



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO EN FITOSANIDAD

FITOPATOLOGÍA

**TOLERANCIA A *Phytophthora capsici* DE PLANTAS DE FRESA
PREMICORRIZADAS CON *Rhizophagus intrarradices* E INOCULADAS
CON RIZOBACTERIAS PROMOTORAS DEL CRECIMIENTO
VEGETAL**

MARÍA SERRET LÓPEZ

T E S I S

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

MAESTRA EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

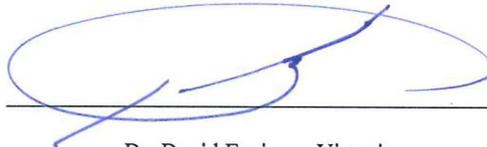
2015

La presente tesis titulada: **TOLERANCIA A *Phytophthora capsici* DE PLANTAS DE FRESA PREMICORRIZADAS CON *Rhizophagus intraradices* E INOCULADAS CON RIZOBACTERIAS PROMOTORAS DEL CRECIMIENTO VEGETAL** realizada por la alumna: **María Serret López**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**MAESTRA EN CIENCIAS
FITOSANIDAD
FITOPATOLOGÍA**

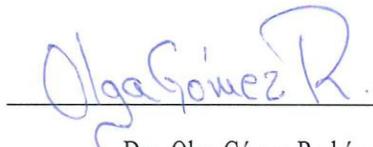
CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO



Dr. David Espinosa Victoria

ASESOR



Dra. Olga Gómez Rodríguez

ASESOR



Dr. Julián Delgadillo Martínez

Montecillo, Texcoco, Estado de México, Junio de 2015

TOLERANCIA A *Phytophthora capsici* DE PLANTAS DE FRESA PREMICORRIZADAS CON *Rhizophagus intraradices* E INOCULADAS CON RIZOBACTERIAS PROMOTORAS DEL CRECIMIENTO VEGETAL

RESUMEN

La fresa (*Fragaria x annanasa* Duch.) es un cultivo de gran importancia para México. Sin embargo, el abuso en la aplicación de plaguicidas para el control de patógenos del suelo ha ocasionado la degradación de éste y daños a la salud humana. Esto ha llevado a buscar alternativas de biocontrol. El objetivo de este trabajo fue evaluar la premicorrización con *Rhizophagus intraradices* (antes *Glomus intraradices*) e inoculación con rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal o PGPR's (por sus siglas en inglés, Plant Growth Promoting Rhizobacteria) en la supresión de la marchitez causada por *Phytophthora capsici* en la variedad de fresa "Festival". El inóculo consistió de 0.5 g de raíces de sorgo colonizadas con 80-85 % por *R. intraradices* y un mL de la suspensión bacteriana compuesta por *Pseudomonas tolaasi*, *Bacillus pumilus*, y *Paenibacillus* sp. a una concentración de 10^8 UFC/mL, aplicado ocho días después del trasplante. *Phytophthora capsici* se inoculó 45 días después de la aplicación de los microorganismos biocontroladores. Se evaluaron las siguientes variables: Antagonismo de *Pseudomonas tolaasi*, *Bacillus pumilus*, y *Paenibacillus* sp., incidencia y severidad de la enfermedad, colonización micorrízica, área foliar, peso de materia seca, volumen radical, contenido de N y P y número de estolones. Se observó que las tres cepas bacterianas tuvieron efecto antagónico, ya que inhibieron el crecimiento del fitopatógeno. Al final de experimento se registró 63 % de severidad en las plantas tratadas con *P. capsici*. La manifestación de la enfermedad fue menor en las plantas inoculadas con PGPR's + *R. intraradices* con tan solo 23 %. Se observó mayor área foliar (239.95cm^2), peso de materia seca (6.24 g), volumen radical (2.1 mL) y número de estolones (5) en las plantas inoculadas con PGRP's + *R. intraradices*. En cuanto a la concentración de N y P en la biomasa vegetal, no hubo diferencia significativa. Sin embargo, el aumento en el crecimiento de las plantas inoculadas con los microorganismos benéficos, probablemente se deba a la producción de reguladores del crecimiento vegetal y no al N y P disponible.

Palabras clave: Fresa, endomicorrizas, PGPR's, oomiceto, biocontrol

TOLERANCE TO *Phytophthora capsici* OF STRAWBERRY PLANTS PRE-MYCORRHIZED WITH *Rhizophagus intrarradices* AND INOCULATED WITH RHIZOBACTERIAS GROWTH PROMOTING

ABSTRACT

Strawberry (*Fragaria x annanasa* Duch.) is a crop of great importance to Mexico. However, abuse in the application of pesticides to control soil pathogens causes the soil degradation and damage of human health. This has led to seek biocontrol alternatives. The aim of this study was to evaluate the premycorrhización with *Rhizophagus intrarradices* (before *Glomus intrarradices*) and inoculation with plant growth promoting rhizobacteria (PGPR's) in suppressing the wilt caused by *Phytophthora capsici* in the strawberry variety "Festival". The inoculum consisted of 0.5 g of 80-85% *R. intrarradices*-colonized sorghum roots and one mL of the bacterial suspension comprising for *Pseudomonas tolassi*, *Bacillus pumilus*, and *Paenibacillus* sp. at a concentration of 10^8 CFU mL⁻¹ applied eight days after transplanting. Inoculation of *Phytophthora capsici* occurred 45 days after the application of the biocontrolling microorganisms. The following variables were evaluated: bacterial antagonism against *Phytophthora capsici*, disease incidence and severity, mycorrhizal colonization, leaf area, dry matter weight, root volume, content of N and P and number of stolons. The three bacteria species inhibited the growth of the pathogen. At the end of the experiment, the disease severity in plants inoculated with *P. capsici* was 63%. Inoculation with PGPR's + *R. intrarradices* reduced in 23% the disease severity. Plants inoculated with PGPR's + *R. intrarradices* increase the leaf area (239.95cm²), dry matter weight (6.24 g), root volume (2.1 mL) and stolon number (5). In this study there was no significant difference in the content of N and P in the tissue plant, however, the increase of the plant growth inoculated with beneficial microorganism probably it is due to the plant growth regulators production.

Key words: Strawberry, endomycorrhizae, PGPR's, oomycete, biocontrol

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el financiamiento para realizar la presente investigación.

Fideicomiso revocable de administración e inversión no. 167304 para el establecimiento y operación de los fondos para la investigación científica y desarrollo tecnológico del centro público Colegio de Postgraduados”, modalidad 3 “Financiamiento a proyectos de investigación de tesis en maestría en ciencias”.

Al consejo particular constituido por el Dr. David Espinosa Victoria, Dra. Olga Gómez Rodríguez y Dr. Julián Delgadillo Martínez, por el apoyo brindado para la realización de la presente investigación.

Al Dr. Juan José Almaraz Suárez, Dr. Daniel Téliz Ortiz, Dr. Carlos de León, Dr. Rafael Rojas Rojas, M. C. Miguel Peña Datoli, M. C. Victoria Ayala Escobar e Ing. Víctor Medina cadenas, por su guía y sugerencias en la elaboración del presente trabajo.

A todas aquellas personas que contribuyeron para que la realización de la presente investigación se llevara a cabo.

DEDICATORIA

A mis padres Rogelio Serret Pinelo y Reina López Morales.

A mis hermanos por su apoyo y comprensión a lo largo de mi vida personal y profesional.

A mis amigos por sus consejos y apoyo.

A Jonathan López Luis, por su enseñarme el valor de la perseverancia.

***“Estar preparado es importante, saber esperar lo es aún más, pero aprovechar el momento
adecuado es la clave de la vida”***

Arthur Schnitzler

CONTENIDO

	Página
RESUMEN	iii
SUMMARY	¡Error! Marcador no definido.
ÍNDICE DE CUADROS	xi
ÍNDICE DE FIGURAS	xii
CAPÍTULO I. MARCO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE	1
1.1. INTRODUCCIÓN	1
1.2. OBJETIVO GENERAL	2
1.3. HIPOTESIS GENERAL	2
1.4. REVISIÓN DE LITERATURA	3
1.4.1. Cultivo de fresa	3
1.4.1.1. Importancia en México y el mundo	3
1.4.1.2. Origen y distribución en México.....	4
1.4.1.3. Taxonomía y descripción botánica	5
1.4.1.4. Enfermedades fungosas en raíz y corona	6

2. <i>Phytophthora</i> spp. en fresa.....	7
2.1. <i>Phytophthora capsici</i>	8
2.2.1. Rango de hospedantes.....	8
2.2.1.1. Biología del patógeno	8
2.2.1.2. Síntomas.....	10
2.2.1.3. Manejo de la pudrición radical en fresa	10
2.2.1.4. Hongos micorrízicos (HMA) en la supresión de enfermedades en fresa (<i>Fragaria x annanasa</i> Duch.).....	11
2.2.1.5. Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal en la supresión de enfermedades en fresa (<i>Fragaria x annanasa</i> Duch.).....	13
2.2.1.6. Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA) y Bacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal (PGPR's) en la supresión de enfermedades en fresa.....	14
3. LITERATURA CITADA.....	15
CAPÍTULO II. PATOGENICIDAD DE <i>Phytophthora capsici</i> EN FRESA (<i>Fragaria x annassa</i> Duch.) EN CONDICIONES CONTROLADAS	24
RESUMEN.....	24
1. INTRODUCCIÓN	25
2. MATERIALES Y MÉTODOS	26
2.1. Material biológico.....	26
2.1.1. Multiplicación del patógeno.....	26
2.1.2.1. Producción de esporangios y zoosporas.....	26
2.1.2.2. Liberación de zoosporas.....	27

2.1.3. Inoculación.....	27
2.1.4. Reaislamiento del patógeno	27
2.2. Registro de daño por <i>P. capsici</i> reislado de plantas de fresa.....	28
3.1. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	28
3.1. Reaislamiento del patógeno	28
3.2. Registro de daño <i>P. capsici</i> reislado de plantas de fresa.....	28
4. CONCLUSIÓN	31
5. LITERATURA CITADA.....	31
CAPÍTULO III. TOLERANCIA A <i>Phytophthora capsici</i> DE PLANTAS DE FRESA	
PREMICORRIZADAS CON <i>Rhizophagus intrarradices</i> E INOCULADAS CON PGPR's	
.....	33
RESUMEN.....	33
1. INTRODUCCIÓN	34
2. MATERIALES Y MÉTODOS	36
2.1.1. Material biológico.	36
2.2. Primera fase: Capacidad antagónica <i>in vitro</i> de tres cepas de rizobacterias hacia <i>Phytophthora capsici</i>	37
2.2.1. Ensayo <i>in vitro</i>	37
2.2.2. Tratamientos y diseño experimental	37
2.3. Segunda fase: Prueba en ambiente controlado.....	38
2.3.1 Multiplicación e inoculación de <i>Phytophthora capsici</i>	39

2.3.2. Incidencia y severidad de la enfermedad	39
2.3.4. Determinación de nitrógeno y fósforo	40
2.3.5. Determinación de colonización micorrízica.....	41
2.3.6. Tratamientos y diseño experimental	41
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	42
3.1. Primera fase: Capacidad antagonica <i>in vitro</i> de tres cepas de rizobacterias hacia <i>Phytophthora capsici</i>	42
3.2. Segunda fase: Prueba en ambiente contralado	43
3.2.1. Incidencia y Severidad de la enfermedad.....	43
3.3. Área foliar, peso seco de la parte aérea, volumen radical y número de estolones.	47
3.4. Nitrógeno (N) y fósforo (P)	49
3.5. Colonización micorrízica	50
4. CONCLUSIÓN	52
5. LITERATURA CITADA.....	52
CONCLUSIONES GENERALES.....	56

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Principales productores de fresa en México (SIAP, 2013).....	4
Cuadro 2. Inhibición del crecimiento micelial de <i>Phytophthora capsici in vitro</i> causada por tres cepas de rizobacterias.....	42
Cuadro 3. Variables relacionadas con el crecimiento de plantas de fresa inoculadas con <i>P. capsici</i> , PGPR's y <i>R. intrarradices</i> en ambiente controlado.....	48
Cuadro 4. Concentración de N y P en plantas de fresa inoculadas con <i>P. capsici</i> , PGPR's y <i>R. intrarradices</i>	50
Cuadro 5. Porcentaje de colonización micorrízica en raíces plantas de fresa inoculadas con <i>P. capsici</i> , PGPR's y <i>R. intrarradices</i>	51

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Principales productores de fresa a nivel mundial (FAOSTAT, 2012).....	3
Figura 2. Vista esquemática de los eventos que se presentan durante la infección temprana de <i>Phytophthora</i> en plantas susceptibles y resistentes.....	9
Figura 3. Mecanismos usados por las PGPR's y <i>R. intrarradices</i> para mejorar el crecimiento de las plantas bajo estrés.....	15
Figura 4. Marchitez causada por <i>P. capsici</i> en fresa.....	29
Figura 5. Daños a la corona en fresa causado por <i>P. capsici</i> a los 0, 5, 10 y 15 días después de la inoculación.....	30
Figura 6. Inhibición de <i>P. capsici</i> con las rizobacterias <i>Bacillus pumilus</i> , <i>Pseudomonas tolassi</i> y <i>Paenibacillus</i> sp	43
Figura 7. Incidencia causada por <i>P.capsici</i> en plantas de fresa inoculadas con <i>R. intrarradices</i> y PGPR's.....	44
Figura 8. Severidad de la enfermedad causada por <i>P.capsici</i> en plantas de fresa inoculadas con <i>R. intrarradices</i> y PGPR's.....	45
Figura 9. Plantas de fresa inoculadas con <i>R. intrarradices</i> , PGPR's, y <i>P.capsici</i>	46

Figura 10. Producción de estolones en las plantas de fresa inoculadas con PGPR's y *R. intrarradices*.....48

Figura 11. Vesículas y esporas encontradas en raíces de plantas de fresa inoculadas con *P capsici R. intrarradices* y PGPR's.....51

CAPÍTULO I. MARCO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE

1.1. INTRODUCCIÓN

La fresa (*Fragaria x ananassa* Duch) es un frutal que se consume principalmente en fresco. Por las características de su fruto es considerado sinónimo de primavera, aunque en la actualidad, gracias a las tecnologías de postcosecha y envasado, puede ser consumida prácticamente durante todo el año (Dorantes, 2008). Este cultivo es muy importante a nivel nacional debido a las divisas que genera. México ocupa el segundo lugar en la producción mundial de fresa (FAOSTAT, 2012) y presenta un consumo per cápita de un kilo 500 gramos (Seefoó, 2013).

Dentro de los principales problemas fitosanitarios del cultivo de fresa, se encuentran las enfermedades de la raíz causadas por hongos y oomicetos, destacando la secadera que consiste en marchitamiento y muerte gradual de la planta (Mendoza-Zamora y Romero Cova, 1989; Castro y Dávalos, 1990; Quintero *et al.*, 1998; Ceja *et al.*, 2008). Esta enfermedad se ha relacionado con nueve organismos, de los que sobresalen *Fusarium* sp., *Verticillium dahliae*, *Rhizoctonia solani* y *Phytophthora* sp. (Castro y Dávalos, 1990; Mendoza, 1992; Quintero *et al.*, 1998).

El manejo de la pudrición radical de la fresa se ha basado exclusivamente en el uso de productos químicos, particularmente, la fumigación del suelo con bromuro de metilo. Producto que ha sido prohibido en México y otros países por los daños severos que causa a la capa de ozono (Ferguson *et al.*, 2002).

El uso excesivo de plaguicidas en el manejo de la secadera, altera a los depredadores naturales presentes en el ecosistema. Igualmente, la presencia de residuos de productos tóxicos tanto en fruto como en planta, incrementan el daño al ambiente y salud humana (León *et al.*, 2014).

Ante tal situación, se han buscado alternativas para la disminución en el uso de plaguicidas, tal es el caso del control biológico de enfermedades en plantas. Este se realiza a través de la inoculación de microorganismos benéficos con la finalidad de mejorar la sanidad y productividad de los cultivos. Dentro de estos microorganismos destacan las bacterias y los hongos, como los dos grupos más importantes de antagonistas de fitopatógenos (Barea, 1998). La utilización de estos microorganismos, de manera conjunta, repercute en la sanidad de las plantas debido a la integración de una serie de mecanismos benéficos (Azcón, 2000).

1.2. OBJETIVO GENERAL

El objetivo general de este trabajo fue evaluar la premicorrización con *Rhizophagus intrarradices* y la inoculación con las rizobacterias *Pseudomonas tolaasi*, *Bacillus pumilus* y *Paenibacillus* sp. en la supresión de *P. capsici* en fresa.

1.3. HIPOTESIS GENERAL

R. intrarradices y las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR's) actúan como agentes de control biológico de *P. capsici* de manera individual, por lo tanto, su acción conjunta aumentará su efectividad disminuyendo la incidencia y severidad en la marchitez de plantas de fresa.

1.4. REVISIÓN DE LITERATURA

1.4.1. Cultivo de fresa

1.4.1.1. Importancia en México y el mundo

En el mercado de las frutas, la fresa ocupa un lugar importante ya que su consumo en fresco es altamente demandado (Clavejo *et al.*, 2010; Argelys, 2012).

Estados Unidos es el principal productor (1 366 850 tm) (FAOSTAT, 2012), y consumidor de fresas (3.58 kg per cápita) (USDA, 2013). Por su parte, México pasó del quinto lugar en 2011 (228 900 tm) al segundo lugar (2012) en la producción de esta frutilla (360 426 tm) (FAOSTAT, 2012). El consumo per cápita aumentó considerablemente, pasando de 800 gramos en el 2009, a un kilo 500 gramos en el 2012 (Seefoó, 2013).

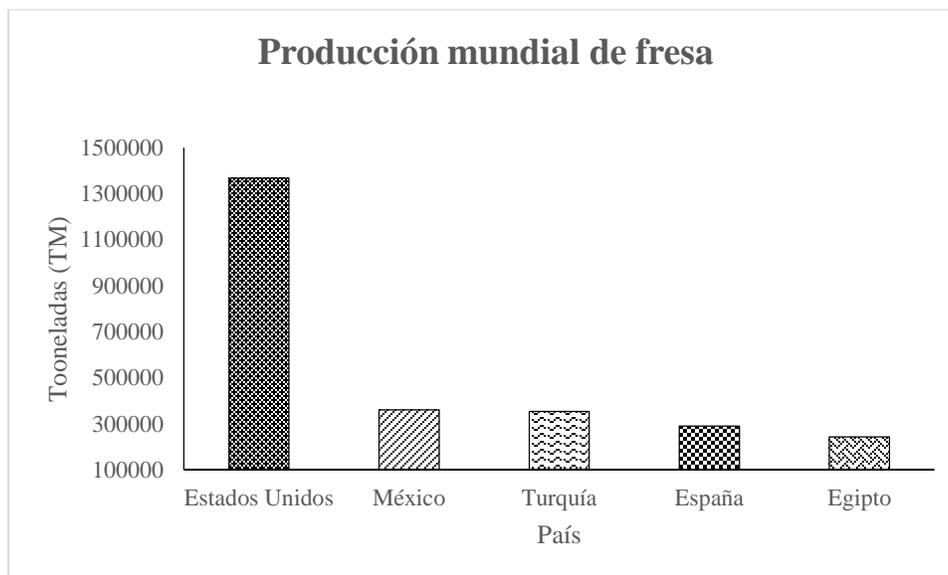


Figura 1. Principales productores de fresa a nivel mundial (FAOSTAT, 2012).

El principal estado productor de fresa en México es Michoacán, con una superficie sembrada de 4,605 ha, siguiéndole Baja California con 2,048 ha (SIAP, 2013) (Cuadro 1).

Cuadro 1. Principales productores estatales de fresa en México (SIAP, 2013).

Estado	Superficie sembrada(ha)	Superficie cosechada(ha)	Producción (Ton)	Rendimiento (Ton/ha)
Michoacán	4,605.00	4,482.50	204,937.15	45.72
Baja California	2,048.00	2,048.00	123,586.00	60.34
Guanajuato	903	901	20,198.00	22.42
Jalisco	480	480	16,461.50	34.29
México	332.5	328.5	5,923.85	18.03
Baja California Sur	226.25	211.25	7,747.49	36.67
Aguascalientes	24	24	336	14
Zacatecas	9	9	148.94	16.55
Puebla	3.5	3.5	6.5	1.86
Veracruz	3	3	28.5	9.5
Sinaloa	2	2	59.6	29.8
Chihuahua	1.47	1.47	15.93	10.84
Durango	1	1	8	8
Coahuila	1	1	6.42	6.42

1.4.1.2. Origen y distribución en México

En 1849, la planta de fresa fue introducida a México, en el estado de Guanajuato, por medio de Don Nicolás Tejada, líder político del Distrito de Irapuato. El cultivo de fresa cobró importancia hasta 1880, cuando Óscar Droege, alemán radicado en Guanajuato, enseñó a los agricultores locales el cultivo técnico de la fresa, en las huertas localizadas en la hacienda de San Juan Retana (Sánchez, 2008; León, 2014).

A partir de los años 40's, el estado de Guanajuato se posicionó como el principal productor de fresa en México, sosteniendo esta posición hasta el año de 1974. Sin embargo, la contribución de este estado en la producción nacional de fresa ha disminuido debido, principalmente, a una tendencia negativa en la superficie de plantación y a la baja tecnificación de dicho cultivo en este estado. A mediados de los años 80's, Ensenada, Baja California, se sumó a la producción de

fresa, debido a su cercanía con Estados Unidos de América, que es el principal consumidor mundial de esta frutilla (León, 2014). En 1999 alcanzó una producción de 32 922 t, superando a Guanajuato. A partir de ese año, Guanajuato ocupa el tercer lugar en la producción de fresa, contribuyendo con el 7 % de la producción nacional, mientras tanto Michoacán participa con el 50 % y Baja California con el 37 % (SAGARPA, 2013).

1.4.1.3. Taxonomía y descripción botánica

La fresa es una planta de la familia Rosaceae, subfamilia Rosoidea, tribu Potentilla, cuyo género es *Fragaria*. Los cultivares más utilizados en la actualidad son cruzamientos de las especies: *Fragaria vesca*, *Fragaria chiloensis*, *Fragaria virginiana* y *Fragaria grandiflora* (Feriol, 2010; Argelys, 2012).

Es una planta perenne de porte pequeño, se reproduce de manera sexual y asexual (mediante el desarrollo de estolones). Aunque se considera como herbácea, en realidad se trata de una especie leñosa y perenne con características fisiológicas similares a árboles y arbustos de hoja caduca (López-Aranda *et al.*, 2009).

Su ciclo de vida es corto (de doce a veinte semanas por generación). El tallo está comprimido en una roseta basal o corona, de la que surgen las hojas que generalmente son pinadas y trifoliadas (Hancock, 1999). En las axilas de las hojas se desarrollan yemas o meristemas axilares. Estas yemas, dependiendo del estado nutricional y de las condiciones ambientales, evolucionan de diferente manera: permanecen aletargadas o desarrollan estolones, ramas o escapos florales, los estolones, o tallos rastreros, producen raíces adventicias, de las que pueden surgir eventualmente nuevas plantas.

Se reproduce sexualmente mediante la formación de inflorescencias generalmente hermafroditas, de pétalos blancos y receptáculo amarillo. Los receptáculos terminan desarrollando poliaquenos o “eterios” que contienen a los verdaderos frutos (aquenos) en su superficie. El fruto de fresa pertenece a la categoría de los no climatéricos (Navarro y Muñoz-Garmendia, 2005).

1.4.1.4. Enfermedades fungosas en raíz y corona

La fresa es una planta muy susceptible al ataque de fitopatógenos, tal es el caso de *Phytophthora cactorum*, que ocasiona la pudrición de la corona (Martínez *et al.*, 2010), *Phytophthora fragariae* var *fragariae*, causante de la podredumbre roja y *Pythium* sp.

Asimismo *Rhizoctonia solani*, es el agente causal de la raíz negra de la fresa. Esta enfermedad se caracteriza por reducir el vigor y rendimiento (Wing, 1994), y puede ser introducida en los cultivos por medio del uso de plantas contaminadas en el trasplante (Ferguson, 2002). La enfermedad es favorecida por el drenaje pobre de los suelos (Vestberg *et al.*, 2004).

Dentro de estos fitopatógenos también se encuentra *Macrophomina phaseolina*, que puede sobrevivir en el suelo o en residuos de material vegetal infectado en forma de microesclerocios (Zveibil *et al.*, 2012). Tiene también la capacidad de comportarse como saprófito (Su *et al.*, 2001). Cuando el patógeno penetra la corona, los tejidos vasculares y corticales se tornan de color marrón oscuro a marrón naranja, la enfermedad causada por este fitopatógeno puede causar raíces completamente podridas (Chamorro *et al.*, 2015).

Este cultivo también se ve afectado por *Fusarium* spp. y *Verticillium* spp. los cuales causan marchitez en la planta (Vestberg *et al.*, 2004).

Estos fitopatógenos pueden causar pérdidas hasta del 50 %, cuando se presentan condiciones favorables para el desarrollo de la enfermedad y no se controlan a tiempo (Castro y Dávalos, 1990; Ceja-Torres *et al.*, 2001).

2. *Phytophthora* spp. en fresa

Dentro de los principales agentes causales de enfermedad se encuentra *Phytophthora*, que es un género de oomiceto fitopatógeno, responsable directo de considerables pérdidas económicas en este cultivo.

Dentro de las especies de *Phytophthora* que atacan al cultivo de fresa se encuentran *Phytophthora fragariae* que causa la podredumbre roja (Vestberg *et al.*, 2004; Cano, 2013), y *Phytophthora cactorum* que ocasiona la pudrición de la corona (Martínez *et al.*, 2010; Cano, 2013). Este patógeno causa enfermedad en más de 200 especies de plantas, agrupadas en 60 familias diferentes (Erwin y Ribeiro, 1996).

Phytophthora parasítica patógeno habitante del suelo que infecta plantas herbáceas y leñosas teniendo un rango aproximado de 60 diferentes familias, incluyendo la solanácea y otras plantas cultivadas de importancia económica alrededor del mundo (Erwin y Ribeiro, 1996)

Phytophthora capsici fue aislado en pimiento, y posteriormente en otros hospedantes, tal es el caso de fresa (Pérez-Moreno *et al.*, 2001).

2.1. *Phytophthora capsici*

2.2.1. Rango de hospedantes

Phytophthora capsici tiene un rango amplio de hospedantes, dentro de ellos, pimiento, jitomate, sandía, calabaza, cacao y macadamia (Hye-Yeon *et al.*, 2009). También infecta a miembros de la familia Amarilidaceae, Fabaceae, Malvaceae, y Piperaceae (Erwin y Ribeiro, 1996) y otros cultivos (Kimberly *et al.*, 2010). Además, ha sido reportado como patógeno de varias especies de malezas.

Este fitopatógeno se aisló por primera vez en pimiento, en Nuevo México EUA, y después en otros hospedantes, tal es el caso de fresa (Pérez- Moreno *et al.*, 2001).

2.2.1.1. Biología del patógeno

Este patógeno puede sobrevivir en condiciones desfavorables del suelo formando oosporas de paredes gruesas, mientras que la diseminación e infección es realizada por la producción de zoosporas móviles (Hye-Yeon *et al.*, 2009).

La elevada humedad relativa así como la abundante humedad del suelo y una temperatura óptima entre 15°C y 28°C, son propicias para el establecimiento y desarrollo del patógeno. Las zoosporas (esporas móviles) nadan por el agua presente en el suelo y se mueven hacia las raíces de la planta hospedante, después se adhieren a la superficie de la raíz, se enquistan y producen un tubo germinativo (Hye-Yeon *et al.*, 2009). La infección temprana presenta eventos similares en plantas resistentes y susceptibles. Típicamente, la infección comienza cuando las zoosporas se enquistan y germinan en la superficie de la raíz o de las hojas. Alternativamente, en algunas especies, los esporangios (esporas asexuales) pueden germinar directamente. Los tubos germinativos penetran las células epidermales y forman la vesícula de infección. En plantas

susceptibles, la hifa se ramifica y produce las estructuras de alimentación conocidas como haustorios, que se expanden desde el sitio de penetración a las células vecinas a través del espacio intercelular. En plantas resistentes, la mayor reacción de defensa es la Reacción de Hipersensibilidad (RH). El momento y la magnitud de la RH varían dependiendo de la interacción entre los genotipos de la planta y el patógeno. En algunos casos, tales como las interacciones con plantas no hospedantes, la RH permanece restringida a una o pocas células (Kamoun, 2001) (Figura 2).

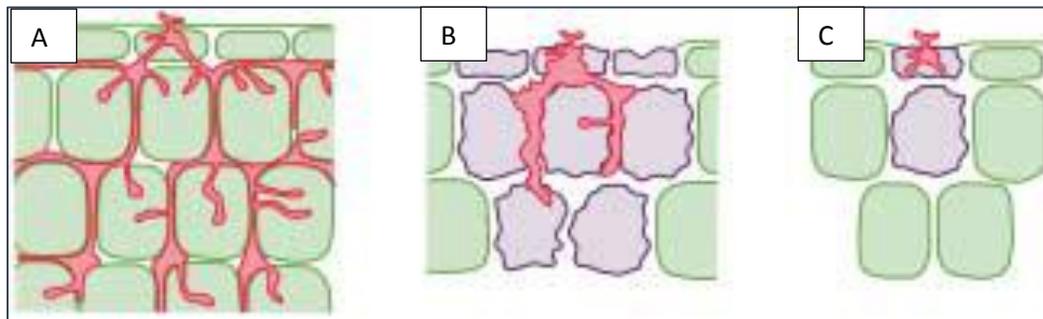


Figura 2. Vista esquemática de los eventos durante la infección temprana en la interacción entre *Phytophthora* sp. con plantas susceptibles y resistentes. La penetración del tejido de la planta es observada en todas las imágenes, (A) en plantas susceptibles, no ocurre una defensa visible. La hifa secundaria crece dentro del espacio intra e intercelular, formando el haustorio dentro del mesófilo celular. En plantas resistentes, se dispara la RH. Las hifas agonizantes del patógeno son contenidas dentro de un grupo de células muertas de la planta (B) o dentro de las células epidérmicas penetradas (C), dependiendo del genotipo de la interacción planta-patógeno. Macroscópicamente, las lesiones de RH pueden verse como manchas marrón-negro en hojas o no pueden ser visibles. En varias plantas no hospedantes, la RH es inducida extremadamente rápido y es usualmente localizada en una o dos células de la planta (Kamoun, 2001).

2.2.1.2. Síntomas

P. capsici causa la marchitez, pudrición de la raíz, pudrición de la corona y damping-off en plántulas, así como tizón del tallo, pudrición del fruto, entre otros (Erwin y Ribeiro, 1996; Kimberly *et al.*, 2010).

2.2.1.3. Manejo de la pudrición radical en fresa

Una de las principales metas en el cultivo comercial de la fresa, es el manejo de enfermedades que en su gran mayoría son de carácter fungoso (Cano, 2013).

El manejo de la pudrición radical de la fresa se ha basado exclusivamente en el uso de productos químicos, particularmente, la fumigación del suelo con bromuro de metilo (Ferguson *et al.*, 2002). Sin embargo, es necesario implementar prácticas de manejo para reemplazar su uso, ya sean químicas, enmiendas orgánicas (Uz *et al.*, 2015) y/o agentes de biocontrol (Ferguson *et al.*, 2002).

En Israel, Elad *et al.* (1981) reportaron una disminución del 92 % en la incidencia de la enfermedad causada por *R. solani* y un aumento del 37 % en el rendimiento cuando las plantas infectadas, recién trasplantadas fueron tratadas con *Trichoderma harzianum*.

Uz *et al.* (2014), mencionan que el fungicida Provax, a una concentración de 100 ppm, es altamente compatible con *Trichoderma* (aislamiento STA7), para controlar *Rhizoctonia solani*.

La FAO (2015) reporta que la solarización combinada con algunas enmiendas orgánicas, tales como residuos de crucíferas, estiércol, etc. es eficaz para incrementar el antagonismo microbiano del suelo, debido a la producción de compuestos volátiles. Esto ha sido efectivo para la supresión de *Verticillium* spp., *Rhizoctonia solani*, *Phytium* spp., nematodos y malezas.

Los productores actualmente emplean la fumigación del suelo antes de la siembra para eliminar patógenos. Sin embargo, nuevas restricciones al uso de muchos fumigantes ha llevado a que los agricultores implementen nuevos enfoques para hacer menos dependiente la producción de la fumigación antes de la siembra. Tal es el caso del uso de la solarización. Este enfoque utiliza la calefacción solar pasiva del mantillo del terreno húmedo, empleando cobertura de plástico (Stapleton, 2000).

Por otro lado, Avis (2008) señala que a raíz de los problemas asociados con el uso de agroquímicos, se ha incrementado el uso de microorganismos benéficos para mejorar la salud de las plantas y la productividad, al tiempo que garantiza la seguridad para el consumo humano y la protección del ambiente.

En este contexto, se ha demostrado que muchos microorganismos del suelo son benéficos y se han integrado a una amplia variedad de sistemas de producción, como parte de las prácticas de manejo integrado de plagas (Antoun y Prevost, 2005). No obstante, este enfoque requiere más investigación (Gigot *et al.*, 2013).

2.2.1.4. Hongos micorrízicos (HMA) en la supresión de enfermedades en fresa (*Fragaria x annanasa* Duch.).

Los hongos micorrízicos arbusculares o HMA pertenecen al Phylum Glomeromycota, y comprende importantes miembros de la rizosfera (Vestberg *et al.*, 2004) que establecen una relación simbiótico mutualista con las raíces de la mayoría de las plantas terrestres (Marschner y Dell, 1994). Actualmente, existen cuatro órdenes, 11 familias, 17 géneros y 228 especies, de los cuales *Glomus* es el género más abundante (Schüßler y Walker, 2010).

El proceso de colonización para la mayoría de los géneros formadores de micorriza, inicia cuando la hifa penetra y se desarrolla en la zona intersticial de las células corticales de la raíz. Posteriormente, hay diferenciación y se forman las estructuras fúngicas características, como son: arbusculos, vesículas e hifas intrarradicales (Allen, 1996).

En la simbiosis, ambos organismos se benefician (Allen y Allen, 1984). Por un una parte, el hongo obtiene de esta asociación fotosintetizados que la planta le provee, además de un nicho para desarrollarse y protegerse. Por otra parte, estos microorganismos pueden mejorar la nutrición mineral de la planta, tal es el caso de P, Cu, Zn, N, Mn, S y Fe (Smith y Read, 1997), debido a que las hifas poseen mayor capacidad que las raíces para explorar el suelo. Y por consecuencia, a través de estas estructuras micorrízicas se establece un vínculo más estrecho entre la planta y el suelo (Gianinazzi *et al.*, 1990; Blanco y Salas, 1997). La interacción planta-micorriza depende de la diversidad genética y de las poblaciones de microorganismos presentes en el suelo (Barea *et al.*, 2011).

Los HMA ejercen efectos benéficos en la raíz, en términos de crecimiento, aumentando la concentración de fósforo, la producción de un mayor sistema radical y son capaces de reducir las enfermedades causadas por diferentes patógenos de las plantas (Taylor y Harrier, 2001). Estos microorganismos pueden afectar a los organismos presentes en el suelo debido a la competencia por nutrientes, modificación del pH y cambios en la morfología del sistema radical (Bending *et al.*, 2006). Por otra parte, hay evidencias que sugieren que la resistencia sistémica puede ser inducida por HMA (Norman y Hooker, 2000).

En este contexto, el uso de HMA puede ser una alternativa al empleo de fertilizantes y plaguicidas en sistemas de producción de cultivos sustentables (Matsubara *et al.*, 2009). Los más estudiados son *Rhizophagus intrarradices* (previamente denominado *Glomus intraradices*) y

Glomus mosseae, contra patógenos como son *Fusarium* spp., *Rhizoctonia solani*, *Cylindrocarpon destructans*, *Phytophthora* spp. (Bending *et al.*, 2006), *Phytophthora capsici*, *Erwinia carotovora* y *Pseudomonas syringae* (Dorantes *et al.*, 2008).

2.2.1.5. Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal en la supresión de enfermedades en fresa (*Fragaria x annanasa* Duch.).

Varias especies de los géneros bacterianos *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Bacillus*, *Variovorax*, *Klebsiella*, *Bulkholderia*, *Azospirillum*, *Serratia* y *Azotobacter*, son conocidas como Bacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal o PGPR's (del inglés Plant Growth Promoting Rhizobacteria) (Nadeem *et al.*, 2014).

Gracias a las PGPR's, las plantas se ven favorecidas en el crecimiento y desarrollo, tanto en condiciones de estrés y como en condiciones no estresantes, debido a mecanismos directos e indirectos (Glick *et al.*, 2007).

Algunos de los mecanismos empleados por estos microorganismos son: Fijación biológica del nitrógeno, producción de sideróforos, síntesis de reguladores del crecimiento y producción de ácidos orgánicos para la solubilización de fosfato (Glick *et al.*, 2007; Hayat *et al.*, 2010).

Las PGPR's además de proporcionar beneficios en la absorción y translocación de nutrientes, también protegen a las plantas proporcionándole resistencia contra patógenos habitantes del suelo, y mejoran la resistencia de las plantas contra enfermedades (Nadeem *et al.*, 2014). Dicha protección se debe a la producción de compuestos, por ejemplo, el cianuro es una característica de varias especies de *Pseudomonas*. El cianuro actúa como agente de biocontrol contra ciertos patógenos de las plantas (Martínez *et al.*, 2010).

Un mecanismo importante promovido por las PGPR's es la resistencia sistémica inducida (RSI). Este mecanismo conlleva a un cambio en la susceptibilidad de la planta y aumenta la resistencia contra patógenos (Alizadeh *et al.*, 2013).

El género *Pseudomonas* es un grupo importante de bacterias del suelo promotoras del crecimiento vegetal, cuyo papel protector contra patógenos se ha atribuido al antagonismo, competencia y resistencia sistémica inducida (RSI) (Harman *et al.*, 2004).

Las bacterias *Bacillus subtilis* y *Streptomyces* spp. han mostrado resultados promisorios como promotoras del crecimiento vegetal y controladoras de enfermedades. Sin embargo, son escasos los estudios sobre el uso de PGPR's para controlar enfermedades en la fresa (Vestberg, 2004).

2.2.1.6. Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA) y Bacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal (PGPR's) en la supresión de enfermedades en fresa

Vosatka *et al.* (1992) encontraron efecto sinérgico en el crecimiento de fresa cuando co-inocularon HMA y *Pseudomonas putida*. En un estudio posterior (Vosatka *et al.*, 2000) demostraron que *Agrobacterium radiobacter* estimuló la colonización de HMA en plantas de fresa.

Aunque hay muchos reportes sobre control biológico usando HMA y PGPR's, hay poca información acerca de los mecanismos de este proceso. Ante esta situación, es importante generar conocimiento sobre la interacción entre HMA y PGPR's y de otros microorganismos antagonistas para mejorar el uso de estos microorganismos como agentes del control biológico (Ravnskova *et al.*, 2006) (Figura 3).

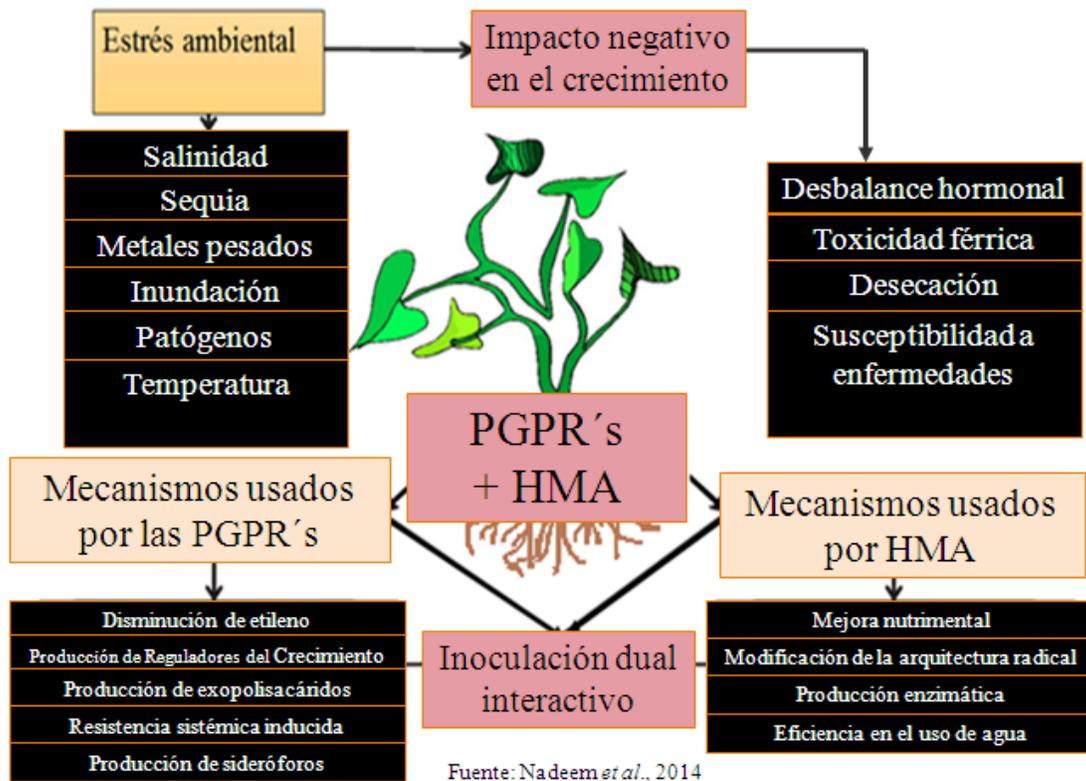


Figura 3. Mecanismos usados por las Bacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal (PGPR's) y hongos micorrízicos arbusculares (HMA) para mejorar el crecimiento de las plantas bajo estrés (Nadeem *et al.*, 2014).

3. LITERATURA CITADA

Alizadeh, H., Behboudi, K., Ahmadzadeh, M., Javan N. M., Zamioudis, C., Pieterse, C. M. J. and Bakker, P. A. H. M. 2013. Induced systemic resistance in cucumber and *Arabidopsis thaliana* by the combination of *Trichoderma harzianum* Tr6 and *Pseudomonas* sp. Ps14. *Biological control* 65:14-23

Allen, E. B., Allen, M. F. and Stahl, P. 1984. Differential niche response of *Bouteloua gracilis* and *Pascopyrum smithii* to VA micorrhizae. Bull. Torrey Bot. Club. 111:361-365.

Allen, M. F. 1996. The Ecology of Arbuscular Mycorrhizas: A look back into the 20th century and a peek into the 21 st. Mycol. Res. 7:769-782.

Antoun, H and Prevost, D .2005. Ecology of plant growth promoting rhizobacteria. In: Siddiqui, Z.A. (Ed.), PGPR: Biocontrol and Biofertilization. Springer, Dordrecht, pp. 1–38.

Argelys, K. D. 2012. Revisión bibliográfica. Mejora Genética de la Fresa (*Fragaria ananassa* Duch.), A Través de Métodos Biotecnológicos. Cultivos Tropicales 33(3): 34-41.

Avis, T. J., Gravel, V., Antoun H. and Tweddell, R. 2008. Multifaceted beneficial effects of rhizosphere microorganisms on plant health and productivity. Soil Biology & Biochemistry 40: 1733–1740

Azcón, R. 2000. Papel de a simbiosis micorrízica y su interacción con otros microorganismos rizosféricos en el crecimiento vegetal y sostenibilidad agrícola. En: Ecología, fisiología y biotecnología de la micorriza arbuscular. Alejandro Alarcón y Ronald Ferrera-Cerrato (Eds.). Mundi-Prensa. México, D.F., pp 1-15.

Barea, J. M. 1998. Biología de la rizosfera. Investigación y ciencia. 74-81.

Barea, J. M., Palenzuela, J., Cornejo, P., Sánchez-Castro, I., Navarro-Fernández, C., López-García, A., Estrada, B., Azcón, R., Ferrol, N. and Azcón-Aguilar, C. 2011. Ecological and functional roles of mycorrhizas in semi-arid ecosystems of Southeast Spain. Journal of Arid Environments 75: 1292-1301.

Bending, G. D., Aspray, T. J. and Whipps, J. M. 2006. Significance of Microbial Interactions in the Mycorrhizosphere. *Advances in applied microbiology*. Volume 60.

Blanco, F. F y Salas, E. 1997. Micorrizas en la agricultura: contexto mundial e investigación realizada en Costa Rica. *Agro. Costarricense* 21: 55-67.

Cano, T. M. A. 2013. Estrategias biológicas para el manejo de enfermedades en el cultivo de fresa (*Fragaria* spp.). *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*. 7(2):263-276.

Castro, F. J. y Dávalos, P. 1990. Etiología de la secadera o pudrición de la raíz y corona de la fresa en Irapuato, Gto. *Rev. Mex. Fitopatol.* 8:80-86.

Ceja-Torres, L. F., Vázquez-Gálvez, G. y Muñoz-Ruiz, C. 2001. Comparación de métodos de Control de la “Secadera” de la Fresa (*Fragaria x annasa* Duch.). *Revista Mexicana de Fitopatología* 19: 147-153.

Ceja-Torres, L. F., Mora-Aguilera, G., Téliz- Ortíz, D., Mora-Aguilera, A., Sánchez-García, P., Muñoz-Ruíz, C., Tlapal-Bolaños, B. y De la Torre-Almaraz, R. 2008. Ocurrencia de hongos y etiología de la secadera de la fresa con diferentes sistemas de manejo agronómico. *Agrociencia* 42: 451-461.

Chamorro, M., Miranda, L., Domínguez, V., Medina, J. J, Soria, C., Romero, F., López Aranda, J. M. y De los Santos, B. 2015. Evaluation of biosolarization for the control of the control of charcoal rot disease (*Macrophomina phaseolina*) in strawberry. *Crop Protection* 67:279-286.

Clavejo, R.; Beltrán, A. y Llauger, R. E. 2010. Apuntes sobre el cultivo de la fresa (*Fragaria ananassa* Duch.). *Citrifruit*, julio-diciembre 27 (1): 67-70.

Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA por sus siglas en inglés). 2013. Disponible en <http://www.ers.usda.gov/data-products/chart-gallery/detail.aspx?chartId=50317&ref=collection&embed=True&widgetId=37373> Consultado el 20 de mayo del 2015.

Dorantes, G. N., Abud, C.Y. y Pavía, F. P. 2008. Reducción de la susceptibilidad a *Phytophthora capsici* Leonian causante de la pudrición de raíz en jitomate (*Solanum lycopersicum* L.) Biológicas. 10: 100-108.

Elad., Y., Chet, I. and Henis, Y. 1981. Biological control of *Rhizoctonia solani* in strawberry fields by *Trichoderma harzianum*. Plant. Soil 60: 245-254.

Erwin, D. C. and Ribeiro, O. K. 1996. *Phytophthora* Diseases Worldwide. The American Phytopathological Society. St Paul., MN. Pp 50-266.

Ferguson, L. M., Louws, F. J., Fernández, G. E., Brannen, P. M., Poling, E. B., Sydorovych, O. B., Safle, C. D., Monks, D. W., Pesic-Van, E. Z., Sanders, D.C and Smith, J. P. 2002. Chemical and biological alternatives to methyl bromide for methyl bromide for strawberry in the southeastern U.S Proc. Of the Int. Res. Conf. on Metil Bromide Alternatives and Emissions Reduction. 103:1-4.

Feriol, X. 2010. Propiedades nutritivas y otras curiosidades de la fresa. *Citrifruit*, julio-diciembre 27(1): 72-74.

Food and Agriculture Organization of the United Nations disponible en <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx> consultado el 20 de mayo del 2015.

- Gianinazzi, S., Giainazzi-Pearson, V. and Trouvelot, A. 1990. Potentialities and procedures for the use endomycorrhizas with special emphasis on high value crops. In: Biotechnology of Fungi for Improving Plant Growth. Whipps, J. M., B. Lumsden (eds.). Cambridge University Press. Cambridge. pp: 41-54.
- Gigot, J. A., Zasada, I. A. and Walters T. W. 2013. Integration of brassicaceous seed meals into red raspberry production systems. *Applied Soil Ecology* 64: 23–31
- Glick, B. R., Cheng, Z., Czarny, J. and Duan J. 2007. Promotion of plant growth by ACC deaminase-producing soil bacteria. *Eur J. Plant Pathology* 119:329-39
- Hancock, J. F. 1999. Strawberries. CABI Publ., New York. N.Y.
- Harman, G. E., Howell, C. R., Viterbo, A., Chet, I. and Lorito, M. 2004. *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews* 2: 43-56
- Hayat, R., Ali, S., Amara, U. and Ahmed, R. I. 2010. Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion: a review. *Ann Microbiology* 60:579-98.
- Hye-Yeon, P., Hae-Chul, P. and Moon-Young Y. 2009. Screening for peptides binding of *Phytophthora capsici* extracts by phage display. *Journal of Microbiological Methods* 78:54-58.
- Kamoun, S. 2001. Non host resistance to *Phytophthora*: novel prospects for a classical problem. *Plant Biology*, 4:295–300.
- Kimberly, L. J. Y Jackson, S. A. and Cisnos, P. J. 2010. Fungicidal activity of fluopicolide for suppression of *Phytophthora capsici* on squash. *Crop protection*. 29: 1421-1427.

- León, L. L., Guzmán-Ortíz, D. L. A., Garcia, B. J. A., Chávez, M. G. y Peña-Cabiales, J. J. 2014. Consideraciones para mejorar la competitividad de la región “El Bajío” en la producción nacional de fresa. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 5(4): 673-686.
- López-Aranda, J. M., Miranda, L., Soria, C. y Medina, J. J. 2009. Una nueva era del cultivo de la fresa en Huelva sin bromuro de metilo. *Agrícola Verge* 234:22-27.
- Marschner, H. and Dell, B. 1994. Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. *Plant Soil* 8:118-124.
- Martínez, F., Casitill, S., Carmona, E and Avlés, M. 2010. Dissemination of *Phytophthora cactorum*, cause of crown rot in strawberry, in open and closed soilless growing systems and the potential for control using slow sand filtration. *Sci. Hortic.* 125: 756-760.
- Matsubara, Y., Ishigaki, T. and Koshikawa, K. 2009. Changes in free amino acid concentrations in mycorrhizal strawberry plants. *Scientia Horticulturae* 119:392–396.
- Mendoza, Z. C. 1992. Enfermedades fungosas de hortalizas y fresa. *In: Manejo fitosanitario de las hortalizas en México.* Centro de Entomología y Acarología. Chapingo, México. Pp 273-288.
- Mendoza-Zamora, C., y S. Romero-Cova. 1989. Enfermedades de la fresa *Fragaria chiloensis* var. Ananassa en Villa Guerrero, Edo. De México. III: Identificación e incidencia de los hongos que atacan corona y raíz. *Rev. Mex. Fitopatol.* 7:140-146.
- Nadeem, S. M., Zahir, Z.A, Naveed, M. and Ashraf M. 2014. Microbial ACC-deaminase: prospects and applications for inducing salt tolerance in plants. *Crit Rev. Plant Sci.* 29: 360-93.

Navarro, C. y Muñoz-Garmendia. 2005. Flora ibérica. Plantas vasculares de la Península Iberica e Islas Vol 6. Real Jardín Botánico. Consejo Superior de Investigaciones Científicas, CISC. Madrid, Spain. PP. 88-93.

Norman, J. and Hooker, E. 2000. Sporulation of *Phytophthora fragariae* shows greater stimulation by exudates of non-mycorrhizal than by mycorrhizal strawberry roots. *Mycology Reserch*. 104 (9): 1069-1073.

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), consultado el 03 de marzo del 2015, disponible en <http://www.fao.org/docrep/005/Y1806s/y1806s08.htm>.

Pérez Moreno, L., Durán-Ortiz, L. J., Ramírez- Malagón, R. y Sánchez-Pale, R. 2001. Compatibilidad Fisiológica y Sensibilidad a Fungicidas de Aislamientos de *Phytophthora capsici* Leo. *Revista Mexicana de Fitopatología* 19: 2-8.

Quintero, J. R., García, R. S., Montoya, S. y Estrada, F. 1998. Etiología de las enfermedades del cultivo de la fresa (*Fragaria* spp.) en Sinaloa: *In: Memorias del XXV Congreso Nacional de Fitopatología*. Guanajuato, Gto. 84 p.

Ravnskova, S., Jensenb, B. and Inge, M. B. 2006. Soil inoculation with the biocontrol agent *Clonostachys rosea* and the mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* results in mutual inhibition, plant growth promotion and alteration of soil microbial communities *Soil Biology & Biochemistry* 38:3453–3462.

Sánchez, R., G. 2008. La red de valor fresa: Sistema de inteligencia de mercados. Fundación Produce Michoacán. 145 p.

Schüßler, A. and Walker, C. 2010. The Glomeromycota. A species list with new families and new genera. Gloucester, UK. 1-56.

Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). 2013. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera consultado julio, 2013. Disponible en <http://www.siap.gob.mx/>

Seefoó, L. J. L. 2013. Fresas ¿Mexicanas?, sí, de abuelitas estadounidenses. Colegio de Michoacán. La Jornada del campo No. 19. Disponible en <http://www.jornada.unam.mx/2013/06/15/cam-fresas.html> consultado el 20 de mayo del 2015.

Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP) disponible en http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com_wrapper&view=wrapper&Itemid=197 consultado el 20 de mayo del 2015.

Smith, S. and Read, E. 1997. Mycorrhizal Symbioses. 2da. Edition. Academic Press, London. pp. 605.

Stapleton, J. J. 2000. Soil solarization in various agricultural production systems. Crop Prot. 19:837–841.

Su, G., Suh, S. O., Schneider, R. W. and Russin, J. S. 2001. Host specialization in the charcoal rot fungus, *Macrophomina phaseolina*. Phytopathology. 91:120-126.

Taylor, J. and Harrie, L. A. 2001. A comparison of development and mineral nutrition of micropropagated *Fragaria × ananassa* cv. Elvira (strawberry) when colonized by nine species of arbuscular mycorrhizal fungi. Applied Soil Ecology 18: 205–215.

- Uz, Z. A., Mohammad, R. B., Mohammad, A. I. K., Khurshed, A. B. and Mohammad, A. L. 2014. Integrated options for the management of black root rot of strawberry caused by *Rhizoctonia solani* Kuhn. *Biologies* 338:112-120.
- Vestberg, M., Parikka, P., Kukkonen, S., Huttenen, J., Tainio, L., Devos, N., Weekers, F., Kevers, T.P., Lemoine, M. C., Cordier, C., Alabouvette, C. and Gininazzi, S. 2004. Microbial inoculation for improving the growth and health of micropropagated strawberry. *Applied Soil Ecology* 27: 243–258
- Vosatka, M., Gryndler, M., Jansa, J. and Vohnik, M. 2000. *Post vitro* mycorrhization and bacterization of micropropagated strawberry, potato and azalea. *Acta Hort.* 530: 313–324.
- Vosatka, M., Gryndler, M. and Prikryl, Z. 1992. Effect of rhizosphere bacterium *Pseudomonas putida*, arbuscular mycorrhizal fungi and substrate composition on the growth of strawberry. *Agronomie* 12: 859–863.
- Wing, K. B., Pritts, M. P. and Wilcox, W. F. 1994. Strawberry black root rot a review. *Advances in Strawberry Research*.13:13-19
- Zveibil, A., Mor, N., Gnyem, N and Freeman, S. 2012. Survival, host-pathogen interaction, and management of *Macrophomina phaseolina* on strawberry in Israel. *Plant diseases* 96:265-272.

CAPÍTULO II. PATOGENICIDAD DE *Phytophthora capsici* EN FRESA (*Fragaria x annassa* Duch.) EN CONDICIONES CONTROLADAS

RESUMEN

El cultivo de la fresa es susceptible a problemas fitosanitarios, destacando la secadera, que hasta la fecha, se ha asociado con nueve microorganismos fungosos, de los que sobresalen los géneros *Verticillum*, *Fusarium* spp., *Rhizoctonia* spp. y *Phytophthora* sp. El objetivo de este trabajo fue demostrar la patogenicidad de *Phytophthora capsici*, en plantas de fresa cv. Festival. Se inocularon cuatro plantas jóvenes de dos a tres hojas con 200 000 zoosporas de *P. capsici* por planta, se reaisló el fitopatógeno y con este se inocularon 12 plantas de fresa de la misma variedad, se observó marchitez y daño a la corona a los 0, 5,10 y 15 días posteriores a la inoculación (ddi). Se registró marchitez y necrosis a nivel de la corona en las plantas a partir a los cinco ddi, demostrando así la infección en este cultivo.

Palabras clave: Marchitez, susceptibilidad, hospedante, inoculación, enfermedad.

1. INTRODUCCIÓN

Dentro de los principales agentes causales de enfermedad en fresa se encuentra *Phytophthora*, que es un género importante de oomicetos (Erwin y Ribeiro, 1996), que actualmente comprende alrededor de 120 especies (Kroon *et al.*, 2004). Las especies de *Phytophthora* sp. producen zoosporas bajo condiciones favorables, como son: alta humedad del suelo y temperaturas que van de los 20 a los 28°C, tolerando hasta 38°C (Bartual *et al.*, 1991), ayudando así a la dispersión del patógeno (Rahman *et al.*, 2014).

Phytophthora capsici es uno de los principales factores limitantes en la producción de varios cultivos hortícolas, destacando el pimiento (Castro *et al.*, 2012). Durante mucho tiempo se creyó que este oomiceto tenía especificidad patogénica en especies del género *Capsicum* sp. (Satour y Butler 1967). Sin embargo, en los años 70's se empezó a subrayar su capacidad para enfermar otras plantas, tal es el caso de jitomate y melón. Así mismo, Romero (1988) también lo reportó atacando el cultivo de fresa. Actualmente se ha encontrado infectando cultivos de haba (*Vicia faba*) y haba de Lima (*Phaseolus lunatus*), plantas que previamente se habían reportado como resistentes al patógeno (Davidson *et al.*, 2002).

El patosistema *Capsicum annum-Phytophthora capsici*, está ampliamente estudiado (Castro *et al.*, 2012), ya que puede infectar raíces, flores, tallos, hojas y frutos de chile provocando tizón foliar, pudrición de frutos, raíz y tallo (Foster y Hausbec, 2010) en cualquier etapa de desarrollo de las plantas (Troung *et al.*, 2010).

Sin embargo, no existen reportes en México sobre la sintomatología de *P. capsici* infectando el cultivo de fresa, por lo tanto es necesario estudiar esta interacción planta-patógeno, para conocer la sintomatología de *P. capsici* en condiciones controladas.

Con base en lo anterior, los objetivos del presente trabajo fueron: Demostrar la patogenicidad de *P. capsici* en fresa (*Fragaria x anannassa* Duch.) y registrar los daños en la corana de plantas inoculadas 8 días después del trasplante.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Material biológico

Las plantas de fresa de la variedad “Festival” fueron proporcionadas por el Dr. Guillermo Calderón Zavala del Postgrado de Fruticultura del Colegio de Postgraduados *Campus* Montecillo.

Igualmente, *P. capsici* cepa PcT17 empleada en este experimento fue proporcionada por la Dra. Sylvia Fernández-Pavía de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

2.1.1. Multiplicación del patógeno

2.1.2.1. Producción de esporangios y zoosporas

Cultivos de *P. capsici* con diez días de crecimiento en medio V8 (jugo de 8 verduras: agar: carbonato de calcio) incubados a 27°C, fueron adicionados con 10 mL de solución isotónica de cloruro de sodio al 0.9 % (Abbott^{MR}) por caja Petri durante 10 min. Transcurrido este lapso de tiempo se decantó la solución isotónica y con la ayuda de una aguja se dividió en cuatro partes, y cada cuarta parte del medio con *P. capsici* se colocó en una caja Petri estéril. Después se agregó agua destilada estéril hasta cubrir el medio y se colocó bajo una lámpara de luz blanco frío a 26°C por 48 h, y a 28°C en oscuridad por 24 h.

2.1.2.2. Liberación de zoosporas

Las cajas Petri con *P. capsici* se colocaron durante 30 min a 4°C, y posteriormente 30 min a 28°C, para favorecer la liberación de zoosporas. Se vació el contenido de cada caja Petri en un recipiente, se contabilizó el número de zoosporas con ayuda del citómetro (Marienfeld®). La suspensión de zoosporas obtenida se calibró a 200 000 zoosporas por mL.

2.1.3. Inoculación

Se inocularon cuatro plantas de fresa variedad “Festival” con dos a tres hojas, lo que correspondió a ocho días después del trasplante, aplicando 200 000 zoosporas por planta. Las plantas inoculadas se mantuvieron bajo condiciones de invernadero y a capacidad de campo y se incluyeron cuatro plantas sin inocular como testigo.

2.1.4. Reaislamiento del patógeno

Se realizaron cortes a nivel de la corona, entre el margen de la lesión y tejido sano, y se dejaron bajo el chorro de agua corriente durante 5 min. Se desinfectaron con una solución de hipoclorito de sodio al 1 % durante un minuto, y se enjuagaron tres veces con agua destilada estéril, se secaron con sanitas previamente esterilizadas. Posteriormente, con ayuda de una pinza flameada se tomaron cuatro cortes y se colocaron en una caja Petri con medio de cultivo V8 adicionado con cloranfenicol y estreptomicina (0.4 g/Ly 0.2 g/L respectivamente), se incubaron a 28°C por dos días. A continuación se procedió a realizar cultivos puros en medio V8.

2.2. Registro de daño por *P. capsici* reislado de plantas de fresa.

Se inocularon ocho plantas de fresa de la variedad “Festival” con tres y cuatro hojas (8 días después del trasplante) con 200 000 zoosporas por planta, bajo condiciones de invernadero. Se registró de forma cualitativa la presencia o ausencia de necrosis en la corona, mediante un muestreo destructivo de tres plantas cada cinco días a partir de la inoculación, es decir cuatro muestreos (0, 5, 10 y 15 días posteriores a la inoculación) y se incluyeron cuatro plantas sin inocular como testigo.

3.1. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Reislamiento del patógeno

Se observó el crecimiento micelial del oomiceto en plantas inoculadas con *P. capsici* a los dos días posteriores de la siembra del material vegetal con necrosis en medio de cultivo V8.

3.2. Registro de daño *P. capsici* reislado de plantas de fresa

La patogenicidad de *P. capsici* en fresa fue evidente ya que a los nueve días el total de plantas inoculadas estaban marchitas. En el caso de las plantas testigo, no hubo manifestación de síntomas (Figura 4). Al respecto, *P. capsici* fue descrita por primera vez por Leonian (1922) como agente causal de la marchitez del pimiento (*Capsicum annuum* L.) y fue considerado como hospedante específico a este cultivo. Sin embargo, *P. capsici* es conocida ahora por tener un amplio rango de hospedantes, causando enfermedad en especies de plantas de regiones templadas y tropicales (Erwin y Ribeiro, 1996; Troung *et al.*, 2010). En este trabajo se demostró la patogenicidad de *P. capsici* patógeno reportado en este cultivo en México (Pérez- Moreno *et al.*, 2001).



Figura 4. Marchitez causada por *P. capsici* en fresa.

En el caso de la segunda inoculación (patógeno reaislado), se observaron lesiones necróticas de color café rojizo, en diferentes grados, en la corona de plantas de fresa, a los cinco días posteriores a la inoculación con *P. capsici*. Al respecto, Lamour y Hausbeck (2000) mencionan que la fase asexual de este fitopatógeno incluye un talo micelial que produce enzimas extracelulares capaces de macerar el tejido de la planta hospedante. A diferencia de la pudrición radical reportada para *P. fragarie* en *P. capsici* no se observó esta pudrición en las plantas de fresa inoculadas (Figura 5).

Días después de la inoculación	Testigo	<i>P. capsici</i>
0		
5		
10		
15		

Figura 5. Daño a la corona en fresa causados por *P. capsici* a los 0, 5, 10 y 15 días después de la inoculación (las áreas necróticas están resaltadas, mediante el uso de flechas), en condiciones de invernadero.

4. CONCLUSIÓN

Se demostró la patogenicidad de *P. capsici* en plantas de fresa de la variedad comercial “Festival”, por lo tanto, esto permite recomendar a los productores, estrategias preventivas de manejo, ya que la presencia de inóculo de este oomiceto en los agroecosistemas en donde se cultiva este frutal, puede causar daños fitosanitarios a este.

5. LITERATURA CITADA

- Bartual, R., Marsal, J. I., Carbonell, E. A., Tello, J. C. y Campos, T. 1991. Genética de la Resistencia a *Phytophthora capsici* Léon en pimiento. Bol. San. Veg. Plagas. 17:3-124.
- Castro, R. A., Fernández, S. P. P. y Osuna, P. A. 2012. Mecanismos de Defensa del Chile en el Patosistema *Capsicum annum-Phytophthora capsici*. Revista Mexicana de Fitopatología. 30(1): 50-65.
- Davidson, C. R., Evans, T. A and Mulrooney R. P. 2002. First report of *Phytophthora capsici* infecting lima bean (*Phaseolus lunatus*) in the Mid-Atlantic region. Plant Disease 86: 1049.
- Erwin, D. C. and Ribeiro, O. K. 1996. *Phytophthora* Diseases Worldwide. The American Phytopathological Society. St Paul., MN. Pp 50-266.
- Foster, J. M., and Hausbek, M. K. 2010. Resistance of pepper to *Phytophthora* crown, root, and fruit rot is affected by isolate virulence. Plant Disease 94:24-30.
- Kroon, L. P. N. M., Bakker, F.T., Van DenBosch, G. B. M., Bonants, P. J. M. and Flier, W. G. 2004. Phylogenetic analysis of *Phytophthora* species base on mitochondrial and nuclear DNA sequences. Fungal Genetics and Biology. 41: 766-782.

- Lamour, K. H and M. K. Hausbeck. 2000. Mefenoxam Insensitivity and the Sexual Stage of *Phytophthora capsici* in Michigan Cucurbit Field. *Phytopathology*. 90 (4): 396-400.
- Leonian, L. 1922. Stem and fruit blight of peppers caused by *Phytophthora capsici* *Phytopathology* 12:401-408.
- Pérez-Moreno, L., Durán-Ortiz, L. J., Ramirez-Malagón, R. and Sánchez-Pale, R. 2001. Compatibilidad Fisiológica y Sensibilidad a Fungicidas de Aislamientos de *Phytophthora capsici* Leo. *Revista Mexicana de Fitopatología* 19: 2-8.
- Rahman, M. Z., Uematsu, S., Coffey, M. D., Uzuhashi, S., Suga, H. and Kageyama, K. 2014. Re-evaluation of japanese *Phytophthora* isolates base on molecular phylogenetic analyses. *Mycoscience* 55:314-327.
- Romero-Cova, S. 1988. Hongos Fitopatógenos. Universidad Autónoma Chapingo, Chapingo, Edo. de México. P. 347.
- Satur, M. and Bulter, M. 1967. A root and crown rot of tomato caused by *Phytophthora capsici* and *P. parasitica*. *Phytopathology* 57:510-517.
- Truong, N. V., Liew, E. C. and Burgess, L. W. 2010. Characterization of *Phytophthora capsici* isolates from black pepper in Vietnam. *Fungal biology* 114:160-170.

CAPÍTULO III. TOLERANCIA A *Phytophthora capsici* DE PLANTAS DE FRESA PREMICORRIZADAS CON *Rhizophagus intrarradices* E INOCULADAS CON PGPR´s

RESUMEN

El abuso en la aplicación de plaguicidas en el cultivo de la fresa (*Fragaria x annanasa* Duch.) para la supresión de fitopatógenos presentes en el suelo ha ocasionado la degradación de estos y daños a la salud humana. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue evaluar la premicorrización con *Rhizophagus intrarradices* (antes *Glomus intrarradices*) e inoculación con rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal o PGPR's (por sus siglas en inglés Plant Growth Promoting Rhizobacteria) en la supresión de la marchitez causada por *Phytophthora capsici* en la variedad de fresa "Festival". Se inoculó 0.5 g de raíces de sorgo, colonizadas en 80-85% con *R. intrarradices* y un mL de la suspensión bacteriana compuesta por *Pseudomonas tolassi*, *Bacillus pumilus*, y *Paenibacillus* sp. a una concentración de 10^8 UFC/mL por planta, ocho días después del trasplante, *Phytophthora capsici* se inoculó 45 días después de la aplicación de estos microorganismos. Se evaluaron las siguientes variables: Antagonismo de las PGPR's a *P. capsici*, incidencia y severidad, colonización micorrízica, área foliar, peso de materia seca, volumen radical, contenido de N y F y número de estolones. Se observó que las tres cepas bacterianas tuvieron efecto antagonístico. Al final del experimento se registró 63% de severidad en las plantas tratadas con *P. capsici*, la manifestación de la enfermedad fue menor en las plantas inoculadas con PGPR's + *R. intrarradices* con tan solo un 23%. Se observó mayor área foliar (239.95cm^2), peso de materia seca (6.24g), volumen radical (2.1 mL) y número de estolones (5) en las plantas inoculadas con PGPR's y *R. intrarradices*. En cuanto N y P no hubo diferencia significativa en este estudio, sin embargo, el aumento en el crecimiento de las plantas inoculadas

con los microorganismos benéficos, probablemente se deba a la producción de reguladores del crecimiento vegetal.

Palabras clave: Endomicorrizas, simbiosis, micorriza arbuscular, biocontrol.

1. INTRODUCCIÓN

La fresa (*Fragaria x ananassa* Duch.) es una planta perteneciente a la familia Rosácea y es conocida como fruta del placer. Se destaca por su contenido de vitamina C, taninos, flavonoides, antocianinas, catequina, quercetina, kaempferol y ácidos orgánicos (Argelys, 2012).

El cultivo de la fresa es de gran importancia socioeconómica para México por su fuerte demanda de mano de obra y porque genera una considerable proporción de los ingresos por exportaciones frutícolas (Sánchez, 2008).

El principal estado productor de fresa en México es Michoacán, con una superficie sembrada de 4,605 ha, siguiéndole Baja California con 2,048 ha (SIAP, 2013).

En la región de Zamora, Michoacán, las variedades que más se cultivan son “Festival” con el 32 % de la superficie total, “Camino Real” con el 28 % y “Aromas” con el 20 %. En la zona Norte-Centro de México, las variedades “Camino Real”, “Camarosa” y “Festival” cubren el 97 % de la superficie total (Sánchez, 2008).

Dentro de los principales agentes causales de enfermedad en la fresa se encuentra *Phytophthora*, que es un género importante de oomiceto fitopatógeno responsable directo de considerables pérdidas económicas en este cultivo. La elevada humedad relativa así como la abundante

humedad del suelo y una temperatura entre 20 a los 28°C, tolerando hasta 38°C favorece su desarrollo (Bartual *et al.*, 1991).

Las plantas de fresa con frecuencia empiezan a mostrar síntomas como marchitamiento, clorosis y resquebrajamiento de tallo, lo que hace que se debiliten y se vuelvan susceptibles al ataque de otros patógenos, lo cual aunado a diversos factores, tal es el caso de alta humedad relativa, conducen a la muerte de las plantas (Dorantes *et al.*, 2008).

Norman y Hooker (2000), observaron que los lixiviados y exudados de la raíz de plantas de fresa colonizadas con HMA resultaron en la reducción del 64-89 % de la esporulación de *Phytophthora fragariae* e hipotetizaron que las sustancias biológicas que estimulan la esporulación de *P. fragariae* son reducidas o eliminadas en plantas colonizadas con HMA, probablemente porque los exudados de estas plantas contienen sustancias que inhiben la esporulación.

Se ha encontrado tolerancia a la marchitez causada por *Fusarium oxysporum* en plantas micorrizadas. Sin embargo, se desconoce mucho acerca de los mecanismos de tolerancia a la enfermedad en plantas micorrizadas (Matsubara *et al.*, 2009). Así mismo se ha reportado que la micorriza arbuscular y las bacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPR's) tienen efecto protector contra enfermedades causadas por algunos patógenos de raíz como *Phytophthora capsici*, *Erwinia carotovora* y *Pseudomonas syringae* (Dorantes *et al.*, 2008).

Con base en lo anterior, el objetivo de este trabajo fue evaluar la premicorrización con *Rhizophagus intrarradices* y la inoculación con las rizobacterias *Pseudomonas tolassi*, *Bacillus pumilus* y *Paenibacillus* sp. en la supresión de *P. capsici* en fresa. Se planteó la hipótesis de que la acción conjunta de *R. intrarradices* y las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal

(PGPR´s) incrementan su efectividad bioprotectora, disminuyendo la incidencia y severidad en la marchitez de plantas de fresa.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación se realizó en dos fases. La primera se llevó a cabo en el laboratorio Interacción Molecular Planta-Microorganismos del Postgrado de Edafología y la segunda, en cámara de ambiente controlado (Sherer®. Modelo CEL 37-14, Gillet Marshall Mich. USA) del Postgrado de Botánica, ambos en el *Campus* Montecillo del Colegio de Postgraduados, Estado de México (19°30' LN, 98°53' LO, 2250 m).

2.1.1. Material biológico.

Las plantas de fresa de la variedad “Festival” fueron adquiridas en la empresa Insumos Agrícolas para Invernadero INAPI, Irapuato, Guanajuato.

Las cepas bacterianas *Pseudomonas tolassi*, *Bacillus pumilus* y *Paenibacillus* sp., y el hongo micorrízico arbuscular *Rhizophagus intraradices* fueron proporcionadas por el cepario del área de Microbiología de Suelos, del Postgrado de Edafología del Colegio de Postgraduados, *Campus* Montecillo.

P. capsici cepa PcT17 empleada en este experimento fue proporcionada por la Dra. Sylvia Fernández-Pavía de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

2.2. Primera fase: Capacidad antagónica *in vitro* de tres cepas de rizobacterias hacia *Phytophthora capsici*

La primera fase consistió de una prueba de antagonismo mediante confrontación *in vitro* de las rizobacterias de *Pseudomonas tolassi*, *Bacillus pumilus* y *Paenibacillus* sp. contra *P. capsici*.

Las rizobacterias se cultivaron en agar nutritivo por 48 h a 27°C y la cepa *P. capsici* se desarrolló en medio V8 durante diez días, en incubación a 27°C.

2.2.1. Ensayo *in vitro*

La evaluación de la inhibición del crecimiento micelial de *P. capsici in vitro*, se realizó utilizando la técnica de cultivos duales descrita por Landa *et al.* (1997) que consistió en colocar un disco del medio V8 de 5 mm con crecimiento activo del oomiceto, en el centro de una caja Petri con medio V8. Al mismo tiempo, se estriaron las bacterias de forma individual en línea recta, a una distancia de 3 cm del disco con contenido micelial. Posteriormente, los cultivos fueron incubados a 28°C por cinco días. En el caso del testigo, se colocó un disco de 5mm de medio V8 con crecimiento micelial, pero sin inóculo bacteriano.

2.2.2. Tratamientos y diseño experimental

El experimento consistió de cuatro tratamientos, 1) *Pseudomonas tolassi* confrontada con *P. capsici*, 2) *Bacillus pumilus* confrontada con *P. capsici*, 3) *Paenibacillus* sp. confrontada con *P. capsici*, 4) Testigo. Se realizó un diseño completamente al azar y cada tratamiento contó con cuatro repeticiones. La unidad experimental correspondió a una caja Petri.

El porcentaje de inhibición se calculó con la siguiente fórmula (Landa *et al.*, 1997).

$$\text{Porcentaje de inhibición (\%)} = \frac{R - r}{R} \times 10$$

Donde, r corresponde al radio de *P. capsici* y R es el radio máximo del oomiceto sin la bacteria.

2.3. Segunda fase: Prueba en ambiente controlado

Plantas de fresa de la variedad “Festival” uniformes en tamaño, se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 1 % durante tres min, posteriormente, se enjuagaron tres veces con agua de la llave estéril, a continuación se transfirió una planta por unidad experimental que consistió en un contenedor de 400 cm³, el sustrato utilizado fue peat moss, agrolita y vermicomposta (4:4:2 v/v), esterilizado en olla de presión presto a 15 lb plg⁻² por 2 h. El riego de las plantas se realizó de forma manual con agua corriente esterilizada en olla de presión presto a 15 lb plg⁻² por 15 min según el requerimiento de las plantas, además se adicionó semanalmente la solución nutritiva Long Asthon modificada para aplicar 11 mg de P L⁻¹ (Hewitt, 1996). Ocho días después del trasplante, 24 plantas de fresa se inocularon agregando 0.5 g de raíces de sorgo colonizadas en un 80-85 % con *R. intrarradices*, y 24 plantas se inocularon con un mL de la suspensión bacteriana compuesta por *Pseudomonas tolaasi*, *Bacillus pumilus* y *Paenibacillus* sp. a una concentración de 10⁸ UFC mL⁻¹. Las plantas de fresa inoculadas y sin inocular, se trasladaron a una cámara con ambiente controlado (Sherer®. Modelo CEL 37-14, Gillet Marshall Mich. USA) en el Colegio de Postgraduados, Campus Montecillos. La temperatura a la que se mantuvo el experimento fue de 26°C, con un fotoperiodo de 14 horas luz con una intensidad luminosa de 6768 lux (luz fluorescente) y 10 h de oscuridad. Este estudio se realizó dos veces.

2.3.1 Multiplicación e inoculación de *Phytophthora capsici*.

Cultivos de *P. capsici* cepa PcT17 con diez días de crecimiento en medio V8 (jugo de 8 verduras: agar: carbonato de calcio) incubados a 27 °C, fueron adicionados con 10 mL de solución isotónica de cloruro de sodio al 0.9 % (Abbott^{MR}) por caja Petri durante 10 min. Transcurrido este lapso de tiempo se decantó la solución isotónica y con la ayuda de una aguja se dividió en cuatro partes, y cada cuarta parte del medio con *P. capsici* se colocó en una caja Petri estéril. Después se agregó agua destilada estéril hasta cubrir el medio y se colocó bajo una lámpara de luz blanco frío a 26 °C por 48 h, y a 28°C en oscuridad por 24 h.

Las cajas Petri con *P. capsici* se colocaron durante 30 min a 4°C, y posteriormente 30 min a 28°C, para favorecer la liberación de zoosporas. Se vació el contenido de cada caja Petri en un recipiente, se contabilizó el número de zoosporas con ayuda del citómetro (Marienfeld®). La suspensión de zoosporas obtenida se calibró a 200 000 zoosporas mL⁻¹.

La inoculación con este fitopatógeno de las plantas de fresa de la variedad “Festival”, se realizó 45 días después de la inoculación con los microorganismos benéficos. Para la inoculación se adicionó un mL de la suspensión fúngica (conteniendo 200 000 zoosporas) por contenedor. Las plantas inoculadas se mantuvieron a capacidad de campo del suelo durante 5 días.

2.3.2. Incidencia y severidad de la enfermedad

Se registró la incidencia de la enfermedad (número total de plantas marchitas con el fitopatógeno respecto al total expresada en porcentaje) y severidad a los 0, 3, 5, 10,15 y 20 días después de la inoculación del patógeno. Para evaluar la severidad se usó la escala modificada de Adorada *et al.*, (2000) de 1 a 5, basándose en el grado de marchitez de la planta, donde: 1=0 % de hojas

marchitas; 2= 1-25 % de hojas marchitas; 3= 25-50 % de hojas marchitas; 4=51-70 % de hojas marchitas, 5=71-100 % de hojas marchitas o muerte de la plantas.

La severidad de la enfermedad (SE) se expresó como una proporción (porcentaje) de acuerdo con la fórmula modificada de Adorada *et al.*, (2000).

$$SE (\%) = \frac{(\text{Suma de los valores de la enfermedad})}{(\text{número total de valores})(\text{valor máximo de la enfermedad})} \times 100$$

2.3.3. Área foliar, peso de la biomasa seca de la parte aérea, volumen radical y número de estolones.

El área foliar se registró de manera directa utilizando un medidor de área foliar (Area Meter, Modelo LI-3100; Nebraska, USA). Para la determinación del peso de la biomasa seca de la parte aérea, las muestras fueron secadas en un horno (FELISA, Modelo 242-A, D.F México) a 70°C por 72 h y posteriormente, se pesaron en una balanza analítica (Acculab, Modelo ALC-104). El volumen radical se evaluó mediante desplazamiento de agua, al sumergir la raíz en una probeta graduada de 100 mL, y se contabilizó el número total de estolones por tratamiento. Todas estas variables se evaluaron al finalizar el experimento.

2.3.4. Determinación de nitrógeno y fósforo

La determinación de nitrógeno (N) y fósforo (P) se llevó a cabo en el laboratorio de Fertilidad de suelos del Colegio de Postgraduados, para N se usó el método semi-micro-kjeldahl (Bremner, 1975) y el P, fue determinado por fotolorimetría por reducción con molibdo-vanadato.

2.3.5. Determinación de colonización micorrízica

La colonización micorrízica de las raíces en fresa se determinó siguiendo el método de clareo y tinción de raíces de Phillips y Hayman (1970). Las raíces de fresa fueron lavadas para remover el sustrato adherido y se cortaron en fragmentos de aproximadamente un cm de largo y se colocaron dentro de capsulas de plástico. Posteriormente, las capsulas se pasaron a un vaso de precipitados agregándoles KOH al 10 % hasta cubrirlas, y se esterilizaron en autoclave a 15 lb plg^{-2} de presión por 10 min. Posteriormente, se sacaron de la autoclave y se les retiró el KOH, enjuagándolas con agua destilada y agregándoles HCl al 0.1 N, y se dejaron reposar durante 3 min. Transcurrido este tiempo, se eliminó el ácido y sin enjuagar se cubrieron con azul tripano al 0.05 % colocando el vaso de precipitado en el autoclave a 121°C durante 5 min. Las raíces se mantuvieron en este colorante hasta su observación. La frecuencia de la colonización se determinó con base en el método de Biermann y Linderman (1981), la cual es expresada en porcentaje.

2.3.6. Tratamientos y diseño experimental

El experimento estuvo constituido por ocho tratamientos (incluyendo los testigos positivo y negativo) con seis repeticiones cada uno. Los tratamientos fueron los siguientes: (1) Testigo negativo (sin inocular), (2) Testigo positivo (inoculado solo con *P. capsici*.), (3) Plantas inoculadas con PGRP's (*Pseudomonas tolassi*, *Bacillus pumilus*, y *Paenibacillus* sp.), (4) Plantas inoculadas con PGRP's y *P. capsici*, (5) Plantas inoculadas solo con *R. intrarradices*, (6) Plantas inoculadas con *R. intrarradices* y *P. capsici*, (7) Plantas inoculadas con PGRP's y *R. intrarradices* y (8) Plantas inoculadas con PGRP's, *R. intrarradices* y *P. capsici*. Se estableció un diseño experimental completamente al azar, tomando como unidad experimental una planta por maceta de 400 cm^3 .

A todos los datos se les realizó análisis de varianza y comparación múltiple de medias con la prueba de Tukey $P < 0.05$, utilizando el Sistema de Análisis Estadístico Versión 9.0 (SAS Institute, 2002).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Primera fase: Capacidad antagónica *in vitro* de tres cepas de rizobacterias hacia *Phytophthora capsici*

Se observó que las tres cepas bacterianas tuvieron un efecto antagónico contra *P. capsici*. Por su parte, Pérez (2012), sugiere que posiblemente estén produciendo antibióticos que se difunden a través del medio de cultivo, los cuales son causantes de la inhibición del crecimiento del micelio de este hongo. Landa *et al.* (1997) mencionan que algunas cepas de *Pseudomonas* producen metabolitos secundarios que se difunden en el agar causando la inhibición de *Fusarium* spp. (Cuadro 2 y Figura 6).

Cuadro 2. Inhibición del crecimiento micelial de *Phytophthora capsici in vitro* causada por tres cepas de rizobacterias, después de cinco días de co-cultivo.

Cepa rizobacteriana	Inhibición fúngica (%)
<i>Pseudomonas tolassi</i>	54.930a
<i>Bacillus pumilus</i>	54.125a
<i>Paenibacillus</i> sp	43.108a
Testigo	0

Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas (Tukey $\alpha=0.05$), $n=4$ repeticiones por tratamiento.

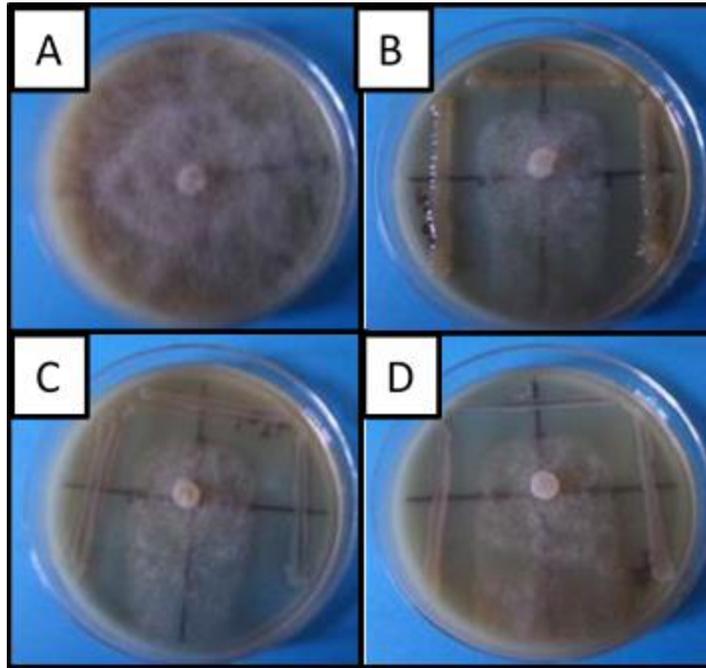


Figura 6. Inhibición de *P. capsici* por rizobacterias. A) *P. capsici* creciendo solo (Testigo), (B) *P. capsici* con *Bacillus pumilus*, (C) *P. capsici* con *Pseudomonas tolaasi* y (D) *P. capsici* con *Paenibacillus* sp.

3.2. Segunda fase: Prueba en ambiente controlado

3.2.1. Incidencia y Severidad de la enfermedad

Al final del experimento se registró un valor de 83 % de incidencia en las plantas inoculadas únicamente con el patógeno. Sin embargo, en las plantas inoculadas con PGPR's se registró 50 %, y en las plantas inoculadas con *R. intrarradices* 33 %, la manifestación de la enfermedad en las plantas inoculadas con PGPR's + *R. intrarradices* fue de 33 % (Figura 7).

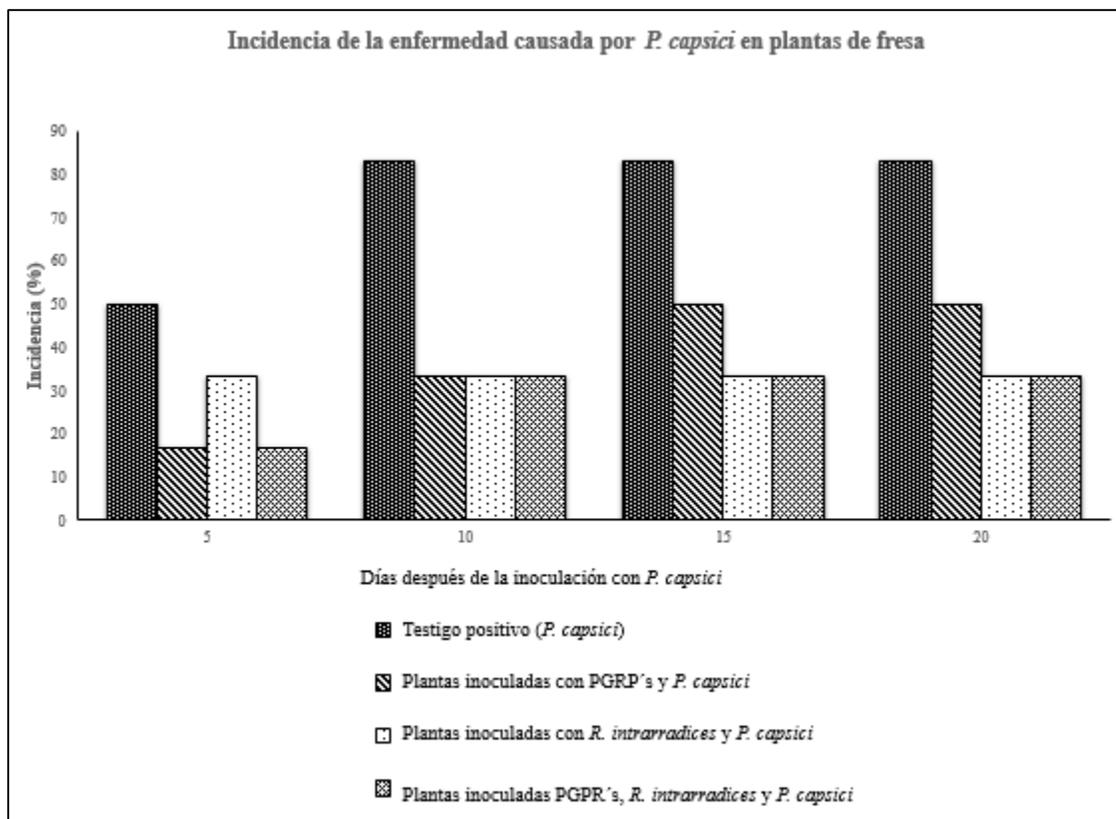


Figura 7. Incidencia de la enfermedad causada por *P. capsici* en plantas de fresa a los 0, 3, 5, 15 y 20 días después de la inoculación con el fitopatógeno e inoculadas con *R. intrarradices* y PGPR's. n=6.

Con respecto a la severidad de la enfermedad comenzó a manifestarse en las plantas no inoculadas con los microorganismos benéficos, cinco días después de la inoculación del patógeno. Al final del experimento, la severidad de la enfermedad en las plantas testigo negativo fue de 63 %. Sin embargo, en las plantas inoculadas con PGPR's se registró una severidad de 37 %, debido a que las rizobacterias disminuyen la severidad del daño por fitopatógenos, induciendo la resistencia sistémica (Nadeem *et al.*, 2014) y la competencia por nutrientes y nicho (Ochoa *et al.*, (2010).

En las plantas inoculadas con *R. intrarradices* se registró un 33 % de severidad. Al respecto, Alarcón *et al.* (2000) indican que además del beneficio nutrimental de la simbiosis, los HMA, también pueden participar como agentes de control biológico de patógenos de hábito radical.

La manifestación de la enfermedad fue menor en las plantas inoculadas con PGPR's + *R. intrarradices* con un 23 % de severidad (Figura 8), los HMA y las rizobacterias actúan sinérgicamente estimulando el crecimiento de las plantas a través de la inhibición de patógenos fúngicos. Algunos estudios han demostrado que las PGPR's tiene un fuerte impacto estimulante sobre el crecimiento de HMA (Linderman, 1997). Estos mecanismos de ayuda incluyen la estimulación del desarrollo radicular, una mayor susceptibilidad de la raíz a la colonización de hongos micorrízicos, y la mejora del proceso de reconocimiento entre la raíz y los hongos (Artursson, 2006; Bonfante y Anca, 2009).

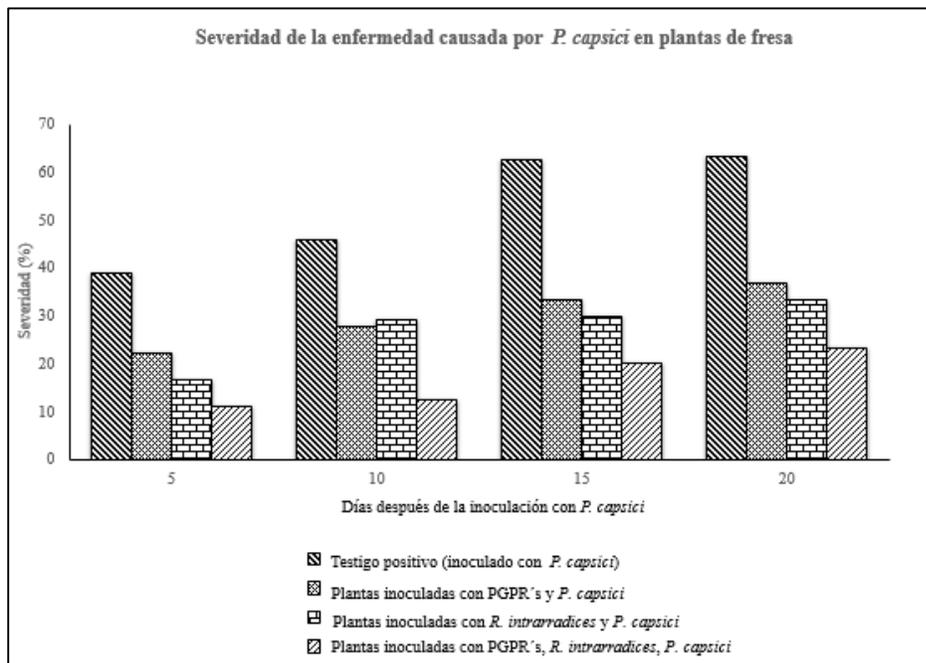


Figura 8. Severidad en plantas de fresa causada por *P. capsici* a los 0, 3,5, 15 y 20 días después de la inoculación con el fitopatógeno e inoculadas con *R. intrarradices* y PGPR's. n=6.

Adicionalmente, se ha descubierto que las PGPR's pueden suprimir enfermedades producidas por microorganismos fitopatógenos a través de la producción de sideróforos, síntesis de antibióticos, enzimas y/o compuestos fungicidas (Lugtenberg y Kamilova, 2009). Muchas bacterias, en particular las que pertenecen a los géneros *Pseudomonas* y *Bacillus*, son capaces de controlar patógenos, sobre todo hongos, sintetizando moléculas antifúngicas (Whipps, 2001).

Las bacterias del género *Pseudomonas*, las cuales son capaces de inducir resistencia por parte de la planta, incrementado la velocidad y los niveles de síntesis de compuestos llamados fitoalexinas, implicados en la defensa de la planta (Lemanceau y Alabouvette, 1993) (Figura 9).



Figura 9. Plantas de fresa de la variedad comercial “Festival” sin inocular (T1), plantas de fresa inoculadas con *P. capsici*, plantas de fresa inoculadas con PGPR's (T3), plantas de fresa inoculadas con PGPR's y *P. capsici* (T4), plantas de fresa inoculadas con *R. intrarradices* (T5),

plantas de fresa inoculadas con *R. intrarradices* y *P. capsici* (T6), plantas de fresa inoculadas con *R. intrarradices* y PGPR's (T7), plantas de fresa inoculadas con *R. intrarradices*, PGPR's y *P. capsici* (T8) en condiciones controladas.

3.3. Área foliar, peso seco de la parte aérea, volumen radical y número de estolones.

Se observó mayor área foliar (239.95 cm²), peso de materia seca (6.24 g), volumen radical (2.1 mL) y número de estolones (5) en las plantas inoculadas con PGRP's y *R. intrarradices*. Gracias a la inoculación de HMA puede lograrse aumentos significativos en la producción de materia seca en las plantas de fresa (Alarcón *et al.*, 2000). Este estudio coincide con lo reportado por Vosatka *et al.* (1992) y Linderman (1993), quienes mencionan que el uso de este tipo de simbiontes mutualistas en conjunto con algunos microorganismos benéficos (por ejemplo, como fijadores de nitrógeno de vida libre, *Pseudomonas*, *Bacillus* etc.) puede repercutir en incrementos del crecimiento y producción de las plantas. Alarcón y Ferrera-Cerrato (2000) mencionan que la asociación simbiótico-mutualista en raíces de plantas frutícolas, producen diversos cambios y/o modificaciones a nivel fisiológico, sobresaliendo el aumento en la actividad fotosintética, debido a la mayor capacidad de fijación de CO₂, por lo tanto, incrementándose las tasas de biomasa producida y crecimiento en comparación con el control sin inocular. Por otra parte, Zahir *et al.* (2004) indican que las PGPR's, producen reguladores del crecimiento de las plantas, manifestándose en el crecimiento y mejorando la nutrición de estas. La menor área foliar se registró en las plantas inoculadas con *P. capsici* (93.77 cm²) (Cuadro 3). Con respecto al número de estolones, las plantas inoculadas con PGRP's y *R. intrarradices* produjeron un promedio de 5, las plantas inoculadas con *R. intrarradices* 3, y las plantas inoculadas con PGPR's produjeron solo 1. En el resto de tratamientos no hubo producción de estolones (Figura 10).



Figura 10. Producción de estolones en las plantas de fresa de la variedad “Festival” inoculadas con PGPR’s y *R. intrarradices*. Bajo condiciones controladas. 2014.

Cuadro 3. Variables relacionadas con el crecimiento de plantas de fresa inoculadas con *P. capsici*, PGPR’s y *R. intrarradices* en cámara bioclimática.

Tratamiento	Área foliar (cm ²)	Materia seca (g)	Volumen radical (mL)
(1) Testigo negativo (sin inocular)	170.74 ab	5.82 ab	0.90 bc
(2) Testigo positivo (inoculado con <i>P. capsici</i> .)	93.77 b	5.25 b	0.33 c
(3) Plantas inoculadas con PGRP’s	174.92 ab	5.56 ab	0.90 bc
(4) Plantas inoculadas con PGRP’s y <i>P. capsici</i>	189.28 ab	5.97 ab	0.90 bc
(5) Plantas inoculadas con <i>R. intrarradices</i>	189.72 ab	5.54 b	1.36 b
(6) Plantas inoculadas con <i>R. intrarradices</i> y <i>P. capsici</i>	128.36 b	5.55 ab	0.80 bc
(7) Plantas inoculadas con PGRP’s y <i>R. intrarradices</i>	239.95a	6.2400 a	2.10 a
(8) Plantas inoculadas con PGRP’s, <i>R. intrarradices</i> y <i>P. capsici</i>	167.43ab	5.6017 ab	0.80 b c

Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas (Tukey, $\alpha=0.05$, $n=6$).

3.4. Nitrógeno (N) y fósforo (P)

Neeham *et al.* (2014) mencionan que las PGPR's facilitan el crecimiento de su hospedante por la fijación de nitrógeno atmosférico, la síntesis y secreción de sideróforos, los cuales solubilizan o secuestran hierro, aumentando la disponibilidad en la planta, sin embargo, en este estudio no hubo diferencia significativa entre tratamientos, con respecto a la concentración de nitrógeno y fósforo en el tejido vegetal de la parte aérea (Cuadro 4).

El mayor crecimiento en plantas inoculadas con HMA y PGPR's se puede explicar por la producción de fitohormonas, ya que los géneros *Pseudomonas*, *Azotobacter* y *Bacillus* son reconocidos por liberar ácido indol-acético (AIA), giberelinas o citoquininas en la rizosfera de las plantas, ejerciendo un efecto estimulador del crecimiento especialmente marcado cuando estas están en estado de plántula (Lugtenberg y Kamilova, 2009). Adicionalmente, se ha descubierto que algunas PGPR's producen enzimas que favorecen crecimiento y desarrollo de la planta mediante la disminución de los niveles de etileno. Tales bacterias ocupan el etileno precursor ACC y lo convierten en 2 oxobutanoato y NH₃ (Glick *et al.*, 2007).

El crecimiento de las plantas inoculadas con estos microorganismos pudo verse favorecida por las interacciones indirectas que pueden tener lugar en forma de efectos mediados por los hongos micorrízicos sobre el crecimiento de la planta hospedera (Morgan *et al.*, 2005).

Cuadro 4. Concentración de N y P en plantas de fresa inoculadas con *P. capsici*, PGPR's y *R. intrarradices* en cámara bioclimática.

Tratamiento	Nitrógeno (N) mg/kg	Fosforo(P) mg/kg
(1) Testigo negativo (sin inocular)	1.1850a	0.7300a
(2) Testigo positivo (inoculado con <i>P. capsici</i> .)	0.9725a	0.6250a
(3) Plantas inoculadas con PGPR's	1.4000a	0.6300a
(4) Plantas inoculadas con PGPR's y <i>P. capsici</i>	0.8325a	0.4375a
(5) Plantas inoculadas con <i>R. intrarradices</i>	0.9350a	0.6850a
(6) Plantas inoculadas con <i>R. intrarradices</i> y <i>P. capsici</i>	1.3850a	0.6350a
(7) Plantas inoculadas con PGPR's y <i>R. intrarradices</i>	0.9025a	0.5850a
(8) Plantas inoculadas con PGPR's, <i>R. intrarradices</i> y <i>P. capsici</i>	1.3750a	0.6425a

Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas (Tukey $\alpha=0.05$), n=4 repeticiones por tratamiento.

3.5. Colonización micorrízica

No hubo diferencia significativa entre los tratamientos en cuanto a la colonización micorrízica total, sin embargo el valor más alto se obtuvo en el tratamiento que incluyó a las plantas inoculadas con PGPR's y *R. intrarradices* (70 %) y el más bajo en las plantas inoculadas con *R. intrarradices* y *P. capsici* (39.75 %), las estructuras predominantes fueron las vesículas, siendo igual número en las plantas inoculadas con *R. intrarradices* y PGPR's y plantas inoculadas con *R. intrarradices*, PGPR's y *P. capsici* (Cuadro 5).

Estos hongos, al establecerse en la zona cortical del sistema radical de las plantas, tienen la característica de formar estructuras internas, las cuales de acuerdo con su función pueden

favorecer el intercambio nutrimental y el almacenamiento de reservas (Alarcón y Ferrera-Cerrato, 2000) (Figura 11).

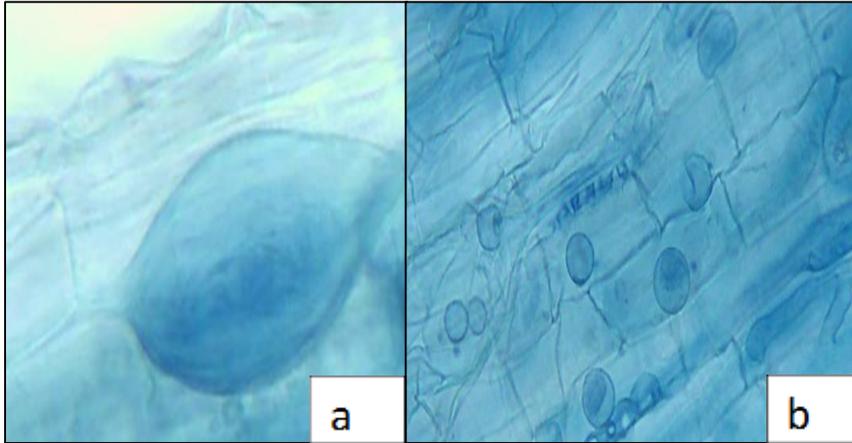


Figura 11. Vesículas (a) y esporas (b) encontradas en raíces de plantas de fresa inoculadas con *R. intrarradices* y PGPR's y *P. capsici*.

Cuadro 5. Porcentaje de colonización micorrízica en plantas de fresa inoculadas con *P. capsici*, PGPR's y *R. intrarradices* en cámara bioclimática.

Tratamiento	Colonización micorrízica total (%)	Vesículas (%)	Hifas (%)	Esporas (%)
Plantas inoculadas con <i>R. intrarradices</i>	59.00a	20.00a	19.00a	20.00a
Plantas inoculadas con <i>R. intrarradices</i> y <i>P. capsici</i>	39.75a	24.75a	13.00a	2.00a
Plantas inoculadas con PGRP's y <i>R. intrarradices</i>	70.00a	43.00a	19.00a	8.00a
Plantas inoculadas con PGRP's, <i>R. intrarradices</i> y <i>P. capsici</i>	55.00a	43.00a	8.00a	4.00a

Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas (Tukey $\alpha=0.05$), n=5 repeticiones por tratamiento.

4. CONCLUSIÓN

La inoculación en plantas de fresa con *Rhizophagus intrarradices* y las rizobacterias *Pseudomonas tolassi*, *Bacillus pumilus* y *Paenibacillus* sp. incrementó su actividad bioprotectora individual, disminuyendo la incidencia y severidad en la marchitez causada por *P. capsici* en plantas de fresa cv “Festival”.

Además, la respuesta en crecimiento (peso seco de materia aérea, área foliar, volumen radical y número de estolones) se vieron favorecidos con la simbiosis *R. intrarradices*, PGPR's (*Pseudomonas tolassi*, *Bacillus pumilus* y *Paenibacillus* sp.) y plantas de fresa.

Contrariamente a lo reportado en otros estudios, no se vió reflejado en la concentración de N y P, sin embargo, el aumento en el crecimiento de las plantas inoculadas con los microorganismos benéficos, probablemente se deba a la producción de fitohormonas y no al aumento en la absorción de N y P por la planta.

5. LITERATURA CITADA

Adorada, D.L., Billes, C.L, Liddell, C. M., Pvia-Fernandez, S., Waugh K. O. and Waugh, M. E. 2000. Susceptibility of wounded pepper roots to *Phytophthora capsici*. *Plant Pathology* 49:719-726.

Alarcón, A., Ferrera-Cerrato, R., González-Chavez, M. C y Villegas-Monter, A. 2000. Hongos micorrízicos arbusculares en la dinamica de aparición de estolones y nutrición de plantas de fresa cv.fern obtenidas por cultivo in vitro. *Terra* 18(3):4-8.

Alarcón, A y Ferrera, C. R. 2000. Manejo de la micorriza arbuscular en sistemas de propagación de plantas frutícolas. *Terra Latinoamericana* 17:179-191.

- Argelys, K. D. 2012. Revisión bibliográfica. Mejora genética de la fresa (*Fragaria ananassa* x Duch.) a través de métodos biotecnológicos. Cultivos Tropicales. Volumen 33(3): 34-41.
- Artursson, V., Finlay, R. D. and Jansson, J. K. 2006. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and bacteria and their potential for stimulating plant growth. Environmental Microbiology 8(1): 1-10.
- Bartual, R., Marsal, J. I., Carbonell, E. A., Tello, J. C. y Campos, T. 1991. Genética de la Resistencia a *Phytophthora capsici* León en pimiento. Bol. San. Veg. Plagas. 17:3-124.
- Biermann, B and Linderman, R. G. 1981. Quantifying vesicular arbuscular mycorrhizae: A proposed method towards standardization. New Phytol. 97:63-67.
- Bonfante, P. and Anca, I. 2009. Plants, mycorrhizal fungi, and bacteria: a network of interactions. Annual Rev. Microbiol. 63:363-383.
- Bremner, J. M. 1975. Total nitrogen In. C.A. Black (ed). Methods of soil analysis Part 2. Agronomy 9:1149-1178. American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin.
- Dorantes, G., Abud, N. C., Y. y Pavía, F. P. 2008. Reducción de la susceptibilidad a *Phytophthora capsici* Leonian causante de la pudrición de raíz en jitomate (*Solanum lycopersicum* L.) Biológicas, No 10: 100-108.
- Glick, B. R. 1995. The enhancement of plant growth by free-living bacteria. Can. J. Microbiol. 41, 109–117.
- Hewitt, E. J. 1966. The composition of the nutrient solution. En: Hewitt E.J (ed) In sand and wáter culture methods used in the study of plant nutrition: 187-246. Commonwealth Agricultural Bureau, Farnham, UK.

Landa, B. A., Hervás, W., Bettioli, W and. Jiménez-Díaz, R. 1997. Antagonistic activity of bacteria from the chickpea rhizosphere against *Fusarium oxysporum* f. sp. Ciceris. *Phytoparasitica* 25: 305-318.

Lemanceau, P. and Alabouvette, C. 1993. Supresión of *Fusarium* wilts by fluorescent pseudomonads: mechanisms and applications. *Biocontrol Science and Technology* 3: 219-34.

Linderman, R. G. 1993. Effects on microbial interactions in the micorrhizosphere of plant growth and health pp. 138-152. In R. Ferrera-Cerrat y R. Quintero L. (eds). *Agroecología, Sostenibilidad y Educación*. Centro de Edafología, Colegio de Postgraduados. Montecillo, Estado de México.

Lugtenberg, B. and Kamilova, F. 2009. Plant Growth Promoting Rhizobacteria. *Annu. Rev. Microbiol.* 63:541-556.

Matsubara, Y., T. Ishigaki., K. Koshikawa. 2009. Changes in free amino acid concentrations in mycorrhizal strawberry plants. *Scientia Horticulturae* 119:392–396.

Morgan, J. A., Bending, G., White P. 2005. Biological costs and benefits to plant-microbe interactions in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany* 56: 1729-1739.

Nadeem, S. M., Zahir, Z.A., Naveed, M. and Ashraf M. 2014. Microbial ACC-deaminase: prospects and applications for inducing salt tolerance in plants. *Crit Rev. Plant Sci.* 29: 360-93.

Norman, J. and Hooker, E. 2000. Sporulation of *Phytophthora fragariae* shows greater stimulation by exudates of non-mycorrhizal than by micorrhizal strawberry roots. *Mycology Reserch.* 104 (9): 1069-1073.

Pérez, E. R. 2012. Inoculación de Bacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal en Pepino (*Cucumis sativus* L.). Presentada como requisito parcial para obtener el grado de Maestra en Ciencias. Colegio de Postgraduados, Montecillo, Texcoco, Estado de México.

Phillips, J. M. and. Hayman, D. S. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Trans. Br. Mycol. Soc: 55: 158-161

Sánchez, R. G. 2008. La red de valor fresa: Sistema de inteligencia de mercados. Fundación Produce Michoacán. 145 p.

SAS Institute Inc. 2002. The SAS system for Windows versión 9.0 SAS Institute Inc. Cary, North Carolina, USA.

Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP) disponible en http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com_wrapper&view=wrapper&Itemid=197 consultado el 20 de mayo del 2015.

Vosatka, M., Gryndler, M., Prikryl, Z. 1992. Effect of rhizosphere bacterium *Pseudomonas putida*, arbuscular mycorrhizal fungi and substrate composition on the growth of strawberry. Agronomie 12: 859–863.

Whipps, J., M. 2001. Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. Journal of Experimental Botany 52: 487-511.

Zahir, Z. Z., Arshad, M. and Frankenberger W. T. 2004. Plant growth promoting rhizobacteria application and perspectives in agriculture. Adv. Agron 81: 96-168.

CONCLUSIONES GENERALES

En este trabajo, se demostró la patogenicidad de *P. capsici* en plantas de fresa de la variedad comercial “Festival”, por lo tanto, esto permite recomendar a los productores, estrategias preventivas de manejo, ya que la presencia de inóculo de este oomiceto en los agroecosistemas en donde se cultiva este frutal, puede causar daños fitosanitarios.

Como alternativa de manejo, se sugiere la inoculación en plantas de fresa con el hongo micorrízico *R. intrarradices* y las PGPR's (*Pseudomonas tolassi*, *Bacillus pumilus* y *Paenibacillus* sp.), ya que su acción conjunta aumentó su efectividad, disminuyendo la incidencia y severidad en la marchitez en plantas de fresa inoculadas con *P. capsici*.

Además, la respuesta en crecimiento (peso seco de biomasa aérea, área foliar, volumen radical y número de estolones) se vieron favorecidos con la simbiosis *R. intrarradices* y las PGPR's (*Pseudomonas tolassi*, *Bacillus pumilus* y *Paenibacillus* sp.) en las plantas de fresa.

Contrariamente a lo reportado en otros estudios, no se vio reflejado en la concentración de N y P, sin embargo, el aumento en el crecimiento de las plantas inoculadas con los microorganismos benéficos, probablemente se deba a la producción de fitohormonas y no al aumento en la absorción de N y P por la planta.