

CARACTERIZACIÓN DE FITOPATÓGENOS Y SU CONTROL EN *CUCURBITA MOSCHATA* (CUCURBITACEA) EN DAGUA, VALLE DEL CAUCA

Jezir Valencia Gómez

Universidad del Valle, Apartado Aéreo 25360, Cali, Colombia.

Correo electrónico: jezir.valencia@correounivalle.edu.com

Celina Torres González

Universidad del Valle, Apartado Aéreo 25360, Cali, Colombia.

Correo electrónico: celina.torres@correounivalle.edu.com

RESUMEN

Cucurbita moschata Duch., conocida comúnmente como zapallo, se destaca de manera especial, por su alto contenido nutricional; contiene almidones, azúcares, proteínas, vitaminas, carotenoides totales, minerales como calcio y fósforo, que le confieren propiedades nutricionales y medicinales, convirtiéndolo en un producto llamativo para el mercado internacional, especialmente en los países europeos y Norteamérica. Sin embargo existen pocos estudios en el departamento del Valle del Cauca sobre enfermedades del zapallo, por lo tanto se evaluó la presencia, incidencia y severidad de microorganismos fitopatógenos (hongos y bacterias), tomando muestras de tejido foliar de *Cucurbita moschata* Duch. en condiciones de campo en la vereda La Providencia, en Dagua, Valle del Cauca. De las muestras colectadas, se aislaron, purificaron, caracterizaron e identificaron microorganismos los cuales fueron sometidos a pruebas de patogenicidad en invernadero, por el método de inyección intervenal de disoluciones de 1×10^6 esporas (para hongos) o células (para bacterias) por mililitro sobre plantas sanas; resultando patógenos del zapallo el hongo *Fusarium* sp. y las bacterias *Exiguobacterium indicum*, *Arthrobacter nicotinae* y *Pseudomonas* sp., estas últimas se identificaron por análisis del gen del ARNr 16S. se realizaron pruebas de antagonismo con los insumos biológicos Bactox y Trichox para encontrar alternativas de control a estos patógenos, evidenciando que Bactox resultó ser un controlador ineficiente mientras que Trichox en todos los ensayos se comportó como un fungicida y bactericida eficiente.

Palabras clave: bacteria, control biológico, hongos, pruebas de patogenicidad, zapallo.

ABSTRACT

Cucurbita moschata Duch, commonly known as squash, it is a fruit that stands out for its high nutritional content, such as starches, sugars, protein, vitamins, total carotenoids, minerals like calcium and phosphorus, which gives nutritional and medicinal properties, making an eye-catching product for international market, especially in Europe and North America. However exist few studies in Valle del Cauca (Colombia) about squash diseases, thus were evaluated the presence, incidence and severity of phytopathogenic microorganisms (fungus and bacteria) by sampling of *Curcubita moschata* leaf tissue in field conditions at La Providencia, Dagua, Valle del Cauca. Of the collected samples were isolated, purified, characterized and identified microorganisms, which were submitted to pathogenicity tests in a greenhouse by interveinal injection method with solutions of 1×10^6 spores (for fungus) or cells (for bacteria) per millimeter over healthy plants, obtaining as result pathogens *Fusarium* sp. fungus and *Exiguobacterium indicum*, *Arthrobacter nicotinae* and *Pseudomonas* sp. bacteria, the latter were identified by ARNr 16S gen analysis. Also, antagonism tests were performed using biological inputs Bactox and Trichox to find alternative control of these pathogens, evidencing Bactox as inefficient controller while Trichox in all essays was an effective fungicide and bactericide.

Keywords: bacteria, biological control, fungi, pathogenicity tests, squash.

INTRODUCCIÓN

Cucurbita moschata Duch., conocida comúnmente como zapallo, es una de las numerosas especies que integran la familia de las Cucurbitáceas, representada por cerca de 120 géneros y 800 especies. El género *Cucurbita*, según Gaspera & Rodríguez (2013), es nativo del continente americano, incluye cerca de 27 especies que pueden ser anuales o perennes y son cultivadas principalmente para el consumo de sus frutos en estado maduro o inmaduro, pero también se consumen otras partes de la planta como las hojas, flores y semillas. Con respecto al zapallo, este se encuentra perfectamente adaptado en toda América Latina, en climas cálido y templado, entre los 0 y 2000 m.s.n.m. (Vallejo & Estrada 2004).

En Colombia el zapallo es una hortaliza de gran importancia. Según el Programa de Hortalizas de la Universidad Nacional de Colombia sede Palmira; en 2007 el área sembrada en el país correspondía a 3.600 hectáreas, con una producción de 65 mil toneladas, los departamentos de mayor producción son el Valle del Cauca (45.4 %), Tolima (28 %), Guajira (17 %), Córdoba, Bolívar y Magdalena, estos tres últimos con aproximadamente 10 % de la producción total. La producción de zapallo en 2013 mostró un incremento en el país llegando a 102 mil toneladas (FAO 2015).

La importancia del zapallo está definida por su versatilidad en el consumo humano, y como materia prima para la industria de harinas y deshidratados; destacando de manera especial su alto contenido nutricional (Vallejo & Mosquera 1998 y); contiene almidones, azúcares, proteínas, vitaminas, carotenoides totales; de los cuales, cerca del 30 % corresponde a β -carotenos (sustancias que al ser consumidas se convierten en vitamina A), minerales como calcio y fósforo, y aminoácidos como tiamina y niacina, que le

confieren propiedades nutricionales y medicinales (de Carvalho *et al.* 2012); convirtiendo a *C. moschata* en un producto llamativo para el mercado internacional, especialmente en los países europeos y Norteamérica; además, estudios recientes han demostrado el efecto benéfico del zapallo sobre el tratamiento de enfermedades como la diabetes, hipertensión, úlceras gástricas, problemas de visión y cardiovasculares, también previene enfermedades de la piel y posee propiedades antioxidantes (Chengrui & Yun 1999). Estudios fitopatológicos en tres localidades del municipio de Palmira, desarrollados por la Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira, demostraron la presencia de diversas enfermedades fungosas causadas por: *Fusarium* sp., hongo de mayor impacto en el estudio, ocasionando clorosis, marchitamiento y posterior secamiento lateral, que finalmente causa la muerte de la planta; asimismo, reportaron organismos pertenecientes a los géneros *Alternaria*, *Curvularia*, *Micelia*, *Oidium* y *Penicillium*, hongos que provocan la aparición de manchas amarillas y blancas en el tejidos foliar, secándolas definitivamente; además los investigadores evidenciaron la presencia de *Nigrospora* sp., hongo aún no reportado como patógeno para *Cucurbita moschata*; observando síntomas de este patógeno en condiciones de campo y mostrando tener alta incidencia (Ortiz *et al.* 2014).

Actualmente hay pocos estudios en el departamento del Valle del Cauca sobre enfermedades del zapallo, exceptuando los estudios anteriormente mencionados sobre hongos, no se conoce hasta ahora si existen enfermedades bacterianas o virales que causen detrimento en el cultivo. Por lo tanto se caracterizaron los diferentes microorganismos (hongos y bacterias) fitopatógenos presentes en *Cucurbita moschata* Duch. Variedad Unapal-Dorado, causantes de disminución o pérdida de productividad y rendimiento del cultivo,

contrastando los patógenos con insumos biológicos que permitan erradicar o minimizar las enfermedades que se presenten en campo.

MÉTODOS

Sitios de estudio y fase de campo.

El cultivo de *Cucurbita moschata* Duch. Variedad Unapal-Dorado de alto contenido de materia seca en el fruto y excelentes características de calidad para consumo en fresco (Vallejo *et al.* 2010). El material vegetal fue colectado de la vereda La Providencia, ubicada en el municipio de Dagua (3°40'9.3"N, 76°42'30.4"W), representando un bosque seco tropical; un lote con pendiente y suelo arcilloso; el cultivo tenía envergadura de 0.5 hectáreas con 1250 plantas y 2 metros de distancia entre las plantas y surcos. Se colectaron hojas y frutos en base en un diseño de muestreo completamente aleatorio, seleccionando el material que mostrara síntomas de enfermedad. Mediante un modelo sistemático, se evaluó el porcentaje de incidencia de la población de plantas con algún síntoma de daño; para ello, se contó el número de plantas afectadas sobre el número total de plantas observadas, expresando el valor obtenido en porcentaje, según lo sugerido por Anculle & Álvarez (2006). La severidad se evaluó en una escala de cero a cinco, siendo cero sin ningún daño, uno (1 % - 5 %), dos (6 % - 12 %), tres (13 % - 25 %), cuatro (26 % - 50 %) y cinco (51 % - 100 %) según el nivel de tejido afectado (Barone & Coley 2002).

Aislamiento de Microorganismos.

Para el aislamiento de microorganismos fúngicos, se cortaron cinco trozos de 1 cm² por muestra que contenían parte de tejido sano y afectado, los cuales se desinfectaron con alcohol al 70 %, hipoclorito de sodio al 2 % estos dos pasos por 30 segundos cada uno

y por último con agua destilada estéril (ADE) durante un minuto, secando el exceso de humedad y sembrando los trozos en medio agar papa dextrosa (PDA) encubando a 28°C por cinco días para el posterior aislamiento de los hongos con morfologías distintivas; además se utilizaron medios Sabouraud, V8 y agar agua para facilitar la esporulación cuando esta se dificultaba. Para el aislamiento de microorganismos bacterianos, se maceraron fragmentos de tejidos sanos y enfermos de cada muestra, llevándolos a un volumen de 10 mL como inóculo inicial, del cual se tomó 100 µL realizando siembras en superficie mediante el método de dispersión con perlas de cristal, cada muestra fue sembrada por triplicado.

Caracterización Morfológica, Bioquímica y Molecular de Microorganismos Aislados.

Pruebas morfológicas.

Los organismos con características morfológicas distintivas se caracterizaron mediante observaciones macroscópicas (forma, borde, color, consistencia y elevación) y por microscopía óptica, en el caso de los hongos se observó el tipo de hifas, estructuras reproductivas y con ayuda de claves taxonómicas (Barnett & Hunter 1998; Nelson *et al.*, 1983; Pitt & Hocking, 1985) se buscó asignar una taxa jerárquica; en el caso de las bacterias, se determinó la ultraestructura química de la pared celular, forma y agrupación mediante tinción de Gram.

Pruebas Bioquímicas.

A los microorganismos bacterianos que se hayan encontrado patógenos, se les aplicó la clave para la identificación de géneros de bacterias propuesta por Schaad (1988), posteriormente se les realizó un acercamiento de su fisiología, al evaluar su metabolismo con algunas pruebas bioquímicas las cuales fueron: Pruebas de oxidasa, catalasa, óxido - Fermentativa o de Hugh-Leifson.

Pruebas moleculares.

Se realizó la identificación mediante pruebas moleculares de los microorganismos bacterianos que resultaron patógenos. Se realizó la extracción de ADN genómico utilizando el Kit *PowerSoil DNA Isolation* (MO BIO). El ADN extraído se amplificó utilizando los cebadores universales: 27F 5' AGAGTTTGATCMTGGCTCAG 3' y 1492R 5'ACGGYTACCTTGTTACGACTT 3' para el gen ARNr 16S. El coctel de la PCR se preparó con base en las concentraciones finales: buffer: 10x, MgCl₂: 1,75 μ M, dntp's: 20 μ M por cada uno, primers: 4 μ M por cada uno, taq polimerasa: 1 unidad. El programa utilizado en el termociclador fue: una fase de desnaturalización: 95°C por 5 minutos, una fase de amplificación de 35 ciclos con una de extensión a 95°C por 30 segundos, hibridación 54°C por 40 segundos y una fase de extensión a 72°C por 40 segundos, seguido de una fase extensión final a 72°C durante 10 minutos. Las secuencias se determinaron mediante procedimientos estándares del servicio suministrado por la compañía Macrogen (USA).

Las secuencias obtenidas fueron comparadas directamente con las bases de datos del GenBank y del Ribosomal Database Project; las herramientas de búsqueda de alineación local básica (Blast-N) y la herramienta de clasificación naïve Bayesian classifier (Wang *et al.*, 2007) se utilizaron para la clasificación y asignación de taxones jerárquicos. Se recolectaron secuencias de las bases de datos de las diferentes especies de los géneros los cuales mostraron relación con las secuencias obtenidas; las secuencias fueron alineadas con el programa Bioedit Sequence Alignment Editor (Hall, 1999) y se utilizaron en la construcción de un árbol de máxima verosimilitud utilizando el software PAUP versión 4.0b10, el modelo de substitución nucleotídica fue seleccionado por el criterio de Akaike en ModelTest versión 2.1.3(Darriba *et al.*, 2012); el soporte

estadístico fue evaluado mediante el bootstrap de máxima verosimilitud (ML) con 1000 repeticiones.

Pruebas de patogenicidad.

Se realizaron pruebas de patogenicidad (Postulados de Koch), en el Laboratorio de Investigaciones Microbiológicas y la estación experimental del Departamento de Biología de la Universidad del Valle (3° 32' 22" N y 76° 31' 57" W, a 976 msnm) (Herrera *et al.* 2007), que de acuerdo con sus características climáticas, la región se clasifica como Bosque Seco Tropical (bs-T) (Álvarez *et al.* 1984). Se hicieron inoculaciones de cada uno de los aislados encontrados en este estudio; inoculando tres plántulas sanas de zapallo con tres semanas de crecimiento del mismo lote de semillas de las sembradas en campo, mediante la técnica de inyección intervenal con una jeringa, colocando 1ml de dilución de esporas a una concentración de 10⁶ esporas x mL para el caso de los hongos y de 10⁴ células x mL para el caso de las bacterias. Se hizo un seguimiento a las plántulas inoculadas para determinar si presentaban los mismos síntomas observados inicialmente en campo; se tomaron muestras de los tejidos enfermos y se evaluó en el laboratorio, si los causantes fueron los microorganismos previamente inoculados.

Fase de evaluación de insumos biológicos.

Se evaluó el efecto antagonico de dos insumos biológicos, Bactox (producto a base de *Bacillus subtilis*) y Trichox (elaborado a base de *Trichoderma harzianum*), determinando la eficacia de éstos como control biológico en la inhibición de los microorganismos identificados como patógenos. Las pruebas de antagonismo se elaboraron por triplicado. Para las bacterias, se utilizó el método de siembra en superficie mediante dispersión por perlas, partiendo de una solución concentrada de los microorganismos patógenos; luego se ubicó el microorganismo base del producto a

evaluar en el centro de la placa, siendo el *Bacillus* fijado en papel filtro estéril con un diámetro de 0.5 cm. Para los hongos se realizaron cultivos duales colocando dos trozos de 1 cm de radio aproximadamente, uno del patógeno y otro del *Trichoderma*, a 1 cm del borde de la caja cada uno. Las placas se incubaron durante 16-24 horas en el caso de bacterias y de 10 a 14 días para los hongos, se midió el crecimiento del microorganismo y el diámetro de la zona de inhibición que se forma alrededor de cada disco.

RESULTADOS

Incidencia y Severidad.

La incidencia fue evaluada en tres etapas de crecimiento del zapallo (fase vegetativa, reproductiva y de maduración). La primera evaluación se realizó en la fase vegetativa a los 30 días a partir de la siembra del cultivo, encontrándose que solo el 5 % de las plantas presentaban algún síntoma de enfermedad; la segunda evaluación se realizó durante la fase reproductiva a los 60 días del cultivo, observándose un notorio aumento en el valor de incidencia, alcanzando un porcentaje del 79 %. La evaluación llevada a cabo en la fase de maduración a los 90 días, mostró un deterioro total del cultivo con el 100 % de las plantas afectadas. Utilizando la escala de cero a cinco para medir la severidad, se determinó solo en la fase reproductiva y de maduración de acuerdo a los altos porcentajes de la incidencia que se encontraron, observando una severidad de dos y cuatro respectivamente en las fases evaluadas.

Aislamiento y Caracterización de Microorganismos.

Se aislaron y purificaron en la fase vegetativa de *C. moschata*, ocho morfoespecies fúngicas: una del género *Nigrospora*, y *Rhizoctonia*, y seis morfoespecies no identificadas, además de nueve tipos de colonias bacterianas. En la fase reproductiva de *C. moschata* se encontraron siete

morfoespecies. Dos del género *Fusarium*, uno de *Rhizoctonia* y uno de *Pythium*, este último considerado anteriormente como hongo pero actualmente pertenece al filo Straminopila (Sina *et al.* 2012) y tres morfos bacterianos. En la fase de maduración del zapallo, los aislamientos se obtuvieron de frutos que presentaban algún tipo de síntoma de daño; en esta fase se obtuvieron dos especies de *Fusarium* y tres colonias bacterianas. En la tabla 1 y 2 se pueden apreciar las descripciones, características macroscópicas y microscópicas de los microorganismos fúngicos y bacterianos; también se incluyeron las morfoespecies que no presentaron estructura reproductiva que facilitara su posterior identificación con claves taxonómicas, a pesar que se utilizaron diferentes medios con el propósito de proporcionar componentes que permitieran producir estructuras reproductivas.

Pruebas de Patogenicidad.

Se inoculó cada microorganismo aislado con el propósito de producir síntomas en el tejido foliar de *C. moschata*, mediante pruebas de patogenicidad, según los postulados de Koch. En la tabla 3 se muestran los microorganismos que causaron síntomas de daño en plántulas sanas de zapallo. Una vez se realizaron las pruebas de patogenicidad, se procedió a tomar muestras enfermas para hacer reaislamientos de los microorganismos inoculados. *Fusarium* sp.1 fue el patógeno que se reaisló y mostró con mayor contundencia los signos y síntomas de la enfermedad. Se observó necrosis que empezaba del borde al centro de la lámina foliar, extendiéndose por toda el área ocasionando marchitamiento y muerte de las plántulas.

De las bacterias inoculadas se reaislaron tres. La reconstrucción filogenética en base al análisis del gen del ARNr 16S ubicó a los aislados bacterianos en los siguientes

géneros: *Exiguobacterium indicum* J1 (Fig. 1), *Arthrobacter nicotinae* J2 (Fig. 2) y *Pseudomonas* sp. J4 (Fig. 3). *Exiguobacterium indicum* J1 causante de necrosis con halo clorótico en las zonas inoculadas, marchitamiento y muerte de la planta; *Arthrobacter nicotinae* J2 causó manchas cloróticas en las zonas de inoculación y borde de la hoja, posterior marchitez de las hojas afectadas y *Pseudomonas* sp. J4 en el que el análisis molecular no fue concluyente para asignar una especie en particular, se observaron manchas necróticas en la zona de inoculación con clorosis generalizada en toda el área foliar de las hojas inoculadas.

Antagonismos con insumos biológicos.

En la Fig. 4 se observa que no hubo efecto de Bactox (producto comercial a base de *Bacillus subtilis*) sobre el crecimiento de *Fusarium* sp.1. Durante los primeros días, no se evidenciaron diferencias en el crecimiento con respecto al control; después del día nueve, el crecimiento de *Fusarium* sp.1 llegó a la zona de acción del Bactox ocasionando una disminución promedio del 52% en la tasa de crecimiento con respecto al control. Sin embargo el crecimiento de *Fusarium* no se detuvo (Fig. 5). En los cultivos duales con Trichox (producto comercial a base de *Trichoderma harzianum*) se observó una disminución del crecimiento de *Fusarium* sp. 1 entre los días cinco y siete, momento en el que ambos se encontraron; a partir del día siete, *T. harzianum* colonizó el espacio ocupado por *Fusarium* hasta cubrirlo en su totalidad esporulando sobre éste, actuando como un eficiente micoparásito (Fig. 6 y 7).

Las bacterias que mostraron patogenicidad, se probaron con insumos biológicos. Con Bactox se obtuvo un halo de inhibición promedio de 1.3mm para *Exiguobacterium indicum*, y 3mm para *Arthrobacter nicotinae*; no se observó inhibición para *Pseudomonas* sp. Con Trichox se observó que a los cinco

días colonizó y esporuló sobre todo el inóculo bacteriano de los tres géneros, actuando como un bactericida (Tabla 4 y 5).

DISCUSIÓN

La evaluación en campo de *Cucurbita moschata*, mostró un aumento progresivo de la incidencia y severidad del daño ocasionado por diversos microorganismos en cada etapa del cultivo, evidenciando que el zapallo a medida que avanza en su crecimiento, se hizo cada vez más susceptible a padecer enfermedades. Entre los microorganismos que mostraron su capacidad para afectar las plantas se encontraron bacterias con comprobada patogenicidad como *Exiguobacterium indicum*, *Arthrobacter nicotinae* y *Pseudomonas* y hongos fitopatógenos como *Nigrospora*, *Rhizoctonia*, *Pythium* y *Fusarium*; este último se pudo aislar después de evaluar los postulados de Koch.

Es importante resaltar que se hayan encontrado hongos del género *Nigrospora* sp., reportados como patógenos en muchos otros cultivos; según Ortiz *et al.* (2014), un estudio realizado en otras zonas del Valle del Cauca, *Nigrospora* sp. fue aislado de plantas enfermas de *C. moschata*, siendo un nuevo reporte de la presencia de este hongo afectando el zapallo en la región y el segundo mayor causante de enfermedad después de *Fusarium* sp. en dicha investigación; que al igual que en esta, la mayor cantidad de especies fueron de éste género; aunque solamente *Fusarium* sp. 1 haya cumplido todos los postulados, causando una necrosis del borde al centro de la lámina foliar, extendiéndose por toda el área ocasionando una muerte descendente de la planta; según Pivonia *et al.* (1997) y Namiki *et al.* (1994) citados por Chehri *et al.* (2011), los patógenos más importantes que ocasionan pudriciones de la raíz y el tallo además del fruto en las Cucurbitáceas son *Fusarium* spp.,

responsables de marchitamientos vasculares, tales como los de melón y calabaza, causados por *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*, *Fusarium Proliferatum* y *Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae*.

Otro patógeno importante encontrado en tejidos enfermos fue *Pythium* sp. Género de Oomycetes parásitos, que una vez fueron clasificados como Fungi y actualmente pertenecientes al Filo Stramenopila (Sina *et al.* 2012); sin embargo en este estudio, al realizar las pruebas de patogenicidad no se reprodujeron síntomas de daño en las plantas inoculadas. Este patógeno ocasiona el Damping off o marchitamiento fúngico enfermedad que normalmente hace consorcios con *Rhizoctonia* (Harris 1999), hongo que también se encontró en tejido afectado y que si mostró sintomatología al hacer pruebas de patogenicidad. La razón por la que se haya podido encontrar *Pythium* sp., es que este organismo también puede vivir como saprófito (Marano *et al.* 2015), lo que lo hace resistente a la rotación de cultivos por la inespecificidad de huésped que posee, haciéndolo más devastador en cultivos susceptibles a este patógeno.

De los microorganismos bacterianos que se pudieron reaislar al cumplir todos los postulados, fueron *Exiguobacterium indicum*., el causante de manchas necróticas con halo clorótico y posterior marchitamiento y muerte de la planta; *Arthrobacter nicotinae* produjo manchas cloróticas localizadas y bordes de la hoja terminando en marchitez de las hojas afectadas y *Pseudomonas* sp. manchas necróticas con clorosis generalizada en toda el área foliar. De los tres géneros encontrados, *Arthrobacter* y *Pseudomonas* han sido reportados como patógenos en plantas (Schaad 2001, Whitman 2005, Hernández 2012); este último género considerado como una seria amenaza para las cucurbitáceas (melón, sandía y calabaza); ya que causan la mancha foliar angular de las

cucurbitáceas, específicamente *Pseudomonas syringae* patovar *lachrymans* ocasionando grandes pérdidas en la producción. El patógeno se transmite a través de semilla infectada y es una bacteria persistente en el suelo (Fatmi *et al.* 2008).

Con respecto a la especie de *Exiguobacterium indicum* aislada, es importante resaltar que no se encontraron reportes de especies de este género causando alguna enfermedad o síntomas en plantas; en contraste a esto Gomez *et al.* (2012) hallaron una especie de este género aislada de mucilago de cianobacterias, capaz de producir ácido 3-indol acético (AIA), una fitohormona reguladora del crecimiento que puede afectar el desarrollo de la planta a muy bajas concentraciones, mientras que la inhiben a altas concentraciones (Jules *et al.*, 1981); siendo este, un posible efecto de variación hormonal causado por la bacteria, el que hizo que en las observaciones se vieran las plántulas afectadas; sin embargo, un estudio realizado por Montañó & Méndez (2009) en el largo y ancho del fruto del melón (*Cucumis melo* L.) mostró que el AIA en las diferentes épocas de aplicación y dosis que manejaron no afectaron significativamente el tamaño del fruto. Con lo anterior, se abren nuevas expectativas sobre el efecto benéfico o dañino de especies del género *Exiguobacterium* en las Cucurbitáceas y su producción de AIA, siendo necesario desarrollar más trabajos de investigación además de comprobar la patogenicidad y especificidad de especies de *Exiguobacterium* y *Arthrobacter* en cucurbitáceas, con el propósito de validar los resultados obtenidos en esta investigación y proponer alternativas biológicas para controlar otros patógenos del zapallo.

Sobre las morfoespecies fúngicas y colonias bacterianas que no mostraron síntomas al hacer las pruebas de patogenicidad, se pudo inferir que la concentración de inóculo aplicado a las plántulas pudo no haber sido

suficiente para poder expresar síntomas, o que son organismos sistémicos oportunistas, los cuales afectan a otros organismos cuando estos no se encuentran en condiciones óptimas de sanidad (Sanchez *et al.* 2010), o en el caso de las plantas cuando no tienen el suficiente vigor, ya sea por deficiencias nutricionales, herbivoría o por estar afectadas por alguna otra enfermedad (Royo *et al.* 1998), haciéndolas que sean susceptibles a microorganismos oportunistas o saprófitos, los cuales hayan sido los que se encontraron en este estudio pero al ser inoculados en plantas en condición de invernadero con todas sus necesidades suplidas no se hayan manifestado. Lo anterior, también puede aplicar para el caso de la baja presencia de afección que el zapallo presentó por parte de los hongos; esto puede estar relacionado con el comportamiento desigual de dos o más organismos ante un mismo requerimiento (sustrato, nutrientes) (Ahmad & Baker 1987); pues, de toda la microbiota del sitio de donde se tomaron las muestras, los microorganismos allí presentes, pueden estar compitiendo por espacio disponible y por otro lado por factores externos como tipo de suelo, pH, temperatura, humedad, entre otros (Hjeljord & Tronsmo 1998).

Finalmente de las pruebas de antagonismo realizadas con los insumos biológicos comerciales para el control de *Fusarium* sp. 1, el producto a base de *Bacillus subtilis* (Bactox) resultó ser un controlador ineficiente; ya que a partir de los primeros siete días de llevarse a cabo la inoculación de ambos, no se observaron diferencias en la tasa de crecimiento y a partir del día nueve en la que *Fusarium* sp. 1 alcanza la zona de acción del Bactox, este sólo ocasionó una disminución promedio del 52% en la tasa de crecimiento por día, con respecto al control (Fig. 4), sin que el crecimiento de *Fusarium* se detuviera y esporulando finalmente sobre la línea inoculada del producto (Fig. 5).

El producto a base de *Trichoderma harzianum* (Trichox) si mostró ser altamente eficiente para controlar *Fusarium* sp. 1; pues desde el tercer día de siembra del ensayo, se comenzó a notar un efecto fungistático hasta el día siete en el que el biocontrolador empezó a crecer y esporular sobre el patógeno (Fig. 6) hasta taparlo completamente (Fig. 7); considerando así al insumo como un controlador fungicida muy bueno de grado cinco según la escala propuesta por Ezziyyani *et al.* 2004a citado por Astorga *et al.* (2014) (Tabla 6). Para el control bacteriano de *Exiguobacterium indicum* y *Arthrobacter nicotinae* con el producto Bactox, se observó que los valores de inhibición fueron bajos 1,3 mm y 3 mm respectivamente y para *Pseudomonas* no hubo inhibición, resultando así, nuevamente un controlador ineficiente; sin embargo, existe un potencial antagonista que se podría valorar con mayor detalle; pues las variaciones en el potencial biocontrolador de una cepa específica están ligadas a las características genéticas y los factores ambientales presentes, así como a las interacciones con otros microorganismos (Astorga *et al.* 2014). Las pruebas de crecimiento de *Trichoderma* frente a las tres bacterias patógenas encontradas en este estudio, demostraron la eficiencia que posee este hongo para controlar a ciertos patógenos; pues al quinto día de haberse realizado la inoculación (Tabla 5.), *Trichoderma* ya había crecido y esporulado sobre los inóculos bacterianos (Tabla 5.), demostrando en general, los mecanismos de competencia por el sustrato, micoparasitismo, antibiosis, desactivación de enzimas del patógeno, resistencia inducida, entre otros, descritos por Infante *et al.* 2009 para *Trichoderma harzianum*.

De los resultados obtenidos en esta investigación se pudo concluir que la variedad Unapal-dorado de *Cucurbita moschata*, mostró ser altamente susceptible a los fitopatógenos aislados, identificados y

validados en la pruebas de patogenicidad; tales como *Fusarium* sp. y *Pseudomonas* sp., microorganismos ya reportados como patógenos en cucurbitáceas. También se encontró que *Exiguobacterium indicum* y *Arthroacter nicotinae*, tuvieron la capacidad de establecer una relación patógeno-hospedero con *Cucurbita Moschata*, mostrando susceptibilidad a estas bacterias que son un nuevo registro para la zona causando detrimento al cultivo del zapallo. De los insumos biológicos evaluados, Trichox producto a base de *Trichoderma harzianum*, mostró ser el más eficaz para controlar los microorganismos fúngicos y bacterianos encontrados en este estudio; en las pruebas in vitro se hizo evidente los mecanismos que tiene *Trichoderma* tales como competencia por el sustrato, micoparasitismo, antibiosis, desactivación de enzimas del patógeno, resistencia inducida,

entre otros, para lograr la inhibición y destrucción de los patógenos de interés, logrando demostrar, que Trichox es un buen candidato que se puede utilizar como antagonista frente a enfermedades causados por especies de los géneros *Fusarium*, *Exiguobacterium*, *Arthroacter* y *Pseudomonas*.

AGRADECIMIENTOS

Al grupo de Investigación en Biología de Plantas y Microorganismos de la Universidad del Valle y al Sistema Regional de Regalías en el marco del proyecto de investigación “DESARROLLO DE UN SISTEMA AGROINDUSTRIAL RURAL COMPETITIVO A PARTIR DE CULTIVOS PROMISORIOS EN UNA BIOREGION DEL VALLE DEL CAUCA”, por su apoyo técnico financiero.

LITERATURA CITADA

- Ahmad, J. S. y Baker, R., (1987), “Rhizosphere Competence of *Trichoderma harzianum*”, *Phytopathol*, Vol. 77, pp. 182-189.
- Álvarez, H.L., Heredia, M.F.D., Hernández, M.P.C. (1984). “Reproducción del Cucarachero Común (*Troglodytes aedon*, Aves Troglodytidae) en el Valle del Cauca”, *Caldasia*, Vol. 14 No. 66, pp. 85-124.
- Anculle, A., Álvarez, R. (2006). “Evaluación de enfermedades de plantas”. Disponible en: <https://es.scribd.com/doc/151857253/Evaluacion-de-Enfermedades-de-Las-Plantas#download>. (Consultado: 16-04-2015).
- Astorga, K.Q., Meneses, K.M., Zúñiga, C.V., Brenes, J.M., Rivera, W.M. (2014), “Evaluación del antagonismo de *Trichoderma* sp. y *Bacillus subtilis* contra tres patógenos del ajo”, *Tecnología en Marcha*. Vol. 27 No. 2, pp. 82-91.
- Barnett, H. L. y Hunter, B.B. (1998), *Illustrated genera of imperfect fungi*, 4ta. Ed., St. Paul, Minn: APS Press.
- Barone, J.A. y Coley, P.D, (2002), “Herbivorismo y las defensas de las plantas” en Guariguata, M.R. y Kattan, G. H.(Eds), *Ecología y Conservación de bosques neotropicales*, LUR, Texas, pp. 465-492.
- Caicedo, L. A.. (1993). *Horticultura*, 6 ed. Universidad Nacional de Colombia, Palmira. (manuscrito). Chehri, K., Salleh, B., Yli-Mattila, T., Reddy, K.R.N.; Abbasi S. (2011), “Molecular

characterization of pathogenic *Fusarium* species in cucurbit plants from Kermanshah province, Iran”, *Saudi Journal of Biological Sciences*, Vol. 18 No.4, pp. 341-351.

Chengrui, T., Yun, L. (1999). “Health-Protection Composition Of Pumpkin”, *Cucurbit Genetics Cooperative Report*, Vol. 22, pp. 59-60.

Darriba, D., Taboada, G.L., Doallo, R., Posada, D. (2012), “jModelTest 2: More Models, New Heuristics And Parallel Computing”, *Nat Methods*, Vol. 9, pp. 772.

De Carvalho, L.M.J., Barros, P.G., de Oliviera, R.G., Fernandes, P.H., Viana, J.L., Regini, M.N., Lima, A.N., Rodrigues, A.C.A., Ramos, S.R.R. (2012), “Total Carotenoid Content, α -carotene and β -carotene, of Landrace Pumpkins (*Cucurbita moschata* Duch): A Preliminary Study”, *Food Research International*, Vol. 47, pp. 337–340.

Ezziyyani, M., Pérez, S.C., Requena, M.E., Rubio, L., Candela, M.E. (2004a), “Biocontrol por *Streptomyces rochei* –Ziyani–, de la Podredumbre del Pimiento (*Capsicum annuum* L.) Causada por *Phytophthora capsici*”, *Anales de Biología*, Vol. 26, pp. 69-78.

FAO (2015), “Food and Agriculture Organization of the United Nations Statistics Division”, Disponible en <http://faostat3.fao.org/home/E> (Consultado: 20/08/2015).

Gaspera, P.D., Rodriguez, R.A. (2013), “El género *Cucurbita*”, in Gaspera, P.D. (E.d), *Manual del cultivo del zapallo anquito (Cucurbita Moschata Duch.)*, Inta, Mendoza, Argentina, pp. 9- 24.

Gómez, L.C., Valero N., Morales E.A. (2012), “Bacterias halotolerantes/alcalofilas productoras de ácido indolacético (AIA) asociadas a *Arthrosira platensis* (Cyanophyceae)”, *Rev. Colomb. Biotecnol.* Vol. 14 No. 2, pp. 81-88.

Hall, T. (1999), “BioEdit: a User-Friendly Biological Sequence Alignment Editor and Analysis Program For Windows 95/98/NT. Nucleic Acids Symposium Series, Vol 41, pp. 95-98.

Harris, A.R., (1999), “Biocontrol of *Rhizoctonia solani* and *Pythium ultimum* on *Capsicum* by *Trichoderma koningii* in potting medium”, *Microbiol. Research*, Vol. 154, pp. 131-135.

Herrera, J.; Cadena, C., Sanclemente, A. (2005), “Diversidad de la artropofauna en monocultivo y policultivo de maíz (*Zea mays*) y habichuela (*Phaseolus vulgaris*)”. *Boletín del Museo de Entomología de la Universidad del Valle*, Vol. 6 No.1, pp. 23 - 31.

Hjeljord L. y Tronsmo, A. (1998), “*Trichoderma* and *Gliocladium* in biological control: an overview”. In Harman, G.E. and Kubicek, C.P.(Eds), *Trichoderma And Gliocladium: Enzymes, Biological Control and commercial applications*, Taylor & Francis, pp.131-151.

Infante, D., Martinez, B., Gonzáles, N. and Reyes, Y. (2009), “*Trichoderma* mechanisms of action against phytopathogen fungi”, *Revista de Protección Vegetal*, Vol. 24 No. 1, pp. 14-21.

Jules, J., Robert, W. S., Frank W. N., Varnon, W. R. (1981), *Plant Science. An introduction to world crops*, W. H. Freeman & Co. New York.

Marano, A.V., Jesus, A.L., De Souza, J.I., Jeronimo, G.H., Goncalves, D.R., Boro, M.C., Rocha, S.C., PiresZottarelli, C.L. (2015), “Ecological roles of saprotrophic Peronosporales (Oomycetes, Straminipila) in natural environments”, *Fungal Ecology*, Vol. 19, pp. 77-88.

Montaño, N.M. y Méndez, J.N. (2009), “Efecto del ácido indol-3-acético y el ácido naftalenacético sobre el largo y ancho del fruto de melón (*Cucumis melo* L.) cultivar Edisto 47”, *Revista UDO Agrícola*, Vol.9 No.3, pp 530-538.

Namiki, F., Shiomi, T., Kayamura, T., Tsuge, T. (1994). Characterization Of The Formae Speciales of *Fusarium oxysporum* Causing Wilts Of Cucurbits By DNA Fingerprinting With Nuclear Repetitive DNA Sequences”, *Appl. Environ. Microbiol*, Vol. 60, pp. 2684–2691.

Ortiz, G.S., Quiñones H.J., Valdés, R.M.P., Gomez, E.D., Huertas D.C. (2014). “Patógenos Del Zapallo *Cucurbita moschata* Duch. En Tres Localidades Del Valle Del Cauca”, *Rev. Colombiana Ciencia Animal*, Vol. 6 No. 2, pp. 311-318.

Pivonia, S., Cohen, R., Kafkafi, U., Ben Ze’ev, I.S., Katan, J. (1997), “Sudden Wilt Of Melons In Southern Israel: Fungal Agents And Relationship With Plant Development”, *Plant Dis.*, Vol. 81, pp. 1264–1268.

Royo, A.; Brichler, T.; Rose, R. W.; Pardos M. M. (1998), “La planta ideal revisión del concepto, parámetros definitorios e implementación práctica”, *Investigación agraria. Sistemas y recursos forestales*, Vol. 7 No.1-2, pp. 109-122.

Sánchez, L. S.; Galarza, C.; Matos, R. S. (2010), “Infecciones micóticas sistémicas o profundas: paracoccidioidomycosis”, *Dermatol Perú*, Vol. 20 No.1
 Schaad, N.W. (1988), “Identification schemes”, in Schaad, N.W. (Ed.), *Laboratory guide of identification of plant pathogenic bacteria*, 2da. ed. Amer. Phytopathological Soc. Press, St. Paul, Minn. p. 1-15.

Schaad N.W. (2001), *Laboratory guide for identification of plant pathogenic. Bacteria*. St. Paul, Minnesota, EE.UU, American.

Sina, M.A., Simpson, Alastair G., Lane, C.E., Lukes, J. Bass, D., Bowser, S.S., Matthew, W., Brown, M.W., Burki, F., Dunthorn, M., Hampl, V., Heiss, A., Hoppenrath, M., Lara, E., Le Gall, L., Lynn, D.H., Mcmanus, H., Mitchell, E.A.D., Mozley-Stanridge, S.E., Parfrey, L.W., Pawlowski, J., Rueckert, S., Shadwick, L., Schoch, C.L., Smirnov, A., Spiegel F.W., (2012), “The Revised Classification of Eukaryotes”, *Journal of Eukaryotic Microbiology*, Vol. 59 No. 5, pp. 429–493.

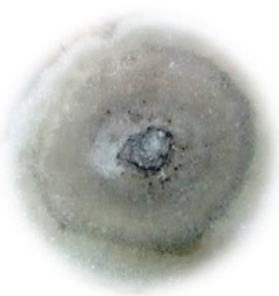
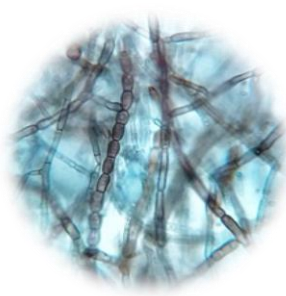
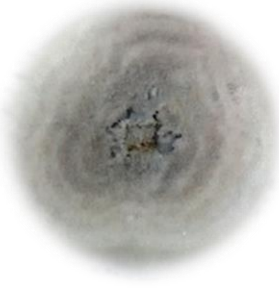
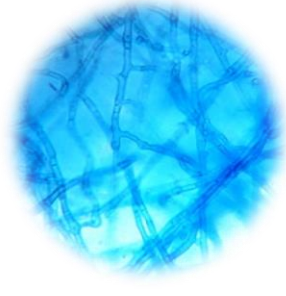
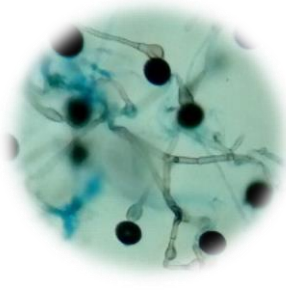
Vallejo, F.C., Baena D.G., Ortiz S.G., Estrada E.S., Tobar, D.T. (2010), “Unapal-Dorado, Nuevo Cultivar de Zapallo Con Alto Contenido de Materia Seca Para Consumo En Fresco”, *Acta Agronómica*, Vol. 59 No. 2, pp.127-134.

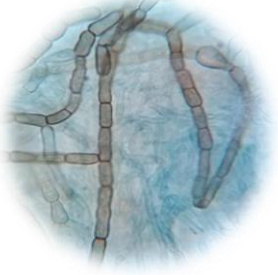
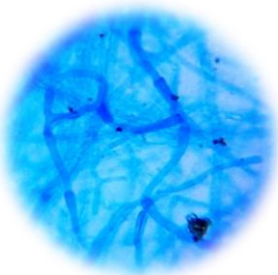
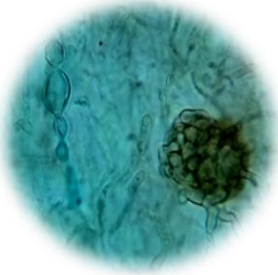
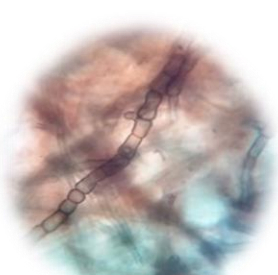
Vallejo, F.C., Estrada E.S. (2004). *Producción De Hortalizas En Climas Calidos*, Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira.

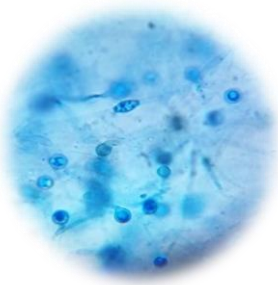
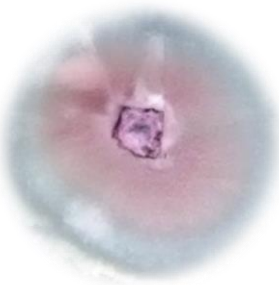
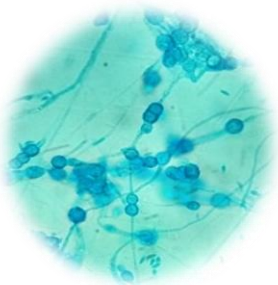
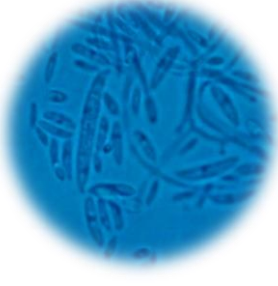
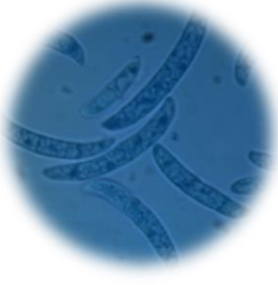
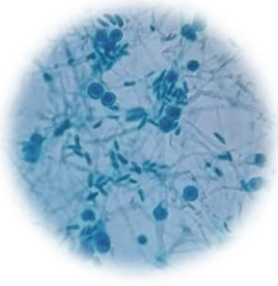
Vallejo, F. A. y Mosquera, S. E. (1998). “Transferencia del gen Bu a Poblaciones de Zapallo, *Cucurbita* sp. con Crecimiento Postrado”, *Acta Agronómica*, Vol. 48 No. 3-4, pp. 7 -18.

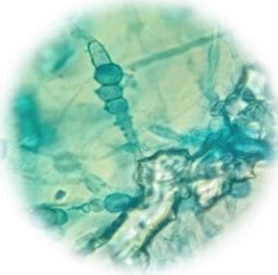
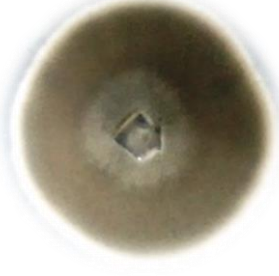
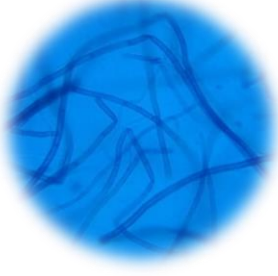
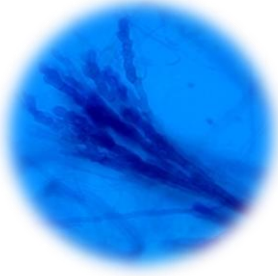
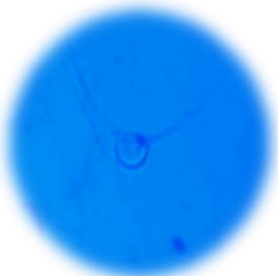
Wang, Q., Garrity, G.M., Tiedje, J.M., Cole, J.R. (2007), "Naive Bayesian classifier for rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy", *Applied and environmental microbiology*, Vol 73 No. 16, pp. 5261-5267.

Tabla 1. Descripción de los microorganismos fúngicos aislados y purificados en las diferentes etapas de crecimiento de *C. moschata* con vista macroscópica y microscópica.

Microorganismo	Descripción	Observación Macro	Observación Micro
<i>Rhizoctonia</i> sp.	Colonia con aspecto afelpado, crecimiento circular, coloración grisácea con borde blanco, micelio no elevado, hifas septadas de pigmentación café y ramificaciones en ángulos rectos.		
<i>Micelio sterilia</i>	Colonia con aspecto afelpado, crecimiento radial, coloración grisácea, micelio no elevado, hifas septadas, sin fructificaciones.		
<i>Nigrospora</i> sp.1	Colonia de aspecto polvoso, de color blanco inicialmente que luego se torna de color negro en los bordes. Los conidios de forma globosa y de color oscuro.		
<i>Nigrospora</i> sp.2	Colonia de aspecto polvoso, con micelio de color blanco inicialmente, que luego se torna fibroso en algunos lados con coloración verdosa. Los conidios de forma globosa y de color oscuro.		

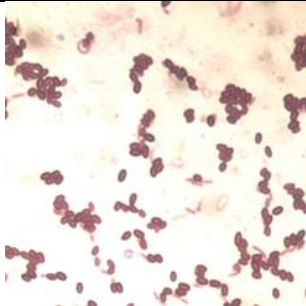
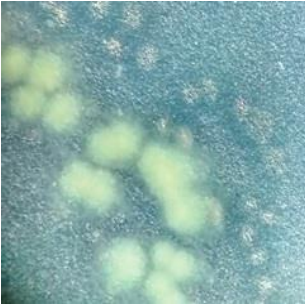
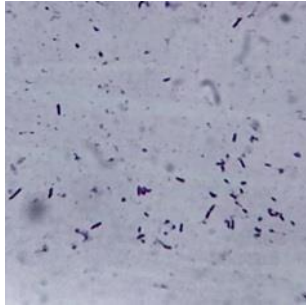
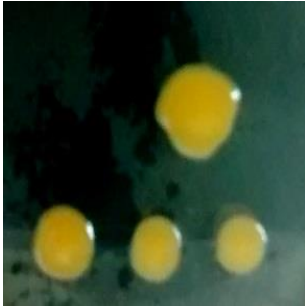
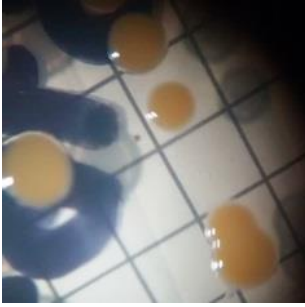
Morfoespecie 1	Colonia con textura afelpada y crecimiento elevado en algunas partes de la caja, coloración verde con el envés café claro. Hifas septadas con pigmentación café.		
Morfoespecie 2	Colonia con textura algodonosa, micelio de color blanco y el envés se va tornando naranja claro. Hifas septadas.		
Morfoespecie 3	Colonia con textura polvosa, micelio de color blanco, con producción de metabolitos que torna el medio café claro. Hifas septadas hialinas		
Morfoespecie 4	Colonia con textura rugosa, con formación de radios a medida que va creciendo, micelio de color gris verdoso con el borde de la colonia blanco. Hifas septadas con pigmentación café.		

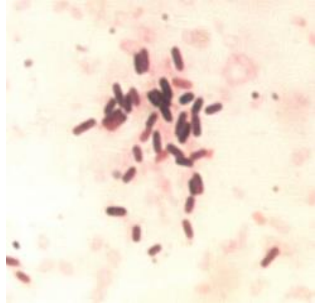
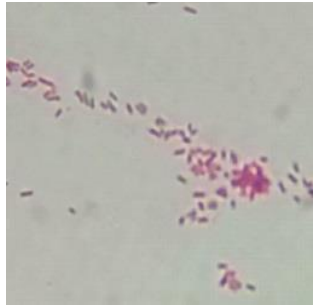
Morfoespecie 5	Colonia con textura algodonosa, micelio de color blanco, con producción de metabolitos que tornan el medio a color rosado. Hifas septadas, presencia de clamidosporas y conidios globosos.		
<i>Fusarium</i> sp. 1	Colonia de textura algodonosa con micelio que va del color blanco al rosado o purpura. Presencia de clamidosporas, macro y microconidias.		
<i>Fusarium</i> sp. 2	Colonia de textura algodonosa con micelio que va del color blanco al púrpura. Presencia de macro y microconidias.		
<i>Fusarium</i> sp. 3	Colonia con textura algodonosa, que va del color blanco a amarillo, micelio no elevado, presencia de macroconidias.		
<i>Fusarium</i> sp. 4	Colonia con textura polvosa, color blanco, micelio no elevado, presencia de clamidosporas y macroconidias.		

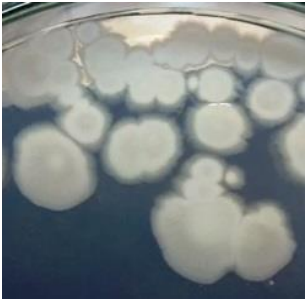
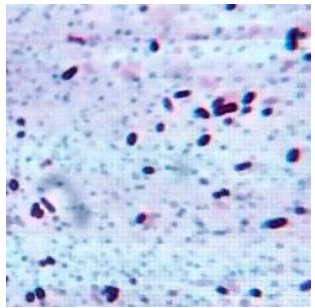
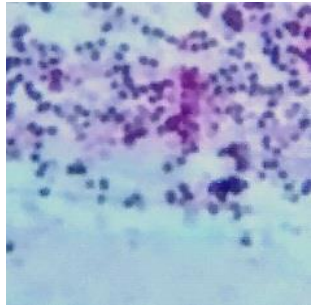
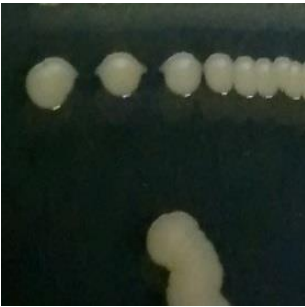
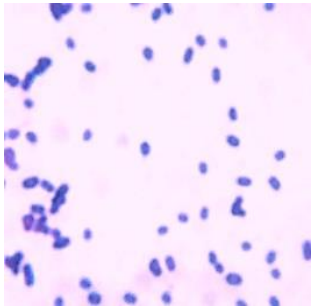
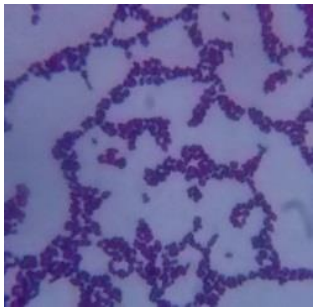
Morfoespecie 6	Colonia con textura afelpada, color café claro, hifas septadas, se observaron estructuras microscópicas; pero no determinantes para su identificación.		
Morfoespecie 7	Colonia de textura algodonosa color blanco, se observaron estructuras microscópicas; pero no determinantes para su identificación.		
Morfoespecie 8	Colonia de coloración café, textura afelpada, hifas septadas sin observación de estructuras relevantes.		
Morfoespecie 9	Colonia de coloración grisácea, textura afelpada, hifas septadas, se observaron estructuras microscópicas; pero no determinantes para su identificación.		
<i>Pythium</i> sp. (Stramenophila)*	Colonia de textura filamentosa color blanco, hifas sin septos, se observó el anteridio y oogonio, estructuras características de este género		

*Organismos que una vez fueron considerados como hongos pero actualmente pertenecen al filo Stramenopila.

Tabla 2. Descripción y vista de los microorganismos bacterianos aislados y purificados encontrados en las diferentes etapas de crecimiento de *C. moschata*.

Microorganismo	Descripción	Vista Macro	Vista Micro
Colonia 1	Cocobacilos Gram (+). Colonia irregular con coloración blanca, borde entero, elevación plana, superficie lisa y consistencia cremosa.		
Colonia 2	Bacilos Gram (+). Colonia puntiforme con coloración amarillo crema, borde entero con halo, elevación plana, superficie lisa y consistencia cremosa		
Colonia 3	Bacilos Gram (+). Colonia circular con coloración naranja, borde entero, elevación plana, superficie lisa y consistencia cremosa.		
<i>Exiguobacterium</i> sp.	Bacilos Gram (+). Colonia circular con coloración naranja, borde entero, elevación cóncava, superficie lisa y consistencia cremosa.		

<i>Arthrobacter</i> sp.	Gram (+). De forma bacilar durante la fase exponencial y de coco durante la fase estacionaria. Las colonias eran circulares con coloración amarilla, borde entero, elevación plana, superficie lisa y consistencia cremosa		
Colonia 6	Bacilos Gram (+). Colonia irregular con coloración blanca, borde entero, elevación convexa, superficie rugosa y consistencia cremosa		
<i>Pseudomonas</i> sp.	Bacilos Gram (-). Colonia irregular con coloración amarilla crema, borde entero con halo, elevación plana, superficie lisa y consistencia cremosa		
Colonia 8	Bacilos Gram (+). Colonia en rizoide con coloración blanca, borde filamentosos, elevación plana, superficie rugosa y consistencia cremosa.		

Colonia 9	Bacilos Gram (+). Colonia circular con coloración blanca, borde entero, elevación plana, superficie lisa y consistencia cremosa.		
Colonia 10	Cocobacilos Gram (+). Colonia circular- irregular con coloración blanca, borde entero, elevación plana, superficie lisa y consistencia mucoide.		
Colonia 11	Cocos Gram (+). Colonia irregular con coloración blanca, borde lobulado, elevación plana, superficie lisa y consistencia cremosa.		
Colonia 12	Cocobacilos Gram (+). Colonia circular con coloración blanca, borde lobulado, elevación plana, superficie lisa y consistencia cremosa.		
Colonia 13	Cocos Gram (+). Colonia fusiforme con coloración blanca, borde entero, elevación plana, superficie lisa y consistencia cremosa		

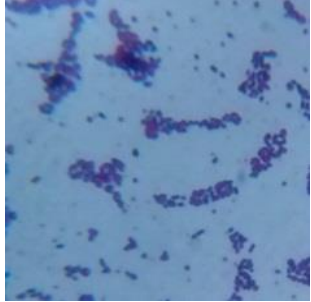
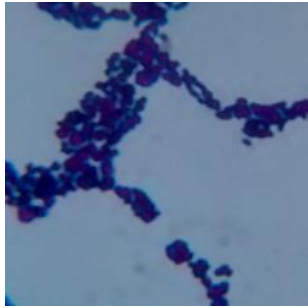
Colonia 14	Cocos Gram (+). Colonia circular con coloración blanca, borde entero, elevación plana, superficie lisa y consistencia cremosa		
Colonia 15	Cocos Gram (+). Colonia irregular con coloración blanca, borde lobulado, elevación plana, superficie lisa y consistencia cremosa.		

Tabla 3. Microorganismos que causaron alguna sintomatología cuando se inocularon en plantas sanas de zapallo.

Microorganismo	Sintomatología	
	Descripción	Vista
<i>Fusarium</i> sp. 1	Necrosis que empieza del borde al centro de la lámina foliar, extendiéndose por toda el área hasta acabar con la planta.	
<i>Fusarium</i> sp. 2	Marchitez brusca de la planta, evidenciando una clorosis generalizada a medida que avanza la enfermedad, marchitamiento y posterior secamiento que finalmente causa la muerte de la planta.	
<i>Fusarium</i> sp. 3	Marchitez foliar, evidenciando zonas necróticas antes de la pérdida total de la planta.	
<i>Nigrospora</i> sp. 2	Presencia de manchas necróticas con halo clorótico que va aumentando de tamaño desde los márgenes de la hoja hacia el centro de las hojas.	

Rhizoctonia sp.

Manchas cloróticas que se van agrandando por toda el área foliar.



Morfoespecie 2

Formaciones necróticas en el borde de las hojas con halo clorótico que se va extendiendo a través de las nervaduras de las hojas.



Morfoespecie 3

Clorosis que comienza del borde al centro de la hoja, luego ocurre necrosis del borde terminando en marchitez de la hoja.



Morfoespecie 4

Clorosis generalizada por toda el área foliar que termina en marchitamiento de la planta.



Morfoespecie 5

Clorosis que comienza en las nervaduras y luego se va extendiendo al resto de la hoja conllevando a marchitez y muerte de la planta.



Exiguobacterium
sp.

Necrosis con halo clorótico en las zonas inoculadas, marchitamiento y muerte de la planta.



Arthrobacter sp.

Manchas cloróticas en las zonas de inoculación y borde de la hoja, posterior marchitez de las hojas afectadas.



Pseudomonas sp.

Manchas necróticas en la zona de inoculación con clorosis generalizada en toda el área foliar de las hojas inoculadas.



Tabla 4. Efecto antagónico del producto biológico Bactox sobre las tres colonias bacterianas que resultaron patógenas en los postulados de Koch.

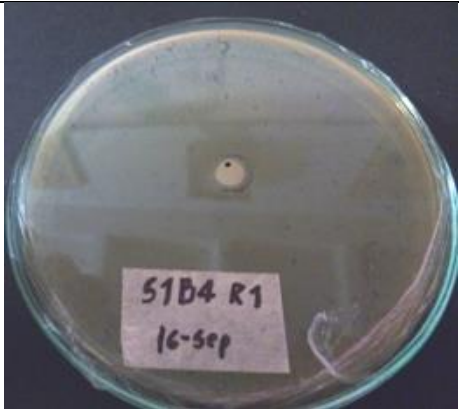
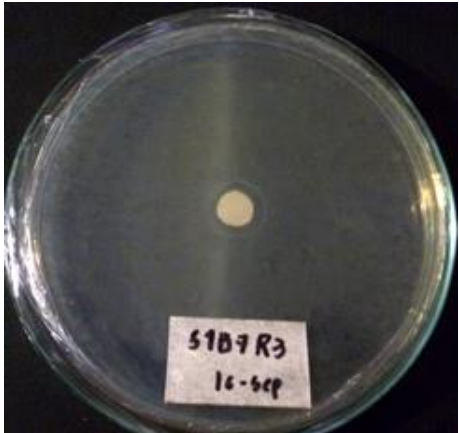
Bacteria	Descripción	Bactox
<i>Exiguobacterium indicum</i>	El bactox formó un halo de inhibición de 1.33 mm a las 24 horas.	
<i>Arthrobacter nicotinae</i>	El bactox formó un halo de inhibición de 3 mm a las 24 horas.	
<i>Pseudomona</i> sp.	El bactox a las 24 horas creció sobre la bacteria patógena sin generar halo de inhibición.	

Tabla 5. Efecto antagónico del producto biológico Trichox sobre las tres colonias bacterianas que resultaron patógenas en los postulados de Koch.

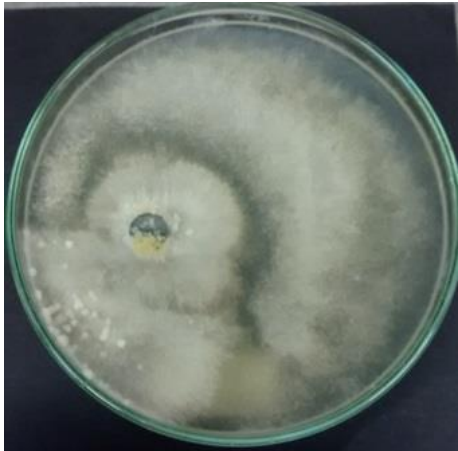
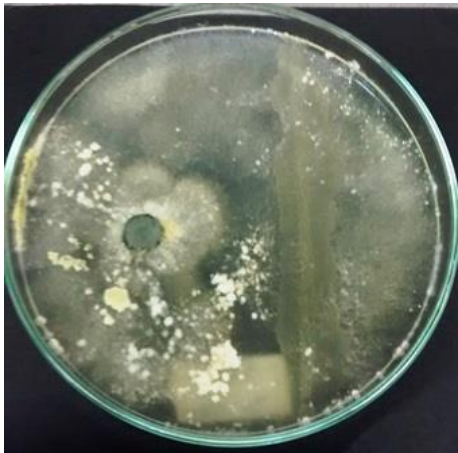
Bacteria	Descripción	Trichox
<i>Exiguobacterium indicum</i>	El <i>Trichoderma</i> logró crecer y esporular completamente sobre la bacteria patógena a los cinco días de ambos haberse inoculado.	
<i>Arthrobacter nicotinae</i>	El <i>Trichoderma</i> logró crecer y esporular completamente sobre la bacteria patógena a los cinco días de ambos haberse inoculado.	
<i>Pseudomona</i> sp.	El <i>Trichoderma</i> logró crecer y esporular completamente sobre la bacteria patógena a los cinco días de ambos haberse inoculado.	

Tabla 6. Escala utilizada para la evaluación de la capacidad antagónica de los biocontroladores.

Grado	Capacidad antagónica	Potencial biocontrolador
0	Ninguna invasión de la superficie de la cepa patógena	Muy malo
1	$\frac{1}{4}$ Invasión de la superficie de la cepa patógena	Malo
2	$\frac{1}{2}$ invasión de la superficie de la cepa patógena	Deficiente
3	Total invasión de la superficie de la cepa patógena	Bueno
4	Total invasión de la superficie de la cepa patógena esporulación sobre ella	Muy bueno

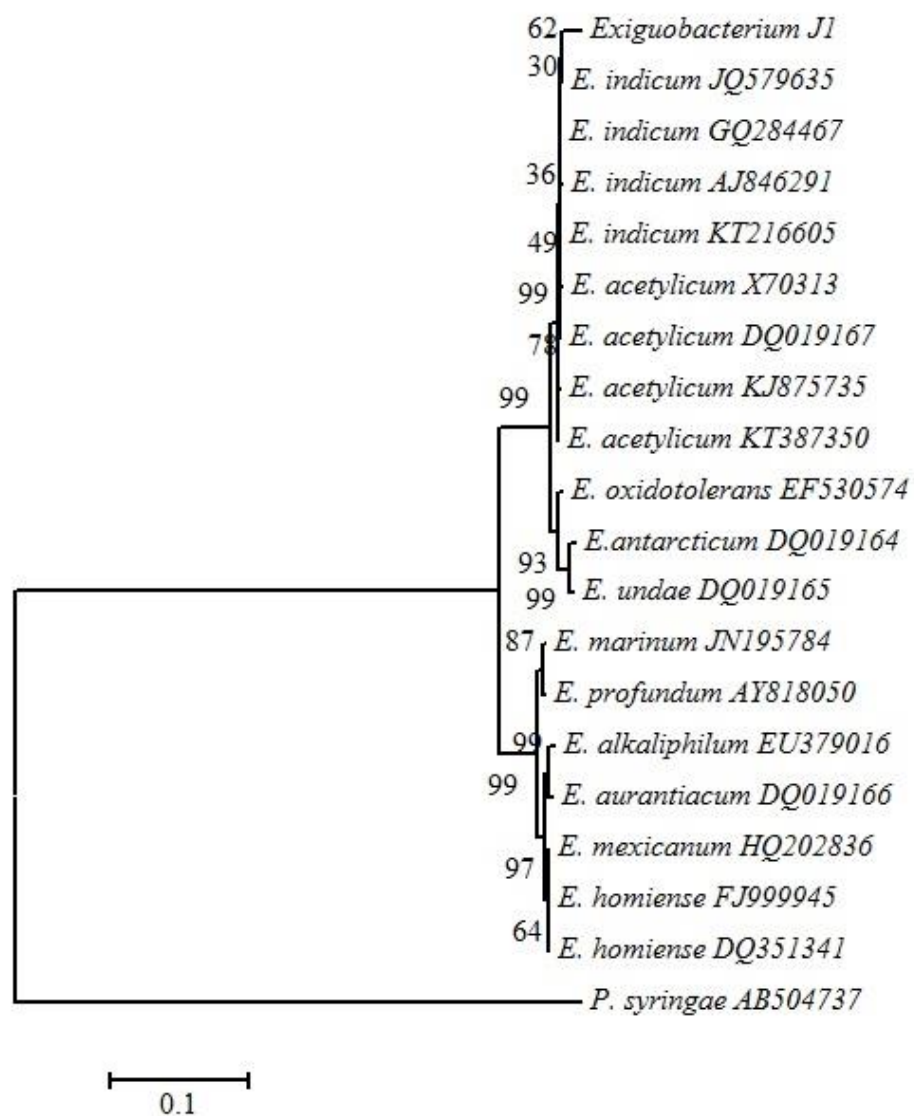


Figura 1. Inferencia filogenética de la secuencia de *Exiguobacterium indicum J1* con secuencias de las diferentes especies del género *Exiguobacterium* obtenidas de la base de datos del Genbank.

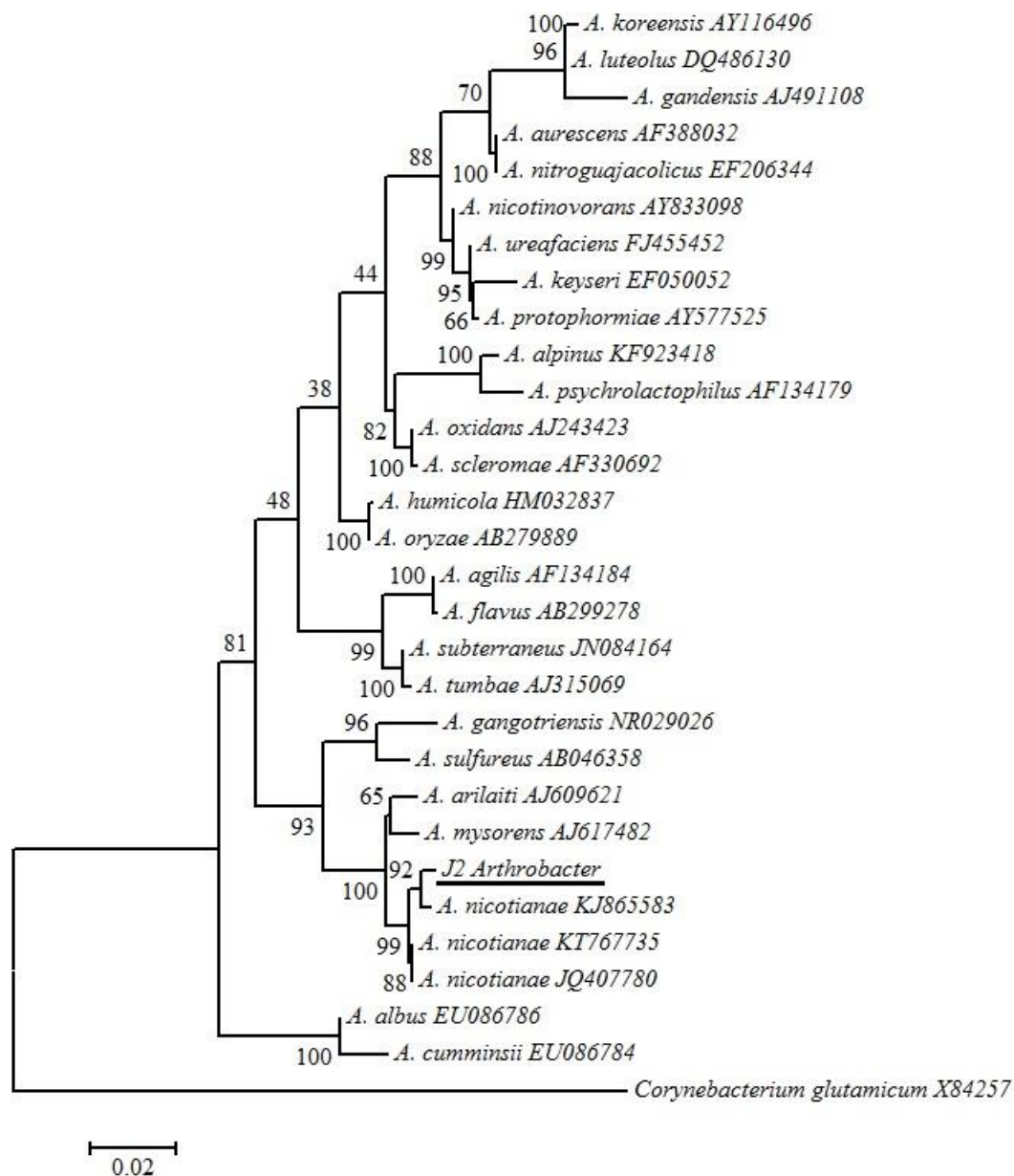


Figura 2. Inferencia filogenética de la secuencia de *Arthrobacter nicotinae* J2 con secuencias de las diferentes especies del género *Arthrobacter* obtenidas de la base de datos del Genbank.

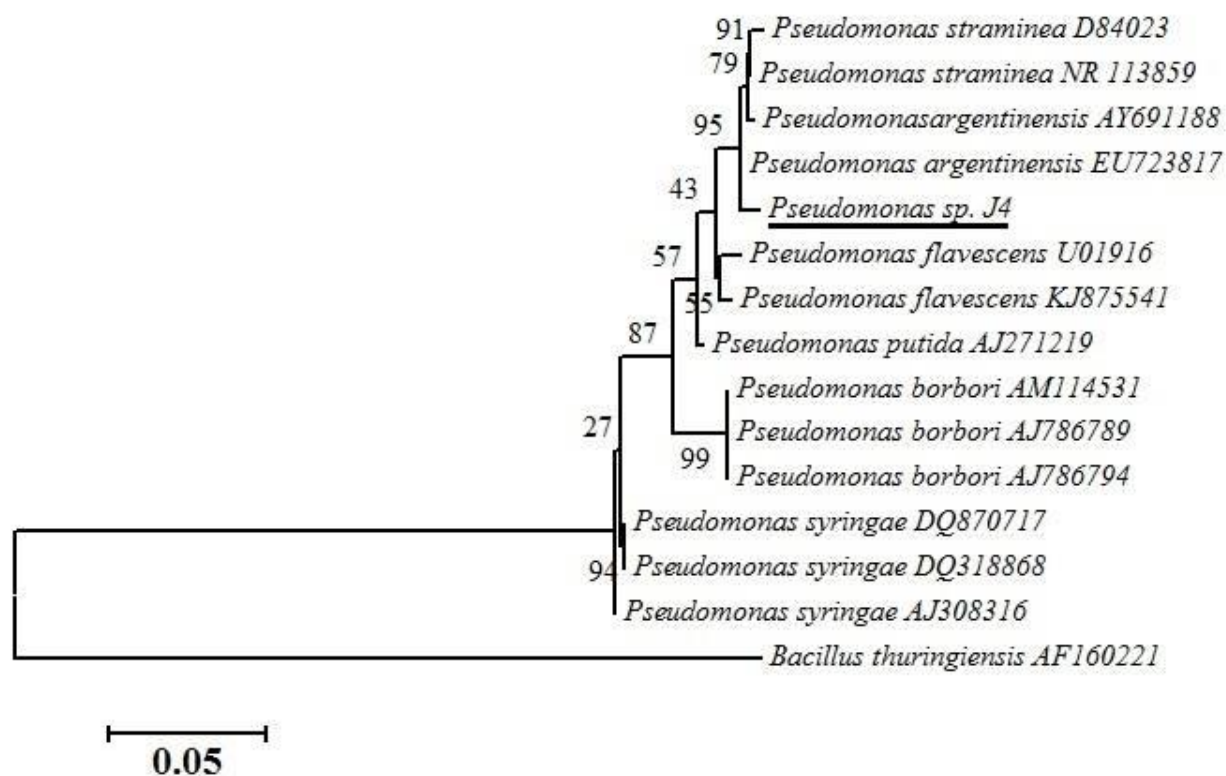


Figura 3. Inferencia filogenética de la secuencia de *Pseudomonas* sp. J4 con secuencias de las diferentes especies del género *Pseudomonas* obtenidas de la base de datos del Genbank.

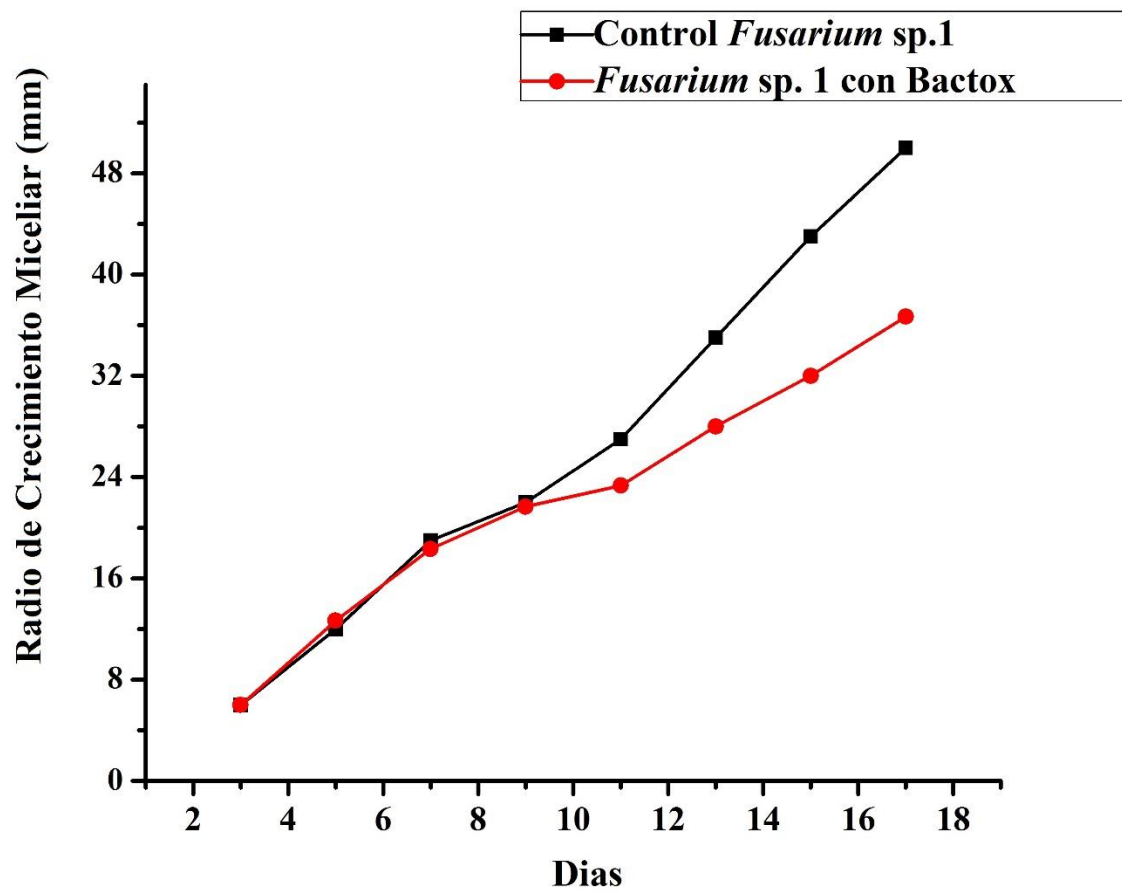


Figura 4. Efecto de BACTOX sobre el crecimiento de *Fusarium* sp. 1.

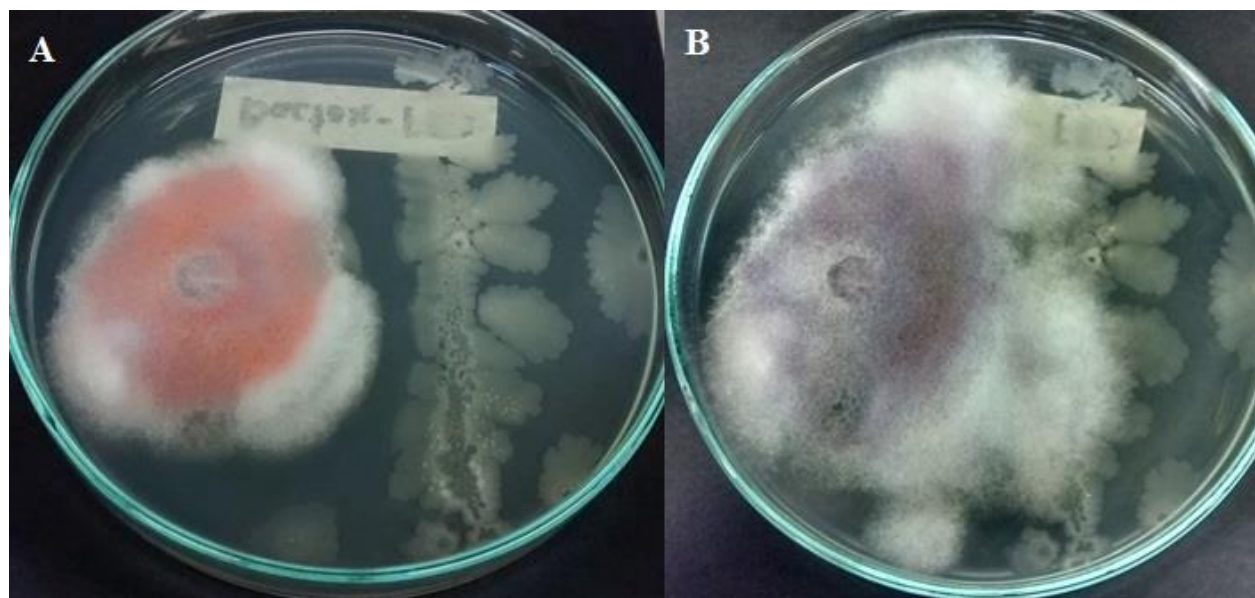


Figura 5. Efecto de *Bacillus subtilis* sobre el crecimiento de *Fusarium* sp. 1. en cultivo dual. **A.** Crecimiento dual a los siete días. **B.** Crecimiento dual a los quince días.

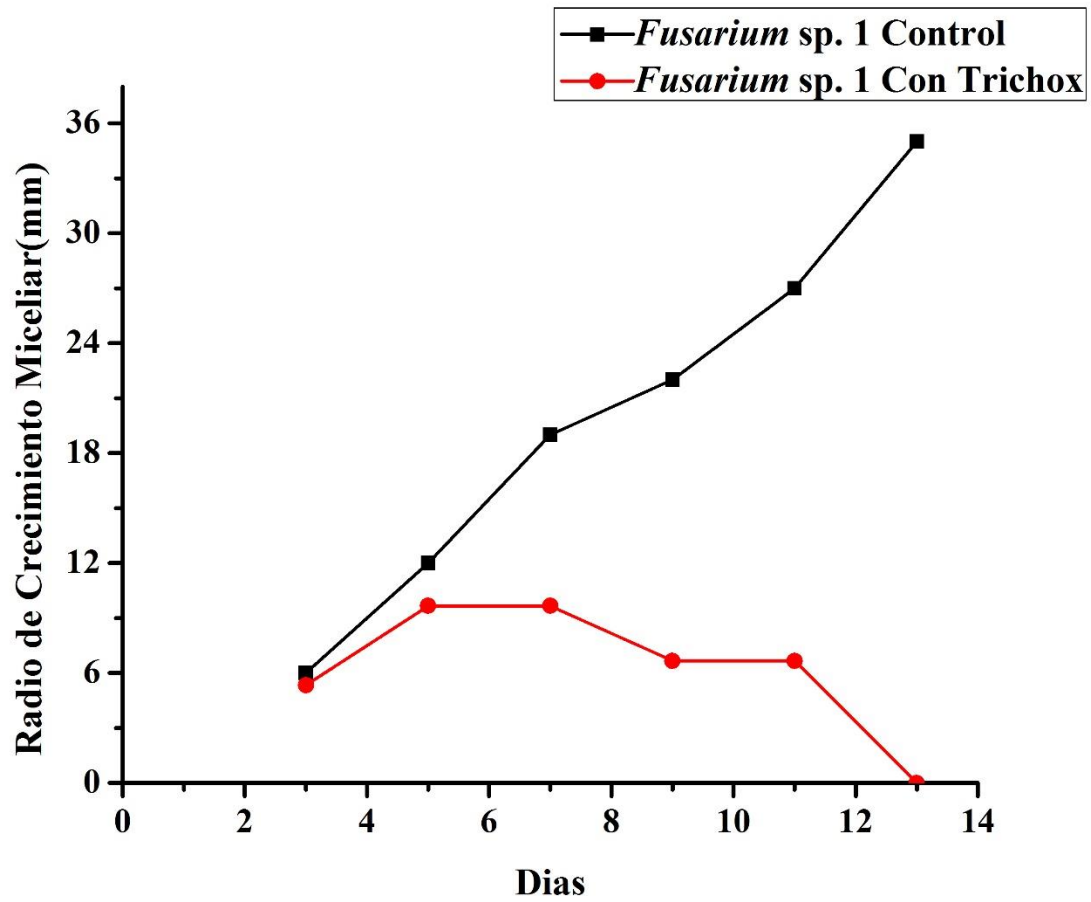


Figura 6. Efecto de *Trichoderma harzianum* sobre el crecimiento de *Fusarium* sp. 1. en cultivo dual.

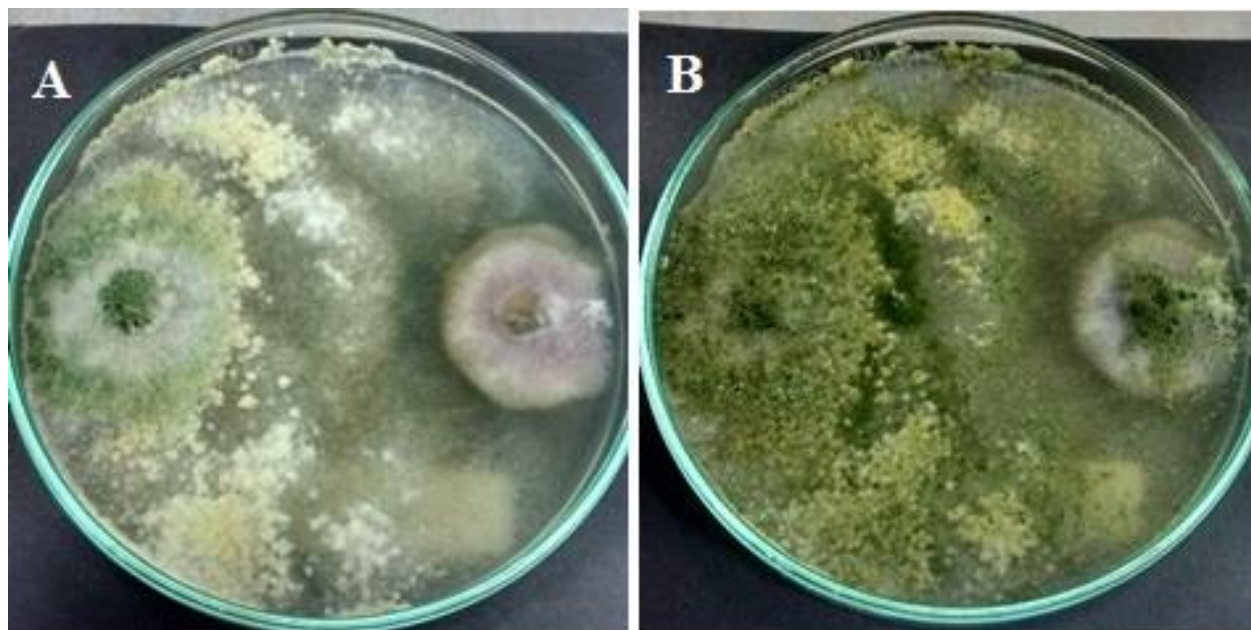


Figura 7. Efecto de *Trichoderma harzianum* sobre el crecimiento de *Fusarium* sp. 1. en cultivo dual. **A.** Crecimiento dual a los cinco días. **B.** Crecimiento dual a los trece días.