para aceptar la hipótesis de que la complejidad de antagonistas induce un efecto de promoción de crecimiento en las plantas de Chile. A excepción del tratamiento B+Ha, los tratamientos con diferentes grupos de antagonistas en los sustratos de germinación indujeron, en el experimento en El Ajengibre, un aumento en la altura de las plantas respecto al testigo, además de un efecto antagónico a fitopatógenos de raíz. Se observó también un efecto en promoción de crecimiento como lo conceptualizan Kloepper *et al.* (1980). En el enfoque clásico de control biológico, no se espera otro efecto de los agentes de control más que el de antagonizar a los patógenos; sin embargo, se ha documentado que los agentes de control biológico tienen, además, la propiedad adicional de estimular el crecimiento vegetal (Kloepper *et al.*, 1999; Kravchenko *et al.*, 2002). La promoción de crecimiento es muy común en la naturaleza y puede ser considerada como un *continuum*, en el cual, las interacciones entre plantas y microorganismos inducen desde efectos deletéreos (patógenos) hasta benéficos (promotores de crecimiento) (van Loon, 2007). Se ha sugerido que el aumento en el crecimiento de las plantas es inducido por la interacción de las rizobacterias con la microflora nativa de la rizósfera (Kloepper y Schroth, 1981), por la capacidad de las rizobacterias para fijar nitrógeno atmosférico, de aumentar la obtención de iones a partir de la solución del suelo, producir fitohormonas (van Loon, 2007) e, indirectamente, por limitar la actividad de patógenos o parásitos (Sikora, 1992).

La supresividad de suelos a enfermedades es una condición permanente e incluye el volumen de suelo total de una determinada área; sin embargo, no puede hablarse de una condición temporal de supresividad a enfermedades si se habla sólo de rizósfera y su zona de influencia. En este trabajo, se pretendió el control de la enfermedad causada por *P. capsici* usando consorcios de agentes microbianos mediante su establecimiento (evitando la homeostasis natural del suelo) y buen funcionamiento (antagonismo) en la rizósfera de plantas de Chile. Aunque se cambia la estructura de la rizósfera durante el período del cultivo en el campo, no se ha evaluado si los efectos, al término del cultivo, son permanentes.

En el control biológico, con una visión reduccionista, los agentes de control son aislados del volumen de suelo, probados *in vitro* por actividad antagónica frente uno o más patógenos (o propágulos) y, finalmente, multiplicado en algún sustrato y aplicado directamente al suelo en zonas con determinados problemas fitosanitarios. Sin embargo, los criterios antropocéntricos de esta selección no han rendido los mejores resultados. Si bien es lógico suponer que el mejor sitio para obtener los agentes de control es aquél en el cual requieren ser adicionados masivamente (el volumen del suelo), es lógico suponer también, que si se establece una asociación entre los agentes de control microbianos y la rizósfera de las plantas que se pretenden proteger, éstos podrían evadir la homeostasis natural del suelo y ser más eficientes en su capacidad de inducir el control biológico. Esta especificidad parece prometedora y es por ello que en la siguiente sección se analiza el control que ejercen los microorganismos asociados a la rizósfera de plantas de Chile, sobre todo de resistentes a *P. capsici*, y de aquéllos aislados de plantas cultivadas en Tehuacán, Pue.

8.2 Comunidades de hongos de diferentes procedencias, su establecimiento en la rizósfera y el control biológico de *P. capsici*.

Las probabilidades de que el control biológico ejercido por consorcios, específicamente aislados de la rizósfera, sea más eficiente que cuando se aíslan del volumen del suelo, con base únicamente en su capacidad antagónica *in vitro*, planteada como hipótesis para esta parte del trabajo, parece aceptable sólo cuando la variedad con la que se realizan los aislamientos es resistente o cuando los aislamientos son obtenidos con materiales criollos en suelo de la región de origen del cultivo. Como se observa en las figuras 16, 17 y 18, los tratamientos con aislamientos obtenidos a partir de una variedad de chile resistente (CM-334) y los obtenidos a partir de la variedad colectada en Tehuacán en la figura 25, son los que presentaron la mayor supervivencia. A diferencia de esto, en la figura 11 y 20 respectivamente, se observa que los tratamientos con los aislamientos obtenidos a partir de una variedad de chile jalapeño comercial y los obtenidos a partir de una variedad susceptible mostraron los menores valores en supervivencia y, en algunos casos, efectos deletéreos sobre las plantas.

Cuando se presentó el control biológico de *P. capsici* se llevó a cabo igual con tratamientos que incluían sólo 2 aislamientos, que fue el caso de algunos endófitos, que si se incluía el número máximo que corresponde para la mezcla de todos los aislamientos obtenidos (317) de la variedad colectada en Tehuacán, como se observa en el cuadro 15. Esta observación sugiere, nuevamente, que no es la cantidad lo que induce un efecto en la disminución de la incidencia de la enfermedad, lo que lleva a rechazar la hipótesis de que: el aumento en la diversidad microbiana en los sustratos de almácigo traería consecuentemente la aparición del control biológico de *P. capsici*. Sin embargo, y de acuerdo a Raupach y Kloepper (1998), el verdadero éxito del uso de mezclas de antagonistas radica en una mayor consistencia de los resultados en la práctica del control biológico. En relación a ello, los endófitos pueden ser de particular interés, debido a que, como se observa en la figura 17, 18 y 25, los endófitos mostraron mayor supervivencia que el testigo en ambientes tan disímiles como lo son invernadero y campo. Los endófitos tienen la ventaja de estar relativamente protegidos del ambiente altamente competitivo y estresante que constituye el suelo

(Kloepper *et al.*, 1999; Sturz *et al.*, 2000; Whipps, 2001). Además, en la inducción de efectos tales como la promoción de crecimiento y el control de fitopatógenos con origen en el suelo, se ha observado que es mayor cuando es inducido por endofitos que cuando las bacterias se restringen a la rizósfera o a la superficie de la raíz (Conn *et al.*, 1997; Chanway *et al.*, 2000; Wulff *et al.*, 2002).

Los tratamientos con los diferentes grupos de aislamientos obtenidos a partir de una variedad de chile resistente (CM-334), a diferencia de los obtenidos de la variedad susceptible (Joe E. Parker), son los que presentaron la mayor supervivencia (figuras 26 y 27), lo que lleva a aceptar la hipótesis: los microorganismos asociados a la rizósfera de una variedad resistente propician el surgimiento del fenómeno de control biológico, una vez reintroducidos en almácigos de una variedad susceptible (Jalapeño Itsco®). La variedad susceptible (Jalapeño Itsco®), se mostró de muy susceptible a susceptible en la mayoría de los experimentos. En el caso de la variedad de chile criollo Morelos (Atlacholoaya) los resultados de susceptibilidad fueron variables. Ortega *et al.* (1995), comentan que la expresión de resistencia a *P. capsici* en chile es afectada por condiciones ambientales, de entre ellas, el inóculo del patógeno es la más importante. En las condiciones en las que se desarrollaron estos experimentos, probablemente, en algunos casos, el inóculo en el suelo no fue suficiente como para que haya habido desarrollo de la epidemia en la variedad de chile criollo, aunque *Phytophthora* fue aislado en plantas con síntomas de marchitez y pudrición de raíces en las plantas muertas de todos los experimentos. Lo anterior sugiere que, sin establecer la efectividad ni la intensidad, la variedad de chile criollo (Atlacholoaya) es menos susceptible a *Phytophthora* que la variedad de chile jalapeño (Itsco®). Al usar la variedad de chile criollo (Atlacholoaya) en los experimentos se esperaba que el control biológico y la resistencia se dieran apoyo mutuo de tal manera que los datos de supervivencia en esta variedad criolla regional fueran notablemente mayores en las diferentes localidades en donde se establecieron los experimentos. El fenómeno de control biológico, en la variedad Jalapeño (Itsco®) se llevo a cabo bajo diferentes condiciones iniciales (campo e invernadero) lo que da un indicio de que el control biológico mediante el establecimiento de comunidades de microorganismos puede ser repetible. No obstante, cuando se presentó, fue debido a diferentes tratamientos, nunca el mismo. En su modelo

computarizado de simulación del proceso de la evolución, Jim Drake observó que en un sistema la complejidad es precursora de estabilidad. De sus experimentos deduce que la estabilidad es una propiedad emergente de la complejidad inicial y de la composición de especies en una comunidad y se deriva de las interacciones entre todas esas especies originales de la comunidad y no sólo de algunas especies en particular; comenta además, que durante el proceso, existen especies que son eliminadas y otras que persisten, ambas resultantes de la interacción local de cada sistema, en donde aparecen distintos patrones de conducta entre las especies (competencia o antibiosis), éstas se autoorganizan de manera crítica hasta encontrar el equilibrio y sobreviven las más aptas de acuerdo a cada sistema dinámico complejo (Lewin, 1992). De esta manera, no es sorprendente que aunque surgió el fenómeno de control biológico, siempre fue con base en diferentes tratamientos (complejos).

La hipótesis planteada en este trabajo, de que la inoculación con consorcios microbianos induce disminución de la germinación en almácigos, pero las plantas sobrevivientes tienen mayor capacidad de supervivencia en condiciones de campo, parece aceptable. Los aislamientos obtenidos de las diferentes plantas y localidades impiden en cierto grado la germinación de las semillas de chile, o causan la muerte de plántulas, sobre todo en las pruebas individuales de germinación por aislamiento, como se observa en los promedios por grupo de microorganismos en las figuras 9, 12, 20 y 24. Aun cuando se combinaron en los diferentes tratamientos, la germinación en los almácigos fue, en algunos casos, menor al 50% (cuadros 8, 9, 13 y 14), lo cual sería causa suficiente para que en situaciones de producción comercial, se tomara la decisión de eliminar dichos almácigos. Sin embargo, las plántulas sobrevivientes de estos almácigos, tuvieron valores de supervivencia, en condiciones de campo o invernadero de hasta 90% (figuras 26 y 27). Siguiendo el modelo de Jim Drake (Lewin, 1992), las plantas sobrevivientes fueron producto de la autoorganización en los almácigos por lo que, al momento del trasplante al campo, o en macetas en invernadero, las raíces de las plantas estaban colonizadas con microorganismos benéficos previamente seleccionados por las plantas que les conferían mayor supervivencia en estas condiciones.

Diversos estudios han documentado la relación entre el grado de supresión a enfermedades en las plantas y la diversidad o abundancia de las comunidades microbiales del suelo (Nitta, 1991; Abawi y Widmer, 2000), y aunque los resultados aquí obtenidos muestran que el suelo de chinampa y el suelo de Tehuacán, Puebla, son suelos altamente diversos en microorganismos, la hipótesis de que los aislamientos a partir de suelo supresor son más eficientes en el efecto de control ejercido sobre *P. capsici* que aquéllos aislados de otro suelo no puede ser sustentada. Debido a que no se pudo realizar el experimento, no es posible determinar si usando la variedad de chile resistente (CM-334) en suelo de Tehuacán los microorganismos que se aíslan de su rizósfera tendrían mayor eficacia en el control biológico que la eficacia descrita en los experimentos en donde la variedad usada fue resistente (CM-334) y cultivada en suelo de chinampa. En las condiciones en las que se desarrollaron estos experimentos, se reporta un máximo de 138 morfotipos aislados, tanto del exterior como del interior de la raíz cuando el suelo utilizado fue de chinampa (cuadros 5, 7 y 10). Para el caso de las plantas colectadas en el Valle de Tehuacán, el número de morfotipos aislados fue de 317 (cuadro 12). De esta manera, se esperaría que los microorganismos aislados de las raíces de las plantas cultivadas en suelo de las dos localidades tuviera un impacto importante en el control biológico de *P. capsici*. Sin embargo, se observó mayor supervivencia en los tratamientos con aislamientos provenientes de suelo de chinampa (figuras 16, 17 y 18) que en aquéllos provenientes de Tehuacán (figura 25). Heredia *et al.* (1988) comentan que las raíces de las plantas pueden ejercer un efecto tanto cualitativo como cuantitativo en las poblaciones fúngicas del suelo, pero que dicho efecto puede ser variable dependiendo del tipo de suelo y de cultivo. En el caso de Tehuacán, los microorganismos fueron aislados de una variedad de chile criollo regional mientras que a partir del suelo de chinampa, el número de aislamientos y su efecto en el control biológico dependió de la variedad de chile cultivada.

9 CONCLUSIONES

En las condiciones en las que se desarrollaron los experimentos se observó que la incorporación de microorganismos antagónicos a los sustratos de germinación facilita su establecimiento y tiene como propiedad emergente el control biológico de la enfermedad inducida por *Phytophthora capsici*, fenómeno que es repetible bajo diferentes condiciones iniciales. Sin embargo, la efectividad del control ejercido por consorcios de agentes microbianos aislados del volumen del suelo a diferencia de los aislados de la rizósfera de las plantas, depende de la variedad de chile del cual fueron aislados. Los microorganismos asociados a la rizósfera de una variedad resistente propiciaron el surgimiento del fenómeno de control biológico, una vez reintroducidos en almácigos de una variedad susceptible. El aumento en la diversidad microbiana en los sustratos de almácigo no es proporcional a la disminución en la enfermedad, lo que indica que no es la cantidad sino el tipo de microorganismos lo que induce el efecto de control biológico. En almácigos, la inoculación con consorcios microbianos inducen disminución de la germinación, sin embargo, las plantas sobrevivientes tuvieron mayor capacidad de supervivencia en condiciones de campo. Aunque el origen de los microorganismos usados como agentes de control es importante, lo es también la rizósfera del tipo de planta del cual van a ser aislados, ya que como se ha demostrado aquí, las comunidades microbianas tienen diferente efecto en el control biológico de acuerdo a la variedad de chile usada (susceptible o resistente), aunque hayan sido sembradas y cultivadas en el mismo suelo (suelo de chinampa).

10 BIBLIOGRAFÍA

Abawi, G.S.; Widmer, T.L. 2000. Impact of soil health management practices on soil-borne pathogens, nematodes and root diseases of vegetables crops. *Appl. Soil Ecol.* 15:37-47.

Alabouvette, C.; Couteaudier, Y.; Louvet, J. 1985. Soil suppressive to *Fusarium* wilt: Mechanisms and management of suppressiveness. *In: Ecology and management of soil borne plant pathogens.* Parker, C.A.; Rovira, A.D.; Moore, K.J.; Wong, P.T.W. (eds.). The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota. USA. Pp. 101-106.

Arauz, C.L.F. 1998. Fitopatología: Un enfoque agroecológico. Editorial de la Universidad de Costa Rica. San José de Costa Rica. Págs. 333-335.

Baker, K.F.; Cook, R.J. 1974. Biological control of plant pathogens. Freeman WH and company. The American Phytopathological Society Press. St. Paul, Minnesota. USA. 432 pp.

Bautista, C.J. 2008. Supresividad a *Phytophthora capsici* con complejidad ascendente de antagonistas en sustratos de germinación de los cultivos. Tesis doctoral. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco, Edo. de México.

Bautista, C.J.; García, E.R.; Pérez, M.J.; Zavaleta, M.E.; Montes, B.R.; Ferrera, C.R. 2008. Inducción de supresividad a fitopatógenos del suelo. Un enfoque holístico al control biológico. *Interciencia* 33:96-102.

Beard, G.; Douds, D.D.; Pfeffer, P.E. 1992. Extensive *in vitro* hyphal growth of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in presence of CO₂ and flavonols. *Appl. Environ. Microbiol.* 58:821-825.

Becker, J.O.; Zavaleta-Mejía, E.; Colbert, S.F.; Schroth, M.N.; Weinhold, A.R.; Hancock, J.G.; van Gundy, S.D. 1988. Effects of rhizobacteria on root-knot nematodes and gall formation. *Phytopathology* 78(11):1466-1469.

Borneman, J.; Becker, J.O. 2007. Identifying microorganisms involved in specific pathogen suppression in soil. *Annu. Rev. Phytopathol.* 45:153-172.

Briggs, J.; Peat, F.D. 1994. Espejo y reflejo, del caos al orden. Editorial Gedisa S.A. 2ª edición. Barcelona, España. 222 págs.

Capper, A.L.; Higgins, K.P. 1993. Application of *Pseudomonas fluorescens* isolates to wheat as potential biocontrol agents against take-all. *Plant Pathology* 42:560-567.

Capra, F. 1999. La trama de la vida. Una nueva perspectiva de los sistemas. Traducción de Sempau, D. Segunda edición. Editorial Anagrama. Barcelona, España. 367 págs.

- Chanway, C.P.; Shishido, M.; Nairn, J.; Jungwirth, S.; Markham, J.; Xiao, G.; Holl, F.B. 2000. Endophytic colonization and field responses of hybrid spruce seedlings after inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria. *For. Ecol. Manag.* 133:81-88.
- Chen, W.; Hoitink, H.A.J.; Schmitthenner, A.F.; Tuovinen, O.H. 1988. The role of microbial activity in suppression of damping-off caused by *Pythium ultimum*. *Phytopathology* 78:314-322.
- Conn, K.L.; Nowak, J.; Lazarovitz, G. 1997. A gnotobiotic bioassay for studying interactions between potato and plant growth-promoting rhizobacteria. *Can. J. Microbiol.* 43:801-808.
- Curl, E.A. 1986. *The Rhizosphere*. Berlin: Springer-Verlag. 288 pp.
- Dandurand, L.M.; Knudsen, G.R. 1993. Influence of *Pseudomonas fluorescens* on hyphal growth and biocontrol activity of *Trichoderma harzianum* in the spermosphere and rhizosphere of Pea. *Phytopathology* 83(3):265-270.
- De Bach, P. 1977. *Lucha biológica contra los enemigos de las plantas*. Mundi-Prensa, Madrid. 399 pp.
- Desai, S.; Reddy, M.S.; Kloeppe, J.W. 2002. Comprehensive testing of biocontrol agents. In: *Biological control of crop diseases*. Gnanamanickam, S.S. (ed.). University of Madras-Guindy Chennai, Tamil Nadu, India. Marcel Dekker, Inc. New York, E.U. Pp. 387-420.
- Eshbaugh, W.H. 1976. Genetic and biochemical systematic studies of chili peppers (*Capsicum*-Solanaceae). *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 102(6):396-403.
- Ezziyyani, M., Pérez, S.C., Requena, M.E., Rubio, L., Candela, E.M. 2004. Biocontrol por *Streptomyces rochei*-Ziyani-, de la podredumbre del pimiento (*Capsicum annuum* L.) causada por *Phytophthora capsici*. *Anales de Biología* 26:69-78.
- Fischer, K.S.; Edmeades, G.O.; Johnson, E.C. 1989. Selection for the improvement of maize yield under moisture-deficits. *Field Crop Res.* 22:227-243.
- Foster, R.C. 1986. The ultrastructure of the rhizoplane and rhizosphere. *Ann. Rev. Phytopathol.* 24:211-234.
- Fravel, D.R. 2005. Commercialization and implementation of biocontrol. *Ann. Rev. Phytopathol.* 43:337-359.
- Garbeva, P.; van Veen, J.A.; van Elsas, J.D. 2004. Microbial diversity in soil. Selection of microbial populations by plant and soil type and implications for disease suppressiveness. *Annu. Rev. Phytopathol.* 42:243-270.

- García-E, R. 1994. Root pathogens in the agroecosystems of México. In: Etcheverts, B. (ed.). Transactions volume 4a, 15th World Congress of Soil Science. International Society of Soil Science. México. Pp. 30-44.
- García, E.R. 2000. Algunos trabajos en México sobre caracterización e inducción de supresividad de suelos a enfermedades de la raíz. En: La edafología y sus perspectivas al siglo XXI. Quintero-Lizaola, R.; Reyna-Trujillo, T.; Corlay-Chee, L.; Ibáñez-Huerta, A.; García-Calderón, N.E. (eds). Universidad Nacional Autónoma de México-Colegio de Postgraduados-Universidad Autónoma Chapingo. México. Págs. 306-317.
- García, E.R. 2007. Control biológico y supresividad. En: Microbiología agrícola para el siglo XXI. Ferrera, C.A.; Alarcón, A. (eds). Editorial Trillas. Colegio de Postgraduados, Montecillo, Texcoco, Edo. de México. Págs. 328-341.
- Gassmann, A.; Schroeder, D. 1995. The search for effective biological control agents in Europe: History and lessons from Leafy Spurge (*Euphorbia esula* L.) and Cypress Spurge (*Euphorbia cyparissias* L.). *Biological Control* 5:566-477.
- Gindrat, D. 1979. Biocontrol of plant diseases by inoculation of fresh wounds, seeds and soil. In: Soil-borne plant pathogens. Schippers, B.; Gams, W. (eds.). Academic Press. New York. USA. Pp. 537-551.
- Guetsky, R., Shtienberg, D., Elad, Y., Fischer, E., Dinoor, A. 2002. Improving biological control by combining biocontrol agents each with several mechanisms of disease suppression. *Phytopathology* 92(9):976-985.
- Heredia, G.; Ulloa, M.; Sosa, V.J. 1988. Estudio comparativo entre las comunidades fúngicas del suelo y de la rizósfera de plantas de espinaca cultivadas bajo el sistema de chinampas. *Rev. Lat-Amer. Microbiol.* 30:155-161.
- Hernández-Verdugo, S; Aranda-Dávila, P; Oyama, K. 1999. Review of taxonomy, origin and domestication of the genus *Capsicum*. *Boletín de la Sociedad Botánica de México.* 64:65-84.
- Hoffland, E.; Findenegg, G.R.; Nelemans, J.A. 1989. Solubilization of rock phosphate by rape. II. Local root exudation of organic acids as a response to P-starvation. *Plant Soil* 113:161-165.
- Hokkanen, H.M.T. 1985. Success in classical biological control. *CRC Crit. Rev. Plant Sci.* 3:35-72.
- Hornby, D. 1983. Suppressive soils. *Annu. Rev. Phytopathol.* 21:65-85.
- Howell, C.R. 2003. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: The history and evolution of current concepts. *Plant Disease* 87(1):4-9.

- IBPGR. 1983. Genetics Resources of *Capsicum* – A global Plan Action. International Board for Plant Genetic Resources AGPG / IBPGR /82 / 12. Rome. Italy. 49 pp.
- Jacobsen, B.J., Zidack, N.K., Larson, B.J. 2004. The role of *Bacillus*-based biological control agents in integrated pest management systems: plant diseases. *Phytopathology* 94(11):1272-1275.
- Janisiewicz, W. 1996. Ecological diversity, niche overlap, and coexistence of antagonists used in developing mixtures for biocontrol of postharvest disease of apples. *Phytopathology* 86:473-479.
- Jetiyanon, K.; Klopper, W.J. 2002. Mixtures of plant growth-promoting rhizobacteria for induction of systemic resistance against multiple plant diseases. *Biological Control* 24:285-291.
- Johnson, K.B.; Stockwell, V.O. 1998. Management of fire blight: a case study in microbial ecology. *Annu. Rev. Phytopathol.* 36:227-248.
- Kay, J.J. 2000. Ecosystems as Self-organizing Holarchic Open Systems: Narratives and the second law of thermodynamics. In: *Handbook of Ecosystem Theories and Management*, Sven, E.J.; Müller, F. (eds.). CRC Press-Lewis Publishers. Pp. 135-160.
- Klopper, J.W.; Leong, J.; Teintze, M.; Schoroth, M.N. 1980. Enhanced plant growth by siderophores produced by plant growth-promoting rhizobacteria. *Nature* 286:855-886.
- Klopper, J.W.; Rodríguez-Kábana, R.; Zehnder, G.W.; Murphy, J.F.; Sikora, E.; Fernández, C. 1999. Plant root-bacterial interactions in biological control of soil borne diseases and potential extension to systemic and foliar diseases. *Australasian Plant Pathology* 28:21-26.
- Klopper, J.W.; Schroth. 1981. Plant growth-promoting rhizobacteria and plant growth under gnotobiotic conditions. *Phytopathology* 71:642-644.
- Knudsen, I.M.B.; Hockenhull, J.; Jensen, D.F.; Gerhardson, B.; Hökerberg, M.; Tahvonen, R.; Teperi, E.; Sundheim, L.; Henriksen, B. 1997. Selection of biological control agents for controlling soil and seed-borne diseases in the field. *European Journal of Plant Pathology* 103:775-784.
- Kobayashi, D.Y.; Crouch, J.A. 2009. Bacterial/fungal interactions: From pathogens to mutualistic endosymbionts. *Annu. Rev. Phytopathol.* 47:63-82.
- Krauss, U.; Soberanis, W. 2001. Biocontrol of cocoa pod diseases with mycoparasite mixtures. *Biological Control* 22:149-158.
- Kravchenko, L.V.; Makarova, N.M.; Azarova, T.S.; Provorov, N.A.; Tikhonovich, I.A. 2002. Isolation and phenotypic characterization of plant growth-promoting rhizobacteria

with high antiphytopathogenic activity and root-colonizing ability. *Microbiology* 71(4):444-448.

Krechel, A.; Faupel, A.; Hallmann, J.; Ulrich, A.; Berg, G. 2002. Potato-associated bacteria and their antagonistic potential towards plant-pathogenic fungi and the plant-parasitic nematode *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood. *Can. J. Microbiol./Rev. Can. Microbiol.* 48(9):772-786.

Kuč, J. 2001. Concepts and direction of induced systemic resistance in plants and its application. *European Journal of Plant Pathology* 107:7-12.

Kuhn, T.S. 1962. *The structure of scientific revolutions*. University of Chicago Press. Chicago. USA.

Kumari, V.; Srivastava, J.S. 1999. Molecular and biochemical aspects of rhizobacterial ecology with emphasis on biological control. *World Journal of Microbiology & Biotechnology* 15:535-543.

Larkin, R. 2007. Relative effects of biological amendments and crop rotations on soil microbial communities and soil-borne diseases of potato. *Soil Biology and Biochemistry* 40:1341-1351.

Laszlo, E. 1972. *The systems view of the world. The natural philosophy of the new developments in the sciences*. George Braziller, Inc. New York. USA.

Latha, P.; Anand, T.; Ragupathi, N.; Prakasam, V.; Samiyappan, R. 2009. Antimicrobial activity of plant extracts and induction of systemic resistance in tomato plants by mixtures of PGPR strains and Zimmu leaf extract against *Alternaria solani*. *Biological Control* 50: 85-93.

Lewin, R. 1992. *Stability and the reality of Gaia*. In: *Complexity, life at the edge of chaos*. McMillan Publishing Co., New York. Pp. 106-129.

Loper, J.E. 1988. Role of fluorescent siderophore production in biological control of *Phytophthora ultimum* by a *Pseudomonas fluorescens* strain. *Phytopathology* 78(2):166-172.

Lourenço, J.V.; Maffia, A.L.; da Silva, R.R.; Mizubuti, S.G.E. 2006. Biocontrol of tomato late blight with the combination of epiphytic antagonists and rhizobacteria. *Biological Control* 38:331-340.

Lumsden, R.D.; García, E.R.; Lewis, J.A.; Frías, T. 1987. Suppression of damping-off caused by *Pythium* spp. in soil from the indigenous Mexican chinampa agricultural system. *Soil Biol. Biochem.* 19(5):501-508.

Marban, M.; García, R.E.; Dicklow, B.; Zuckerman, B.M. 1992. Studies on *Paecilomyces marquandii* from nematode suppressive chinampa soils. *Journal of Chemical Ecology* 18(5):775-783.

- Marschner, H. 1995. Mineral Nutrition of Higher Plants. 2nd ed. Academic Press, London.
- Marschner, H.; Romheld, V.; Kissel, M. 1987. Localization of phytosiderophore release and of iron uptake along intact barley roots. *Physiol. Plant* 71:157-162.
- Mazzola, M. 2004. Assessment and management of soil microbial community structure for disease suppression. *Annu. Rev. Phytopathol.* 42:35-59.
- Micallef, S.A.; Shiaris, M.P.; Colón-Carmona, A. 2009. Influence of *Arabidopsis thaliana* accessions on rhizobacterial communities and natural variation in root exudates. *Journal of Experimental Botany* 60(6):1729-1742.
- Nardi, S.; Concheri, G.; Pizzeghello, D.; Sturaro, A.; Rella, R.; Parvoli, G. 2000. Soil organic matter mobilization by root exudates. *Chemosphere* 5:653-658.
- Nelson, E.B., Craft, M.C. 1992. A miniaturized and rapid bioassay for the selection of soil bacteria suppressive to *Phytophthora* Blight of turfgrasses. *Phytopathology* 82(2):206-210.
- Nelson, E.B. 2004. Microbial dynamics and interactions in the spermosphere. *Annu. Rev. Phytopathol.* 42:271-309.
- Nitta, T. 1991. Diversity of root fungal floras: its implications for soil-borne diseases and crop growth. *Jpn. Agric. Res.* 25:6-11.
- Ortega, G.R.; Español, P.C.; Zueco, C.J. 1995. Interactions in the papper-*Phytophthora capsici* system. *Plant Breeding* 114:74-77.
- Papavizas, G.C. 1992. Biological control of selected soilborne plant pathogens with *Gliocladium* and *Trichoderma*. In: Biological control of plant diseases. Tjamos, E.C.; Papavizas, G.C.; Cook, R.J. (eds.). Plenum Press. New York. pp 223-230.
- Peters, N.K.; Frost, J.W.; Long, S.R. 1986. A plant flavone, luteolin, induces expression of *Rhizobium meliloti* nodulation genes. *Science* 233:977-980.
- Pickersgill, B. 1986. Domestication and its taxonomic consequences. *Acta Horticulturae* 182:319-327.
- Pieterse, C.M.J.; van Wess, S.C.M.; van Pelt, J.A.; Ton, J.; Léon-Kloosterziel, K.M.; Keurentjes, J.J.B.; Verhagen, B.W.M.; Knoester, M.; van der Sluis, I.; Bakker, P.A.H.M.; van Loon, L.C. 2001. Rhizobacteria-mediated induced systemic resistance: triggering, signaling and expression. *European Journal of Plant Pathology* 107:51-61.
- Pinto, C.B. 1967. Fuentes de resistencia en el género *Capsicum* al ataque del hongo *Phytophthora capsici* Lec., causante de la marchitez del chile. Tesis de Ingeniero Agrónomo. Universidad Autónoma Chapingo. 80 págs.

Raupach S.G.; Kloepper, W. 1998. Mixtures of plant growth-promoting rhizobacteria enhance biological control of multiple cucumber pathogens. *Phytopathology* 88:1158-1164.

Robinson, R.A. 1987. Host management in crop pathosystems. MacMillan Publishing Co., NY, USA. 221 pp.

Robinson, R. 1996. Return to resistance. Breeding crops to reduce pesticide dependence. www.sharebooks.ca. 318 pp.

Robinson, R.A. 2002. Self-organizing agroecosystems. www.sharebooks.ca.

Schippers, B.; Bakker, A.W.; Baker, P.A. 1987. Interactions of deleterious and beneficial rhizosphere organisms and the effect of cropping practices. *Annual Review of Phytopathology* 25:339-358.

Schmidt, C.S.; Agostini, F.; Leifert, C.; Killham, K.; Mullins, C.E. 2004. Influence of soil temperature and matric potential on sugar beet seedling colonization and suppression of *Phythium* damping-off by the antagonistic bacteria *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis*. *Phytopathology* 94(4):351-363.

Schneider, R.W. 1982. Suppressive soils and plant diseases. The American Phytopathological Society Press. St Paul, Minnesota. USA. 88 pp.

Shah, P.A.; Pell, J.K. 2003. Entomopathogenic fungi as biological control agents. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 61:413-423.

Sikora, R.A. 1992. Management of the antagonistic potential in agricultural ecosystems for the biological control of plant parasitic nematodes. *Annual Review of Phytopathology* 30:245-270.

Sivan, A.; Elad, Y.; Chet, I. 1984. Biological control effects of a new isolate of *Trichoderma harzianum* on *Phythium aphanidermatum*. *Phytopathology* 74(4):498-501.

Srinivasan, K.; Mathivanan, N. 2009. Biological control of sunflower necrosis virus disease with powder and liquid formulations of plant growth promoting microbial consortia under field conditions. *Biological Control* 51:395-402.

Srivastava, R.; Khalid, A.; Singh, U.S.; Sharma, A.K. 2009. Evaluation of arbuscular mycorrhizal fungus, fluorescent *Pseudomonas* and *Trichoderma harzianum* formulation against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* for the management of tomato wilt. *Biological Control* (in press doi:10.1016/j.biocontrol.2009.11.012).

Sturz, A.V.; Christie, B.R.; Nowak, J. 2000. Bacterial endophytes: potential role in developing sustainable systems of crop production. *Crit. Rev. Plant Sci.* 19:1-30.

Suslow, T.V.; Schroth, M.N. 1982. Rhizobacteria in sugar beets: Effects of seed application and root colonization on yield. *Phytopathology* 72:199-206.

- Trieu, A.T.; Van Buuren, M.L.; Harrison, M.J. 1997. Gene expression in mycorrhizal roots of *Medicago truncatula*. In: Flores, H.E.; Lynch, J.P.; Eissentat, D. (eds.). *Radical Biology: Advances and Perspectives on the Function of Plant Roots*. American Society of Plant Physiologists, Rockville, MD. Pp. 498-500.
- Van Bruggen, A.H.C.; Semenov, A.M. 2000. In search of biological indicators for soil health and disease suppression. *Appl. Soil Ecol.* 15:13-24.
- Van Elsas, J.D.; Garbeva, P.; Salles, J.F. 2002. Effect of agronomical measures on the microbial diversity of soil as related to the supresión of soil-borne plant pathogens. *Biodegradation* 13:29-40.
- Van Loon, L.C. 2007. Plant responses to plant growth-promoting rhizobacteria. *Eur. J. Plant Pathol.* 119:243-254.
- Walker, S.J.; Bosland, P.W. 1999. Inheritance of *Phytophthora* root rot and foliar blight resistance in pepper. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 124:14-18.
- Walker, S.T.; Bais, P.A.; Grotewold, E.; Vivanco, M.J. 2003. Root exudation and Rhizosphere Biology. *Plant Physiology* 132:44-51.
- Weller, D.M.; Raaijmakers, J.M.; McSpadden, B.B.G.; Thomashow, L.S. 2002. Microbial populations responsible for specific soil suppressiveness to plant pathogens. *Annu. Rev. Phytopathol.* 40:309-348.
- Whipps, J.M. 2001. Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *J. Exp. Bot.* 52:487-511.
- Wulff, G.E.; Mguni, M.C.; Mortensen, N.C.; Keswani, L.C.; Hockenhull, J. 2002. Biological control of black rot (*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*) of brassicas with an antagonistic strain of *Bacillus subtilis* in Zimbabwe. *European Journal of Plant Pathology* 108:317-325.
- Zavaleta-Mejía, E. 1999. Alternativas de manejo de enfermedades en las plantas. *Terra* 17(3):201-207.