

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA
COLEGIO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS
FACULTAD DE AGRONOMÍA
MAESTRÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS



**“PROMOCIÓN DE CRECIMIENTO VEGETAL Y CONTROL
DE LA FUSARIOSIS VASCULAR EN GARBANZO (*Cicer
arietinum* L.) POR CEPAS BACTERIANAS”**

TESIS

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS**

**PRESENTA:
JORGE ALBERTO EDEZA URÍAS**

**DIRECTOR DE TESIS:
DR. CARLOS ALFONSO LÓPEZ ORONA**

CULIACÁN, SINALOA, SEPTIEMBRE DE 2019.

LA PRESENTE TESIS FUE REALIZADA POR **JORGE ALBERTO EDEZA URÍAS**,
BAJO LA DIRECCIÓN DEL CONSEJO PARTICULAR QUE SE INDICA, Y HA SIDO
APROBADA POR EL MISMO Y **ACEPTADA** COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS

CONSEJO PARTICULAR

DIRECTOR

DR. CARLOS ALFONSO LÓPEZ ORONA

CO-DIRECTOR

DR. SIXTO VELARDE FÉLIX

ASESOR

DR. GUADALUPE ALFONSO LÓPEZ URQUÍDEZ

ASESOR

DR. AZAREEL ANGULO CASTRO

ASESOR

DR. VÍCTOR VALENZUELA HERRERA

ASESOR

DR. JESÚS ENRIQUE RETES MANJARREZ

CULIACÁN, SINALOA., SEPTIEMBRE DE 2019



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA
COLEGIO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
FACULTAD DE AGRONOMÍA CULIACÁN
FACULTAD DE AGRONOMÍA VALLE DEL FUERTE
FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR
FACULTAD DE AGRONOMÍA VALLE DEL CARRIZO

En la Ciudad de Culiacán Rosales, Sinaloa, el día 20 de enero del año 2020, que suscribe Jorge Alberto Edeza Urías, alumno del Programa de Maestría en Ciencias Agropecuarias, con número de cuenta 1756953-2, de la Unidad Académica Facultad de Agronomía Culiacán, del Colegio de Ciencias Agropecuarias de la UAS, manifiesta que es autor intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección del Dr. Carlos Alfonso López Orona y del Dr. Sixto Velarde Félix y cede los derechos del trabajo titulado “Promoción de crecimiento vegetal y control de la fusariosis vascular en garbanzo (*Cicer arietinum* L.) por cepas bacterianas”, a la Facultad de Agronomía Culiacán del Colegio de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma de Sinaloa, para su difusión, con fines académicos y de investigación por medios impresos y digitales, todo esto en apego al artículo 27 de la Ley Federal de Derechos de Autor.

La Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México) protege el contenido de la presente tesis. Los usuarios de la información contenida en ella deberán citar obligatoriamente la tesis como fuente, dónde la obtuvo y mencionar al autor intelectual. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

ATENTAMENTE

Jorge Alberto Edeza Urías

CORREO ELECTRÓNICO: edeza117@gmail.com

CURP: EEUJ950903HSLDRR06

DEDICATORIA

A mi abuela Carmen Ontiveros.

A mis padres Lizeth Urías y Jorge Edeza.

A mis amigos y familia.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco enormemente al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada para poder realizar mis estudios de maestría.

Un especial agradecimiento a la Universidad Autónoma de Sinaloa a través de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Sinaloa por abrirme las puertas de estudiar en el Programa de Maestría en Ciencias Agropecuarias. Así mismo, también por brindar las facilidades de espacio y equipo para realizar mi trabajo de investigación.

Al Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias, Campo Experimental del Valle de Culiacán por facilitar los cultivos de garbanzo utilizado en el presente trabajo de investigación.

Un agradecimiento especial a mi mentor, mi director de tesis Dr. Carlos Alfonso López Orona por ser mi guía durante mi proceso de formación como investigador, por sus consejos y por todo el apoyo brindado durante mis estudios de maestría. Muchas gracias por todo Doc.

A mis asesores por haberme apoyado por sus consejos y asesorías, muchas gracias Dr. Guadalupe Alfonso López Urquidez, Dr. Azareel Angulo Castro Dr. Víctor Valenzuela Herrera, Dr. Sixto Velarde Félix y Dr. Enrique Retes Manjarrez.

Así mismo, a mi familia por haber jugado el papel fundamental de cobijo y motivación que tanto necesité siempre y en cada uno de los momentos, mismo cobijo que brindan desde que tengo memoria, gracias, los amo. Sin olvidar a mis amigos y compañeros de maestría y doctorado que les brindé mi respeto y aprecio y lo cobijaron para proceder en comunicación y mejora en compañerismo diario, gracias.

Muchas gracias a todos.

CONTENIDO

ABREVIATURAS	i
ÍNDICE DE CUADROS	iii
ÍNDICE DE FIGURAS	v
RESUMEN	vii
ABSTRACT	ix
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1. Garbanzo (<i>Cicer arietinum</i> L.)	3
2.1.1. Producción de garbanzo a nivel mundial	3
2.2. Importancia del garbanzo en México	4
2.2.1. Importancia del garbanzo en Sinaloa	5
2.3. Características botánicas del garbanzo	6
2.4. Clasificación taxonómica del garbanzo	7
2.5. Etapas del cultivo	7
2.5.1. Germinación	7
2.5.2. Crecimiento vegetativo	8
2.5.3. Floración	9
2.5.4. Fructificación (Desarrollo y maduración de frutos)	9
2.6. Condiciones edafoclimáticas favorables para el desarrollo del garbanzo	9
2.6.1. Temperatura	9
2.6.2. Tipo de suelo y pH del suelo	10
2.6.3. Humedad del suelo	10
2.6.4. Requerimientos de suelo	11
2.7. Limitantes de producción de garbanzo	11
2.8. <i>Fusarium oxysporum</i>	12
2.9. Evolución biológica de <i>Fusarium oxysporum</i>	13
2.9.1. Formas especiales (f. sp)	14

2.9.2. El origen de las razas patogénicas	15
2.10. Generalidades de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>ciceris</i>	16
2.10.1. La Fusariosis Vascular.....	16
2.10.2. Condiciones generales óptimas para el desarrollo de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>ciceris</i>	16
2.11. Interacción de planta-hongo (Patosistema)	17
2.11.1. Ciclo de la enfermedad	18
2.12. Variabilidad patógena y genética en FOC	20
2.13. Control de la enfermedad.....	22
2.13.1. Uso de material de plantación libre de patógenos y evitar la siembra en suelos de alto riesgo.....	22
2.13.2. Reducción o eliminación del inóculo en el suelo	23
2.13.3. Manejo del cultivo	24
2.13.4. Uso de cultivares resistentes	24
2.14. Resistencia a la fusariosis vascular.....	24
2.15. Control de la enfermedad por cepas bacterianas.....	25
2.15.1. Antecedentes de control biológico bacteriano	26
2.15.2. Mecanismo de acción de rizobacterias contra <i>Fusarium</i> spp	26
III. HIPÓTESIS.....	28
IV. OBJETIVOS	29
4.1. Objetivo general.....	29
4.2. Objetivos específicos	29
V. MATERIALES Y MÉTODOS.....	30
5.1. Localización de áreas experimentales	30
5.2. Origen de los aislamientos fúngicos, material vegetal y cepas bacterianas	30
5.3. Activación de los aislamientos fúngicos y cepas bacterianas	32
5.4. Producción y ajuste de inóculos fúngicos y bacterianos	33
5.5. Ensayo de patogenicidad de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>ciceris</i> razas 0 y 5 en genotipos de garbanzo	35

5.5.1. Evaluación del Índice de Severidad de la Enfermedad (DSI) en genotipos de garbanzo inoculados con <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>ciceris</i> razas 0 y 5	37
5.5.2. Diseño experimental y análisis estadístico.....	38
5.6. Pruebas de antagonismo <i>in vitro</i> de cepas bacterianas promotoras del crecimiento vegetal frente a <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>ciceris</i> raza 0 y 5	38
5.6.1. Diseño experimental y análisis estadístico.....	39
5.7. Ensayos en evaluación de la capacidad de promoción de crecimiento vegetal de cepas bacterianas en plantas de garbanzo ‘Blanco Sinaloa-92’ inoculadas con <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>ciceris</i> raza 0 y 5.	40
5.7.1. Variables evaluadas	41
5.7.2. Diseño experimental y análisis estadístico.....	43
5.8. Análisis de contenido NPK en plantas de garbanzo tratadas con <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>ciceris</i> y cepas bacterianas en el cultivar ‘Blanco Sinaloa-92’	44
5.8.1. Manejo de muestra	44
5.8.2. Procesamiento de muestra	45
5.8.3. Cálculos de muestra	47
5.8.4. Diseño experimental y análisis estadístico.....	48
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	50
6.1. Ensayos de patogenicidad de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>ciceris</i> razas 0 y 5 en genotipos de garbanzo	50
6.2. Inhibición <i>in vitro</i> de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>ciceris</i> raza 0 y 5 por cepas bacterianas	54
6.3. Promoción de crecimiento vegetal por cepas bacterianas en plantas de garbanzo infectadas con <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>ciceris</i> (raza 0 y raza 5).....	57
6.4. Control de la Fusariosis vascular en el cultivar ‘Blanco Sinaloa-92’ por cepas bacterianas	65
6.5. Concentración de NPK en el cultivar ‘Blanco Sinaloa-92’ inoculado con bacterias promotoras del crecimiento vegetal.	67
VII. CONCLUSIONES	73

XIII. LITERATURA CITADA	76
-------------------------------	----

ABREVIATURAS

BPCV:	Bacterias promotoras del crecimiento vegetal
Ca (NO₃)₂:	Nitrato de calcio
CE:	Conductividad eléctrica
ds/m:	Densidad de sales por metro
f. sp.	<i>Formaespecialis</i>
FAO:	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura
FAOSTAT:	División estadística de la FAO
Fe:	Hierro
FO:	<i>Fusarium oxysporum</i>
FOC:	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>ciceris</i>
g:	Gramo
h:	Hora (s)
INIFAP:	Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas y Pecuarias
K₂SO₄:	Sulfato de potasio
KH₂PO₄:	Fosfato de potasio
KNO₃:	Nitrato de potasio
mg/L:	Miligramos por litro
mg plante⁻¹	Miligramos en planta
MgSO₄:	Sulfato de magnesio
min:	Minuto (s)
mL:	Mililitro
°C:	Grados Celsius
PCNB:	Penta-Cloro-Nitro-Benceno
PCR:	Reaccion en cadena de la polimerasa
PDA:	Medio papa-dextrosa-agar
PDB:	Medio caldo de papa-dextrosa
pH:	Potencia de Hidrógeno
pg:	pentogramo
rpm:	Revoluciones por minuto

SAGARPA:	Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación
SIAP:	Sistema de Información Agrícola y Pecuaria
T:	Temperatura
TA:	Temperatura ambiente
UFC:	Unidades formadoras de colonias
μL:	Microlitro

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Título	Página
1	Producción mundial de garbanzo posicionado por continentes.	4
2	Estadísticas de producción (t) de garbanzo por países en el periodo 2017.	4
3	Ubicación de producción de garbanzo grano a nivel nacional ciclo; año agrícola (P-V, O-I) periodo 2015, modalidad; riego + temporal.	5
4	Principales municipios productores de garbanzo en Sinaloa	6
5	Origen de los aislamientos de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>ciceris</i> aislados de plantas de garbanzo (<i>Cicer arietinum</i> L.).	30
6	Características de los genotipos de garbanzo (<i>Cicer arietinum</i> L.) utilizados en el presente estudio.	31
7	Características de origen de cepas bacterianas utilizadas en el presente estudio.	32
8	Escala adaptada para determinar el nivel de antagonismo propuesta por Bell <i>et al.</i> (1982).	39
9	Comparaciones múltiples del ensayo de patogenicidad con genotipos de garbanzo inoculado con <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>ciceris</i> raza 0.	51
10	Comparaciones múltiples del ensayo de patogenicidad con genotipos de garbanzo inoculado con <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>ciceris</i> raza 5.	52
11	Prueba de Kruskal-Wallis bilateral en genotipos de garbanzo frente a FOC razas 0 y 5 respectivamente.	53
12	Inhibición del crecimiento micelial <i>in vitro</i> de FOC raza 0 frente a microorganismos bacterianos.	54

13	Inhibición del crecimiento micelial <i>in vitro</i> de FOC raza 5 frente a microorganismos bacterianos.	55
14	Efecto de la inoculación de semillas con los microorganismos bacterianos y <i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>ciceris</i> raza 0 en los parámetros de crecimiento de plantas de garbanzo 'Blanco Sinaloa-92'.	60
15	Efecto de la inoculación de semillas con los microorganismos bacterianos y <i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>ciceris</i> raza 5 en los parámetros de crecimiento de plantas de garbanzo 'Blanco Sinaloa-92'.	61
16	Efecto de la inoculación de semillas con los microorganismos bacterianos en los parámetros de crecimiento de plantas de garbanzo 'Blanco Sinaloa-92'.	61
17	Antagonismo de cepas bacterianas en la patogenicidad <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>ciceris</i> raza 0 inoculado en semilla de 'Blanco Sinaloa-92'.	66
18	Antagonismo de cepas bacterianas en la patogenicidad <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>ciceris</i> raza 5 inoculado en semilla de 'Blanco Sinaloa-92'.	66
19	Contenido de N P K en 'Blanco Sinaloa-92' sometido a confrontaciones <i>in vivo</i> con BPCV, FOC raza 0 y 5.	70

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Título	Página
1	Garbanzo afectado por fusariosis vascular en Beja-Tusnia.	17
2	Descoloración de raíz-tallo de una planta de garbanzo infectada con FOC.	19
3	Conteo de UFC en producto de calco PDB mediante hematocitómetro Neubauer® para ajuste de concentración. Dónde: A) FOC raza 0; B) FOC raza 5.	34
4	Conteo de inóculo bacteriano en cajas Petri con medio Agar Nutritivo-Difco® (23 g L-1). A) A46; B) P61; C) R44; D) BSP1.1 y E) CPPC55.	35
5	Inóculo bacteriano sometidos a agitación 140 rpm en medio Caldo Nutritivo-Bioxon® (8 g L-1) A) A46, B) P61, C) R44, D) BSP 1.1, E) CPPC55 y F) control negativo sin bacteria o Caldo Nutritivo.	35
6	Semilla de genotipos de garbanzo (n=37) sometidos a prueba de patogenicidad.	37
7	Inmersión de semilla 'Blanco Sinaloa-92' en caldo de BPCV: A) A46, B) P61, C) R44, D) BSP 1.1, E) CPPC55, F) Caldo Nutritivo. Confrontaciones con FOC raza 0: G) A46*0, H) P61*0, I) R44*0, J) BSP 1.1*0, K) CPPC55*0 y L) FOC 0. Inoculaciones con FOC raza 5: M) A46*5, N) P61*5, O) R44*5, P) BSP 1.1*5, Q) CPPC55*5 y R) FOC 5. Todos en inóculos bacterianos ajustados a 1×10^8 durante 5 minutos.	42
8	Plantas de garbanzo 'Blanco Sinaloa-92' previamente inoculados en semilla con BPCV: A) A46, B) P61, C) R44, D) BSP 1.1, E) CPPC55, F) Steiner 10%. Confrontaciones con BPCV + FOC raza 0: G) A46*0, H) P61*0, I) R44*0, J) BSP 1.1*0, K) CPPC55*0 y L) FOC 0. Inoculaciones con BPCV + FOC raza 5: M) A46*5, N) P61*5, O) R44*5, P) BSP 1.1*5, Q)	42

	CPPC55*5 y R) FOC 5. A partir de G-R fueron inoculados con FOC razas 0 y 5 respectivamente con concentración de 1X10 ⁶ UFC/ml al tener tres hojas completamente desarrolladas.	
9	Determinación de N por el método de Kjendahl.	45
10	Determinación de P por el método del ácido ascórbico.	46
11	Determinación de K por el método de (Rodríguez y Rodríguez, 2015).	47
12	Confrontaciones <i>in vitro</i> de BPCV contra FOC raza 0 en cajas Petri con medio PDA-Difco® a 25 °C durante 7 d en total obscuridad en cámara de crecimiento (Friocel®). Donde 1: A46*0; 2: P61*0; 3: R44*0; 4: BSP 1.1*0; 5: CPPC55*0 y 6: FOC raza 0 (Testigo).	55
13	Confrontaciones <i>in vitro</i> de BPCV contra FOC raza 5 en cajas Petri con medio PDA-Difco® a 25 °C durante 7 d en total obscuridad en cámara de crecimiento (Friocel®). Donde 1: A46*5; 2: P61*5; 3: R44*5; 4: BSP 1.1*5; 5: CPPC55*5 y 6: FOC raza 5 (Testigo).	56
14	Plantas de garbanzo 'Blanco Sinaloa-92' a partir de los 75 ddi sometidas a inoculaciones en semilla con BPCV: A) A46, B) P61, C) R44, D) BSP 1.1, E) CPPC55, F) Steiner 10%. Confrontaciones con BPCV + FOC raza 0: G) A46*0, H) P61*0, I) R44*0, J) BSP 1.1*0, K) CPPC55*0 y L) FOC 0. Inoculaciones con BPCV + FOC raza 5: M) A46*5, N) P61*5, O) R44*5, P) BSP 1.1*5, Q) CPPC55*5 y R) FOC 5.	62

RESUMEN

El garbanzo (*Cicer arietinum* L.) es un cultivo de importancia económica y alimenticia. Es la segunda leguminosa alimenticia más importante del mundo después del frijol. Sin embargo, la fusariosis vascular del garbanzo es una enfermedad difícil de controlar, donde los métodos químicos disminuyen la biodiversidad del suelo y contaminan el ambiente, por lo cual se deben desarrollar medidas sustentables para limitarla. El objetivo del presente trabajo de investigación fue determinar el efecto inhibitorio de cepas bacterianas de *Pseudomonas tolaasii*, *Bacillus pumilus*, *Paenibacillus* sp., y *Serratia plymuthica* *in vitro* e *in vivo* contra *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* razas 0 y 5, así como evaluar la capacidad de promoción de crecimiento vegetal de las cepas bacterianas sobre genotipos de garbanzo. Se evaluó inhibición de *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris* frente a cepas bacterianas sobre el crecimiento micelial *in vitro* de las razas 0 y 5, siendo las principales agentes causales de la enfermedad en el noroeste de México (Sinaloa, Sonora y Baja California Sur), mediante cultivo dual en medio PDA. Además de valorar el efecto antagónico de las bacterias mediante un ensayo *in vivo* utilizando el cultivar 'Blanco Sinaloa-92', el experimento fue realizado en invernadero (25-30 °C, 50-60 % de humedad relativa) con diseño completamente al azar con tres repeticiones por tratamiento. Se evaluaron parámetros de crecimiento vegetal: altura de planta (cm), grosor de tallo (mm), clorofila (unidades SPAD), número de hojas, volumen radical (cm³), biomasa húmeda de total, raíz y tallo y biomasa seca total, raíz y tallo en (g) además de evaluar el Índice de Severidad de la enfermedad y contenido asimilable de NPK en planta. Se encontró variación en la respuesta de los genotipos con base a razas de FOC, presentando 100% de severidad en genotipos inoculados con la raza 0 (6, 8, 20, 21, 22, 25) y con la raza 5 (1, 14 y 37), presentando FOC raza 0 mayor porcentaje de daño que FOC raza 5 con 85.73 y 78.46% respectivamente. La mayor inhibición *in vitro* fue ejercida por CPPC55 (*Serratia plymuthica*) inhibiendo a FOC raza 0 y 5 en 58.52 y 50.40 % respectivamente en medio PDA, concordando resultados de inhibición *in vitro* con los de promoción de crecimiento vegetal ocurrido en plantas del cultivar Blanco Sinaloa-92, donde la misma cepa bacteriana ejerció el mayor crecimiento vegetal en altura, verdor y peso húmedo en las plantas inoculadas con FOC raza 0 y 5. Así mismo, el

mayor volumen de raíz en ambos ensayos se obtuvo con la cepa R44 (*Bacillus pumilus*). No obstante, R44 (*Bacillus pumilus*) con FOC raza 0 presento mayor peso seco total. En la promoción de crecimiento vegetal, únicamente con inoculaciones bacterianas, CPPC55 (*Serratia plymuthica*) promovio mayor altura, grosor, verdor, numero de hojas, peso húmedo y seco de tallo. Mientras que A46 (*Pseudomonas tolaasi*) promovio el mayor volumen de raíz. En la expresion de severidad en Blanco Sinaloa-92, el tratamiento con CPPC55 (*Serratia plymuthica*) presentó daños bajos con 32.5 y 40 % en inoculaciones con FOC razas 0 y 5 respectivamente, siendo significativamente menor a los testigos ($P \leq 0.05$). Por otra parte, A46 (*Pseudomonas tolaasi*) promovio el mayor contenido de NPK en tejido vegetal de Blanco Sinaloa-92, mientras CPPC55 (*Serratia plymuthica*) solo en N. En inoculaciones con FOC raza 0 P61 promovio P y CPPC55 K, asi mismo con FOC raza 5, R44 promovio el mayor P y A46 K.

Palabras clave: *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*; control biológico; promoción de crecimiento vegetal.

ABSTRACT

Chickpea (*Cicer arietinum* L.) is a crop of economic and nutritional importance. It is the second most important food legume in the world after beans. However, chickpea vascular fusariosis is a difficult disease to control, where chemical methods reduce soil biodiversity and pollute the environment, so sustainable measures must be developed to limit it. The objective of this research was to determine the inhibitory effect of bacterial strains of *Pseudomonas tolaasii*, *Bacillus pumilus*, *Paenibacillus* sp., and *Serratia plymuthica* *in vitro* and *in vivo* against *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* races 0 and 5, as well as assess the capacity for plant growth promotion of bacterial strains on chickpea genotypes. Inhibition of *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris* against bacterial strains on *in vitro* mycelial growth of races 0 and 5, being the main causative agents of the disease in northwestern Mexico (Sinaloa, Sonora and Baja California Sur), by dual culture in PDA medium. In addition to assessing the antagonistic effect of bacteria by *in vivo* test using the 'Blanco Sinaloa-92' cultivar, the experiment was conducted in a greenhouse (25-30 ° C, 50-60% relative humidity) with a completely random design with three repetitions per treatment. Plant growth parameters were evaluated: plant height (cm), stem thickness (mm), chlorophyll (SPAD units), number of leaves, radical volume (cm³), total wet biomass, root and stem and total dry biomass, root and stem in (g) in addition to evaluating the Disease Severity Index and assimilable content of NPK in the plant. Variation in the response of genotypes based on FOC races was found, presenting 100% severity in genotypes inoculated with race 0 (6, 8, 20, 21, 22, 25) and with race 5 (1, 14 and 37), presenting FOC race 0 higher percentage of damage than FOC race 5 with 85.73 and 78.46% respectively. The greatest *in vitro* inhibition was exerted by CPPC55 (*Serratia plymuthica*) inhibiting FOC race 0 and 5 in 58.52 and 50.40% respectively in PDA medium, concluding results of *in vitro* inhibition with those of plant growth promotion occurred in plants of the Blanco Sinaloa cultivar-92, where the same bacterial strain exerted the highest plant growth in height, greenery and wet weight in plants inoculated with FOC race 0 and 5. Likewise, the highest root volume in both trials was obtained with strain R44 (*Bacillus pumilus*). However, R44 (*Bacillus pumilus*) with FOC race 0 presented greater total dry weight. In the promotion of plant growth, only with bacterial inoculations, CPPC55 (*Serratia plymuthica*) promoted

greater height, thickness, greenery, number of leaves, wet and dry stem weight. While A46 (*Pseudomonas tolaasi*) promoted the highest root volume. In the expression of severity in Blanco Sinaloa-92, the treatment with CPPC55 (*Serratia plymuthica*) showed low damage with 32.5 and 40% inoculations with FOC races 0 and 5 respectively, being significantly lower than the controls ($P \leq 0.05$). On the other hand, A46 (*Pseudomonas tolaasi*) promoted the highest NPK content in plant tissue of Blanco Sinaloa-92, while CPPC55 (*Serratia plymuthica*) only in N. In inoculations with FOC race 0 P61 promoted P and CPPC55 K, likewise with FOC race 5, R44 promoted the greatest P and A46 K.

Keywords: *Fusarium oxysporum* f. sp. ciceris; Biological control; plant growth promotion.

I. INTRODUCCIÓN

El garbanzo (*Cicer arietinum* L.) es un cultivo importante en el aspecto cultural, alimenticio y económico a nivel mundial (Jukanti *et al.*, 2012). Así, el garbanzo es considerado como la segunda leguminosa alimenticia más importante del mundo, después del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) (Jiménez-Díaz *et al.*, 2015). A nivel mundial se produjeron 14, 776,827 t donde su principal productor y consumidor es la india con 9, 075,000 t ocupando México el décimo lugar con 188,939 t en el mismo año (FAOSTAT, 2017a).

La zona noroeste de México, que comprenden los estados de Sinaloa, Sonora y Baja California Sur, son el área productora de garbanzo blanco para exportación más importante del país, donde en el 90% de la superficie total de garbanzo se utiliza la variedad 'Blanco Sinaloa 92', misma que se utiliza por ya más de 20 años (Fierros-Leyva *et al.*, 2016), y es la región del país donde se produce el grano de mejor calidad en calibre y peso en México (Gómez-Garza *et al.*, 2003); donde destaca Sinaloa como principal Estado productor del país con 78 mil 425 t seguido por Sonora y Baja California Sur (SIAP, 2015). El garbanzo de grano blanco grande (tipo "Kabuli") que se produce en la región Noroeste de México se exporta a Europa, Norte de África y Medio Oriente (Yadav *et al.*, 2007).

Sin embargo, la producción de este cultivo es limitada por factores bióticos y abióticos, dentro de los bióticos destacan enfermedades de origen fungoso, como *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* (FOC), hongo fitopatógeno habitante natural del suelo que causa la enfermedad descrita como "Fusariosis Vascular" o marchitez por *Fusarium* spp. que causa importantes pérdidas de rendimiento en garbanzo en todo el mundo. Además, es el fitopatógeno más importante dentro del complejo de hongos que provocan la enfermedad conocida como "rabia del garbanzo" en este cultivo (Velarde-Félix *et al.*, 2013). La fusariosis vascular es reportada en la mayoría de los países donde se cultiva garbanzo (Haware y Nene, 1982). Las pérdidas causadas por el hongo van de 10 a 40% de la cosecha anual, y puede devastar el 100% al cultivo en condiciones favorables para el desarrollo de la enfermedad (Guerrero *et al.*, 2015). A la fecha se han descrito ocho razas fisiológicas Haware y Nene (1982); 0, 1A, 1B/C, 2, 3, 4, 5, y 6. Donde las razas 0 y 1B/C inducen síntomas de amarillamiento, mientras

que las razas 1A, 2, 3, 4, 5 y 6, síntomas de marchitez (Jiménez-Díaz *et al.*, 1993; Jiménez-Gasco *et al.*, 2001; Kelly *et al.*, 1994).

Actualmente se ha detectado mediante pruebas morfológicas, moleculares y biológicas las razas 0 y 5 de FOC en el noroeste de México (Sinaloa, Sonora y Baja California Sur) (Velarde-Félix *et al.*, 2015). Dado lo anterior se estimula la búsqueda de manejo a la fusariosis vascular, pues se ha registrado que métodos de control se realizan a través diversos factores abióticos como la humedad relativa y temperatura, los cuales favorecen el desarrollo de los agentes causales (Landa *et al.*, 2006). Además, el uso de fungicidas químicos ocasiona resistencia en los fitopatógenos, contaminación ambiental en suelo, agua, frutos y toxicidad en plantas. El manejo de la fusariosis vascular se realiza a través del control de diversos factores abióticos como la humedad relativa y temperatura, los cuales favorecen el desarrollo de los agentes causales. Además, los productores tienen que recurrir al uso de fungicidas químicos, lo que ha ocasionado resistencia en los fitopatógenos, contaminación ambiental en suelo, agua, frutos y toxicidad en plantas. Estas razones son el motivo para la búsqueda de otros métodos más efectivos y no perjudiciales al ambiente y salud humana. Dado que el uso de cultivares resistentes es la medida de control más práctica y económicamente eficaz para el controlar enfermedades de cultivos dentro de una estrategia de manejo integrado (Jiménez-Gasco y Jiménez-Díaz, 2003; Sharma *et al.*, 2005; Sharma y Muehlbauer, 2007). Y debido a la dificultad de controlar la enfermedad estimula la búsqueda de alternativas ecológicas para el manejo de esta enfermedad. Por ello dentro de la solución a la problemática se planteó determinar el efecto inhibitorio de cepas bacterianas *in vitro* e *in vivo* contra *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* razas 0 y 5, así como evaluar la capacidad de promoción de crecimiento vegetal de las cepas bacterianas sobre genotipos de garbanzo.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Garbanzo (*Cicer arietinum* L.)

El garbanzo, es un cultivo diploide anual autopolinizado o planta autógama (Cobos *et al.*, 2007). Dentro de las generalidades del garbanzo, destaca que es un cultivo afín a bacterias con capacidad de aumentar la fertilidad del suelo, particularmente en tierras secas, mediante la fijación de nitrógeno atmosférico (N) (Warda *et al.*, 2017). Se utiliza principalmente para el consumo humano y es esencial en la dieta mediterránea y es un alimento básico en Pakistán e India (Millan *et al.*, 2010). Así, el garbanzo (*Cicer arietinum* L) es un cultivo de importancia a nivel mundial, principalmente en el aspecto alimenticio y económico, debido a su alto contenido de proteína (Jukanti *et al.*, 2012), bajo en grasa y sodio y es una excelente fuente de fibra soluble e insoluble, así como carbohidratos complejos, vitaminas, ácido fólico y minerales, especialmente calcio, fósforo, hierro y magnesio (Roy *et al.*, 2010). Considerada como la segunda leguminosa alimenticia más importante del mundo, después del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) (Jiménez-Díaz *et al.*, 2015), se cultiva tradicionalmente en muchas partes del mundo. Al igual que otros cultivos, tiene múltiples funciones en los sistemas agrícolas tradicionales en muchos países en desarrollo. Además de ser una fuente importante de alimento humano y animal, también ayuda en el manejo de la fertilidad del suelo, especialmente en las tierras secas. (Sharma y Jodha, 1984).

2.1.1. Producción de garbanzo a nivel mundial

A nivel mundial se produjeron 14, 776,827 t en el año 2017 (Cuadro 1). Donde el principal País productor y consumidor es la india con 9, 075,000 t producidas, ocupando México el décimo lugar en importancia productiva con 188,939 t representando el 1.3% del total mundial en el mismo año (FAOSTAT, 2017a: Cuadro 2). Del total de producción mundial el 73.5 % corresponde a Asia, Oceanía 13.6 %, América 4.6 %, África 4.5 % y Europa con 3.8 % (FAOSTAT, 2017a: Cuadro 1). Países como Australia, México y Rusia no son sobresalientes consumidores de garbanzo, pero sí importantes exportadores mundiales, así mismo, los principales países importadores son India y Pakistán, seguidos por Bangladesh (FAOSTAT, 2016b).

Cuadro 1. Producción mundial de garbanzo posicionado por continentes.

Posición	Continentes	Producción (t)
1	Asia	10,867,074
2	Oceanía	2,004,000
3	América	673,775
4	África	671,623
5	Europa	560,355

Fuente: FAOSTAT, 2017a.

Cuadro 2. Estadísticas de producción (t) de garbanzo por países en el periodo 2017.

Posición	País	Producción (t)
1	India	9,075,000
2	Australia	2,004,000
3	Myanmar	526,772
4	Etiopía	473,570
5	Turquía	470,000
6	FED Rusia	418,646
7	Pakistán	330,210
8	EUA	313,210
9	Irán	271,487
10	México	188,939

Fuente: Fuente: Elaboración propia con datos de FAOSTAT, 2017a.

2.2. Importancia del garbanzo en México

Rzedowski (2006) informó que la vertiente del Pacífico mexicano, cuenta con condiciones climáticas propicias para el garbanzo (*Cicer arietinum* L.), el cual se acostumbra establecerse durante los meses más frescos del año en amplias superficies del Bajío y del estado de Jalisco, y, sobre todo, en las partes bajas de

Guerrero, Michoacán, Oaxaca, Sinaloa y Sonora. Datos recopilados del Anuario Estadístico de la Producción Agrícola (AEPA) del SIAP (2015; Cuadro 3) ubican la importancia nacional por estados encabezados por Sinaloa como productor líder. Distinguiéndose el noroeste de México, que comprenden los estados de Sinaloa, Sonora y Baja California Sur (BCS), por ser el área productora de garbanzo blanco para exportación (Gómez-Garza *et al.*, 2003).

Cuadro 3. Ubicación de producción de garbanzo grano a nivel nacional ciclo; año agrícola (P-V, O-I) periodo 2015, modalidad; riego + temporal.

Posición	Estado	Sup. Sembrada (ha)	Producción (t)	Rendimiento (t ha ⁻¹)	Valor de producción (miles de pesos)
1	Sinaloa	48,270.02	78,424.98	1.62	929,448.55
2	Sonora	11,245.00	26,751.16	2.38	339,764.34
3	Michoacán	9,915.50	15,028.13	1.85	102,777.81
4	Guanajuato	6,905.50	11,216.27	1.66	49,228.84
5	Baja California Sur	3,977.20	3,826.33	0.96	46,095.84
6	Jalisco	1,109.00	1,797.50	1.62	5,916.42
7	Guerrero	576.55	473.32	0.82	4,101.18
8	Oaxaca	297.25	270.14	0.91	2,468.61
3	Hidalgo	26.00	13.00	0.50	201.50
10	Querétaro	15.00	8.10	0.54	25.11
Total		82,337.02	137,821.93	12.86	1,479,928.20
Promedio		8,233.70	13,782.19	1.286	147,992.82

Fuente: Elaboración propia con datos de SIAP, (2015).

2.2.1. Importancia del garbanzo en Sinaloa

El garbanzo sinaloense es reconocido en el mundo por su calidad. Desde su inicio, la producción de garbanzo ha estado orientada al mercado de exportación; localmente su consumo es bajo. En la actualidad la región Noroeste de México (Sinaloa, Sonora y Baja California Sur) se ha convertido en la principal zona productora y exportadora de garbanzo de grano blanco, siendo Sinaloa el más importante en cuanto a superficie sembrada (48,270.02 ha) y producción de 78,424.9 t, donde los principales municipios productores del estado son Guasave, Sinaloa Leyva y Mocorito (Cuadro 4). El posicionamiento del garbanzo en la agricultura sinaloense se ha debido, en gran medida, a la generación de variedades propias para abastecer un sector muy diferenciado del mercado internacional, que es altamente demandante en la calidad

del grano. Ocupando Sinaloa el primer lugar en producción de este grano para exportación, seguido de Sonora y BCS (SIAP, 2015).

Cuadro 4. Principales municipios productores de garbanzo en Sinaloa.

Posición	Municipio	Producción (t)
1	Guasave	22,868.31
2	Sinaloa leyva	20,609.75
3	Mocorito	11,505.8
4	Angostura	8,725.74
5	Culiacán	6,205.77
6	Salvador Alvarado	3,919.20
7	Navolato	2,044.3
8	Ahome	1,819.46

Fuente: Elaboración propia con datos de SIAP, (2015).

Del total de superficie de siembra, en el 90% se utiliza la variedad 'Blanco Sinaloa 92', misma que se utiliza por ya más de 20 años (Fierros-Leyva *et al.*, 2016). El noroeste de México es la región donde se produce el grano de mejor calidad en calibre y peso en México (Gómez-Garza *et al.*, 2003); donde destaca Sinaloa como principal Estado productor del país con 78 mil 425 t seguido por Sonora y Baja California Sur (SIAP, 2015).

2.3. Características botánicas del garbanzo

Hay dos tipos distintos de garbanzos cultivados: Desi y Kabuli. El Desi tiene flores rosadas, pigmentación de antocianina en los tallos y una cubierta de semilla gruesa y coloreada. Los tipos de Kabuli (macrosperma) tienen flores blancas, carecen de pigmentación antocianina en los tallos y tienen Semillas de color blanco o beige con forma de cabeza de borrego y una superficie lisa de semilla (Jukanti *et al.*, 2012).

La distribución geográfica difiere para estos dos tipos, las semillas de garbanzos Kabuli se cultivan en regiones de climas templados, mientras que el tipo Desi se cultiva en

los trópicos semiáridos (Maheri *et al.*, 2008). Así, el garbanzo de tipo Kabuli es considerado más importante desde el punto de vista económico, ya que recibe un precio de mercado más alto que el Desi. Sin embargo, la mayoría de los recursos genómicos se han generado para el garbanzo tipo Desi hasta el momento (Agarwal *et al.*, 2012). Los dos tipos representan diferentes antecedentes genéticos, que se diferencian en importantes rasgos agronómicos, como la resistencia a enfermedades, tolerancia al frío y hábito de crecimiento (Warda *et al.*, 2017).

2.4. Clasificación taxonómica del garbanzo

De acuerdo con CABI, (2017) la clasificación taxonómica del garbanzo se encuentra ordenada de la siguiente manera:

Dominio: *eukaryota*

Reino: *Plantae*

Phylum: *Spermatophyta*

Subfilo: *Angiospermas*

Clase: *Dicotyledonae*

Orden: *fabales*

Familia: *Fabaceae*

Género: *Cicer*

Especie: *Cicer arietinum*

2.5. Etapas del cultivo

El conocimiento de las fases de desarrollo de la planta y la influencia de los factores ambientales que ejercen sobre la misma, resalta importancia al permitir establecer técnicas adecuadas para encajar con su ciclo biológico en la época más favorable, para que exista un adecuado equilibrio entre crecimiento y desarrollo, se puede dividir en cuatro estados fenológicos principales (De Miguel, 1991) mostrados a continuación:

2.5.1. Germinación

Los índices de germinación, emergencia (alargamiento del hipocótilo) y crecimiento en plántula dependen de gran medida de la temperatura. Así, la germinación se puede

producir en un intervalo de temperaturas comprendidas entre los 10 y 45 °C, aunque la máxima rapidez se logra con temperaturas constantes a 20 °C o en régimen de fluctuación de 15-25 °C, una vez alcanzado el estado de planta, el garbanzo puede tolerar el frío, encontrándose genotipos que han soportado temperaturas de hasta -13 °C (Sexena y Singh 1987).

Es también necesario considerar en esta fase, la influencia que la temperatura puede tener en la iniciación y desarrollo de nódulos. De hecho, este proceso puede verse limitado en suelos cálidos, en los que, al alcanzar temperaturas de 30-33 °C durante solamente unas horas al día, se produce una disminución drástica en la nodulación (De Miguel, 1991).

El factor fecha de siembra, tiene una influencia determinante sobre el desarrollo y rendimiento del cultivo, pues las condiciones climáticas favorecen o limitan las funciones fisiológicas de la planta, así como la incidencia de plagas y enfermedades (Rodríguez-Cota *et al.*, 2017). Así mismo, la fecha de siembra para el cultivo de garbanzo bajo condiciones de riego, se ha determinado con base en trabajos de investigación. En Sinaloa, todas las variedades sugeridas presentan su mejor rendimiento cuando la siembra se realiza en el mes de noviembre, sin embargo, en el centro del estado, se puede realizar ésta entre el 15 de octubre al 30 de diciembre y entre el 15 de octubre al 10 de diciembre en el norte. Se ha observado que en la medida que se siembra más tarde el rendimiento decrece y la incidencia de insectos plaga y de enfermedades foliares (Mildiú, botrytis y roya) se incrementa (Rodríguez-Cota *et al.* 2017), para las áreas de temporal, la siembra se realiza con la humedad de las últimas lluvias del verano y generalmente esta práctica coincide con el mes de octubre; si las precipitaciones pluviales se prolongan y la humedad es suficiente, la siembra se puede extender hasta el 15 de diciembre.

2.5.2. Crecimiento vegetativo

La temperatura también es factor fundamental del que dependen fenómenos como la velocidad a la que los nudos, hojas y ramas se diferencian, el modelo de ramificación y la altura de plantas. En cambio, poca importancia parece tener la influencia del fotoperiodo sobre el crecimiento vegetativo del garbanzo, excepto para el caso en que

la duración del período está limitada por el efecto que el fotoperiodo ejerza sobre el inicio de la floración y etapas posteriores (De Miguel, 1991).

2.5.3. Floración

La selección de la variedad y la calidad de la semilla han cobrado especial importancia, en virtud de la exigencia del acopiador, en garbanzo como en todas las especies cultivadas, es importante contar con variedades acorde a la superficie y a la problemática regional, con el propósito de evitar problemas generalizados de tipo fitosanitario, siendo necesario ampliar el número de variedades. Para el centro y norte de Sinaloa, se sugieren las siguientes variedades; 'Blanco Sinaloa-92', 'Costa 2004', 'Jumbo 2010' y 'Blanoro' donde según Rodríguez-Cota *et al.* (2017) cumplen con características respectivas a días a floración y ciclo vegetativo de la siguiente manera: 'Blanco Sinaloa-92' (35-50 días, 115-150 días), 'Costa 2004' (35-50 d, 115-140 d), 'Jumbo 2010' (39-50 d, 120-140 d) y 'Blanoro' (37-50 d, 125-145 d).

2.5.4. Fructificación (Desarrollo y maduración de frutos)

Las primeras flores producidas por la planta de garbanzo son llamadas pseudoflores o flores falsas, suelen ser imperfectas y no producir frutos, el tiempo que tarda para aparecer depende directamente del cultivar, temperatura y fotoperiodo. No obstante, otros factores ambientales juegan papel importante en este proceso como lo es el polen, el cual es viable a 20 °C, produciendo tubos polínicos largos. La luz ejerce papel fundamental en la formación de la semilla o fruto, donde se han reportado que a bajas intensidades de luz reducen considerablemente la formación de semilla, estudios realizados en India (Singh, 1984), muestran reducciones del 30 a 70% en la intensidad de la luz, provoca una disminución de al menos 50% del porcentaje de vainas cuajadas.

2.6. Condiciones edafoclimáticas favorables para el desarrollo del garbanzo

2.6.1. Temperatura

El cultivo no se daña fácilmente por bajas temperaturas de invierno, sin embargo, las heladas pueden afectarlo en etapas de floración y formación de vainas, el rango

térmico para el desarrollo óptimo del garbanzo oscila entre 5 a 35 °C, con su óptimo valor de 22 °C (Echeverría *et al.*, 2014). Una combinación de temperaturas diurnas de 18-25 °C y nocturnas de 5-10 °C es adecuada para el desarrollo del garbanzo (Croser *et al.*, 2003).

2.6.2. Tipo de suelo y pH del suelo

El tipo de suelo y pH óptimo para el desarrollo del garbanzo en Sinaloa según Rodríguez-Cota *et al.* (2017) y Salinas *et al.* (2008) es franco arenoso o franco arcilloso con pH de 6.2-7.5, así mismo requiere de otras condiciones como: conductividad eléctrica < 2.0, porcentaje de sodio intercambiable (PSI) < 10.0, porcentaje de materia orgánica 2.0, Nitrógeno N-NO₃ (30 ppm), Fósforo Olsen (15 ppm), Potasio soluble (30 ppm), Dietilentriaminopentá acético (DTPA) de Fe, Zn y Mn (2.5, 1.0 y 2.5 respectivamente).

2.6.3. Humedad del suelo

La mayor parte de la superficie de garbanzo cultivada en el mundo es bajo condiciones de humedad residual o temporal, y se le considera una planta de bajo requerimiento de agua; sin embargo, se ha demostrado que cuando se auxilia con riegos ligeros en etapas apropiadas se incrementan los rendimientos. Así mismo, recomiendan que en suelos de barrial se sugiere dar dos riegos de auxilio: el primero previo a la floración; es decir, a los 30-35 días de sembrado y el segundo al iniciar la formación de grano o llenado de cápsulas a los 50-60 días, ambos riegos deben ser ligeros y de preferencia en surcos alternos; es decir, un surco sí y otro no. En suelos de aluvión se sugieren 1 ó 2 riegos de auxilio, dependiendo el segundo de la humedad disponible al llenado de la cápsula y/o de la presencia de lluvias invernales., los riegos pesados o lluvias abundantes son perjudiciales, ocasionando la caída de flores y vainas que inician su desarrollo. La aplicación correcta de los riegos de auxilio es determinante para incrementar su producción. La longitud del trazo del riego en todos los casos no debe de exceder de 120 metros (Rodríguez-Cota *et al.*, 2017),.

La mayor parte del garbanzo en Sinaloa se siembra en suelos arcillosos, que se agrietan al perder humedad y se expanden cuando se riegan. Cuando el suelo se

agrieta y después se aplica riego de auxilio, se propician láminas de riego muy altas, lo que repercute en estrés de la planta al disminuirse el movimiento de nutrientes y además se provoca el rompimiento de raíces, favoreciendo la incidencia de enfermedades de raíz, que se observa en amarillamiento y disminución del crecimiento. En caso de lluvias, se puede suprimir uno o más riegos de auxilios, siempre y cuando la precipitación sea mayor de 4 cm, o que la humedad de la lluvia se sume a la existente en el suelo. En suelos con mayor capacidad de retención de humedad, se puede reducir el número de riegos de auxilio, considerando que las etapas con mayor necesidad de agua son: floración, formación de vaina y llenado de grano (Rodríguez-Cota *et al.* 2017).

2.6.4. Requerimientos de suelo

El cultivo de garbanzo puede establecerse en un amplio rango de suelos, desde ligeros a pesados, aunque los óptimos son franco-arcillosos, profundos (más de un metro), ya que sus raíces penetran al subsuelo extrayendo agua y nutrimentos. Requiere de suelos con buen drenaje. Para un buen desarrollo y adecuada fijación de nitrógeno del aire, es necesario que se tenga buena aireación, el pH del suelo óptimo es de 6.2 a 7.5. Evitar terrenos con problemas de sales, ya que el garbanzo es sensible a estas, requiriendo suelos con menos de 2 milimhos/cm a 25 °C de conductividad eléctrica, o dS/m. Si se considera el rendimiento que se obtendría con una concentración de 2 dS/m como el óptimo, es decir el 100%, se tiene estimada una reducción en la producción del 29% cuando la concentración de sales es de 4 dS/m, así como del 60 y 80% de reducción cuando la concentración se incrementa a 6 y 8 dS/m, respectivamente (Dua y Sharma 1995).

2.7. Limitantes de producción de garbanzo

Las principales limitantes son la susceptibilidad de los cultivares a estrés biótico y abiótico que adversamente afectan el rendimiento, en particular las enfermedades fúngicas (como lo es el tizón de *Ascochyta* y marchitamiento por *Fusarium* o fusariosis vascular), plagas (barrenador, gusano de la cápsula) y estrés por sequía o frío (Gaur *et al.*, 2012; Millan *et al.*, 2015; Singh *et al.*, 2014).

Se han reportado más de 50 patógenos atacando al garbanzo en diferentes partes del mundo (Nene, 1980). No obstante, sólo unos pocos tienen el potencial de devastar el cultivo. Algunos de estos causantes de enfermedades graves a nivel internacional, se muestran en orden de importancia: fusariosis vascular o marchitamiento por *Fusarium* (*Fusarium* spp.), rabia del garbanzo (*Ascochyta rabiei*), podredumbre seca (*Rhizoctonia bataticola*), truco (virus de la hoja de guisante), *Botrytis* de molde gris (*Botrytis cinérea*), podredumbre de la raíz negra (*Fusarium solani*), pudrición de la raíz (*Phytophthora*) y pudrición de la semilla y de la raíz (*Pythium ultimum*) (Sexena y Singh, 1987).

Las dos medidas más eficientes de manejo de enfermedades son el desarrollo de cultivares resistentes y uso de bacterias que inhiben a *Fusarium* spp., siendo respectivamente objetivos importantes de los programas de mejoramiento de garbanzo y manejo de control biológico como el tratamiento con formulación de *Pseudomonas fluorescens* que aumenta el rendimiento del garbanzo en el campo y se puede utilizar eficazmente como tratamiento de semillas para controlar el marchitamiento del garbanzo (Vidhyasekaran y Muthamilan, 1995).

Además, Fravel *et al.* (2003) atribuyó la reducción de la enfermedad al aumento de las reacciones de defensa de la planta en respuesta a la colonización radicular por la cepa no patógena de *Fusarium* spp. Un estudio realizado con diferentes aislamientos de *Bacillus* spp. y *Pseudomonas chlororaphis* mostraron un fuerte antagonismo contra tres razas de *F. oxysporum* f.sp. *ciceris* (Landa *et al.*, 1997). En los últimos años, cultivares resistentes al tizón de *Ascochyta*, marchitamiento por *Fusarium* y el frío ha sido criado y liberado en muchos países (Singh *et al.*, 1993). En esta revisión se detallará la fusariosis vascular del garbanzo ocasionada por *Fusarium* esencialmente *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris* razas 0 y 5 presentes en el noroeste de México productor de garbanzo (Velarde-Félix *et al.*, 2015).

2.8. *Fusarium oxysporum*

Fusarium oxysporum (FO) es la más dispersada de las especies del género *Fusarium* y se pueden encontrar en la mayoría de los suelos: desde el Ártico (Kommedahl *et al.*,

1988), tropical o desértico (Joffe *et al.*, 1977; Mandeel *et al.*, 1995), y suelos con cultivo o sin cultivo (McMullen y Stack 1983a; McMullen y Stack 1983b). También puede ser dispersado por insectos (Gillespie y Menzies, 1993) y recuperado de algas marinas (Granchinho *et al.*, 2002). Lo que representa su relevancia de distribución pues a su paso las especies patogénicas producen la conocida marchitez o fusariosis vascular distribuida en 32 países de 6 continentes (Sing *et al.*, 2014). FO también es sin duda la especie más importante del género *Fusarium* debido a sus numerosos hospederos y el nivel de pérdida económica que puede resultar cuando infecta un cultivo. Sin embargo, FO es claramente heterogéneo y compuesto por a las menos docenas de especies que necesitan ser claramente definidos y separados en una manera usable. Tanto su dispersión como su importancia económica han hecho a FO la especie que más se han realizado investigaciones científicas, con alrededor de 6,000 artículos sobre él (Leslie y Sumrell, 2006). Las enfermedades del marchitamiento vascular de plantas a menudo se producen cuando los vasos de la xilema se bloquean, con el bloqueo en al menos algunos casos debido a geles compuesto de azúcares neutros que se encuentran comúnmente en la pared celular de la planta (Shi *et al.*, 1992; Van der Molen *et al.*, 1986). Las medidas de control más recomendada es la resistencia genética de cultivares, además de haber numerosos métodos de control biológico y químico. FO puede ser dispersado por muchos diferentes medios incluyendo viento y en el suelo, semillas o material de siembra infectados (Garibaldi *et al.*, 2004).

2.9. Evolución biológica de *Fusarium oxysporum*

FO es una especie anamórfica que incluye cepas patógenas y no patógenas. Las formas patógenas de las plantas causan una enfermedad del marchitamiento y son agrupados en formas especiales basadas en su rango de hospedero; algunos están subdivididos en razas patógenas. Muchas formas especiales se componen de múltiples linajes clonales y, en algunos casos, una raza patógena se asocia con más de un linaje clonal, sugiriendo orígenes independientes (Gordon y Martyn, 1997). Aunque alguna evidencia sugiere que una raza patógena puede dar lugar a otra, reciente derivación de un patógeno de un no patógeno no ha sido documentado. La mayoría de los nuevos casos del marchitamiento por *Fusarium* parece ser el resultado

de una introducción reciente en lugar de un origen local independiente del patotipo. La propagación asexual es la dominante influencia sobre la estructura de la población en FO y la ausencia de reproducción sexual no es probable que evite que este patógeno continúe infligiendo significativamente daños en hospedadores susceptibles.

2.9.1. Formas especiales (f. sp)

Para acomodar las variantes patógenas conocidas dentro de FO, Snyder y Hansen designaron 25 formas especiales (Snyder y Hansen., 1940). Esta designación estaba destinada a describir las capacidades fisiológicas de los hongos y no era parte de la jerarquía taxonómica formal. El concepto forma *specialis* ha sido útil para patólogos de plantas, ya que identifica un subconjunto de aislados que son de interés para la producción de un cultivo susceptible al marchitamiento por *Fusarium*. Este propósito es funcional, independientemente de si una forma especial corresponde a una agrupación natural. Sin embargo, la posibilidad de que se aísle dentro de una forma especial se unifica únicamente por patogenicidad y, por lo demás, son genéticamente heterogéneas y posiblemente de origen polifilético es de más que interés académico. La naturaleza de la diversidad comprendida en una *forma specialis* tiene una influencia directa en las perspectivas de control de enfermedades a través de la resistencia genética.

De hecho, este problema debe ser confrontado directamente durante el desarrollo de genéticamente resistentes germoplasma, para asegurar que el verdadero potencial del patógeno sea considerado en el proceso de selección. Entendiendo la evolución de los patógenos en FO requerirá en última instancia una caracterización detallada de las relaciones entre diversas formas patógenas y no patógenas en esta especie y *formae specialis*. La mayoría de los estudios reportados hasta la fecha se han centrado en una forma especial individual, buscando caracterizar la diversidad en el mismo, especialmente en lo que se refiere a razas patógenas (Guadet *et al.*, 1989; O'Donnell., 1993). Una cuestión de importancia central en relación con la evolución de los patógenos en FO es la frecuencia con la que han surgido las formas patógenas y la antigüedad del evento (s). Por lo tanto, si la aparición de un patógeno FO fue un evento raro, todos los patógenos conocidos actualmente pueden rastrear sus orígenes a uno

solo. El genotipo ancestral y el reservorio de patotipos potenciales serían limitados a los aislamientos asociados a este único linaje. Si el patotipo ancestral es de origen antiguo, los patógenos contemporáneos pueden tener una larga historia de asociación con sus anfitriones e incluso pueden haber evolucionado junto con ellos, entonces sería razonable de esperar que los aislamientos patógenos de la misma especie compartan un reciente ancestro común y, en general, que las formas especiales constituirían más o menos agrupaciones naturales. Alternativamente, las formas patógenas pueden estar afiliadas con una serie de linajes o clados distintos (Gordon y Martyn., 1997).

2.9.2. El origen de las razas patogénicas

La variación en la virulencia dentro de una forma especial se ha categorizado asignando patotipos a razas patógenas. Las razas se definen por su interacción diferencial con los genotipos del huésped (Armstrong y Armstrong., 1981), que, en algunos casos, son cultivares conocidos por llevar uno o más genes principales de resistencia (Simons *et al.*, 1996). En términos generales, la aparición del marchitamiento por *Fusarium* en una nueva ubicación, o la aparición de una nueva raza patógena, como podría ser evidenciado por un cultivar previamente resistente que sucumbe a la enfermedad, podría explicarse en una o dos formas. O bien se introdujo el nuevo patotipo o se originó localmente. Esto último se puede explicar ya sea por derivación de un patógeno preexistente, el caso clásico de selección de una raza virulenta mediante el uso de un cultivar resistente, o mediante la selección de la población local de cepas no patógenas de FO. La literatura ofrece algunas pruebas para apoyar cada explicación del origen de las nuevas razas patógenas. Primero consideramos el caso de las introducciones de patógenos. Varias formas especiales han sido estudiadas con suficiente profundidad para comprender la relación entre las infestaciones en diferentes lugares (Gordon y Martyn., 1997). Muchos de estos ofrecen evidencia de la aparición generalizada de una cepa individual que corresponde ya sea para un genotipo único o para un rango estrecho de genotipos relacionados clonalmente (es decir, un linaje clonal). Esto sugiere que el movimiento de cepas

preexistentes puede explicar el desarrollo de nuevas infestaciones (Gordon y Martyn., 1997).

2.10. Generalidades de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*

2.10.1. La Fusariosis Vascular

La fusariosis vascular del cultivo de garbanzo se produce en 32 países de 6 continentes (Sing *et al.*, 2014). Fue reportada por primera vez en la India por Butler en 1918, pero su etiología no se determinó correctamente hasta 1940 por Padwick (Cunnington *et al.*, 2007). Según Haware y Nene (1982) y Halila y Strange (1997) las epidemias de marchitamiento por *Fusarium* o fusariosis vascular pueden ser devastadoras para cultivos individuales y causa pérdidas de hasta el 100% en condiciones favorables.

2.10.2. Condiciones generales óptimas para el desarrollo de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*

La marchitez del garbanzo o fusariosis vascular es precisamente causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* (Jimenez-Fernandez *et al.*, 2011b; Haware, 1990). La identificación visual en PDA y bajo luz UV cercana, es como se observa el micelio aéreo de color blanco y algodonoso, pero luego puede volverse crema o salmón en color o permanecer blanco, produce microconidias, macroconidias y clamidosporas. Las microconidias (2.5–4.5 μm \times 5–11 μm) son ovales o cilíndricas, recta o curvada. Las macroconidias (3.5–4.5 μm \times 25–65 μm) se producen más escasamente que las microconidias y por lo general presentan de tres a cinco septas o fusoides. Las clamidosporas se forman pasados 15 días en desarrollo en PDA y en tejidos de garbanzo infectados, formados individualmente, en pares o en cadenas, y son lisos o de pared rugosa (Castro *et al.*, 2012; Jiménez-Díaz *et al.*, 2011). Las hifas son septadas y ramificadas. El hongo puede crecer en temperaturas de 7–35 ° C y pH 4–9.4. Las condiciones óptimas para el crecimiento micelial son 25-27 ° C y pH 5.1–5.9, dependiendo de las cepas (Landa *et al.*, 2006); el pH óptimo para la esporulación es de 7.1 a 7.9 (Jiménez Díaz *et al.*, 2011).

2.11. Interacción de planta-hongo (Patosistema)

Los síntomas de la enfermedad pueden desarrollarse en cualquier etapa del crecimiento de la planta, y las plantas afectadas pueden presentarse en manchones o aparecen dispersos en campo (Jiménez-Díaz *et al.*, 2015) (Figura 1).



Figura 1. Garbanzo afectado por fusariosis vascular en Beja-Tusnia.

Fuente: (Warda Jendoubi *et al.*, 2017)

El marchitamiento puede observarse en genotipos susceptibles dentro de los 25 días posteriores a la siembra en el campo (designado "marchitez temprana") (Jiménez-Díaz *et al.*, 2015; Al-taae *et al.*, 2013). Sin embargo, los síntomas suelen ser más visibles en las primeras etapas de floración, seis a ocho semanas después de la siembra y también puede aparecer hasta la etapa de "marchitamiento tardío". Mas tarde las plantas marchitas exhiben caída de los pecíolos, raquis y folíolos, seguidos de amarilleo y necrosis de follaje (Jiménez-Díaz *et al.*, 2015). El marchitamiento temprano causa más pérdida que el marchitamiento tardío. Sin embargo, las semillas de las plantas que se marchitan tarde son más claras y más ásperas que las de las plantas sanas (Haware y Nene., 1980; Navas-Cortés *et al.*, 2000).

Para que la infección se logre con éxito, la interacción entre hongo-planta responde a un proceso donde se deben movilizar diferentes conjuntos de genes para la señalización temprana del hospedero, la adhesión a la superficie de este, la descomposición enzimática de barreras físicas, la defensa contra los compuestos

antifúngicos del anfitrión, y la inactivación y la muerte de las células huésped por micotoxinas segregadas (Agrios, 2005).

2.11.1. Ciclo de la enfermedad

El hongo puede transmitirse por semilla y puede sobrevivir en restos de plantas en el suelo. Se ha demostrado que las clamidiosporas han sido encontradas en suelos sin cultivo alguno (Haware *et al.*, 1996), en el hilum de la semilla (Haware *et al.*, 1978), en cotiledones y en el axis (Shakir y Mirza., 1994). La infección primaria es a través de clamidiosporas o micelios. Los conidios o esporas del hongo son de corta duración; sin embargo, las clamidiosporas pueden permanecer viables hasta la próxima temporada de cultivo (Chand y Khirbat., 2009).

La formación de las clamidiosporas depende del estado nutricional del inóculo. Bajo condiciones de campo abierto, el inóculo fúngico se puede someter a niveles de nutrientes mucho más bajos en comparación con el "bien alimentado" (Schippers y Van., 1981). El patógeno sobrevive bien en raíces y tallos, incluso en plantas aparentemente sanas que crecen entre las enfermas que albergan suficientes hongos (Haware y Nene., 1982; Trapero-Casas y Jiménez-Díaz., 1985). El hongo permanece latente como las clamidiosporas en los desechos vegetales hasta que se estimula para que germinen, una vez que los carbohidratos se liberan del tejido vegetal en descomposición o de las raíces (Schippers y Van., 1981). El estímulo para la germinación puede ser raíz de plantas hospedadas o no hospedadas, o contacto con partes de plantas frescas (no colonizadas) y restos de plantas (Nelson, 2012). Después de que las clamidiosporas germinan, se pueden formar conidios y nuevas clamidiosporas, así como hifas. Después de la germinación, se produce un talo a partir del cual se forman conidios en 6–8 horas, y clamidiosporas en 2-3 días si las condiciones son favorables. La invasión de las raíces es seguida por la penetración de las células epidérmicas del huésped o del no huésped (Beckman y Roberts., 1995) y el desarrollo de la enfermedad vascular sistémica en las plantas huésped (Stover, 1970). La penetración se produce a través de heridas o directamente (Nelson, 2012). Los sitios más comunes de penetración directa están ubicados en la punta de la raíz y raíces laterales de ambas raíces (Lucas, 1998). La penetración es controlada por una

combinación de diferentes factores que incluyen compuestos fúngicos, estructuras de la superficie de la planta, activadores o inhibidores de la germinación de esporas de hongos, y gérmenes con formación de tubos (Mendgen *et al.*, 1996). Durante la colonización, el micelio avanza intracelularmente a través de la raíz, corteza hasta que llegue a los vasos del xilema, entre y a través poros. El hongo entonces permanece exclusivamente dentro de los vasos del xilema (Figura 2), usándolos para colonizar el huésped (Bishopt y Cooper, 1983).



Figura 2. Descoloración de raíz-tallo de una planta de garbanzo infectada con FOC.

Fuente: Jorge Alberto Edeza Urías.

El marchitamiento es muy probablemente causado por una combinación de actividades patógenas, incluyendo la acumulación de micelio fúngico en el xilema y/o producción de toxinas, la defensa del anfitrión responde, incluyendo producción de geles, gomas y tilos junto con aplastamiento de vasos por proliferación de células parenquimatosas adyacentes (Beckman, 1987).

El patógeno puede sobrevivir como micelio y clamidosporas en semillas y suelo y también en residuos de cultivos infectados, raíces y tallos enterrados en el suelo durante más de 6 años, incluso en ausencia del huésped (Singh *et al.*, 2008; Castro *et al.*, 2012; Halila y Strange, 1996; Haware *et al.*, 1992). La infección de malezas dicotiledóneas sin síntomas puede mejorar la supervivencia del patógeno en los suelos en barbecho. Por lo tanto, el suelo infectado es una fuente principal de inóculo primario para el desarrollo de la fusariosis vascular (Al-taae *et al.*, 2013).

2.12. Variabilidad patógena y genética en FOC

Este hongo es caracterizado por tener variabilidad en su patogenicidad, constituido por razas patogénicas y éstas a su vez por patotipos, acorde a los síntomas de la enfermedad inducidos en pruebas de patogenicidad, se distinguen dos patotipos en función de los distintos síndromes de color amarillento o marchitamiento (Jiménez-Díaz *et al.*, 2015; Trapero-Casas y Jiménez Díaz., 1985; Jiménez-Gasco *et al.*, 2004). El patotipo amarillento (razas 0 y 1 B/C) induce el amarilleo foliar progresivo con decoloración vascular y muerte tardía de la planta, mientras que el patotipo de marchitamiento (razas 1A, 2, 3, 4, 5 y 6) cuyo síntoma se observa con clorosis rápida y severa, flacidez, decoloración vascular y muerte temprana de la planta (Jiménez-Fernández *et al.*, 2013). La variación en la virulencia entre aislamientos de FOC ha llevado a la designación de razas patógenas. Donde se han clasificado ocho razas fisiológicas distintas (0, 1A, 1B / C, 2, 3, 4, 5 y 6) (Jiménez-Gasco *et al.*, 2004; Sharma y Muehlbauer, 2007). Las diferentes razas de FOC se pueden identificar por su gravedad en diferentes conjuntos de variedades diferenciales de garbanzo. Asimismo, las razas patógenas difieren en distribución geográfica. Las razas 0, 1B / C, 5 y 6 se encuentran principalmente en la cuenca mediterránea y en California (EE. UU.) (Jiménez-Díaz *et al.*, 2015; Halila y Strange, 1996; Jiménez-Fernández *et al.*, 2013; Jiménez y Jiménez, 2003; Jiménez-Gasco *et al.*, 2001). La raza 1A ha sido reportada en la India, Estados Unidos y las regiones mediterráneas según Landa *et al.*, (2006); mientras que las razas 2 y 3 se han informado en Etiopía, India y Turquía (Jiménez-Fernández *et al.*, 2013; Bayraktar y Dólar, 2012; Shehabu *et al.*, 2008) y la raza 4 se ha informado en Etiopía, India e Irak (Al-taae *et al.*, 2013; Jiménez-Fernández *et al.*, 2013; Shehabu *et al.*, 2008).

Las razas 0 y 1B / C son de los patotipos amarillentos, mientras que las razas 1A y 2 a 6 pertenecen a los patotipos de marchitamiento y económicamente son las razas más dañinas (Landa *et al.*, 2006; Jiménez-Díaz *et al.*, 2015). Plantas infectadas con razas que causan síndrome de marchitamiento dentro de tres a cuatro semanas de la inoculación sin un color amarillo visible de hojas. Por otro lado, la infección con las razas 0 y 1B / C conduce a un progresivo amarilleo foliar de hojas de la planta junto

con la decoloración vascular (Jiménez-Gasco *et al.*, 2004; Jiménez-Fernández *et al.*, 2013). Además, algunas líneas de garbanzo susceptibles exhiben un fenómeno conocido como marchitamiento tardío, que se caracteriza por un período latente prolongado que eventualmente lleva al 100% de marchitamiento (Castro *et al.*, 2012), (Jiménez-Díaz *et al.*, 2015 Sharma y Muehlbauer, 2007; Upadhyaya *et al.* 1983). Sharma *et al.* (2005) reportó otro fenómeno llamado marchitamiento lento que se caracteriza por un período de latencia, y la incidencia lenta de la enfermedad aumenta con el tiempo.

La identificación de razas del patógeno en un área determinada de producción de garbanzos es importante para programas de reproducción de variedades resistentes a la enfermedad, así como para el uso eficiente de las fuentes de resistencia disponibles. La determinación de las razas de este patógeno es simple pero costosa en tiempo, instalaciones y recursos. Por lo tanto, nuevos métodos para la identificación rápida, eficiente, confiable y reproducible del patógeno y sus razas patógenas es necesario cebadores específicos y ensayos de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) que identifican *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris* y cada uno de las razas patógenas 0, 1A, 5 y 6 por Jiménez-Gasco *et al.* (2001).

Un estudio realizado por Jimenez-Fernandez *et al.* (2011) reveló que la infección de garbanzo por *F. redolens* induce un síndrome de enfermedad similar al causado por el patotipo amarillento de *F. oxysporum* f.sp. *ciceris* (FOC). *Fusarium redolens* no se puede diferenciar fácilmente de FOC utilizando morfología basada en diagnóstico, y las dos especies causan síntomas similares en el garbanzo; por lo tanto, el uso de Los protocolos moleculares debe ayudar a evitar los diagnósticos erróneos de la amarillez por *Fusarium* en el garbanzo. *F. redolens* fue encontrado asociada con los síntomas de podredumbre del pie en guisantes y frijoles (Clarkson, 1978), podredumbre de la raíz en la soja (Bienapfl *et al.*, 2010) y marchitez vascular en la lenteja (Riccioni y Valvassori, 2008), podredumbre de la raíz, podredumbre de la corona y podredumbre de la lanza en espárragos (Baayen *et al.*, 2000a) y marchitándose en el garbanzo (Jimenez-Fernandez *et al.*, 2011). Recientemente, también se informó sobre *F. redolens* en los campos tunecinos por primera vez, lo que causó un síntoma de amarillez en garbanzo (Bouhadida *et al.*, 2017). Actualmente, se han detectado

mediante estudios morfológicos y moleculares las razas 0 y 5 de FOC, presentes en el Noroeste de México que comprende Sinaloa, Sonora y Baja California Sur (Velarde-Félix *et al.*, 2015).

2.13. Control de la enfermedad

El manejo de la fusariosis vascular del garbanzo es difícil de lograr y no hay una sola medida de control completamente efectiva (Landa *et al.*, 2004). La fusariosis vascular es una enfermedad monocíclica en la que el desarrollo es impulsado por el inóculo primario del patógeno. Por lo tanto, el manejo de la enfermedad debe ser dirigidos a la exclusión del patógeno, así como a la reducción de la cantidad y/o la eficiencia del inóculo inicial (Jiménez-Díaz *et al.*, 2015). Para tales objetivos, las medidas de control deben incluir los siguientes puntos:

2.13.1. Uso de material de plantación libre de patógenos y evitar la siembra en suelos de alto riesgo

Acorde a las revisiones mencionadas anteriormente, cabe resaltar que *Fusarium* puede ser transmitido por semillas infectadas y restos de plantas (Jiménez-Díaz y Jiménez-Gasco, 2011; Nelson *et al.*, 1981). Así como, uso de material infectado cuya propagación puede llevar a la introducción del patógeno en suelos o áreas de producción. Por lo tanto, la importancia de verificar la salud de ese material a través de programas de certificación, se debe considerar la inspección fitosanitaria y la legislación de cuarentena. La selección adecuada del sitio de plantación optimiza el uso de material de plantación libre de *F. oxysporum* en suelos no infestados (Jiménez-Díaz y Jiménez-Gasco, 2011).

Evaluar el riesgo de enfermedad se basada en la densidad del inóculo y las relaciones e incidencia de la enfermedad en determinada área. De hecho, la densidad del inóculo en el suelo en los sitios de plantación podría estimarse para evitar con alto riesgo de enfermedad grave (Jiménez-Díaz y Jiménez-Gasco, 2011). Recientemente, Jiménez-Fernández *et al.* (2011) desarrolló un protocolo cuantitativo de reacción en cadena de la polimerasa (q-PCR) en tiempo real que permite cuantificar el ADN de FOC hasta 1 pg en el suelo, así como en la raíz y los tallos de las plantas de garbanzo asintomáticas

infectadas que pueden ser de utilidad para la detección e identificación del patógeno en programas de certificación, inspecciones fitosanitarias y la legislación de cuarentena. El inóculo transmitido por las semillas se puede erradicar mediante el apósito de semillas con Benlate (Haware *et al.*, 1978).

2.13.2. Reducción o eliminación del inóculo en el suelo

Los suelos infestados con formas patógenas de *F. oxysporum* pueden recuperarse para la producción agrícola al reducir la cantidad de inóculo inicial y/o su potencial de enfermedad a niveles por debajo del umbral para la enfermedad grave (Jiménez-Díaz y Jiménez Gasco, 2011). Este objetivo puede lograrse mediante químicos, métodos de control físicos o biológicos a la enfermedad.

La fusariosis vascular de varios cultivos se han controlado con éxito mediante la solarización del suelo (Stapleton y de Vay, 1986). Donde el calor generado por la solarización puede no matar a un patógeno de manera absoluta, pero el organismo puede ser debilitado, lo que resulta en una reducción de su agresividad para su huésped y una mayor susceptibilidad al ataque por otros componentes de la microflora del suelo (Strange, 2003). Además, el control de patógenos de plantas transmitidas por el suelo se realiza mediante inundaciones que destruyen muchos patógenos transmitidos por el suelo (Jiménez-Díaz y Jiménez Gasco, 2011; Strange, 2003). En la quema de residuos de cultivos afectados se ha demostrado que se reduce en gran medida la cantidad de inóculo transmitido por el suelo de varios hongos patógenos para plantas (Jiménez-Díaz *et al.*, 2015). El uso de agentes biológicos para el control presenta un gran potencial. De hecho, un agente de control biológico coloniza la rizosfera y no deja residuos tóxicos a diferencia de los productos químicos (Dubey *et al.*, 2007). Las especies de *Trichoderma* han sido evaluados contra el patógeno del marchitamiento y ofrecen una gran promesa en el manejo de la fusariosis de los garbanzos en condiciones de invernadero y campo (Kaur y Mukhopadhyay, 1992). Además, el uso de *Pseudomonas fluorescens* inhibe el crecimiento de *F. oxysporum* f.sp. *ciceris in vitro* y permite aumentos significativos de crecimiento en brotes, longitud, peso seco y rendimiento de grano (Nautiyal, 1997).

2.13.3. Manejo del cultivo

Factores ambientales como la temperatura, los nutrientes y el pH del suelo pueden influir significativamente en el desarrollo de enfermedades del marchitamiento por *Fusarium*, así mismo, las adecuadas prácticas culturales pueden contribuir a un buen manejo de *Fusarium* spp. Un estudio realizado por Haware *et al.*, (1996) indica que el marchitamiento del garbanzo por *Fusarium* tiene la capacidad de sobrevivir en el suelo durante más de 6 años, y 3 años de rotación de cultivos no son efectivos para reducir la incidencia de marchitamiento. Conforme a un estudio realizado en el sur de España por Navas-Cortes (1998), se demostró que el desarrollo de epidemias estuvo relacionado principalmente con la fecha de siembra de los cultivos de garbanzo.

2.13.4. Uso de cultivares resistentes

Actualmente, el uso de cultivares resistentes parece ser el método más práctico y económicamente eficiente como medida de control para el manejo del marchitamiento de *Fusarium* de garbanzo. Los cultivares de garbanzo resistentes representan una componente clave en los programas de manejo integrado de enfermedades que involucran el uso de aditivos o combinaciones sinérgicas de medidas de control bióticas, culturales y químicas (Jiménez-Díaz *et al.*, 2015; Landa *et al.*, 2004; Jiménez-Díaz y Jiménez Gasco, 2011; Conway, 1996).

Resistencia a las razas FOC se identificaron principalmente en germoplasma Desi y, en menor medida, en garbanzos Kabuli, así como en el silvestre *cicer* spp. (Jiménez-Díaz *et al.*, 2015). El despliegue de cultivares resistentes no ha sido extenso debido a las características agronómicas indeseables en algunos materiales desarrollados. Además, la alta variabilidad patógena en poblaciones de FOC puede limitar la efectividad y el uso extensivo de resistencia (Bayraktar y Dólar, 2012).

2.14. Resistencia a la fusariosis vascular

Se ha informado que la resistencia del garbanzo al marchitamiento o fusariosis vascular por FOC es monogénica u oligogénica sobre la raza o fuente de resistencia (Sharma y Muehlbauer, 2007; Upadhyaya *et al.*, 1983; Sharma y Muehlbauer, 2005).

Los primeros estudios sobre resistencia genética a FOC revelaron que la resistencia a la raza 1A está gobernada por al menos tres genes independientes: h1, h2 y H3 (Sing *et al.*, 2014; Upadhyaya *et al.*, 1983). La resistencia al marchitamiento tardío es conferida por cualquiera de estos tres genes, pero una combinación de cualquiera de los dos los genes del marchitamiento tardío confieren resistencia completa (h1h2 o h1H3 o h2H3) (Castro *et al.*, 2012; Jiménez-Díaz *et al.*, 2015).

2.15. Control de la enfermedad por cepas bacterianas

Como se ha comentado anteriormente los fitopatógenos de *Fusarium* spp. son los causantes principales de la marchitez de las plantas, e inducen la pudrición de la raíz, clorosis y defoliación (Vásquez-López *et al.*, 2009, Villanueva-Arce *et al.*, 2013). Para el control de estos patógenos diversos autores han notificado a los fungicidas como el control de mayor recurrencia contra *Fusarium* spp. (Novaes *et al.*, 2005; Rubio-Reque *et al.*, 2008), sin embargo, son productos organosintéticos que, con el tiempo, además de contaminar el ambiente, afectan la salud humana. Estudios seleccionan cepas fúngicas resistentes, y observan como la efectividad de los productos químicos disminuye (Novaes *et al.*, 2005; Rubio-Reque *et al.*, 2008).

Una posible alternativa al problema de la fusariosis vascular es el uso de bacterias promotoras del crecimiento vegetal (BPCV), con las cuales es posible desarrollar sistemas amigables con el ambiente (agricultura ecológica), reducir la aplicación de fertilizantes químicos y mantener una producción sostenible (Gomiero *et al.*, 2011).

Puesto que las BPCV cohabitan en la rizosfera y pueden beneficiar la salud vegetal, estimular el crecimiento de las plantas y proteger contra patógenos (Son *et al.*, 2014). Además, pueden reducir los efectos del estrés abiótico y favorecer el rendimiento de los cultivos al participar en el reciclaje de nutrimentos y en la fertilidad del suelo (Babalola, 2010; Glick, 2012). Se han documentado que en la rizosfera del suelo existen bacterias antagonistas capaces de ejercer control de patógenos por antagonismo (Guillén-Cruz *et al.*, 2006).

2.15.1. Antecedentes de control biológico bacteriano

El antagonismo bacteriano se atribuye, en parte, a la producción de una gama de metabolitos secundarios como bacteriocinas, antibióticos, enzimas extracelulares (Mojica-Marín *et al.*, 2009), y lipopéptidos (iturina, surfactina, fengicina y bacilomicina) (Ramarathnam *et al.*, 2007; Mora *et al.*, 2011; Berić *et al.*, 2012). Mismos que se han documentado en especies de *Bacillus* y *Paenibacillus* con potencial para detectar metabolitos para controlar fitopatógenos comunes y con resistencia a fungicidas químicos, ya que producen estos polipéptidos (Cochrane y Vederas, 2014). La aplicación de *Bacillus subtilis* liberan péptidos que inhiben el crecimiento del micelio de *Fusarium oxysporum* y *F. solani* (Radzhabov y Davranov, 2010). Extractos de lipopéptidos de *B. subtilis* y *B. amyloliquefaciens* mostraron actividad antifúngica contra *F. moniliforme*, con modificaciones en la pared celular de la hifa con hinchazón y protuberancias esféricas. Esos extractos contenían compuestos relacionados con iturina y fengicina.

2.15.2. Mecanismo de acción de rizobacterias contra *Fusarium* spp

Las bacterias que colonizan las raíces se les conoce como “rizobacterias” (Schroth y Hancock 1982; Hilie y Saunders, 2008) y pueden ejercer diferentes tipos de efectos en las plantas hospedantes. Uno de ellos, es el benéfico, relacionado con la promoción del crecimiento de la planta y/o como agentes de control biológico (Kloepper y Schroth 2004; Hilie y Saunders, 2008). Estas bacterias también conocidas como bacterias promotoras de crecimiento vegetal (BPCV), contribuyen a la protección de la planta contra patógenos radiculares y foliares, además promueven el crecimiento mediante dos tipos de mecanismos: indirectos y directos, o en combinación (Kloepper *et al.*, 1999; Glick, 1995). Los mecanismos indirectos se caracterizan porque las BPCV provocan la disminución o eliminación de microorganismos fitopatógenos (hongos, bacterias y nematodos), ya sea a través de la producción de sustancias antimicrobianas, sideróforos, enzimas líticas, o la combinación de éstas. Pudiendo actuar por competencia de nutrimentos o por espacio en el nicho ecológico, así como por estimulación de las defensas naturales de la planta mediante mecanismos conocidos como resistencia sistémica inducida (RSI), esta última induce la resistencia

de tejidos sistémicos al ataque por fitopatógenos mediante la emisión de compuestos orgánicos volátiles, ácido jasmónico, ácido salicílico y etileno que participan en la protección de las plantas (Kloepper *et al.*, 1999; Glick, 1995).

Los mecanismos directos incrementan la disponibilidad de nutrimentos en la rizosfera al influir en el metabolismo de las plantas y mejorar su nutrición. Estos mecanismos son: fijación de nitrógeno; síntesis de fitohormonas (auxinas, giberelinas, citocininas), vitaminas y enzimas; solubilización de fósforo inorgánico y mineralización de fosfato orgánico; oxidación de sulfuros; incremento en la permeabilidad de la raíz; producción de nitritos; acumulación de nitratos; y reducción de la toxicidad por metales pesados (Glick, 1995; Dobbelaere *et al.*, 2003; Hernández *et al.* 2004, Reyes *et al.*, 2008, Bhattacharyya y Jha 2012, Singh y Singh 2013; Esquivel *et al.*, 2013; Ramírez *et al.*, 2015).

Otros mecanismos bacterianos que contribuyen al biocontrol son la interferencia de señales de quorum sensing (QS), la inhibición en la formación de biopelículas y producción de toxinas por el patógeno (Kaymak 2010; Bhattacharyya y Jha 2012; Singh y Singh 2013; Ramírez *et al.*, 2015).

La protección puede funcionar por la secreción de lipopéptidos por las rizobacterias, ya que inhiben a los patógenos; además, otros mecanismos pueden actuar, como la inducción de genes relacionados con la patogénesis de plantas hospederas, ya que el extracto lipopéptido por sí solo no aumenta la expresión de los genes (Gond *et al.*, 2015). La respuesta de antagonismo está asociada con la síntesis de lipopéptidos como iturina, surfactina, fengicina y bacilomina (Ramarathnam *et al.*, 2007; Mora *et al.*, 2011; Berić *et al.*, 2012) y metabolitos secundarios que pueden generar una zona de lisis interna y engrosamiento del borde en la zona de inhibición.

Por último, la selección de BPCV como potenciales agentes de control biológico constituye un campo de investigación y desarrollo en expansión (Yadegari *et al.*, 2010) debido a sus perspectivas de aplicación en agroecosistemas sustentables con un gran potencial en la agricultura moderna.

III. HIPÓTESIS

Cepas de *Pseudomonas tolaasii*, *Bacillus pumilus*, *Paenibacillus* sp., y *Serratia plymuthica* representan una alternativa en el control de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* razas 0 y 5. Así mismo, presentarán capacidad de promoción de crecimiento vegetal en cultivares de garbanzo.

IV. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general

Determinar el efecto inhibitorio de cepas bacterianas de *Pseudomonas tolaasii*, *Bacillus pumilus*, *Paenibacillus* sp., y *Serratia plymuthica* *in vitro* e *in vivo* contra *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* razas 0 y 5, así como evaluar la capacidad de promoción de crecimiento vegetal de las cepas bacterianas sobre genotipos de garbanzo.

4.2. Objetivos específicos

1. Determinar la patogenicidad de dos aislados de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* (raza 0 y raza 5) sobre 37 genotipos de garbanzo.
2. Evaluar el potencial de cepas bacterianas como agentes de biocontrol de la fusariosis vascular del garbanzo ocasionada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* (raza 0 y raza 5) en pruebas *in vitro*.
3. Evaluar el efecto promotor de las cepas bacterianas en la altura de planta, grosor de tallo, contenido de clorofila, número de hojas, volumen radicular, peso de biomasa húmeda y seca en genotipo de garbanzo Blanco Sinaloa-92.
4. Determinar el potencial de cepas bacterianas como agentes de biocontrol de la fusariosis vascular del garbanzo ocasionada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* (raza 0 y raza 5).
5. Evaluar el contenido de nitrógeno, fosforo y potasio en tejido vegetal seco de las plantas de garbanzo 'Blanco Sinaloa-92' inoculadas con *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* (raza 0 y raza 5) y cepas bacterianas.

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Localización de áreas experimentales

La investigación se realizó en la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Sinaloa (FA-UAS), situada en Carretera Culiacán-Eldorado km.17.5. CP. 80398. Culiacán de Rosales, Sinaloa, México.

5.2. Origen de los aislamientos fúngicos, material vegetal y cepas bacterianas

Los aislados fúngicos (Cuadro 5) y material vegetal (Cuadro 6) utilizados en los ensayos del presente estudio fueron donados por el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) Campo Experimental Valle de Culiacán (CEVACU).

Cuadro 5. Origen de los aislamientos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* aislados de plantas de garbanzo (*Cicer arietinum* L.).

Código de Aislado	Hospedante	Material aislado	Origen regional	Año de aislación	Raza fisiológica	No. Accesoión RAPD ^a
130CS	(<i>Cicer arietinum</i> L.)	Cilindro de tallo	Sinaloa, Sonora, BCS, México	2015	0	KJ000583
303CS	(<i>Cicer arietinum</i> L.)	Cilindro de tallo	Sinaloa, Sonora, BCS, México	2015	5	KJ000584

^aSecuencia genómica del marcador

Fuente: Elaboración propia.

Cuadro 6. Características de los genotipos de garbanzo (*Cicer arietinum* L.) utilizados en el presente estudio.

Número	Genotipo	Días a inicio de Floración	Días a final de Floración	Días a madurez fisiológica	%EXP g/100 g	Calibre (g en 30 semillas)	Color de grano ^b
01	CuGa09-2054 -	49	77	106	98	42	BC
02	CuGa09-3162 -	49	77	106	97	44	BC
03	CuGa09-2048 -	49	77	98	97	45	BC
04	CuGa09-3122 -	49	77	98	95.6	47	BC
05	CuGa09-2031 -	49	77	106	98.6	42	BC
06	CuGa08-3157 -	49	77	98	95	46	BC
07	HOGA-21 -	52	77	106	97	42	BC
08	CuGa09-3106 -	49	77	106	89.2	48	BC
09	CuGa09-2029 -	49	77	98	97	44	BC
10	CuGa09-3220 -	49	77	106	94.8	49	BL
11	CuGa09-3214 -	49	77	106	89.4	45	BC
12	CuGa09-3218 -	49	77	106	94	48	BC
13	CuGa09-2092 -	49	77	98	95	44	BC
14	HOGA-67 -	49	77	106	96.8	44	BC
15	CuGa09-3195 -	49	77	106	97.4	42	BC
16	CuGa09-2058 -	49	77	106	97	39	BC
17	CuGa09-2004 -	49	77	106	97	47	BC
18	HOGA 2001-2-2-	49	77	106	96.4	46	BC
19	CuGa09-2005 -	49	77	98	91.2	46	BC
20	CuGa09-3124 -	49	77	98	94.2	47	BC
21	CuGa09-2002 -	49	77	98	93	46	BC
22	CuGa08-1210 -	49	77	98	94.4	47	BC
23	CuGa08-751 -	49	77	98	94.4	48	BC
24	CuGa08-740 -	49	77	106	95	40	BC
25	CuGa08-738 -	49	77	106	95	48	BC
26	CuGa08-591 -	49	77	98	97.8	44	BC
27	CuGa08-2854 -	49	77	98	95	45	BC
28	CuGa08-623 -	49	77	106	94.4	45	BC
29	CuGa08-735 -	49	77	98	93.4	46	BC
30	CuGa08-910 -	49	77	98	97.6	42	BL
31	CuGa09-3168 -	49	77	98	97	44	BL
32	JUMBO-2010 *	49	77	106	97	38	BL
33	BLANCO SINALOA-92 *	49	77	98	96	45	BC
34	PROGRESO-95*	49	77	106	59	56	C
35	JG-62 +						
36	WR-315 +						
37	P-2245 +						

- Línea avanzada; *Cultivar comercial, + Variedad diferencial. ^b BC = Blanco Cremoso, BL = Blanco Lechoso y C = Cremoso.

Fuente: Elaboración propia con datos proporcionados por INIFAP.

Las BPCV utilizadas en experimentos de confrontaciones *in vitro* e *in vivo* fueron donadas por el laboratorio de Microbiología de Suelos del Colegio de Postgraduados, Montecillo, Estado de México (Cuadro 7), son las siguientes: A46 y P61 (*Pseudomonas tolaasii*), R44 (*Bacillus pumilus*), BSP1.1 (*Paenibacillus* sp.) y CPPC55 (*Serratia plymuthica*).

Cuadro 7. Características de origen de cepas bacterianas utilizadas en el presente estudio.

Cepa	Acceso a GenBank	Especie	Lugar de Origen	Material aislado	Características sobresalientes
A46	KY933652	<i>Pseudomonas tolaasii</i>	Valle de Toluca, Estado de México	Rizosfera de papa var. Alpha	Promueve crecimiento vegetal, solubiliza fosfatos, produce auxinas, promueve micorrización, incrementa germinación (Anith <i>et al.</i> 2015; Dell'Amico <i>et al.</i> 2008).
P61	KY933651	<i>Pseudomonas tolaasii</i>	Valle de Toluca, Estado de México	Rizosfera de Papa	Promueve crecimiento vegetal, solubiliza fosfatos, produce auxinas, controla <i>Rhizoctonia</i> en pruebas con plantas (Govindasamy y Senthilkumar, 2011; Kumar <i>et al.</i> 2011).
R44	-	<i>Bacillus pumilus</i>	Valle de Toluca, Estado de México	Rizosfera de papa var. Rosita	Promueve crecimiento vegetal, solubiliza fosfatos, produce auxinas. (Govindasamy y Senthilkumar, 2011; Kumar <i>et al.</i> 2011).
BSP1.1	-	<i>Paenibacillus</i> sp.	Villa de Allende, Estado de México	Suelo andisol	Promueve crecimiento vegetal, solubiliza fosfatos, produce auxinas (Pineda-Mendoza <i>et al.</i> , 2015).
CPPC55	KX259564	<i>Serratia plymuthica</i>	Sierra Nevada, Puebla	Rizosfera de chile poblano	Solubiliza fosfatos, inhibe <i>Fusarium</i> spp. y <i>Phytophthora</i> spp. (Vleeschauwer y Hofte, 2007).

5.3. Activación de los aislamientos fúngicos y cepas bacterianas

Los aislamientos fúngicos de FOC (razas 0 y 5) utilizados tanto para ensayos de patogenicidad, confrontaciones *in vitro* y validaciones *in vivo* fueron activados por separado en cajas Petri (90 x 15 mm) utilizando el método de inclusión de porción (Leslie y Summerell, 2006), con modificaciones. Donde, discos de 1 cm de diámetro cortadas con sacabocados fue colocado en el centro de las cajas Petri con medio de cultivo papa dextrosa agar (PDA) previamente acidificado (200 ml L⁻¹ de ácido láctico a 85%). Las placas se incubaron 25 °C durante 7 d en oscuridad en cámara de crecimiento (Friocel®).

Las bacterias se cultivaron en placas Petri (90 x 15 mm) con medio de cultivo agar nutritivo-Difco® (23 g L⁻¹) bajo condiciones asépticas en campana de flujo laminar. Por lo cual se tomó una muestra de cada cepa de estudio mediante la siembra por el método de estriado con el uso de asa bacteriológica estéril. Las placas se incubaron a 28 °C por 24 h para su desarrollo en obscuridad en Friocel®.

5.4. Producción y ajuste de inóculos fúngicos y bacterianos

Para la obtención de inóculos de FOC se incrementaron los aislados de raza 0 y 5 respectivamente mediante matraces con 500 ml de medio caldo papa y dextrosa (PDB-Difco®, por siglas en inglés) compuesto de (250 g de infusión de papa L⁻¹, 20 g de Dextrosa Anhidrida L⁻¹, autoclaveado a 120 °C por 15 min) a los cuales en condiciones asépticas y tras enfriarse a temperatura ambiente (TA) se le agregan 8 pastillas de 1 cm de diámetro del aislado previamente desarrollado en 7 días de edad, tomadas del borde del crecimiento activo de una colonia en PDA. Incrementando cada inóculo de los aislados respectivos con condiciones de 25 °C durante 10 días en agitador orbital modelo Sky Line Digital Orbital Shaker DOS-10M-Medium (5KG) a 140 rpm, y ajustadas bajo las mismas condiciones de temperatura y duración descritas para el medio PDA (Navas-Cortés *et al.*, 2007). Se obtuvo la suspensión de conidios determinada de cada aislado y con la ayuda de un hematocitómetro Neubauer® improved, Marienfeld (Alemania) del registro dado se ajustó a una concentración de 1x10⁶ UFC/ml para ambas razas de FOC. Esta concentración de inóculo ha sido utilizada previamente por Tekeoglu *et al.* (2000), Sharma *et al.* (2004) y Guerrero *et al.* (2015) en diferentes estudios con FOC en garbanzo.

Dado que, si la suspensión de esporas es mayor a la requerida, se debe ajustar la concentración mediante la siguiente fórmula: $C1 * V1 = C2 * V2$ (Figura 3).

Donde:

C1: concentración madre (resultado del conteo en hematocitómetro).

V1: volumen incógnito a tomar de la concentración 1 para aforar a volumen 2.

C2: concentración hija (la que se desea ajustar las UFC/colonias)

V2: volumen de inóculo necesario a preparar (acorde a la cantidad de plantas y el volumen a inocular en cada planta).

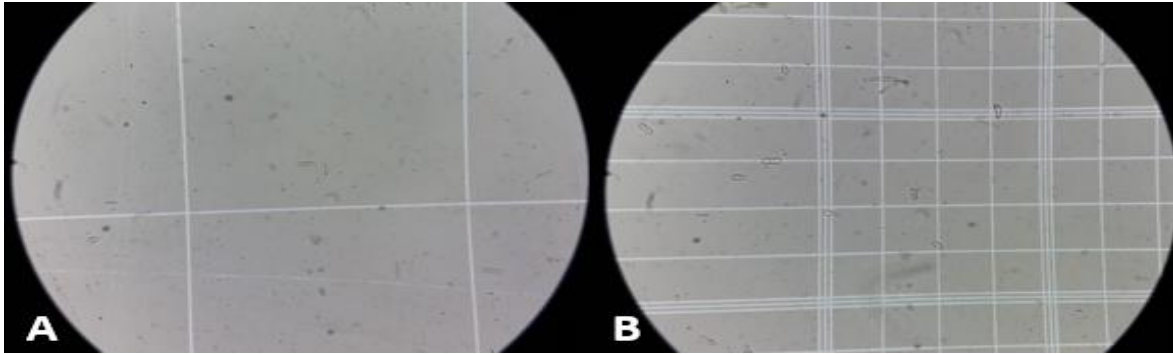


Figura 3. Conteo de UFC en producto de caldo PDB mediante hematocitómetro Neubauer® para ajuste de concentración. Dónde: A) FOC raza 0; B) FOC raza 5.

Fuente: Elaboración propia.

Para incrementar masivamente cada una de las BPCV se utilizó como medio caldo nutritivo-Bioxon® (8 g L⁻¹) previamente autoclaveado (120 °C durante 15 min), enfriado a temperatura ambiente (TA), para activar el proceso de obtención de inóculos bacterianos se tomó una colonia viable y desarrollada en las cajas Petri anteriormente activadas por método de estriado con asa dentro de campana de flujo laminar y agregar con él asa al caldo previamente enfriado y colocarlo en agitador orbital a 140 rpm con condiciones de 28 °C durante 72 h en obscuridad. Una vez pasados 72 h se cuenta la cantidad de UFC/ml por el método de conteo en placa de colonias viables en cajas Petri con medio agar nutritivo (23 g L⁻¹). Donde se toma 1 ml de cada matraz de inóculo activado para someterlo a diluciones seriadas. La cual consiste en llenar ocho tubos de ensayo con 9 ml de solución salina al 0.85% estéril y llegar a las diluciones transfiriendo a cada tubo de ensayo la cantidad de 1 ml a partir del inóculo al primer tubo (10¹), tras homogeneizar cada dilución mediante vortex por un minuto se repite en cada tubo hasta llegar a (10⁶, 10⁷ y 10⁸) donde se toma el volumen requerido para transferir en nuevas cajas Petri con medio de agar nutritivo mediante la adición de 100 µL y agitar la solución agregada en la Petri con el uso de Drigralsky hasta homogeneizar. Las placas Petri sembradas con la dilución se almacenan a 28 °C durante 24 h en Friocel® para realizar conteo (Figura 4). Realizada la incubación se cuentan las colonias vivas mediante y registra usando la fórmula UFC/ml = Numero de colonias en placa (entre 30 y 300) * inverso de la dilución / cantidad de alícuota en µL de la muestra. Estableciendo de esta manera la concentración de células bacterianas

en los inóculos A46, P61, R44, BSP1.1 y CPPC55 de: (2.2×10^9 , 1.5×10^9 , 2.7×10^9 , 5.6×10^8 y 2.5×10^9 UFC/ml respectivamente). Este conteo se realiza por la confiabilidad al contar células viables en determinada muestra y se ajustaron a 1×10^8 UFC/ml utilizando la fórmula para concentraciones ($C1 * V1 = C2 * V2$) (Figura 5).

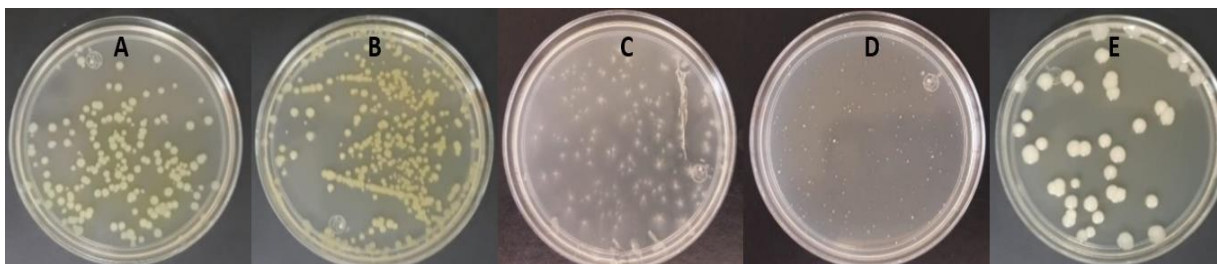


Figura 4. Conteo de inóculo bacteriano en cajas Petri con medio Agar Nutritivo-Difco® (23 g L⁻¹). A) A46; B) P61; C) R44; D) BSP1.1 y E) CPPC55.

Fuente: Jorge Alberto Edeza Urías.

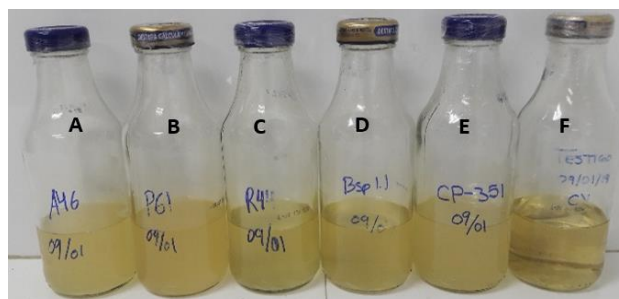


Figura 5. Inóculo bacteriano sometidos a agitación 140 rpm en medio Caldo Nutritivo-Bioxon® (8 g L⁻¹) A) A46, B) P61, C) R44, D) BSP 1.1, E) CPPC55 y F) control negativo sin bacteria o Caldo Nutritivo.

Fuente: Jorge Alberto Edeza Urías.

5.5. Ensayo de patogenicidad de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* razas 0 y 5 en genotipos de garbanzo

37 genotipos fueron evaluados (Figura 6). Conformados por 28 líneas avanzadas generadas en Culiacán Sinaloa, tres generadas en Hermosillo Sonora, tres cultivares comerciales ('Blanco Sinaloa-92'; 'Jumbo-2010' y 'Progreso-95') y tres variedades diferenciales como resistente (R) y susceptible (S) ('WR-315' (R); 'P-2245' (S) y 'JG-62' (R) (S) respectivamente a las razas 0 y 5 de FOC (Cuadro 5 y 6). Todos los

genotipos fueron sometidos a inoculaciones artificiales con las razas 0 y 5 de FOC bajo ensayos por separado, dentro de cámaras de crecimiento en instalaciones de laboratorio de la facultad de agronomía. Las condiciones de temperatura de 25 °C y 70-80% humedad relativa (medurada con Termohigrómetro digital Taylor® 1523) con programación de fotoperiodo de luz/obscuridad (12 h: 12 h) con 1.6X10⁴ lux (con el uso de reloj automático Tork® S1102) con base al protocolo de Trapero-Casas, Jiménez-Díaz (1985) y Navas-Cortés *et al.*, (2007). La inoculación fue llevada a cabo cuando las plantas tenían tres a cuatro hojas verdaderas completamente desarrolladas por el método de drenado líquido en suspensión conidial de 1X10⁶ UFC/ml agregando 20 ml de suspensión a cada maceta con ayuda de jeringas estériles. Las macetas contenían sustrato Kekkila® (Vantaa, Finland) y vermiculita (2:1) previamente esterilizados (120 °C durante 2 horas) vertida en macetas de corcho de 350 ml, misma que tenía dos plantas distribuidas en cuatro repeticiones dando un total de ocho plantas por genotipo (tratamiento) para cada inoculación respectiva a la raza de FOC y sus testigos sin inóculo. La desinfestación de las semillas de garbanzo de cada uno de los genotipos consistió en lavarlas en una solución de hipoclorito de sodio al 2.5% durante 3 min y posteriormente enjuagarlas mediante tres lavados en agua destilada estéril (Velarde-Félix *et al.*, 2015). Para la fertilización de las plantas se utilizó solución de Steiner al 10% regando semanalmente después de los 15 d de emerger la semilla. Dicha solución cual fue ajustada a una conductividad eléctrica de 0,5 ds/m y pH a 6,5 con los siguientes componentes (mg/L): Ca (NO₃)₂ • 4 H₂O (106.2 g); KNO₃ (30.3 g); K₂SO₄ (27 g); MgSO₄ • 7 H₂O (49.2 g) y KH₂PO₄ (13.6 g), agregando Fe (0.15 g) (Alcántar-Gonzales *et al.*, 2015).

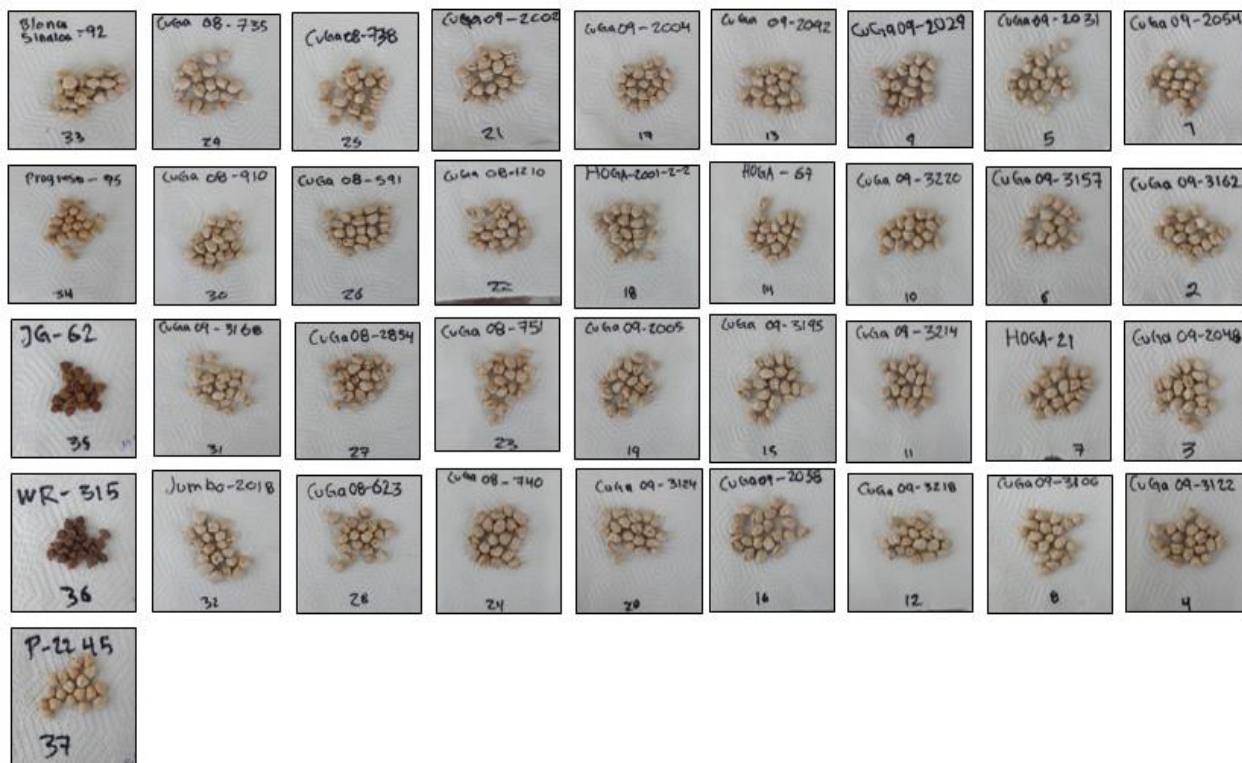


Figura 6. Semilla de genotipos de garbanzo (n=37) sometidos a prueba de patogenicidad.

Fuente: Elaboración propia.

5.5.1. Evaluación del Índice de Severidad de la Enfermedad (DSI) en genotipos de garbanzo inoculados con *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* razas 0 y 5

Semanalmente se tomaron medidas a partir del día de inoculación hasta completar 63 días después de la inoculación (DDI), las plantas fueron examinadas con base a la sintomatología observada acorde (amarillez, marchitez). Éste último acorde a escala subjetiva de estimación visual que va desde 0-4 propuesta por Marlatt *et al.* (1996) la cual consiste en lo siguiente:

0= Planta asintomática

1= Leves síntomas de clorosis, marchitamiento o atrofia de planta

2= Moderados síntomas de clorosis, marchitamiento o atrofia de planta

3= Severos síntomas de clorosis, marchitamiento o atrofia de planta

4= Planta muerta

Convirtiendo la escala tomada a porcentaje mediante la fórmula de Galanihe *et al.* (2004): $DSI (\%) = \frac{\sum \{(P * Q)\}}{(M * N)} \times 100$. Donde, P = puntaje de escala, Q = Número de plantas infectadas acorde a la escala; M = Total de plantas observadas; N = Máxima infestación en el número de la escala.

5.5.2. Diseño experimental y análisis estadístico

El diseño experimental para cada ensayo de patogenicidad respectivos las razas de FOC (0, 5) se establecieron bajo un diseño completamente al azar con ocho repeticiones, donde cada repetición fue una planta dentro de una maceta con dos plantas dentro (planta como unidad experimental). No obstante, debido al origen de la toma subjetiva de la variable respuesta (DSI calculado por escala 0-4) se optó por realizar análisis de varianza para prueba no paramétrica Kruskal-Wallis y prueba de mediana por el método de Dunn, con el fin de determinar diferencia significativa en la resistencia de los genotipos de garbanzo ($P \leq 0.05$). Dado la ausencia de los supuestos principales para una ANDEVA de una vía como lo son: normalidad (Shapiro-Wilk), homocedasticidad (Bartlett), según Herrera-Haro y García-Artiga (2011) se utiliza por ser la contraparte no paramétrica del diseño completamente al azar. Los análisis estadísticos se llevaron a cabo con el programa estadístico XLSTAT® (Addinsoft, 2019).

5.6. Pruebas de antagonismo *in vitro* de cepas bacterianas promotoras del crecimiento vegetal frente a *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* raza 0 y 5

La actividad antagónica se llevó a cabo mediante la técnica de cultivo dual (Ezziyyani *et al.*, 2004a) en placas Petri con medio de cultivo PDA (39 g L⁻¹). Se estudió la capacidad inhibitoria de las cepas bacterianas contra dos razas de FOC (raza 0 y raza 5). En las confrontaciones las cepas bacterianas frente a FOC raza 0 y 5 se colocaron respectivamente en un disco de 1.0 cm de diámetro del fitopatógeno crecido en PDA en un extremo de la placa (1.0 cm de distancia), y 72 horas después se sembró la cepa bacteriana en el centro de la placa (1.5 cm de distancia) por asada gruesa formando una barrera vertical (1.5 cm de grosor) (Estrella *et al.*, 2001). Además, se contó con un testigo absoluto para cada raza de FOC en caja Petri con medio PDA, se colocó en el

centro de la placa un disco de 1.0 cm de diámetro del micelio del patógeno. Las placas confrontadas y las testigos se incubaron 7 días a 25 °C en Friocel®. La evaluación de la capacidad inhibitoria de las cepas de las BPCV, se determinó pasadas 168 h, mediante el Porcentaje de Inhibición del Crecimiento Radial (PICR) en función de los radios mayor (R1) y menor (R2) de crecimiento de *Fusarium* spp. Según la fórmula: $PICR = (R1 - R2) / R1 * 100$ (Ezziyyani *et al.*, 2004b). El grado de inhibición ejercido por las cepas de BPCV se determinará con la superficie que colonizó en la caja Petri en presencia del fitopatógeno, según la escala de Bell *et al.* (1982) (Cuadro 8).

Cuadro 8. Escala adaptada para determinar el nivel de antagonismo propuesta por Bell *et al.* (1982).

Grado antagonico	Capacidad antagonica (Patógeno-antagonista)
1	BPCV coloniza (100%) de la superficie de la colonia de FOC
2	BPCV coloniza dos terceras partes de la superficie del medio de cultivo y limita el crecimiento de FOC.
3	BPCV y FOC colonizan (50%) de la superficie, ninguno domina.
4	FOC coloniza dos terceras partes de la superficie del medio y limita el crecimiento de la bacteria.
5	FOC coloniza el (100%) de la superficie de la colonia bacteriana y crece sobre ella.

5.6.1. Diseño experimental y análisis estadístico

Se utilizó diseño completamente al azar para cada raza de FOC desarrollada durante 7 d a 25 °C en medio PDA. Consistiendo en cuatro repeticiones por tratamiento bacteriano (variable independiente n=5, más un control), cada repetición contenía una confrontación de Bacteria-Hongo (unidad experimental). Con los datos obtenidos por la variable respuesta (PICR, variable dependiente) se realizaron previamente pruebas de normalidad (Shapiro-Wilk) y homocedasticidad (Bartlett) para así realizar un ANDEVA, y la prueba de comparación de medias de LSD Fisher ($P \leq 0.05$) con el

paquete estadístico XLSTAT (Addinsoft, 2019). Para lo cual el modelo mostrado a continuación fue tomado según Montgomery (2004).

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij} \quad i = 1, 2, 3 \dots t \quad j = 1, 2, 3 \dots r$$

Donde:

Y_{ij} = Variable respuesta en tratamiento i , repetición j .

μ = Media general.

τ_i = Efecto del tratamiento i .

ε_{ij} = Error aleatorio, normal e independientemente distribuido, con media cero y varianza cuadrada, es decir: [$\varepsilon_{ij} \sim NI(0, \sigma^2)$].

5.7. Ensayos en evaluación de la capacidad de promoción de crecimiento vegetal de cepas bacterianas en plantas de garbanzo ‘Blanco Sinaloa-92’ inoculadas con *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* raza 0 y 5.

El experimento se realizó en invernadero con malla sombra de 50% y con 12 h de fotoperiodo en el ciclo otoño invierno 2018-2019 en instalaciones de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Sinaloa. Durante la duración del ensayo se tomaron datos de temperatura y humedad relativa promedio de (25-30 °C, 50-60 HR), con el instrumento Dataloger (Extech instruments®). Se utilizó semillas del cultivar de garbanzo ‘Blanco Sinaloa-92’ (Figura 8). Para la siembra e inoculación bacteriana y fúngica, se utilizaron charolas de unicel de 128 cavidades; éstas se dividieron en secciones para 30 cavidades cada una sección por tratamiento, sembrando una semilla por cavidad siendo cada planta una unidad experimental (las semillas fueron desinfectadas con lavados de hipoclorito de sodio al 2.5% durante 1 min y tres lavados con H₂O destilada estéril) (Velarde-Félix *et al.*, 2015).

La siembra e inoculación se realizó al momento después de desinfectar la semilla para ser sembrada, sumergiendo la semilla en suspensión líquida con inóculo bacteriano ajustado a 1×10^8 UFC/ml de cada inóculo de las BPCV durante 5 minutos (Figura 7).

Posteriormente, se colocó las semillas en charola empleando sustrato Kekkila® (Vantaa, Finland), previamente esterilizado (120 °C durante 2 h) donde la inoculación con FOC raza 0 y 5 se llevó acabo cuando las plantas mostraron tres hojas verdaderas completamente desarrolladas, con la cantidad de inóculo ajustado a 1×10^6 UFC/ml Tekeoglu *et al.* (2000); Sharma *et al.* (2004) y Guerrero *et al.* (2015). Para la fertilización de las plantas garbanzo de cada tratamiento y testigo se utilizó solución de Steiner al 10 %. La cual fue ajustada a una conductividad eléctrica (CE) de 0,5 ds/m y pH ajustado a 6,5 con los siguientes componentes (mg/L): Ca (NO₃)₂ • 4 H₂O (106.2 g); KNO₃ (30.3 g); K₂SO₄ (27 g); MgSO₄ • 7 H₂O (49.2 g) y KH₂PO₄ (13.6 g), agregando Fe (0.15 g) según (Alcántar-Gonzales *et al.*, 2015).

5.7.1. Variables evaluadas

Para determinar el efecto de la capacidad de promoción de crecimiento vegetal de las cepas bacterianas se midieron variables cada quince días como los son: altura de planta (cm) tomada desde la base del tallo hasta la parte más alta de la planta con flexómetro; grosor de tallo (mm) con vernier digital, verdor en planta mediante el contenido de clorofila de las hojas usando un SPAD 502® (Spectrum Technologies, Inc.); número de hojas desarrolladas, volumen radical (cm³) tomado a partir de sumergir la raíz en probeta graduada con determinado volumen conocido de agua y registro del aumento a partir de éste, biomasa húmeda total, aérea y radicular en (g) y peso de biomasa seca total, aérea y radicular (g) de plantas deshidratadas en estufa a 80 °C por 24 horas en balanza analítica (Sartorius, Modelo Analytic AC 210S, Illinois, EE. UU.)

Así mismo, se determinó el Índice de Severidad de la Enfermedad (DSI) donde las plantas fueron examinadas con base a la sintomatología observada acorde (amarillez, marchitez). Éste último con la escala 0-4 propuesta por Marlatt *et al.* (1996) y evaluado mediante la fórmula de Galanihe *et al.*, (2004) descrita anteriormente.

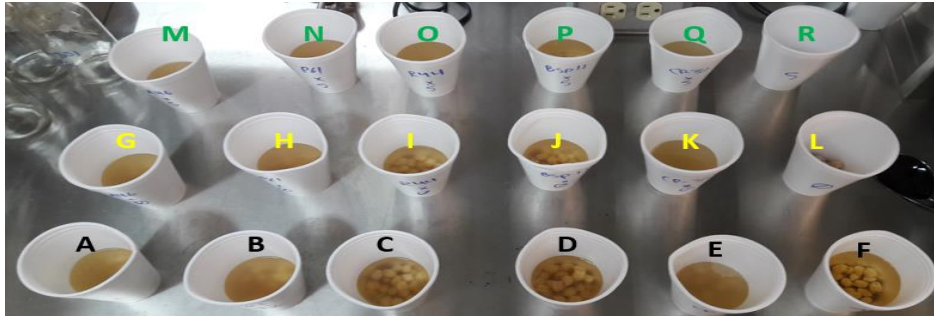


Figura 7. Inmersión de semilla 'Blanco Sinaloa-92' en caldo de BPCV: A) A46, B) P61, C) R44, D) BSP 1.1, E) CPPC55, F) Caldo Nutritivo. Confrontaciones con FOC raza 0: G) A46*0, H) P61*0, I) R44*0, J) BSP 1.1*0, K) CPPC55*0 y L) FOC 0. Inoculaciones con FOC raza 5: M) A46*5, N) P61*5, O) R44*5, P) BSP 1.1*5, Q) CPPC55*5 y R) FOC 5. Todos en inóculos bacterianos ajustados a 1×10^8 durante 5 minutos.
Fuente: Elaboración propia.

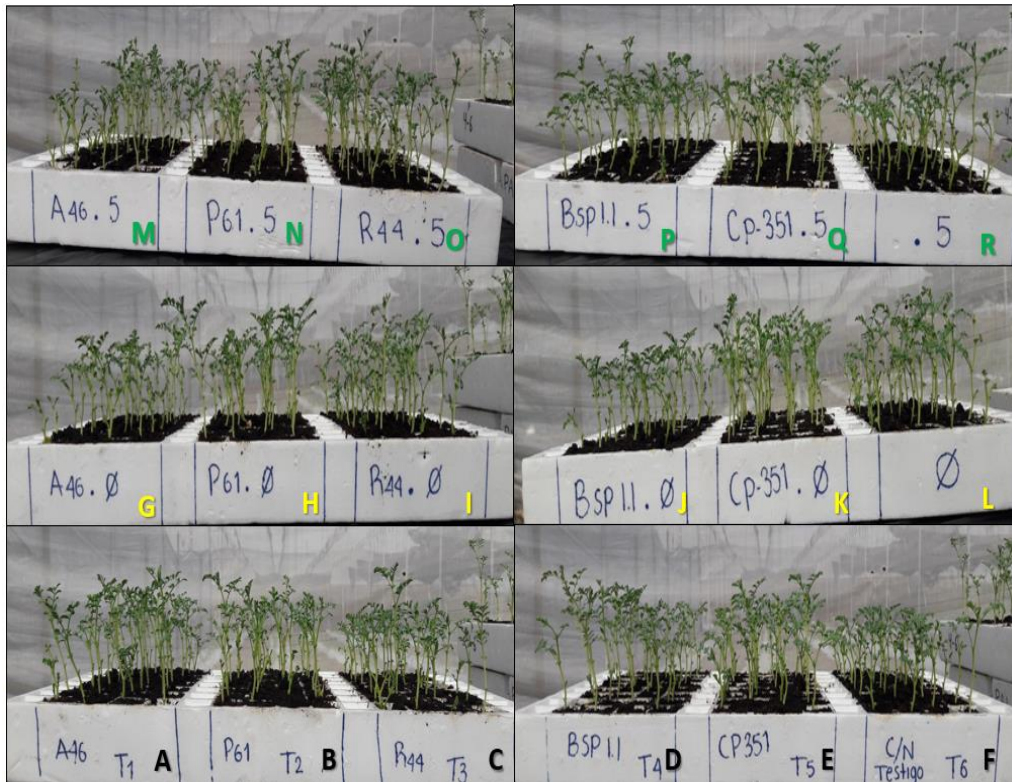


Figura 8. Plantas de garbanzo 'Blanco Sinaloa-92' previamente inoculados en semilla con BPCV: A) A46, B) P61, C) R44, D) BSP 1.1, E) CPPC55, F) Steiner 10%. Confrontaciones con BPCV + FOC raza 0: G) A46*0, H) P61*0, I) R44*0, J) BSP 1.1*0, K) CPPC55*0 y L) FOC 0. Inoculaciones con BPCV + FOC raza 5: M) A46*5, N) P61*5, O) R44*5, P) BSP 1.1*5, Q) CPPC55*5 y R) FOC 5. A partir de G-R fueron inoculados con FOC razas 0 y 5 respectivamente con concentración de 1×10^6 UFC/ml al tener tres hojas completamente desarrolladas.
Fuente: Jorge Alberto Edeza Urías.

5.7.2. Diseño experimental y análisis estadístico

El experimento *in vivo* contempló un diseño experimental completamente al azar con 18 tratamientos divididos en tres grupos, el primer grupo conformado por cinco confrontaciones de cada BPCV con FOC raza 0 y un testigo con inoculación de la raza 0, el segundo grupo de tratamientos y cinco cepas de BPCV confrontadas con FOC raza 5 y testigo con inoculación de la raza 5 originando y el tercer grupo tratado con cinco cepas bacterianas y un testigo sin bacteria ni FOC (solo Steiner 10%). Todos los tratamientos fueron tratados con fertilización química de Steiner 10%. En cada uno de ellos se establecieron 30 plantas por tratamiento donde cada planta era una repetición. Esto originó un total de 180 unidades experimentales (UE) por cada 6 tratamientos utilizados en semilla de garbanzo variedad de 'Blanco Sinaloa-92', dando un total de 540 UE. Los datos de parámetros de crecimiento vegetal fueron sometidos a previo análisis de Shapiro Wilks para comprobar la normalidad y prueba de Bartlett para la homocedasticidad de varianzas, posteriormente realizando un ANDEVA y prueba de comparación de medias LSD Fisher ($P \leq 0.05$) con el programa XLSTAT® (Addinsoft, 2019). En los datos provenientes del DSI en el cultivar 'Blanco Sinaloa-92' se realizó la prueba no paramétrica Kruskal Wallis y comparación de medias de Dunn ($P \leq 0.05$). Ambos casos bajo el siguiente modelo estadístico Montgomery (2004).

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij} \quad i = 1, 2, 3 \dots t \quad j = 1, 2, 3 \dots r$$

Donde:

Y_{ij} = Variable respuesta en tratamiento i , repetición j .

μ = Media general.

τ_i = Efecto del tratamiento i .

ε_{ij} = Error aleatorio, normal e independientemente distribuido, con media cero y varianza cuadrada, es decir: [$\varepsilon_{ij} \sim NI(0, \sigma^2)$].

5.8. Análisis de contenido NPK en plantas de garbanzo tratadas con *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris* y cepas bacterianas en el cultivar ‘Blanco Sinaloa-92’

La evaluación del contenido de Nitrógeno, Fósforo y Potasio (N, P, K) se realizó bajo las siguientes normas y metodologías: nitrógeno por el método de Kjeldahl, (A.O.A.C., 1999). El P por se cuantificó por colorimetría de complejos molibdofosfóricos reducidos con ácido ascórbico (AOAC, 1980). El K por fotometría de llama según Rodríguez y Rodríguez (2015). Los tres métodos conllevan tres pasos fundamentales como lo son: Manejo de muestra (digestión), Procesamiento de muestra (metodología) y Calculo (variable respuesta).

5.8.1. Manejo de muestra

La determinación de concentración de N se llevó a cabo por la metodología de Kjeldahl, (A.O.A.C., 1999) con ligeras modificaciones. Donde, se pesa 0.5 g de materia seca, previamente secado con aire a 70 °C 24 h, molido y se introduce al matraz Kjeldahl junto con 4 mL de ácido sulfúrico con ácido salicílico dejando reposar durante 24 h. Tras el reposo se agregó 0.5 g de tiosulfato de sodio y 1 g de mezcla catalizadora (100 g de sulfato de potasio, 10 g de sulfato de cobre y 1 g de selenio metálico), colocando los matraces Kjeldahl a dos tiempos y temperaturas sobre el tren de digestión dentro de campana extractora de gases: 30 min número 4, 1h 30 min número 6, retirar los matraces tras observar el color de la digestión al obtener el color: gris, azul verdoso o ligeramente amarillo, se dejó enfriar y se añadieron 10 mL de H₂O destilada. Se comenzó con la destilación mediante digestión de la muestra agregando 15 mL de NaOH al 40 % al Kjendahl y pasado por el tren digestor donde mediante destilación se recibieron en matraces de 125 mL con mezcla específica para titulación (10 mL de H₃BO₃ al 4% y 3 gotas de indicador conocido como verde de metilo y verde de bromocresol) listo para recibir aproximadamente 50 a 70 mL de destilado preparado para el cálculo de titulación.

El P y K soluble se cuantificaron por medio de espectrofotómetro UV/VIS UV-5800® y fotómetro de flama JENWAY® respectivamente, mediante la siguiente metodología. Las muestras para analizar ambos elementos conllevan el mismo manejo de muestra

(solución de cenizas de plantas), donde se obtiene los elementos de interés mediante digestión seca según la metodología de Rodríguez y Rodríguez (2015). Donde se incineraron muestras de plantas previamente secas a 70°C y molidas, pesando 0.5 g de muestra molida y mediante incinerando en crisol Gooch con Mufla NOVATECH® a 500°C durante 4 horas, se reposó el resultado de incinerado 24 horas y se procedió a agregar 2 mL de HCl concentrado (puro) a cada crisol Gooch para evaporar lentamente mediante plancha caliente dentro de una campana extractora de gases. Posteriormente se agregaron 25 mL de solución de HCl 1 N y luego se filtra en matraz volumétrico de 100 ml para posteriormente ser conservado en vasos de plástico grueso previamente matriculados.

5.8.2. Procesamiento de muestra

La determinación del N se realizó por titulado mediante bureta de 50 mL con ácido sulfúrico (H_2SO_4 0.1 N) el cual se agrega lentamente al matraz Erlenmeyer que contiene el color verde azulado (Figura 9). Anotando enseguida cuando cambie de color dada por la titulación.



Figura 9. Determinación de N por el método de Kjendahl.

La determinación de P soluble se cuantificó a través de la metodología del ácido ascórbico (AOAC, 1980), el principio de esta técnica se basa en que el molibdato de amonio y el tartrato de antimonio y potasio reaccionan en medio ácido con el

ortofosfato para formar un heteropoliácido -ácido fosfomolibdico- que es reducido por ácido ascórbico a un complejo azul de molibdeno intensamente coloreado.

Para llevar a cabo esta metodología, se prepararon dos soluciones: solución de molibdato de amonio (disolver 20 g de molibdato de amonio en 300 ml de agua destilada). Posteriormente se agregó lentamente bajo constante agitación y con cuidado, 450 ml de H_2SO_4 (14 N) (194.4 ml H_2SO_4 concentrado diluido a 500 ml con agua da una concentración de aproximadamente 14 N). Agregue 100 ml de una solución al 0.5% (p/v) de tartrato de antimonio y potasio. Diluya las mezclas a 1 L con agua destilada. Este frasco se debe tapar y con papel aluminio, proteger de la luz) y solución reductora con ácido ascórbico (disolver 0.50 g de ácido ascórbico con un poco de solución de molibdato de amonio y aforar a 100 ml con la misma solución. Esta solución es preparada cada vez que se vaya a formar color.

Se tomó una alícuota de tres mililitros del extracto obtenido del filtrado de las cenizas y se colocó en un matraz aforado de 50 ml. Se agregó 5.0 ml de la solución reductora y se leyó la absorbancia en un espectrofotómetro UV/VIS UV-5800[®] después de 30 minutos, pero antes de una hora a una longitud de onda 882 nm, previamente calibrado con curva de 0, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 y 1.0 mg L⁻¹ de P (Figura 10).

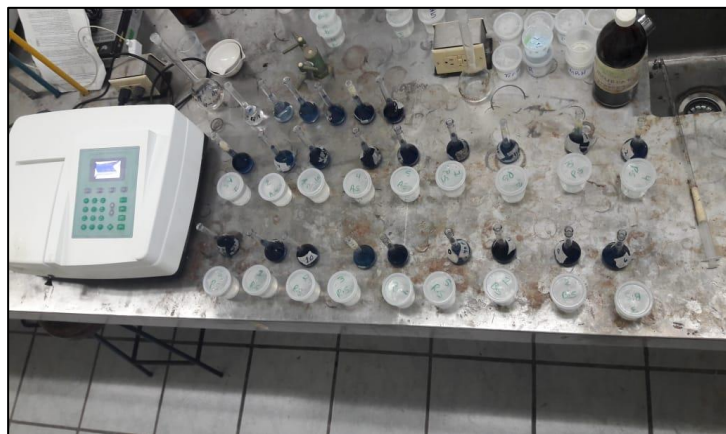


Figura 10. Determinación de P por el método del ácido ascórbico.

Para la determinación del K se siguió la metodología de Rodríguez y Rodríguez (2015) para lo cual se realizan dos soluciones, la solución patrón de K 1,000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ y de ésta una subpatrón K 90 $\mu\text{g mL}^{-1}$, donde los vasos matriculados con muestra líquida

de ceniza se sometieron a lectura en fotómetro de flama previamente calibrado con curva (0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 y 90 $\mu\text{g mL}^{-1}$) (Figura 11).



Figura 11. Determinación de K por el método de (Rodríguez y Rodríguez, 2015).

5.8.3. Cálculos de muestra

El N se obtiene en porcentaje gracias a la fórmula de nitrógeno total:

$$(\text{Porcentaje de N total}) = (\text{ml de H}_2\text{SO}_4 \text{ 0.1 N gastados}) (0.0014) (100) / (\text{Peso de la muestra de planta}).$$

El porcentaje de N total se convirtió a mg^{-1} Planta mediante el cálculo: $(\text{Peso seco total de planta}) (\text{N \%}) / 100 * 1,000 = \text{mg}^{-1}$ Planta.

El P en planta, se determina con los siguientes pasos. Se calculó el R^2 óptimo (mayor a 0.95) proveniente de la lectura patrón mencionada en el apartado anterior. De las lecturas de ABS que brinda el espectrofotómetro (y) se obtiene (x) a tras despejar la ecuación de regresión obtenida: $y = a + bx$. es decir, $x = (y-a) / b$ obteniendo (concentración de la muestra en mg/L), valor que se somete a la fórmula:

$$\text{CRM (Porcentaje de P)} = (\text{Fd1}) (\text{Fd2}) (\text{concentración de la muestra en mg/L}) / 10,000.$$

Donde:

CRM = concentración real de la muestra

Fd1 = factor de dilución 1

Fd2 = factor de dilución 2.

Siendo Fd1 = 100 mL (volumen final del matraz aforado con muestra seca) / 0.5 g (muestra seca de ceniza), Fd2 = 50 mL (volumen final del matraz aforado con molibdato-vanadato con 3 mL de muestra líquida de ceniza) / 3 mL (muestra líquida de ceniza) y 10,000 = factor que transforma los mg/L en valores de porcentaje. De esta forma se calculan los mg⁻¹ en planta, convirtiendo por el cálculo: (Peso seco total de planta) (P %) / 100 * 1,000 = mg⁻¹ Planta.

Por último, para el caso del K en planta, se determina mediante el cálculo del R² óptimo (mayor a 0.98) proveniente de la lectura patrón de K mencionada en el apartado anterior. De las lecturas de ABS del flamómetro se somete a la fórmula:

$$\text{CRM (Porcentaje de K)} = (\text{Fd1}) (\text{Fd2}) (\text{concentración de la muestra en mg/L}) / 10,000.$$

Donde:

CRM = concentración real de la muestra

Fd1 = factor de dilución 1

Fd2 = factor de dilución 2.

Siendo Fd1 = 100 mL (volumen final del matraz aforado con muestra seca) / 0.5 g (muestra seca de ceniza), Fd2 = 50 mL (volumen final del matraz aforado con mezcla de potasio con 3 mL de muestra líquida de ceniza) / 3 mL (muestra líquida de ceniza) y 10,000 = factor que transforma los mg/L en valores de porcentaje. De esta forma se calculan los mg⁻¹ en planta, convirtiendo por el cálculo: (Peso seco total de planta) (K %) / 100 * 1,000 = mg⁻¹ Planta.

5.8.4. Diseño experimental y análisis estadístico.

La variable respuesta se reporta en mg⁻¹ por planta de cada muestra. El diseño experimental para cada ensayo fue completamente al azar (cinco repeticiones por

tratamiento (bacterias: A46, P61, R44, BSP 1.1, CPPC55 y confrontación de éstas con FOC (0, 5) y respectivamente: con tres tratamientos adicionales: 1) FOC 0, 2) FOC 5y 3) sin FOC ni bacteria) dando un total de 18 tratamientos. Los datos de la variable respuesta se analizaron mediante el paquete estadístico XLSTAT® (Addinsoft, 2019). analizando previamente normalidad y homocedasticidad mediante pruebas de Shapiro-Wilk y Bartlett respectivamente, ANDEVA y prueba de comparación de medias (Fisher, $P \leq 0,05$). Bajo el siguiente modelo estadístico Montgomery (2004).

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij} \quad i = 1,2,3 \dots t \quad j = 1,2,3 \dots r$$

Donde:

Y_{ij} = Variable respuesta en tratamiento i , repetición j .

μ = Media general.

τ_i = Efecto del tratamiento i .

ε_{ij} = Error aleatorio, normal e independientemente distribuido, con media cero y varianza cuadrada, es decir: [$\varepsilon_{ij} \sim NI(0, \sigma^2)$].

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Ensayos de patogenicidad de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* razas 0 y 5 en genotipos de garbanzo

Se observó diferencia significativa en los ensayos de patogenicidad de los aislamientos en los genotipos de garbanzo con base en Índice de Severidad de la Enfermedad (DSI) en los genotipos a 63 DDI (Cuadro 9), FOC raza 0 con un DSI promedio de 85.73 ($H = 110.54$; $df = 36$; $P \leq 0.000000002$) (Cuadro 11), y un valor de 78.46 en el ensayo con FOC raza 5 (Cuadro 10).

Los dos aislamientos de *F. oxysporum* f.sp. *ciceris* fueron patógenos en garbanzo (genotipos 1-34). Con respecto a los cultivares diferenciales (35, 36, 37), la patogenicidad se observó a lo esperado. El cultivar 35 fue resistente a raza 0 y susceptible a raza 5; el cultivar 36 fue resistente a raza 0 y 5; y el cultivar 37 fue susceptible a raza 0 y 5. La agresividad varió significativamente en el ensayo con FOC raza 5 ($H = 80.39$; $df = 36$; $P \leq 0.000004$) (Cuadro 11).

Los genotipos inoculados con FOC raza 0 presentaron síntomas de amarillez, presentándose un DSI de 100% en los genotipos 6, 8, 20, 21, 22, 25, 31 y 37, mientras que en los genotipos 35 y 36 (variedades diferenciales) se presentó un 0.00% seguidos de 30 y 34 con 62.5% (Cuadro 9).

Así mismo, los genotipos inoculados con FOC raza 5 presentaron marchitez, donde los genotipos 1, 14 y 37 presentaron un DSI de 100%, siendo los más susceptibles, mientras que los genotipos 1, 14 y 37 que presentaron los primeros síntomas de marchitamiento a los 35 DDI, las plantas manifestaron una coloración grisácea y posterior síntoma de secado de planta. Así mismo, los genotipos 35 y 36 (cultivares diferenciales) presentaron un 0.00% de DSI, seguidos de los genotipos 30 con un DSI de 62.5%.

Los hongos fueron re-aislados con éxito de las plantas inoculadas de sus respectivos ensayos, completando los postulados de Koch, en ambos ensayos no se observaron síntomas en las plantas no inoculadas después de 63 días.

Cuadro 9. Comparaciones múltiples del ensayo de patogenicidad con genotipos de garbanzo inoculado con *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris* raza 0.

Genotipo	Suma de rangos	Media de rangos	DSI (%) ^a	Grupos ^c	Respuesta ^b
1: CuGa09-2054	1,165.000	145.625	81.25	B	S
2: CuGa09-3162	1,180.000	147.500	84.38	B	S
3: CuGa09-2048	1,195.000	149.375	87.50	B	S
4: CuGa09-3122	1,238.000	154.750	93.75	B	S
5: CuGa09-2031	1,238.000	154.750	93.75	B	S
6: CuGa08-3157	1,488.000	186.000	100.00	B	S
7: HOGA-21	1,326.500	165.813	90.63	B	S
8: CuGa09-3106	1,488.000	186.000	100.00	B	S
9: CuGa09-2029	988.000	123.500	87.50	A B	S
10: CuGa09-3220	1,238.000	154.750	93.75	B	S
11: CuGa09-3214	1,238.000	154.750	93.75	B	S
12: CuGa09-3218	1,238.000	154.750	93.75	B	S
13: CuGa09-2092	945.000	118.125	81.25	A B	S
14: HOGA-67	1,238.000	154.750	93.75	B	S
15: CuGa09-3195	1,238.000	154.750	93.75	B	S
16: CuGa09-2058	945.000	118.125	81.25	A B	S
17: CuGa09-2004	1,201.500	150.188	87.50	B	S
18: HOGA 2001-2-2	1,363.000	170.375	96.88	B	S
19: CuGa09-2005	1,363.000	170.375	96.88	B	S
20: CuGa09-3124	1,488.000	186.000	100.00	B	S
21: CuGa09-2002	1,488.000	186.000	100.00	B	S
22: CuGa08-1210	1,488.000	186.000	100.00	B	S
23: CuGa08-751	1,341.500	167.688	93.75	B	S
24: CuGa08-740	1,326.500	165.813	90.63	B	S
25: CuGa08-738	1,488.000	186.000	100.00	B	S
26: CuGa08-591	1,195.000	149.375	87.50	B	S
27: CuGa08-2854	1,238.000	154.750	93.75	B	S
28: CuGa08-623	1,238.000	154.750	93.75	B	S
29: CuGa08-735	1,195.000	149.375	87.50	B	S
30: CuGa08-910	842.000	105.250	62.50	A B	S
31: CuGa09-3168	1,488.000	186.000	100.00	B	S
32: JUMBO-2010	1,195.000	149.375	87.50	B	S
33: BS-92	1,165.000	145.625	81.25	B	S
34: PROGRESO-95	842.000	105.250	62.50	A B	S
35: JG-62	68.000	8.500	0.00	A	R
36: WR-315	68.000	8.500	0.00	A	R
37: P-2245	1,488.000	186.000	100.00	B	S

^a Índice de Severidad de la Enfermedad ocasionada por aislamiento *F. oxysporum* f.sp. *ciceris* raza 0.

^b Clasificación de resistencia, acorde a Dunn ($P \leq 0.05$) para porcentajes del DSI; los genotipos se con >50% fueron considerados susceptibles (Marlatt *et al.*, 1996).

^cEn la columna de grupos, los promedios están seguidos de letras comunes indican diferencias significativas entre genotipos $P = 0.000000002$ por la prueba de rango múltiple de Dunn.

Cuadro 10. Comparaciones múltiples del ensayo de patogenicidad con genotipos de garbanzo inoculado con *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris* raza 5.

Genotipo	Suma de rangos	Media de rangos	DSI (%) ^a	Grupos ^c	Respuesta ^b
1: CuGa09-2054	1,664.000	208.000	100.00	B	S
2: CuGa09-3162	1,436.000	179.500	93.75	B	S
3: CuGa09-2048	1,344.000	168.000	87.50	B	S
4: CuGa09-3122	1,504.000	188.000	93.75	B	S
5: CuGa09-2031	1,436.000	179.500	93.75	B	S
6: CuGa08-3157	1,436.000	179.500	93.75	B	S
7: HOGA-21	842.000	105.250	71.88	A B	S
8: CuGa09-3106	1,436.000	179.500	93.75	B	S
9: CuGa09-2029	1,550.000	193.750	96.88	B	S
10: CuGa09-3220	1,162.000	145.250	84.38	A B	S
11: CuGa09-3214	1,344.000	168.000	87.50	B	S
12: CuGa09-3218	1,086.500	135.813	78.13	A B	S
13: CuGa09-2092	1,390.000	173.750	90.63	B	S
14: HOGA-67	1,664.000	208.000	100.00	B	S
15: CuGa09-3195	1,116.000	139.500	81.25	A B	S
16: CuGa09-2058	1,200.500	150.063	81.25	A B	S
17: CuGa09-2004	1,436.000	179.500	93.75	B	S
18: HOGA 2001-2-2	910.000	113.750	71.88	A B	S
19: CuGa09-2005	829.000	103.625	68.75	A B	S
20: CuGa09-3124	1,011.000	126.375	71.88	A B	S
21: CuGa09-2002	845.000	105.625	68.75	A B	S
22: CuGa08-1210	1,048.000	131.000	81.25	A B	S
23: CuGa08-751	1,070.000	133.750	78.13	A B	S
24: CuGa08-740	1,246.500	155.813	84.38	B	S
25: CuGa08-738	1,504.000	188.000	93.75	B	S
26: CuGa08-591	956.000	119.500	75.00	A B	S
27: CuGa08-2854	645.000	80.625	56.25	A B	S
28: CuGa08-623	1,171.000	146.375	78.13	A B	S
29: CuGa08-735	1,344.000	168.000	87.50	B	S
30: CuGa08-910	805.000	100.625	62.50	A B	S
31: CuGa09-3168	1,011.000	126.375	71.88	A B	S
32: JUMBO-2010	1,018.500	127.313	78.13	A B	S
33: BS-92	1,390.000	173.750	90.63	B	S
34: PROGRESO-95	965.000	120.625	68.75	A B	S
35: JG-62	1,436.000	179.500	93.75	B	S
36: WR-315	40.000	5.000	0.00	A	R
37: P-2245	1,664.000	208.000	100.00	B	S

^a Índice de Severidad de la Enfermedad ocasionada por aislamiento *F. oxysporum* f.sp. *ciceris* raza 5.

^b Clasificación de resistencia, acorde a Dunn ($P \leq 0.05$) para porcentajes del DSI; los genotipos se con >50% fueron considerados susceptibles (Marlatt *et al.*, 1996).

^c En la columna de grupos, los promedios están seguidos de letras comunes indican diferencias significativas entre genotipos $P = 0.000004$ por la prueba de rango múltiple de Dunn.

Cuadros 11. Prueba de Kruskal-Wallis bilateral en genotipos de garbanzo frente a FOC razas 0 y 5 respectivamente.

Prueba de Kruskal-Wallis FOC raza 0		Prueba de Kruskal-Wallis FOC raza 5	
K (Valor observado)	110.54	K (Valor observado)	87.39
K (Valor crítico)	50.998	K (Valor crítico)	50.998
GL	36	GL	36
Valor-p	0.000000002	Valor-p	0.000004
Alfa	0.05	Alfa	0.05

Varias formas especiales de *F. oxysporum*, han ido reflejando la especialización de rango de hospederos (Snyder y Hansen, 1940). Las designaciones de formas especiales están destinadas a describir las capacidades fisiológicas de los hongos y no forman parte de la jerarquía taxonómica formal (Kistler, 1997). Los aislamientos con rangos de hospedero iguales o similares son asignados a las forme especiales (f.sp.) y actualmente hay más de 120 f.sp. descritas en *F. oxysporum* (Michielse y Rep, 2009). En las pruebas de patogenicidad, los dos aislamientos monospóricos de *F. oxysporum* f.sp. *ciceris* razas 0 y 5 fueron patógenos en garbanzo, aunque su agresividad varió significativamente. Eso se sabe que *F. oxysporum* muestra variabilidad en muchas características, incluyendo morfología, patogenicidad y rango de hospedador (Gordon y Martyn, 1997; Baayen *et al.*, 2000b; Velarde-Félix *et al.*, 2018). Así mismo, Boix-Ruíz *et al.* (2014) también encontraron diferentes niveles de variación para el rango de patogenicidad y virulencia en *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* razas 2 y 3 y en aislamientos de *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* bajo diferentes temperaturas condiciones. Sin embargo, la temperatura no es el único factor que influye en estos resultados. Basado en los resultados actuales, se sugiere que se deben realizar periódicamente ensayos de patogenicidad con las condiciones óptimas para el desarrollo de la enfermedad, de esta manera poder diagnosticar la patogenicidad y virulencia en los programas de mejoramiento genético del garbanzo.

6.2. Inhibición *in vitro* de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* raza 0 y 5 por cepas bacterianas

El análisis estadístico mostró diferencia significativa en los ensayos de inhibición del crecimiento micelial *in vitro* de FOC raza 0, donde el mayor porcentaje de inhibición se alcanzó con el tratamiento de *Serratia plymuthica* (CPPC55) (58.52%), mientras que el menor porcentaje de inhibición se observó en el tratamiento de *Paenibacillus* sp. (BSP 1.1) (40.91%) (Cuadro 12).

Así mismo, se observó también diferencia significativa en los ensayos de inhibición del crecimiento micelial *in vitro* de FOC raza 5, presentándose la mayor inhibición en el tratamiento de *Serratia plymuthica* (CPPC55) (50.40%) y la menor inhibición en el tratamiento de *Paenibacillus* sp. (BSP 1.1) (43.43%) (Cuadro 13).

Serratia plymuthica (CPPC55) fue la cepa que mayor inhibición ejerció en ambas razas (0 y 5) de FOC. Así mismo, *Paenibacillus* sp. (BSP 1.1) fue la cepa que ejerció la menor inhibición en ambas razas de FOC.

Cuadro 12. Inhibición del crecimiento micelial *in vitro* de FOC raza 0 frente a microorganismos bacterianos.

Tratamientos	Crecimiento del patógeno (cm)	PICR (%) ²
<i>Pseudomonas tolaasii</i> (A46) ¹	3.87 bc	48.83 bc
<i>Pseudomonas tolaasii</i> (P61) ¹	3.96 bc	47.37 bc
<i>Bacillus pumilus</i> (R44) ¹	3.76 c	49.83 b
<i>Paenibacillus</i> sp. (BSP 1.1) ¹	4.43 b	40.91 c
<i>Serratia plymuthica</i> (CPPC55) ¹	3.11 d	58.52 a
<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>ciceris</i> raza 5	7.52 a	0.00 d

¹ confrontaciones (Bacteria contra FOC 0). ² PICR = $(R1-R2) / R1 * 100$. Letras diferentes indicarán diferencias estadísticamente significativas (LSD Fisher; P≤0.05).

Cuadro 13. Inhibición del crecimiento micelial *in vitro* de FOC raza 5 frente a microorganismos bacterianos.

Tratamientos	Crecimiento del patógeno (cm)	PICR (%) ²
<i>Pseudomonas tolaasii</i> (A46) ¹	2.93 c	48.46 a
<i>Pseudomonas tolaasii</i> (P61) ¹	2.90 c	48.91 a
<i>Bacillus pumilus</i> (R44) ¹	2.94 bc	48.09 a
<i>Paenibacillus</i> sp. (BSP 1.1) ¹	3.22 b	43.43 b
<i>Serratia plymuthica</i> (CPPC55) ¹	2.82 c	50.40 a
<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>ciceris</i> raza 5	5.68 a	0.00 c

¹ confrontaciones (Bacteria contra FOC 5). ² PICR = $(R1-R2) / R1 * 100$. Letras diferentes indicarán diferencias estadísticamente significativas (LSD Fisher; P≤0.05).

Con respecto a la evaluación con escala subjetiva visual de Bell *et al.*, (1982) en los ensayos con FOC raza 0, el mejor tratamiento fue con la cepa *Serratia plymuthica* (CPPC55), la cual colonizó el 66% de la superficie del medio crecido con 3 d después de la inoculación, con lo cual se ubicó en el grado 2 de antagonismo de la escala de Bell *et al.* (1982). Mientras que inoculaciones con FOC raza 5 el tratamiento CPPC55*5 lo hizo en un 50% ubicando la escala de nivel 3 (Figura 12). Así mismo, en los ensayos con FOC raza 5, el mejor tratamiento fue también con la cepa *Serratia plymuthica* (CPPC55), la cual colonizó el 50% de la superficie del medio crecido a 3 d después de la inoculación, ubicándose así en el nivel 3 de la escala de Bell *et al.*, (1982) (Figura 13).

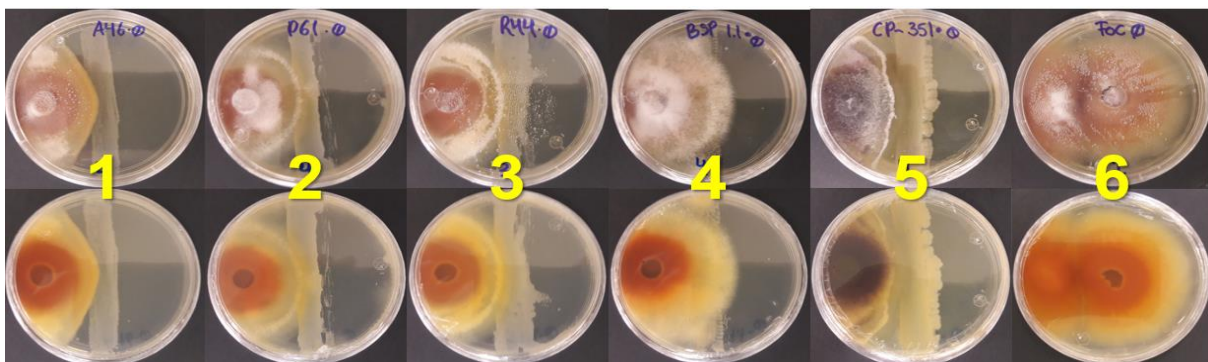


Figura 12. Confrontaciones *in vitro* de BPCV contra FOC raza 0 en cajas Petri con medio PDA-Difco® a 25 °C durante 7 d en total oscuridad en cámara de crecimiento (Friocel®). Donde 1: A46*0; 2: P61*0; 3: R44*0; 4: BSP 1.1*0; 5: CPPC55*0 y 6: FOC raza 0 (Testigo).

Fuente: Jorge Alberto Edeza Urías

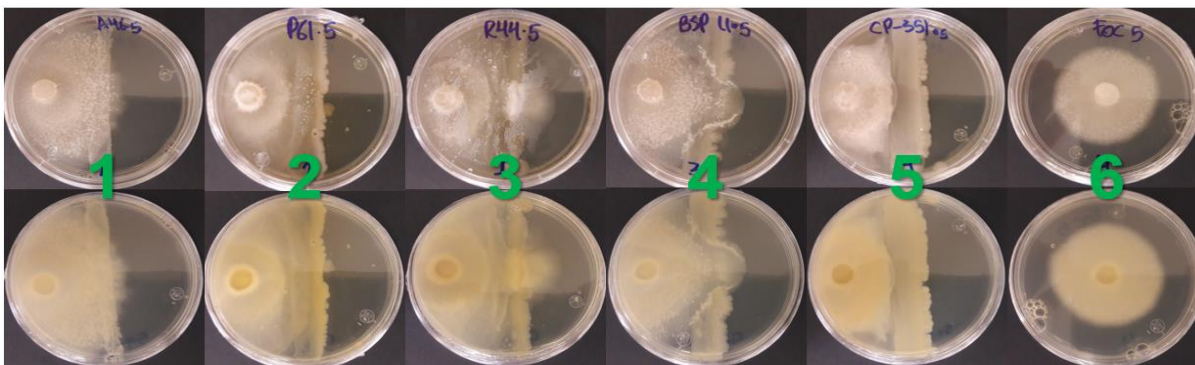


Figura 13. Confrontaciones *in vitro* de BPCV contra FOC raza 5 en cajas Petri con medio PDA-Difco® a 25 °C durante 7 d en total oscuridad en cámara de crecimiento (Friocel®). Donde 1: A46*5; 2: P61*5; 3: R44*5; 4: BSP 1.1*5; 5: CPPC55*5 y 6: FOC raza 5 (Testigo).

Fuente: Jorge Alberto Edeza Urías.

Se observó variación en los porcentajes de inhibición del crecimiento micelial en las pruebas *in vitro* en ambas razas de FOC, lo que puede ser resultado de la variación entre el tipo de metabolitos antifúngicos producidos por las cepas (Eshetu *et al.*, 2015), concordando con los resultados obtenidos por Eshetu *et al.* (2015) en la actividad con *Bacillus* reporta tuvieron efectividad antagónica *in vitro* para control de la pudrición texana.

En el presente estudio la cepa que ejerció el segundo mayor PIRC en FOC raza 0 fue R44 (*Bacillus* sp.) con un valor de 49.83 %, valor que de acuerdo con Gajbhiye *et al.* (2010) es competitivo, ya que en su investigación aislaron e identificaron cepas de *B. subtilis* de la rizosfera de algodón y fueron probadas como agentes biocontrol de *F. oxysporum*, inhibiendo su micelio en más de un 50%. Así mismo, Eshetu *et al.* (2015) reportó a *Bacillus* con efectividad antagónica *in vitro* para control de la pudrición texana.

No obstante, *Bacillus pumilus* utilizado en el presente estudio ejerció inhibiciones de 49.83% en FOC raza 0 y 48.09% en FOC raza 5, lo cual varía conforme a lo encontrado en estudios previos con cepas de *Bacillus*, las cuales inhibieron el crecimiento de otras especies de *Fusarium* en porcentajes entre 55 y 65% (Majaw *et al.*, 2016; Muhammad *et al.*, 2016).

Mediante diversas investigaciones se ha demostrado que con aplicaciones de *Bacillus subtilis* se obtienen excelentes resultados de biocontrol contra diferentes enfermedades que afectan a diversos cultivos. Así, Moradi *et al.* (2012) evaluaron cepas *B. subtilis*, las cuales suprimieron eficazmente la marchitez vascular del garbanzo causada por *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*. Asimismo, trabajaron con aislados *Bacillus* en confrontación con *F. oxysporum* f. sp. *lycoperscisi* y reportaron que el porcentaje de inhibición del patógeno por *Bacillus* osciló entre 45.1 a 63.4%.

Los resultados de la presente investigación exhibieron antagonismo *in vitro* moderado contra FOC raza 0 con 58.52% de inhibición y con FOC raza 5 con 50.40%, esto concuerda con lo reportado por Sadhna y Berndt (1997), donde *Serratia plymuthica* exhibió un antagonismo *in vitro* moderado contra *Fusarium culmorum*.

Estudios demostraron específicamente los metabolitos involucrados en el control de *Fusarium oxysporum* por *Bacillus*, donde se describió la producción de Subtilina por cepas de *B. subtilis*, responsable de la actividad antagonista contra *F. oxysporum* que produce el marchitamiento (Karimi *et al.*, 2012).

6.3. Promoción de crecimiento vegetal por cepas bacterianas en plantas de garbanzo infectadas con *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* (raza 0 y raza 5)

Los análisis estadísticos de los ensayos de promoción de crecimiento vegetal por cepas bacterianas en plantas de garbanzo infectadas con FOC raza 0 mostraron diferencias significativas (Fisher $P \leq 0.05$), los resultados se describen a continuación.

Donde la mayor altura de planta se obtuvo en el tratamiento T5 = CPPC55*0 (*Serratia plymuthica* + FOC raza 0) con 35.65 cm, mientras que el tratamiento con menor altura fue T6 (FOC 0) con 30.93 cm. El mayor grosor del tallo se observó en el T3 = R44*0 (*Bacillus pumilus* + FOC raza 0) con 2.73 mm, mientras que el menor grosor se observó en T6 (FOC 0) con 2.47 mm. En cuanto al contenido de clorofila en hojas (unidades SPAD) se observó el mayor verdor en el T5 = CPPC55*0 (*Serratia plymuthica* + FOC raza 0) con 15.77 unidades SPAD, seguido por T2 y T1 (P61*0 y A46*0; *Pseudomonas*

tolaasii, con 15.02 y 15.01 unidades SPAD respectivamente) mientras que el menor contenido se observó en el T6 (FOC 0) con 11.07 unidades. En cuanto al número de hojas el mayor número de hojas se presentó en el T4 = BSP1.1*0 (*Paenibacillus* sp. + FOC raza 0) con 22 hojas, mientras que los demás tratamientos obtuvieron 20 hojas. Así mismo, el mayor volumen de raíz se obtuvo en T3 = R44*0 (*Bacillus pumilus* + FOC raza 0) con 2.73 cm³, mientras el menor se obtuvo en T6 (FOC 0) con 2.20 cm³. En el peso húmedo de raíz, tallo y total, los mayores contenidos en peso en gramos se observaron en los tratamientos T4 = BSP1.1*0 (*Paenibacillus* sp. + FOC raza 0) con 1.39 g en raíz; T2 = P61*0 (*Pseudomonas tolaasii* + FOC raza 0) con 2.26 g en el tallo y T5 = CPPC55*0 (*Serratia plymuthica* + FOC raza 0) con 3.41 g en peso húmedo total. Mientras que los menores pesos de materia húmeda se observaron de la siguiente manera; T1 = A46*0 (*Pseudomonas tolaasii* + FOC raza 0) con 0.68 g en raíz; T4 = BSP1.11*0 (*Paenibacillus* sp. + FOC raza 0) con 1.83 g en tallo y T6 = (FOC raza 0) con 2.93 g en peso húmedo total. Así mismo en el peso seco mayor de raíz tallo y total fueron T4 = BSP1.1*0 (*Paenibacillus* sp. + FOC raza 0) con 0.35 g en raíz; T5 = CPPC55*0 (*Serratia plymuthica* + FOC raza 0) con 0.50 g en tallo y T4= BSP1.11*0 (*Paenibacillus* sp. + FOC raza 0) con 0.81 g en peso seco total. Mientras que los promedios menores de materia seca de raíz, tallo y total se observaron de la siguiente manera; T1 = A46*0 (*Pseudomonas tolaasii* + FOC raza) con 0.21 g en raíz y de la misma manera este tratamiento en peso seco de tallo obtuvo 0.45 g, mientras que en peso seco total se observó 0.67 g (Cuadro 14) (Figura 14).

Así mismo, se observó también diferencia significativa en los ensayos de promoción de crecimiento vegetal por cepas bacterianas en plantas de garbanzo infectadas con FOC raza 5 mostraron diferencias significativas (Fisher $P \leq 0.05$), los resultados se describen a continuación. Donde la mayor altura de planta se alcanzó con el tratamiento T5 = CPPC55*5 (*Serratia plymuthica* + FOC raza 5) con 34.58 cm, mientras que el tratamiento con menor altura fue T6 (FOC 5) con 29.50 cm. El grosor del tallo mayor se observó en el T1 = A46*5 (*Pseudomonas tolaasii* + FOC raza 5) con 2.68 mm, mientras que el menor grosor se observó en T6 (FOC 5) con 2.33 mm. En cuanto al contenido de clorofila en hojas (unidades SPAD) se observó el mayor verdor en el

T5 = CPPC55*5 (*Serratia plymuthica* + FOC raza 5) con 16.10 unidades SPAD, mientras que el menor contenido se observó en el T6 (FOC 5) con 19.36 unidades. En cuanto al número de hojas el mejor tratamiento se obtuvo de T2 = P61*0 (*Pseudomonas tolaasii* + FOC raza 5) con 22.28 hojas, mientras el menor contenido de hojas se observó en el T6 (FOC raza 5) con 19.36 hojas. En la variable volumen de raíz el mayor tratamiento se obtuvo de T3 = R44*0 (*Bacillus pumilus* + FOC raza 0) con 3.40 cm³, mientras el menor se obtuvo de T5 = CPPC55*5 (*Serratia plymuthica* + FOC raza 5) con 2.43 cm³. En el peso húmedo de raíz, tallo y total, los mayores contenidos en peso en gramos se observaron en los tratamientos T4 = BSP1.11*5 (*Paenibacillus* sp. + FOC raza 5) con 1.73 g en raíz; T2 = P61*5 (*Pseudomonas tolaasii* + FOC raza 5) con 2.81 g en el tallo y T4 = BSP1.1*5 (*Paenibacillus* sp. + FOC raza 5) con 4.24 g en peso húmedo total. Mientras que los menores pesos de materia húmeda se observaron de la siguiente manera; T2 = P61*0 (*Pseudomonas tolaasii* + FOC raza 5) con 1.18 g en raíz; T1 = A46*5 (*Pseudomonas tolaasii* + FOC raza 5) con 2.20 g en tallo y T1 = A46*5 (*Pseudomonas tolaasii* + FOC raza 5) con 3.49 g en peso húmedo total. Así mismo en el peso seco mayor de raíz tallo y total fueron T3 = R44*5 (*Bacillus pumilus* + FOC raza 5) con 0.40 g en raíz; 0.65 g en tallo y 1.05 en peso seco total. Mientras que los promedios menores de materia seca de raíz, tallo y total se observaron de la siguiente manera; T5 = CPPC55*5 (*Serratia plymuthica* + FOC raza 5) con 0.21 g en raíz y de la misma manera este tratamiento en peso seco de tallo obtuvo 0.49 g junto con T4 = BSP1.1*5 (*Paenibacillus* sp. + FOC raza 5) en tallo, mientras que en peso seco total se observó en el T5 = CPPC55*5 (*Serratia plymuthica* + FOC raza 5) con 0.70 g (Cuadro 15) (Figura 14).

De la misma manera se observó también diferencia significativa en los ensayos donde solo se inocularon BPCV en 'Blanco Sinaloa-92' y un testigo sin inoculación bacteriana ni fúngica (Fisher $P \leq 0.05$) excepto por el verdor (SPAD). Donde en inoculaciones bacterianas la mayor altura de planta se alcanzó con el tratamiento T5 = CPPC55 (*Serratia plymuthica*) con 39.60 cm, mientras que el tratamiento con menor altura fue T3 = R44 (*Bacillus pumilus*) con 35.10 cm. El grosor del tallo mayor se observó en el T5 = CPPC55 (*Serratia plymuthica*) con 2.99 mm, mientras que el menor grosor se

observó en T6 (Testigo) con 2.33 mm. En cuanto al contenido de clorofila no hubo diferencia significativa entre tratamientos. En cuanto al número de hojas el mejor tratamiento se obtuvo de T5 = CPPC55 (*Serratia plymuthica*) con 24.56 hojas, mientras el menor contenido de hojas se observó en el T4 = BSP1.1 (*Paenibacillus* sp.) con 21.80 hojas. En la variable volumen de raíz el mayor tratamiento se obtuvo de T3 = R44 (*Bacillus pumilus*) con 4.35 cm³, mientras el menor se obtuvo de T5 = CPPC55 (*Serratia plymuthica*) con 2.68 cm³. En el peso húmedo de raíz, tallo y total, los mayores contenidos en peso en gramos se observaron en los tratamientos T6 = (Testigo) con 1.11 g en raíz; T5 = CPPC55 (*Serratia plymuthica*) con 2.61 g en el tallo y T6 = (Testigo) con 3.39 g en peso húmedo total. Mientras que los menores pesos de materia húmeda se observaron de la siguiente manera; T4 = BSP1.1 (*Paenibacillus* sp.) con 0.57 g en raíz; T2 = P61 (*Pseudomonas tolaasii*) con 1.87 g en tallo y el mismo tratamiento se observó ocasionando un 2.63 g en peso húmedo total. Así mismo en el peso seco mayor de raíz tallo y total fueron T3 = R44 (*Bacillus pumilus*) con 0.31 g en raíz; T5 = CPPC55 (*Serratia plymuthica*) con 0.55 g en tallo y T3 = R44 (*Bacillus pumilus*) 0.79 05 en peso seco total. Mientras que los promedios menores de materia seca de raíz, tallo y total se observaron de la siguiente manera; T5 = CPPC55 (*Serratia plymuthica*) con 0.18 g en raíz; T1 = A46 (*Pseudomonas tolaasii*) con 0.42; mientras que en peso seco total se observó en el T3 = R44 (*Bacillus pumilus*) con 0.68 (Cuadro 16) (Figura 14).

Cuadro 14. Efecto de la inoculación de semillas con los microorganismos bacterianos y *F. oxysporum* f.sp. *ciceris* raza 0 en los parámetros de crecimiento de plantas de garbanzo 'Blanco Sinaloa-92'.

Tratamientos	Altura (cm)	Grosor de tallo (mm)	Clorofila (SPAD)	Número de hojas	Vol. raíz (cm ³)	PH raíz (g)	PH tallo (g)	PH total (g)	PS raíz (g)	PS tallo (g)	PS total (g)
T1= A46*0	31.17 c	2.58 abc	15.01 ab	20 b	2.48 ab	0.68 c	2.15 ab	2.83 b	0.21 d	0.45 a	0.67 c
T2= P61*0	33.63 b	2.53 bc	15.02 ab	20 b	2.42 ab	0.81 bc	2.26 a	3.08 ab	0.22 d	0.49 a	0.70 bc
T3= R44*0	33.30 b	2.73 a	14.46 ab	21 b	2.73 a	0.90 bc	2.18 ab	3.08 ab	0.23 cd	0.46 a	0.69 bc
T4= BSP 1.1*0	32.15 bc	2.61 abc	13.39 ab	22 a	2.65 a	1.39 a	1.83 b	2.21 ab	0.35 a	0.46 a	0.81 a
T5= CPPC55*0	35.65 a	2.67 ab	15.77 a	20 b	2.47 ab	1.28 a	2.14 ab	3.41 a	0.29 b	0.50 a	0.80 a
T6= FOC 0	30.93 c	2.47 c	11.07 b	20 b	2.20 b	0.96 b	2.00 ab	2.93 b	0.28 bc	0.51 a	0.79 ab

PH= Peso Húmedo, PS= Peso Seco, Medias con letras diferentes en cada variable son estadísticamente diferentes y significativas (Fisher; P≤0.05).

Cuadro 15. Efecto de la inoculación de semillas con los microorganismos bacterianos y *F. oxysporum* f.sp. *ciceris* raza 5 en los parámetros de crecimiento de plantas de garbanzo 'Blanco Sinaloa-92'.

Tratamientos	Altura (cm)	Grosor de tallo (mm)	Clorofila (SPAD)	Número de hojas	Vol. raíz (cm ³)	PH raíz (g)	PH tallo (g)	PH total (g)	PS raíz (g)	PS tallo (g)	PS total (g)
T1= A46*5	30.77 bc	2.68 a	14.09 ab	21.57 ab	2.65 bc	1.29 cb	2.20 b	3.49 b	0.34 b	0.61 a	0.95 ab
T2= P61*5	33.53 a	2.60 ab	15.30 ab	22.28 a	3.05 ab	1.18 d	2.81 a	3.99 ab	0.29 bc	0.60 a	0.89 b
T3= R44*5	34.05 a	2.43 cd	15.79 ab	21.83 ab	3.40 a	1.40 bcd	2.71 a	4.12 a	0.40 a	0.65 a	1.05 a
T4= BSP 1.1*5	32.55 ab	2.47 bcd	13.51 ab	20.90 b	2.95 b	1.73 a	2.51 ab	4.24 a	0.24 cd	0.49 b	0.73 c
T5= CPPC55*5	34.58 a	2.52 abc	16.10 a	21.50 ab	2.43 c	1.66 ab	2.46 ab	4.12 a	0.21 d	0.49 b	0.70 c
T6= FOC 5	29.50 c	2.33 d	11.03 b	19.36 c	2.99 b	1.50 abc	2.59 ab	4.08 a	0.24 cd	0.52 b	0.76 c

PH= Peso Húmedo, PS= Peso Seco, Medias con letras diferentes en cada variable son estadísticamente diferentes y significativas (Fisher; P≤0.05).

Cuadro 16. Efecto de la inoculación de semillas con los microorganismos bacterianos en los parámetros de crecimiento de plantas de garbanzo 'Blanco Sinaloa-92'.

Tratamientos	Altura (cm)	Grosor de tallo (mm)	Clorofila (SPAD)	Número de hojas	Vol. raíz (cm ³)	PH raíz (g)	PH tallo (g)	PH total (g)	PS raíz (g)	PS tallo (g)	PS total (g)
T1= A46	36.18 bc	2.88 ab	31.14 a	24.10 ab	4.16 a	0.94 ab	1.97 bc	2.91 bc	0.26 ab	0.42 c	0.68 b
T2= P61	35.87 bc	2.78 bc	32.95 a	22.66 bcd	3.53 b	0.75 bc	1.87 c	2.63 c	0.26 ab	0.45 c	0.72 ab
T3= R44	35.10 c	2.79 bc	31.11 a	23.76 abc	4.35 a	1.10 a	2.14 bc	3.25 ab	0.31 a	0.47 bc	0.79 a
T4= BSP 1.1	36.05 bc	2.67 cd	29.68 a	21.80 d	3.46 b	0.57 c	2.08 bc	2.66 c	0.20 c	0.52 ab	0.73 ab
T5= CPPC55	39.60 a	2.99 a	30.98 a	24.56 a	2.68 c	0.71 c	2.61 a	3.32 ab	0.18 c	0.55 a	0.74 ab
T6= Testigo	37.71 ab	2.64 d	27.48 a	22.36 cd	2.86 c	1.11 a	2.28 ab	3.39 a	0.21 bc	0.46 bc	0.68 b

PH= Peso Húmedo, PS= Peso Seco, Medias con letras diferentes en cada variable son estadísticamente diferentes y significativas (Fisher; P≤0.05).

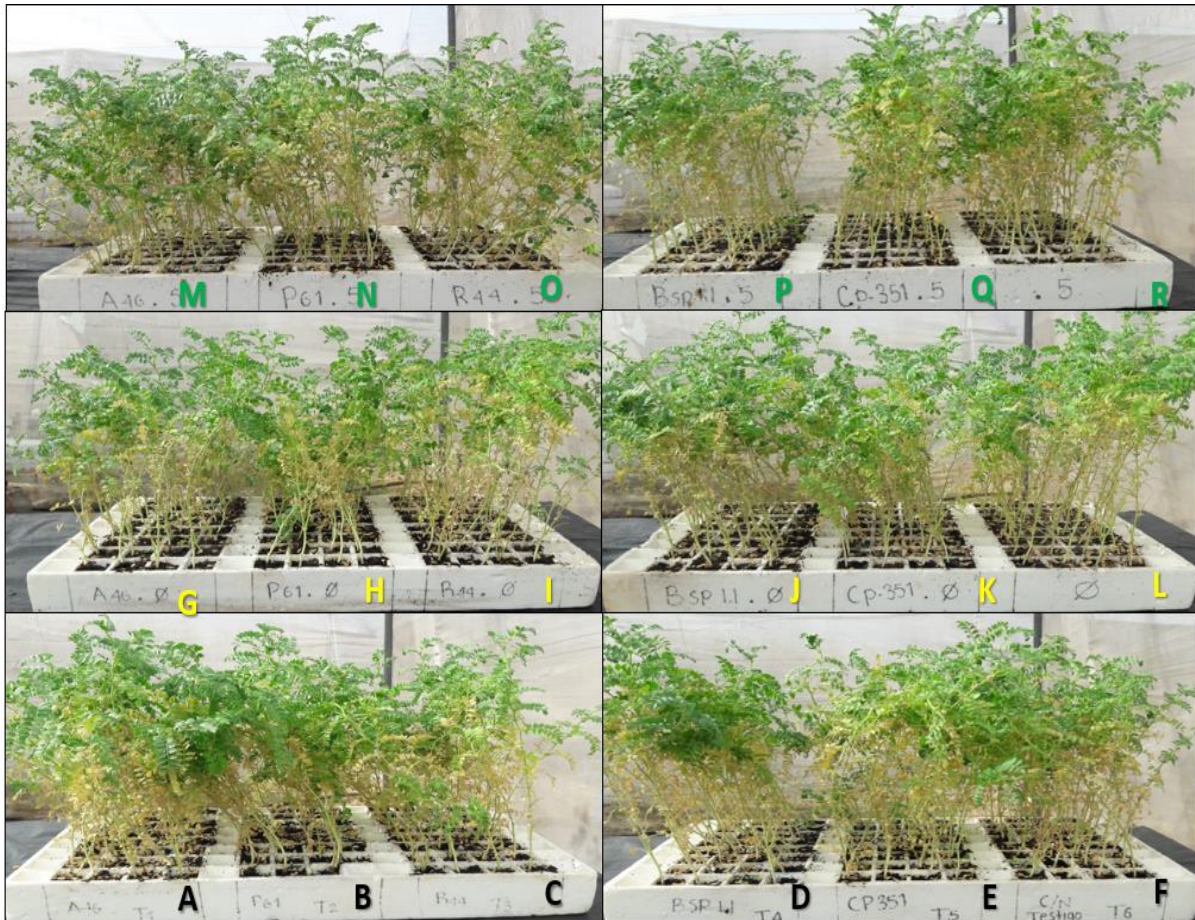


Figura 14. Plantas de garbanzo 'Blanco Sinaloa-92' a partir de los 75 ddi sometidas a inoculaciones en semilla con BPCV: A) A46, B) P61, C) R44, D) BSP 1.1, E) CPPC55, F) Steiner 10%. Confrontaciones con BPCV + FOC raza 0: G) A46*0, H) P61*0, I) R44*0, J) BSP 1.1*0, K) CPPC55*0 y L) FOC 0. Inoculaciones con BPCV + FOC raza 5: M) A46*5, N) P61*5, O) R44*5, P) BSP 1.1*5, Q) CPPC55*5 y R) FOC 5.

Fuente: Jorge Alberto Edeza Urías.

Se han realizado investigaciones con diversos microorganismos rizosféricos para el biocontrol de *F. oxysporum* (Eshetu *et al.*, 2015). Identificándose algunos antagonistas con efecto de supresión en FOC y que mejoran el crecimiento del garbanzo como bacterias del género *Bacillus* y *Pseudomonas* (Karimi *et al.*, 2012; Moradi *et al.*, 2012). Como en el caso ocurrido por A46 y P61 del presente estudio. Cuyos principales mecanismos de control biológico son la competencia por nutrientes y espacio, antibiosis, parasitismo, producción de compuestos inhibidores e inducción de resistencia sistémica en la planta. Pues *Bacillus* y *Pseudomonas* producen metabolitos antifúngicos como iturinas, acitracina, bacillina, subtenolin, ácido cianhídrico, entre otros

(Eshetu *et al.*, 2015; Ruiz *et al.*, 2014). El parasitismo de estos dos agentes de biocontrol, es inducido por la producción de enzimas de degradación de la pared celular, como: celulasas, quitinasas, glucanasas y proteasas (Singh y Singh, 2013). Sin embargo, diversos investigadores señalan que la competencia por espacio y nutrientes es una de las principales formas de ejercer el biocontrol sobre los patógenos del suelo (Ezziyyani *et al.*, 2004b; Oliva-Ortíz *et al.*, 2017). Por otra parte, el antagonismo ejercido por ciertas cepas de *Bacillus* es por medio de antibiosis, competencia por espacio y nutrientes e inducción de resistencia sistémica; además, producen algunas enzimas que degradan la pared celular y que están involucradas en la actividad antagonista contra fitopatógenos, así como la producción de compuestos orgánicos volátiles, fitoalexinas y sideróforos (Singh y Singh, 2013).

Asimismo, estos organismos son considerados como promotores del crecimiento vegetal y contribuyen a la producción de sustancias como fitohormonas, metabolitos secundarios, fitoalexinas y sideróforos (Singh y Singh, 2013). Pueden favorecer el crecimiento de la planta por medio de la fijación de nitrógeno, solubilización y absorción de fósforo y otros nutrientes, incrementan el desarrollo de la raíz, estimulan la germinación, emergencia de plántulas e incrementan la tolerancia al estrés (Singh y Singh, 2013).

Los resultados de verdor y peso seco ejercido por *Bacillus pumilus* fueron similares a lo encontrado por Oliva-Ortíz *et al.*, (2017), esto puede ser debido a que diversas sustancias que promueven el crecimiento vegetal son producidas por ciertos microorganismos rizosféricos, entre ellos, bacterias del género *Bacillus* las cuales pueden influir directa o indirectamente sobre el metabolismo y fisiología de la planta según Bhattacharyya y Jha (2012), esto mediante la síntesis y excreción de sustancias fitoestimuladoras, como fitohormonas y compuestos orgánicos volátiles que refuerzan la inmunidad vegetal (Ahmad *et al.*, 2008; Ambreen y Shahida, 2010).

De acuerdo con González *et al.*, (2017) la bacteria *Serratia plymuthica* promovió mayor altura, peso seco de raíz y peso seco aéreo en el cultivo de chile poblano, lo que se

relaciona con el efecto promotor de crecimiento vegetal observado en el cultivar garbanzo Blanco Sinaloa-92 en altura, grosor, verdor, número de hojas, peso seco aéreo y, peso húmedo aéreo (Cuadro 16). A su vez, *Serratia plymuthica* ejerció efecto inhibitorio en inoculaciones con FOC raza 0, presentando mayor altura, verdor, peso húmedo de raíz, peso húmedo total y peso seco total. No obstante, *Serratia plymuthica* en inoculaciones con FOC raza 5 demostró efecto inhibitorio y promotor de crecimiento vegetal en altura, verdor y peso húmedo total. Lo que estimula el uso de *Serratia plymuthica* como agente de biocontrol de *Fusarium oxyspum* f. sp. *ciceris* razas 0 y 5 y promotora de crecimiento vegetal en el cultivo de garbanzo.

De Vleesschauwer y Hofte (2007) describen a *Serratia plymuthica* como una bacteria ubicua Gram negativa que se ha aislado en la rizósfera de plantas de todo el mundo, ya sea en vida libre o como organismo endófito. Otros autores como Muller *et al.*, (2009) mencionan que tiene potencial no sólo para suprimir los agentes patógenos del suelo, sino también para estimular el crecimiento vegetal mediante la exudación de sideróforos, producción de ácido indol acético, creación de películas protectoras de la rizósfera y biosíntesis de quitinasas y proteasas. Acorde al fenómeno de promoción de crecimiento y de inhibición de la severidad de FOC razas 0 y 5 en el presente estudio, se resalta lo estudiado por Chet *et al.*, (1990), mismos que mencionan que un agente de biocontrol eficiente puede afectar a los patógenos por una combinación de mecanismos, lo cual puede atribuirse a lo ocurrido en nuestro estudio.

Lo anterior puede deberse a mecanismos antifúngicos, que según Kalbe *et al.*, (1996), la bacteria del género *Serratia* en la rizosfera incluyen producción de antibióticos (antibiosis), producción de sideróforos (competencia), producción de enzimas lítico como quitinasa y β -1,3-glucanasa y producción de cianuro (inducción de resistencia en la planta). Kim *et al.* (2008) reportaron que esta rizobacteria tiene la capacidad de disminuir la incidencia de patógenos como *P. capsici*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum* y *F. solani*, específicamente en *C. annuum*.

En un estudio similar realizado por Kalbe *et al.*, (1996), donde evaluaron el efecto promotor de crecimiento inducido por bacterias de género *Serratia* se observó que todas las cepas estudiadas pudieron producir auxinas, esto puede apoyar su función beneficiosa de rizobacterias en los pelos radicuales de las raíces debido a que las auxinas estimulan especialmente el crecimiento de las raíces como lo observado en nuestra investigación, donde la bacteria *Serratia plymuthica* promovió parámetros de crecimiento vegetal y ejerció biocontrol contra FOC razas 0 y 5.

Esto apoya la salud de las plantas según Kalbe *et al.*, (1996), que en su estudio las bacterias fueron aisladas de la rizosfera de varias plantas, observando que éstas son más activas en la producción de auxinas que las del suelo libre de raíces. Lo que estimula investigaciones que involucren la búsqueda de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal en el cultivo de garbanzo sinaloense.

6.4. Control de la Fusariosis vascular en el cultivar 'Blanco Sinaloa-92' por cepas bacterianas

El ensayo con las plantas incoculadas con FOC raza 0 mostró diferencia entre tratamientos ($H = 66.38$; $gl = 5$; $P \leq 0.00000000000006$) donde el menor DSI se observó en el tratamiento T5 = CPPC55*0 (*Serratia plymuthica* + FOC raza 0) con DSI de 32.50 %, mientras que el mayor DSI se observó en T6 = (FOC raza 0) con 64.17 % (Cuadro 17).

Así mismo, también se observó diferencia significativa entre los tratamientos del ensayo con plantas inoculadas con FOC raza 5 ($H = 48.77$; $gl = 5$; $P \leq 0.000000002$), donde también el tratamiento T5 = CPPC55*5 (*Serratia plymuthica* + FOC raza 5) fue el que presentó el menor DSI con 40%, mientras que el mayor DSI se observó en T6 (FOC raza 5) con 63.00 % (Cuadro 18). Si bien *Serratia plymuthica* fue la cepa que mejor control ejerció en ambos ensayos, el análisis estadístico mostró diferencias significativas entre los dos ensayos de patogenicidad de los aislamientos en el cultivar 'Blanco Sinaloa-92' con base en Índice de Severidad de la Enfermedad (DSI) a 75 DDI, ejerciendo *Serratia plymuthica* un mejor control sobre FOC raza 0 (DSI de 32.50%)

que sobre FOC raza 5 (DSI de 40%). Los microorganismos fueron re-aislados con éxito de las plantas inoculadas de sus respectivos ensayos con FOC raza 0 y 5, completando los postulados de Köch, en ambos ensayos no se observó daño en los tratamientos testigo.

Cuadro 17. Antagonismo de cepas bacterianas en la patogenicidad *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris* raza 0 inoculado en semilla de 'Blanco Sinaloa-92'.

Tratamiento	Suma de rangos	Media de rangos	DSI (%) ^a	Grupos ^c
T1 = A46*0	3,150.00	103.5	57.50	BC
T2 = P61*0	2,545.00	84.83	51.67	B
T3 = R44*0	2,705.00	90.18	55.33	BC
T4 = BSP 1.1*0	3,150.00	103.5	57.50	BC
T5 = CPPC55*0	1,144.5	38.15	32.50	A
T6 = FOC raza 0	3,685.5	122.9	64.17	C

^c En la columna de grupos, los promedios están seguidos de letras comunes indican diferencias significativas entre tratamientos P = 0.0000000000006 por la prueba de rango múltiple de Dunn.

Cuadro 18. Antagonismo de cepas bacterianas en la patogenicidad *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris* raza 5 inoculado en semilla de 'Blanco Sinaloa-92'.

Tratamiento	Suma de rangos	Media de rangos	DSI (%) ^a	Grupos ^c
T1 = A46*5	2,391.00	79.70	48.33	AB
T2 = P61*5	2,778.00	92.60	52.50	B
T3 = R44*5	2,622.00	87.40	50.83	B
T4 = BSP 1.1*5	3,021.00	100.7	55.00	BC
T5 = CPPC55*5	1,713.50	57.12	40.00	A
T6 = FOC raza 5	3,764.50	125.5	63.33	C

^c En la columna de grupos, los promedios están seguidos de letras comunes indican diferencias significativas entre tratamientos P = 0.000000002 por la prueba de rango múltiple de Dunn.

Landa *et al.*, (2001) y Hervás *et al.*, (1997) mostraron que los aislamientos de *Pseudomonas*, *Bacillus* y *Peanibacillus* aislados de la rizosfera de garbanzos fueron eficaces para suprimir la fusariosis vascular del garbanzo en condiciones controladas. Lo que concuerda con lo encontrado en el presente estudio donde en los ensayos de inoculaciones bacterianas con FOC raza 0 se obtuvo un DSI de 57.5 (A46) y 51.67% (P61) en inoculaciones con *Pseudomonas tolaasi*, 55.33% con *Bacillus pumilus* y 57.5% con *Peanibacillus* sp. Mientras que con FOC raza 5 se observó severidad de la

enfermedad de 48.33 (A46) y 52.5% (P61) en inoculaciones con *Pseudomonas tolaasi*, 50.83% con *Bacillus pumilus* y 55% con *Peanibacillus* sp.

En un ensayo realizado por Palmieri *et al.*, (2016), estudiaron la mezcla de aislados bacterianos seleccionados de la microflora natural en la rizosfera del garbanzo, del cual seleccionaron rizobacterias beneficiosas en base a su compatibilidad mutua cuando se cultivan en mezcla, evaluaron la actividad antagonista contra *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* raza 0 y *F. solani* f. sp. *pisi* y la capacidad de promoción del crecimiento en garbanzos, donde sus resultados mencionan que los aislamientos mas promisorios se obtuvieron mediante el uso de un consorcio que consiste en una mezcla de cuatro aislados bacterianos: *Serratia marcescens*, *Pseudomonas fluorescens*, *Rahnella aquatilis* y *Bacillus amyloliquefaciens*, concluyendo que este consorcio microbiano controló eficientemente ambos patógenos de *Fusarium* spp., con una eficacia consistentemente más alta en comparación con las de las bacterias aplicadas individualmente. Cabe mencionar que en nuestro estudio no se experimento con combinaciones bacterianas, ni fueron seleccionadas de la microflora natural en la rizosfera del garbanzo como lo realizado por Palmieri *et al.*, (2016), no obstante, se propone realizar este tipo de estudios con combinaciones bacterianas para el control de la fusariosis vascular del garbanzo, dado por el interés de estos ensayos para la búsqueda de alternativas de biocontrol a enfermedades fungosas en el cultivo de garbanzo.

6.5. Concentración de NPK en el cultivar 'Blanco Sinaloa-92' inoculado con bacterias promotoras del crecimiento vegetal.

Después de 75 DDI, las plantas fueron evaluadas mediante análisis de macronutrientes (N, P y K). Los contenidos de dichos análisis en la presente investigación revelan una influencia positiva mostrando diferencias significativas ($P \leq 0.05$) (Cuadro 19).

El contenido de nitrógeno en planta se observó entre 4.11 a 9.74 mg planta⁻¹, por lo que, fue estadísticamente mejor el tratamiento T1 (A46: *Pseudomonas tolaasi*), mientras que el valor más bajo lo obtuvo el tratamiento T12 (FOC raza 0). También se observa que los tratamientos que contienen el FOC raza 0, excepto el tratamiento T11

(CPPC55: + FOC raza 0), mostraron menor contenido de nitrógeno por planta en comparación con el tratamiento T1 (A46: *Pseudomonas tolaasii*), lo que refleja una disminución de la absorción de nitrógeno por efecto del FOC raza 0. En lo que respecta a los tratamientos inoculados con FOC raza 5, solamente los tratamientos T14 (P61: *Pseudomonas tolaasii* + FOC raza 5), T15 (R44: *Bacillus pumilus* + FOC raza 5) y T16 (BSP1.1: *Paenibacillus* sp. + FOC raza) mostraron diferencias significativamente menores comparado con el tratamiento T1 (A46: *Pseudomonas tolaasii*). También se observa que los tratamientos inoculados con la cepa bacteriana T4 (BSP1.1: *Paenibacillus* sp.), T16 (BSP1.1: *Paenibacillus* sp. + FOC raza 5) mostraron menor contenido de nitrógeno en comparación con el resto de los tratamientos inoculados con cepas bacterianas.

El contenido de fósforo en tejido vegetal, en los 18 tratamientos se observa que existen diferencias dignificativa entre ellos ($P \leq 0.05$). Los valores se observaron entre $1.78 \text{ mg planta}^{-1}$ obtenido en el T12 (FOC raza 0), hasta $3.05 \text{ mg planta}^{-1}$ que se observó en el T1 (A46: *Pseudomonas tolaasii*) respectivamente. Los tratamientos inoculados con cepas bacterianas T1 (A46: *Pseudomonas tolaasii*), T2 (P61: *Pseudomonas tolaasii*), T3 (R44: *Bacillus pumilus*) y T4 (BSP1.1: *Paenibacillus* sp.), en ausencia del patógeno fúngico, fueron estadísticamente mayores que todos los tratamientos inoculados con el FOC raza 0, siendo: T7 (A46: *Pseudomonas tolaasii* + FOC raza 0), T8 (P61: *Pseudomonas tolaasii* + FOC raza 0), T9 (R44: *Bacillus pumilus* + FOC raza 0), T10 (BSP1.1: *Paenibacillus* sp. + FOC raza 0), T11 (CPPC55: *Serratia plymuthica* + FOC raza 0) y T12 (FOC raza 0), sin embargo, de los tratamientos inoculados con FOC raza 5, solamente T17 y T18 fueron estadísticamente menor en el contenido de fósforo, respecto a los tratamientos T1 (A46: *Pseudomonas tolaasii*), T2 (P61: *Pseudomonas tolaasii*), T3 (R44: *Bacillus pumilus*) y T4 (BSP1.1: *Paenibacillus* sp.). Estos resultados reflejan una disminución en la asimilación de fósforo por la planta, cuando está presente el FOC raza 0 y en menor grado cuando está presente FOC raza 5. Además, las cepas bacterianas A46, P61, R44 y BSP1.1 fueron estadísticamente diferentes al tratamiento T6 (Steiner 10%). Que corresponde a las plantas en ausencia de

patógeno y de inóculo bacteriano, lo que indica un efecto positivo en la absorción de fósforo por las plantas cuando fueron inoculadas con BPCV.

En el contenido de potasio también se mostraró diferencias estadísticas significativas ($P \leq 0.05$) entre los tratamientos. Los valores más altos fueron observados en plantas tratadas con T1 (A46: *Pseudomonas tolaasii*), T13 (A46: *Pseudomonas tolaasii* + FOC raza 5), T11 (CPPC55: *Serratia plymuthica* + FOC raza 0) y T7 (A46: *Pseudomonas tolaasii* + FOC raza 0) respectivamente, cuyos valores en promedio fueron de 15.13, 13.74, 13.69 y 13.57 mg planta⁻¹. El contenido más bajo de potasio en planta fue encontrado en T12 (FOC raza 0) con 9.78 mg planta⁻¹. Los tratamientos inoculados con cepas bacterianas; T1 (A46: *Pseudomonas tolaasii*), T2 (P61: *Pseudomonas tolaasii*), T3 (R44: *Bacillus pumilus*) y T4 (BSP1.1: *Paenibacillus* sp.), fueron estadísticamente mayores que todos los tratamientos inoculados con bacterias y FOC raza 0, excepto el tratamiento T5 (CPPC55: *Serratia plymuthica*) el cual fue menor a T11 (CPPC55: *Serratia plymuthica* + FOC raza 0). De los tratamientos inoculados con FOC raza 5, solamente T13 (A46: *Pseudomonas tolaasii* + FOC raza 5) fue mayor estadísticamente en contenido de potasio en comparación con el resto de tratamientos inoculados con FOC raza 5. Por lo anterior se observa que los tratamientos inoculados con FOC raza 0, afectaron en mayor medida la absorción de nitrógeno, fósforo y potasio por las plantas de garbanzo en comparación con las plantas inoculadas con FOC raza 5. Así mismo, los tratamientos inoculados con BPCV T1 (A46: *Pseudomonas tolaasii*), T2 (P61: *Pseudomonas tolaasii*), T3 (R44: *Bacillus pumilus*) y T4 (BSP1.1: *Paenibacillus* sp.) excepto T5 (CPPC55: *Serratia plymuthica*) promovieron la mayor asimilación de potasio en comparación con el tratamiento sin bacteria y sin FOC (Steiner 10%). Todas las plantas tratadas con BPCV permitieron mayor acumulación de los elementos minerales comparado con los tratamientos testigos, excepto T4 (BSP1.1: *Paenibacillus* sp.) el cual fue menor a T6 (Steiner 10%). Así mismo, las plantas tratadas solo con BPCV permitieron mayor acumulación de los elementos minerales que las inoculadas con FOC raza 0 y 5 y tratadas con BPCV, esto debido probablemente porque *Fusarium* ocasiona taponamiento en los haces vasculares de la planta, lo que impide la absorción óptima de agua y nutrientes (Delgado-Ortíz *et al.*,

2016). Estudios se han reportado que con BPCV permiten mayor absorción de nutrimentos, principalmente de fósforo y potasio (Kim *et al.*, 2010; Yu *et al.*, 2012; Ashrafi *et al.*, 2014), además de estos Lee *et al.* (2015) observo incrementos en nitrógeno, magnesio y calcio. En un estudio similar realizado por Tanwar y Aggarwal (2014), al inocular BPCV (*Pseudomonas fluorescens*) en pimiento Bell pepper encontraron mayor contenido de fósforo (0.16-0.25 %) y nitrógeno (1.84-3.06 %) en planta, sus incrementos fueron de hasta 2.1 veces más en fósforo y hasta 2.5 veces más en nitrógeno comparado al testigo (0.12 % P y 1.24 % N).

Cuadro 19. Contenido de N P K en 'Blanco Sinaloa-92' sometido a confrontaciones *in vivo* con BPCV, FOC raza 0 y 5.

Tratamiento	Contenido (mg Planta ⁻¹)		
	N	P	K
T1 = A46	9.74 a	3.05 a	15.13 a
T2 = P61	8.43 abc	2.41 b	12.54 bcd
T3 = R44	9.29 ab	2.93 a	12.37 bcd
T4 = BSP 1.1	6.80 def	2.44 b	11.83 de
T5 = CPPC55	9.70 ab	2.11 cdef	13.06 bcd
T6 = Steiner 10%	8.72 abc	2.06 defg	12.27 bcd
T7 = A46*0	6.57 ef	1.98 efg	13.57 abc
T8 = P61*0	6.23 efg	2.05 efg	12.34 bcd
T9 = R44*0	5.02 gh	1.88 fg	10.58 efg
T10 = BSP 1.1*0	5.85 fg	2.00 efg	10.22 fg
T11 = CPPC55*0	8.38 abc	1.79 g	13.69 ab
T12 = FOC raza 0	4.11 h	1.78 g	9.78 g
T13 = A46*5	9.68 ab	2.34 bcd	13.74 ab
T14 = P61*5	7.58 cde	2.40 bc	11.89 de
T15 = R44*5	8.22 bcd	2.49 b	11.67 def
T16 = BSP 1.1*5	5.93 fg	2.21 bcde	11.95 de
T17 = CPPC55*5	9.13 ab	1.90 fg	12.06 cde
T18 = FOC raza 5	8.30 abcd	1.92 efg	10.14 fg

Letras diferentes indicarán diferencias estadísticamente significativas (LSD Fisher; P≤0.05).

Nuestros resultados experimentales *in vitro* e *in vivo* concuerdan con lo reportado por Noumavo *et al.*, (2016), quienes mencionan que la colonización de la semilla durante la fase de impregnación o inmersión tiene un efecto significativo sobre el crecimiento de la planta, debido a que los microorganismos que se establecen sobre las semillas durante la germinación pueden crecer y colonizar las raíces en toda su extensión.

El empleo de las BPCV como biofertilizantes son una opción sustentable para favorecer la disponibilidad de los elementos nutritivos, el crecimiento de las plantas y los rendimientos (Zahid *et al.*, 2015). Lo anterior es corroborado por Jha y Saraf, (2015) al demostrar que las BPCV representan alrededor del 2 al 5 % de las bacterias rizosféricas.

Dentro de nuestro estudio se observaron características de inhibición *in vitro* a *Fusarium* spp. y promoción de crecimiento vegetal en el cultivo de garbanzo inoculadas con FOC razas 0 y 5, donde las BPCV que resaltaron fueron bacterias del genero *Serratia* (CPPC55: Inhibió a FOC razas 0 y 5 *in vitro*, promovió el desarrollo vegetal en cultivar Blanco Sinaloa-92), *Bacillus* (R44: promovió el desarrollo vegetal Blanco Sinaloa-92) y *Pseudomonas* (A46: en absorción de nutrientes primarios: Nitrógeno (9.74 mg planta⁻¹), Fósforo (3.05 mg planta⁻¹) y Potasio (15.13 mg planta⁻¹) en Blanco Sinaloa-92), mismas que conforman el género de bacterias reportadas como BPCV según Ahemad y Kibret, (2013), quienes reportan las siguientes: *Agrobacterium*, *Arthrobacter*, *Azoarcus*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Caulobacter*, *Chromobacterium*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Klebsiella*, *Micrococcous*, *Pantoea*, *Pseudomonas*, *Rhizobium* y *Serratia*.

Varios autores han encontrado que las BPCV ejercen efectos benéficos en las plantas a través de mecanismos directos e indirectos, o una combinación de ambos (Aguado-Santacruz, *et al.*, 2012; Parray *et al.*, 2016). Donde los mecanismos directos ocurren cuando las bacterias sintetizan metabolitos que facilitan a las plantas, o bien cuando éstas incrementan la disponibilidad de diferentes elementos nutritivos, requeridos para su metabolismo y para mejorar su proceso de nutrición (Gómez-Luna *et al.*, 2012).

Dentro de los mecanismos directos destacan: la fijación de nitrógeno (N); la síntesis de fitohormonas, vitaminas y enzimas, la solubilización de fósforo (P) inorgánico y la mineralización de fosfato orgánico (Esquivel-Cote *et al.*, 2013).

Mientras que, los mecanismos indirectos se caracterizan porque las BPCV ocasionan la disminución o eliminación de microorganismos fitopatógenos, ya sea a través de la producción de sustancias antimicrobianas o de antibióticos, de enzimas líticas o una combinación de éstas; por competencia de nutrimentos o de espacio en el nicho ecológico, así como por estimulación de las defensas naturales de la planta mediante mecanismos de biocontrol. Así como hidrólisis de moléculas como el ácido fusárico generado por éstos para liberar 1-3-glucanasa, con la cual se inhibe el desarrollo de la pared fúngica de hongos como *Phyitium ultimum* y *Rhizoctonia solani* (Esquivel-Cote *et al.*, 2013).

VII. CONCLUSIONES

Patogenicidad de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* razas 0 y 5 en genotipos de garbanzo

Se observó variación en la patogenicidad de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* (razas 0 y 5) sobre los genotipos de garbanzo, presentando 100% de severidad de la enfermedad en los genotipos 6, 8, 20, 21, 22, 25, 31 y 37 inoculados con la raza 0. Mientras que en inoculaciones con FOC raza 5 el 100% de severidad se mostró en los genotipos 1, 14 y 37 que causaron los primeros síntomas de marchitamiento observados a 35 DDI. FOC 0 presentó mayor agresividad con 85.73% de severidad y 78.46% en el ensayo con FOC raza 5. Con lo anterior se observa variación en la respuesta de los genotipos con base en la raza de FOC.

Inhibición *in vitro* de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* raza 0 y 5 por cepas bacterianas

El potencial de biocontrol ejercido por las bacterias *in vitro* fue observado en las confrontaciones con ambos aislamientos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* (razas 0 y 5). *Serratia plymuthica* fue la cepa con mayor inhibición en ambas razas, inhibiendo 58.52% el micelio de la raza 0 y colonizando el 66% de la superficie del medio de cultivo. Así mismo, *Serratia plymuthica* ejerció un 50.40% de inhibición del micelio sobre FOC raza 5, y colonizó 50% la superficie del medio de cultivo. Con base en los resultados, la cepa CPPC55 (*Serratia plymuthica*) representa una alternativa de control de la fusariosis vascular del garbanzo.

Los resultados de inhibición de crecimiento micelial *in vitro* concuerdan con los resultados observados en planta, donde la cepa CPPC55 (*Serratia plymuthica*) también fue la que mayor control ejerció sobre FOC raza 0 y 5. Lo anterior sugiere que los ensayos *in vitro* pueden estimar lo que ocurre en planta.

Promoción de crecimiento vegetal por cepas bacterianas en plantas de garbanzo infectadas con *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* (raza 0 y raza 5)

La cepa CPPC55 (*Serratia plymuthica*) promovió la mayor altura y peso húmedo en las plantas de garbanzo inoculadas con FOC raza 0 y 5. Así mismo, en los tratamientos

con la cepa CPPC55 (*Serratia plymuthica*) se observaron las plantas con mayor contenido de clorofila (verdor) en ambos ensayos (FOC raza 0 y 5).

Así mismo, el mayor volumen de raíz en ambos ensayos se obtuvo en los tratamientos inoculados con la cepa R44 (*Bacillus pumilus*), siendo el volumen radical una variable importante en las etapas tempranas de cultivo, por lo que esta cepa es viable para ser utilizada para la promoción de crecimiento radicular. No obstante, R44 (*Bacillus pumilus*) con FOC raza 0 presento mayor peso seco total, por lo que esta cepa es viable para mayor obtención de materia seca en comparación con la inoculada con FOC raza 5.

En la promoción de crecimiento vegetal, únicamente por inoculaciones bacterianas, CPPC55 (*Serratia plymuthica*) promovio mayor altura, grosor, verdor, numero de hojas, peso húmedo y seco de tallo. Mientras que A46 (*Pseudomonas tolaasi*) promovio el mayor volumen de raíz.

Control de la Fusariosis vascular en el cultivar ‘Blanco Sinaloa-92’ por cepas bacterianas

La cepa CPPC55 (*Serratia plymuthica*) ejerció el mejor control sobre FOC raza 0, presentando un 32.5% de severidad en el cultivar, mientras que el testigo presentó 64.17%. De la misma manera en confrontaciones con FOC raza 5 *Serratia plymuthica* presentó el mayor control, observándose un DSI de 40%, y el testigo con 63% de severidad de la enfermedad.

En ambos casos *Serratia plymuthica* fue la cepa que ejercio el mejor control de la fusariosis vascular en las plantas de garbanzo. Con base en los resultados, la cepa CPPC55 (*Serratia plymuthica*) representa una alternativa de control de la fusariosis vascular del garbanzo.

Concentración de NPK en el cultivar ‘Blanco Sinaloa-92’ inoculado con bacterias promotoras del crecimiento vegetal

Los mayores contenidos de nitrógeno, fósforo y potasio en tejido vegetal se observaron en los tratamientos de plantas de garbanzo inoculadas solo con la cepa A46 (*Pseudomonas tolaasi*).

Así mismo, en ambos tratamientos de plantas de garbanzo inoculadas con FOC raza 0 y 5, se obtuvieron las mejores concentraciones de nitrógeno en los tratamientos con las cepas A46 (*Pseudomonas tolaasii*) y CPPC55 (*Serratia plymutica*). En el caso de concentración de fósforo las mayores concentraciones de las plantas inoculadas con FOC raza 0 se presentaron en los tratamientos con P61 (*Pseudomonas tolaasii*), en el caso de las concentraciones de potasio en plantas inoculadas con FOC raza 0 el mayor contenido se observó con CPPC55 (*Serratia plymutica*). Así, las mayores concentraciones de fósforo y potasio en plantas inoculadas con FOC raza 5 se presentaron en los tratamientos con R44 (*Bacillus pumilis*) y A46 (*Pseudomonas tolaasii*) respectivamente.

Con base en los resultados, se propone el uso en combinación de los microorganismos bacterianos *Serratia plymuthica* y *Pseudomonas tolaasii* para ser estudiados en conjunto contra FOC por la actividad inhibitoria *in vivo* e *in vitro* aunado a la absorción de nitrógeno, fósforo y potasio en el cultivo de garbanzo.

XIII. LITERATURA CITADA

- A.O.A.C. 1999. Official methods of analysis. 16th. Ed. AOAC International. MD, USA. 1141 pp.
- Addinsoft, 2019. XLSTAT statistical and data analysis solution. Boston, USA. <https://www.xlstat.com>.
- Agarwal, G., Jhanwar, S., Priya, P., Singh, V. K., Saxena, M. S., Parida, S. K., Garg, R. y Tyagi, A. K. y Jain, M. 2012. Comparative Analysis of Kabuli Chickpea Transcriptome with Desi and Wild Chickpea Provides a Rich Resource for Development of Functional Markers. *PLoS ONE*, 7, e52443.
- Agrios, G. 2005. Plant Pathology. 5 ed. Nueva York. Elsevier Academic Press. 922 p.
- Aguado-Santacruz, G. A., Moreno-Gómez, B., Jiménez-Francisco, B., García-Moya, E. y Preciado-Ortiz, R. E. 2012. Impacto de los sideróforos micro-bianos y fitosideróforos en la asimilación de hierro por las plantas: Una síntesis. *Revista Fito-tecnia Mexicana*, 35(1), 9-21.
- Ahemad, M. y Kibret, M. 2013. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. *Journal of King Saud University - Science*, 26(1), 1-20. doi: 10.1016/j.jksus.2013.05.001.
- Ahmad, F., Ahmad, I. y Khan, M. S. 2008. Screening of freeliving rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. *Microbiol. Res.* 163: 173-81.
- Alcántar, G. G., Trejo T. L. I. y Gómez M. F. C. 2015. Nutrición de cultivos. Editorial MUNDI-PRENSA. UNIVERSIDAD AUTONOMA DE CHAPINGO. pp: 338-341 ISBN: 9789687462486
- Allen, S. E., Grimshaw, H. M., Parkinson, J. A. y Quarmby, C. 1997. Chemical analysis of ecological materials. Oxford, UK Blackwell. Scientific Publications.
- Allen, S. E., Grimshaw, H. M., Parkinson, J. A. y Quarmby, C. 1997. Chemical analysis of ecological materials. Oxford, UK Blackwell. Scientific Publications.
- Al-taae, A. K., Hadwan, H. A. y Al-jobory, S. A. E. 2013. Physiological Races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* in Iraq. *J. Life Sci.*, 7, 1070–1075.
- Ambreen, A. y Shahida, H. 2010. Auxin-producing *Bacillus* sp.: Auxin quantification and effect on the growth of *Solanum tuberosum*. *Pure Appl. Chem.* 2: 313-319.

- Anith, K. N., Sreekumar A. y Sreekumar J. 2015. The growth of tomato seedlings inoculated with co-cultivated *Piriformospora indica* and *Bacillus pumilus*. *Symbiosis*. 65:9-16.5.
- Armstrong, G. M. y Armstrong J. K. 1981. *Formae speciales* and races of *Fusarium oxysporum* causing wilt diseases. See Ref. 64a, pp. 391–99.
- Ashrafi, E., Zahedi, M. y Razmjoo, F. 2014. Co-inoculations of arbuscular mycorrhizal fungi and rhizobia under salinity in alfalfa. *Soil Science & Plant Nutrition*. 60: 619-629.
- Baayen, R. P., O'Donnell, K., Bonants, P. J. M., Cigelnik, E., Kroon, L. P. N., Roebroek, R. J. A. y Waalwijk, C. 2000a. Gene genealogies and AFLP analyses in the *Fusarium oxysporum* complex identify monophyletic and nonmonophyletic formae speciales causing wilt and rot diseases. *Phytopathology*. 90:891–900.
- Baayen, R. P., van Den Boogert, P. H. J. F., Bonants, P. J. M., Poll, J. T. K., Blok, W. J. y Waalwijk, C. 2000b. *Fusarium redolens* f.sp. *asparagi*, causal agent of asparagus root rot, crown rot and spear rot. *Eur. J. Plant Pathol.*, 106, 907–912.
- Babalola, OO. 2010. Beneficial bacteria of agricultural importance. *Biotechnol Lett*. 32:1559-70.
- Bayraktar, H. y Dolar, F. S. 2012. Pathogenic variability of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* isolates from chickpea in Turkey. *Pakistan J. Bot.*, 44, 821–823.
- Beckman, C. H. 1987. The nature of wilt diseases of plants; American Phytopathological Society: St Paul., MN, USA.
- Beckman, C. H. y Roberts, E. M. 1995. On the nature and genetic basis for resistance and tolerance of fungal wilt diseases. In *Advances in Botanical Research*; Academic Press: London, UK.
- Bell D. K., Wells, H. D. y C.R. Markham. 1982. *In vitro* antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. *Phytopathology* 72: 379-382.
- Benko I., A.-M.; Winter, P., Huettel, B., Staginnus, C. y Muehlbauer, F.J. Kahl, G. 2003. Molecular markers closely linked to *Fusarium* resistance genes in chickpea show significant alignments to pathogenesis-related genes located on Arabidopsis chromosomes 1 and 5. *Theor. Appl. Genet.*, 107, 379–386.

- Berić, T., Kojić, M. S. Stanković, L. Topisirović, G. Degrassi, M. Myers, y Fira, D. 2012. Antimicrobial activity of *Bacillus* sp. natural isolates and their potential use in the biocontrol of phytopathogenic bacteria. *Food Technol. Biotechnol* 50:25-31.
- Bhattacharyya, P.N. y Jha, D. K. 2012. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 28(4) p: 1327-1350.
- Bienapfl, J. C., Malvick, D. K. y Percich, J. A. 2010. First Report of *Fusarium redolens* Causing Root Rot of Soybean in Minnesota. *Plant Dis.*, 94, 1069.
- Bishopt, G. D. y Cooper, R. M. 1983. An ultrastructural study of root invasion in three vascular wilt diseases. *Physiol. Plant Pathol.*, 22, 15–27.
- Böhm, W. 1979. Root parameters and their measurement. En: *Methods of studying root systems*. Springer-Verlag. Berlin, Heidelberg: New York Press; p. 188.9.
- Boix, R. A., Gálvez, P. L., De Cara, G. M., Palmero, L. D., Camacho, F. F., Tello, M. J. C. 2014. Comparison of analytical techniques used to identify tomato-pathogenic strains of *Fusarium oxysporum*. *Phytoparasitica*. 43:471–483.
- Bouhadida, M., Jendoubi, W., Gargouri, S., Beji, M., Kharrat, M. y Chen, W. 2017. First report of *Fusarium redolens* causing *Fusarium* yellowing and wilt of chickpea in Tunisia. *Plant Dis*.
- CABI. 2017. Invasive Species Compendium. Clasificación taxonómica del garbanzo (*Cicer arietinum* L.) <https://www.cabi.org/isc/datasheet/24627>. (Consulta, diciembre 2017).
- Castro, P., Rubio, J., Millán, T., Gil, J. y Cobos, M. J. 2012. *Fusarium* wilt in chickpea: General aspect and molecular breeding. In *Fusarium: Epidemiology, Environmental Sources and Prevention*; Rios, T.F., Ortega, E.R., Eds.; Nova Science Publishers: New York, NY, USA, pp. 101–122.
- Chand, H. y Khirbat, S. K. 2009. Chickpea Wilt and Its Management—A Review. *Agric. Rev.*, 30, 1–12.
- Chet, I., Ordentlich, A., Shapira, R., Oppenheim, A. 1990. Mechanisms of biocontrol of soil-borne plant pathogens by rhizobacteria. *Plant and Soil* 129, 85-92.
- Chirino, V. I., Kandula D, Littejohn, C., Hill, R., Wlaker, M., Shields, M., Cummings, N., Heittiarachchi., D. y Wratten, S. 2016. Potential of the beneficial fungus

- Trichoderma* to enhance ecosystem-services provision in the biofuel grass *Miscanthus x giganteus* in agriculture. *Sci. Rep.* 6:1-7.
- Clarkson, J. D. S. 1978. Pathogenicity of *Fusarium* spp. Associated with Foot-rots of Peas and Beans. *Plant Pathol.*, 27, 110–117
- Cobos, M. J. Winter, P., Kharrat, M., Cubero, J. I., Gil, J., Millan, T. y Rubio, J. 2009. Genetic analysis of agronomic traits in a wide cross of chickpea. *F. Crop. Res.*, 111, 130–136.
- Cobos, M. J., Fernández, M. J.; Rubio, J.; Kharrat, M.; Moreno, M. T., Gil, J. y Millán, T. 2005. A linkage map of chickpea (*Cicer arietinum* L.) based on populations from Kabuli _ Desi crosses: Location of genes for resistance to *Fusarium* wilt race 0. *Theor. Appl. Genet.*, 110, 1347–1353.
- Cobos, M. J., Rubio, J., Fernández R. M. D., Garza, R. Moreno, M. T., Millán, T. y Gil, J. 2007. Genetic análisis of seed size, yield and days to flowering in a chickpea recombinant inbred line population derived from a Kabuli and Desi cross. *Ann. Appl. Biol.*, 151, 33–42.
- Cochrane, S. A. y Vederas, J. C. 2014. Lipopeptides from *Bacillus* and *Paenibacillus* spp.: A gold mine of antibiotic candidates. *Med. Res. Rev.* 36: 4-31.
- Collange, B., Navarrete, M., Montfort, F., MATEILLE, T., Tavoillot, J., Martiny, B. y Tchamitchian, M. 2014. Alternative cropping systems can have contrasting effects on various soil-borne diseases: Relevance of a systemic analysis in vegetable cropping systems. *Crop Prot.* 55:7–15.
- Conway, K. E. 1996. An overview of the influence of sustainable agricultural systems on plant diseases. *Crop Prot.*, 15, 223–228.
- Croser, J. S., Clarke, H. J., Siddique, K. H. M. y Khan, T. N. 2003. Low-Temperature Stress: Implications for Chickpea (*Cicer arietinum*L.) Improvement. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 22(2), 185–219. doi:10.1080/713610855.
- Cunnington, J., Lindbeck, K. y Jones, R. H. 2007. National Diagnostic Protocol for the Detection of Fusarium Wilt of Chickpea (*Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*). Plant Health Australia: Camberra, Australia.
- De Miguel, G. E. 1991. El garbanzo, una alternativa para el secano. Agrindustrias mundi-prensa., ISBN: 84-7114-316-X.

- De Vleesschauwer D. y Hofte M. 2007. Using *Serratia plymuthica* to control fungal pathogens of plants. CAB Rev. Perspect. Agric. Vet. Sci. Nutr. Nat. Resour. 2 (46), 1-12.
- De Vleesschauwer, D. y Hofte M. 2007. Using *Serratia plymuthica* to control fungal pathogens of plants. CAB Rev. Perspect. Agric. Vet. Sci. Nutr. Nat. Resour. 2 (46), 1-12. DOI: 10.1079/PAVSNNR20072046.
- Delgado, O. J. C., Ochoa, F. Y. M., Cerna, C. E., Mariana B. B., Rodríguez, G. R., Aguirre, U. L. A. y Vázquez, M. O. 2016. Patogenicidad de especies de *Fusarium* asociadas a la pudrición basal del ajo en el centro norte de México. Rev Argent Microbiol. 48(3):222-228. DOI: 10.1016/j.ram.2016.04.003.
- Dell'Amico E., Cavalca L. y Andreoni V. 2008. Improvement of *Brassica napus* growth under cadmium stress by cadmium-resistant rhizobacteria. Soil Biol Biochem. 40:74-84.
- Dobbelaere, S., Vanderleyden, J. y Okon, Y. 2003. Plant Growth-Promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. Crit. Rev. Plant Sci. 22:107-149.
- Dua, R. P. y P. C. Sharma. 1995. Salinity tolerance of Kabuli and Desi chickpea genotypes. International Chickpea and Pigeon pea Newsletter (ICPN). 2: 19-22.
- Dubey, S. C. Suresh, M. y Singh, B. 2007. Evaluation of *Trichoderma* species against *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* for integrated management of chickpea wilt. Biol. Control, 40, 118–127.
- Echeverria, A., Triana, A. C., Rivero, D., Cárdenas, R. M. y Coca B. M. 2014. Comportamiento agronómico de cultivares de garbanzo (*Cicer arietinum* L.), en condiciones del municipio los palacios, pinar del río. Cultivos Tropicales, vol. 35, no. 3, pp. 101-106.
- Eshetu, B., Amare, A. y Seid A. 2015. Antagonistic Effect of Native *Bacillus* Isolates against Black Root Rot of Faba Bean. African Crop Science Journal, 23, 249-259.
- Esquivel C. R., Gavilanes R. M., Cruz, O. R. y Huante, P. 2013. Importancia agrobiotecnológica de la enzima ACC desaminasa en rizobacterias, una revisión. Rev. Fitotec. Mex. 36 (3):251 – 258.

- Esquivel-Cote, R., Gavilanes-Ruiz, M., Cruz-Ortega, R. y Huante, P. 2013. Importancia agrobiotecnológica de la enzima ACC desaminasa en rizobacterias, una revisión. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 36(3), 251-258.
- Estrella, F. S., Elorrieta, M. A., Vargas, G. C., Lopez, M. J. y Moreno, J. 2001. Selective IsoL. C. Oliva Ortiz et al. OALib Journal 17/19 lation of Antagonist Microorganisms of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*. Biological Control of Fungal and Bacterial Plant Pathogens, International Organization for Biological Control (IOBC) West Palaearctic Regional Sector (WPRS), Bulletin, 24, 109-112.
- Ezziyyani, M. C., Pérez, S. A. Sid, E., Requena M., y Candela M. E. 2004a. *Trichoderma harzianum* como fungicidas para el control de *Phytophthora capsici* en plantas de pimiento (*Capsicum annuum* L.). *Anales Biol.* 26: 35-45.
- Ezziyyani, M., Pérez S. C., Requena M. E., Rubio L. y Candela, M. E. 2004b. Biocontrol por *Streptomyces rochei* –Ziyani–, de la podredumbre del pimiento (*Capsicum annuum* L.) causada por *Phytophthora capsici*. *Anales de Biología* 26: 69-78.
- FAOSTAT 2017a. Production statistics of crops. <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC/visualize> (Consultado, enero 2019).
- FAOSTAT. 2016b. Food and Agriculture Data. Available online: <http://faostat.fao.org> (accedido el 15 octubre 2016).
- Fernández, R., Trapero, A. y Domínguez, J. 2010. Experimentación en Agricultura. Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía. Sevilla.
- Fierros, L. G. A., Ortega, M. P. F., Acosta, G. J. A, Valenzuela, H. V, Padilla, V. I., Velarde, F. S. y Gutierrez, P. E. 2016. Interacción genotipo-ambiente en garbanzo blanco de semilla extra grande en el noroeste de México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* Vol.7 Núm.3 01 de abril - 15 de mayo, 2016 p. 507-519, DOI: 10.29312/remexca.v7i3.303.
- Fravel, D. Olivain, C. y Alabouvette, C. 2003. *Fusarium oxysporum* and its biocontrol. *New Phytol.*, 157, 493–502.
- Fuentes, H. R. y Rodríguez, J. A. 2015. Métodos de análisis de suelos y plantas: criterios de interpretación. Tercera edición, impresora publímex, México: Trillas: UAML ISBN: 978-607-17-2243-0., 288 p.

- Gajbhiye, A. R. A. R., Meshram, S. U. y Dongre A.B. 2010. Isolation, Evaluation and Characterization of *Bacillus subtilis* from Cotton Rhizospheric Soil with Biocontrol Activity against *Fusarium oxysporum*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 26, 1187-1194, DOI: 10.1007/s11274-009-0287-9.
- Galanihe, L. D., Priyantha, M. G. D. L., Yapa, D. R., Bandara, H. M. S. y Ranasinghe, J. A. D. A. R. 2004. Insect pest and disease incidences of exotic hybrids chilli pepper varieties grown in the low country dry zone of Sri Lanka. *Annals of Sri Lanka* 6:99-106.
- Garibaldi, A., Gilardi, G., y Gullino, M. L. 2004. Seed transmission of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae*. *Hytoperasitica* 32: 61-65.
- Gaur, P. M., Jukanti, A. K. y Varshney, R. K. 2012. Impact of Genomic Technologies on Chickpea Breeding Strategies. *Agronomy*, 2, 199–221.
- Gillespie, D. R., y Menzies, J. G. 1993. Fungus gnats vector *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. *Annals of Applied Biology* 123: 539-544.
- Glick, B. R. 1995. The enhancement of plant growth by free-living bacteria. *Can. J. Microbiol.* 41:109-117.
- Glick, B. R. 2012. Plant growth-promoting bacteria: Mechanisms and applications. *Scientifica*. 2012:1-15.
- Gómez, G. R. M., Gómez, G. L. y Salinas, P. R. A. 2003. 'Blanco Sinaloa-92', Variedad de garbanzo blanco para exportación. SAGARPA-INIFAP-CIRNO-C.E. Valle de Culiacán. Folleto Técnico No. 24.
- Gómez-Luna, B. E., Hernández-Morales, A., Herrera-Méndez, C. H., Arroyo- Figueroa, G., Vargas-Rodríguez, L. y Olalde-Portugal, V. 2012. Aisla-miento de bacterias promotoras del crecimiento de la rizósfera de plantas de guayaba (*Psidium guajava*). *Ra Ximhaj*, 8(3), 97-102.
- Gomiero, T., Pimentel D. y Paoletti M. G. 2011. Environmental impact of different agricultural management practices: conventional vs. organic agriculture. *Crit Rev Plant Sci.*30:95-124.
- Gond, S. K., Bergen, M. S., Torres, M. S. y J. F. White, 2015. Endophytic *Bacillus* spp. produces antifungal lipopeptides and induces host defense gene expression in maize. *Microbiol. Res.* 172: 79-87.

- González, M. A, Almaraz, S. J. J., Ferrera, C, R., Rodríguez, G. M. P., Taboada G. R. O., Trinidad, S. A., Alarcón, A. y Arteaga G. R. I. 2017. Caracterización y selección de rizobacterias promotoras de crecimiento en plántulas de chile poblano (*Capsicum annuum* L.). Rev. Int. Contam. Ambie. 33 (3) 463-474. DOI: 10.20937/RICA.2017.33.03.09.
- Gordon, T. R. y Martyn R. D. 1997. The evolutionary biology of *Fusarium oxysporum*. Annu. Rev. Phytopathol. 1997. 35:111–28
- Govindasamy, V. y Senthilkumar M. 2011. *Bacillus* and *Paenibacillus* spp: Potential PGPR for sustainable agriculture. En: Maheshwari DK, editor. Plant growth and health promoting bacteria. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; p. 333-64.25
- Gowda, S. J. M. Radhika, P. Kadoo, N. Y. Mhase, L. B. y Gupta, V. S. 2009. Molecular mapping of wilt resistance genes in chickpea. Mol. Breed., 24, 177–183.
- Granchinho, S. C. R., Franz, C. M., Polishchuk, E., Cullen W. R., y Reimer K. J. 2002. Transformation of arsenic (V) by the fungus *Fusarium oxysporum melonis* isolated from the alga *Fucus gardneri*. Applied Organometallic Chemistry 16: 721-726.
- Guadet, J., Julien, J., Lafay, J. F., Brygoo, Y. 1989. Phylogeny of some *Fusarium* species, as determined by large-subunit rRNA sequence comparison. Mol. Biol. Evol. 6:227–42.
- Guerrero, Z. J. A., Acosta G., Sánchez G. B. M., Ortega M. P., y González C. M. M. 2015. Razas patogénicas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* en garbanzo cultivado en Guanajuato, México. Rev. Fitotec. Mex. 38: 183-190.
- Guillén, C. R., Hernández, C. F. D., Gallegos, M. G., Rodríguez H. R., Aguilar G. C. N., Padrón C. E. y Reyes V. M. H. 2006. *Bacillus* spp. as biocontrol in an infested soil with *Fusarium* spp., *Rhizoctonia solani* Kühn, and *Phytophthora capsici* Leonian, and its effect on development and yield of pepper crop (*Capsicum annuum* L.). Rev. Mex. Fitopatol. 24: 105-114.
- Halila, I. Cobos, M. J. Rubio, J. Millán, T. Kharrat, M. Marrakchi, M. y Gil, J. 2009. Tagging and mapping a second resistance gene for *Fusarium* wilt race 0 in chickpea. Eur. J. Plant Pathol., 124, 87–92.

- Halila, I. Rubio, J. Millán, T. Gil, J. Kharrat, M. y Marrakchi, M. 2010. Resistance in chickpea (*Cicer arietinum*) to *Fusarium* wilt race "0". *Plant Breed.*, 129, 563–566.
- Halila, M. H. y Strange, R. N. 1996. Identification of the causal agent of wilt of chickpea in Tunisia as *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* race 0. *Phytopathol. Mediterr.*, 35, 67–74.
- Halila, M. H.; Strange, R. N. 1997. Screening of Kabuli chickpea germplasm for resistance to *Fusarium* wilt. *Euphytica*, 96, 273–279.
- Haware, M. P. *Fusarium* wilt and other important diseases chickpea in the Mediterranean area. 1990. In *Present Status and Future Prospects of Chickpea Crop Production and Improvement in the Mediterranean Countries*; Saxena, M.C., Cubero, J.I., Wery, J., Eds.; CIHEAM: Zaragoza, Spain; pp. 61–64.
- Haware, M. P. Nene, Y. L. y Natarajan, M. 1996. The survival of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* in the soil in the absence of chickpea. *Phytopathol. Mediterr.*, 35, 9–12.
- Haware, M. P. y Nene Y. L. 1982. Races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*. *Plant Disease* 66:809-810.
- Haware, M. P. y Nene, Y. L. 1980. Influence of wilt and different growth stages on yield loss in chickpea. *Trop. Grain Legum. Bull.*, 19, 38–40.
- Haware, M. P., Nene, Y. L. y Rajeshwari, R. 1978. Eradication of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* transmitted in chickpea seed. *Phytopathology*, 68, 1364–1367.
- Haware, M. P., Nene, Y. L., Pundir, R. P. S. y Rao, J. N. 1992. Screening of world chickpea germplasm for resistance to *Fusarium* wilt. *F. Crop. Res.*, 30, 147–154.
- Hernández a., Rives N., Caballero A., Hernández A. N., y Heydrich M. 2004. Caracterización de rizobacterias asociadas al cultivo de maíz en la producción de metabolitos del tipo AIA, sideróforos y ácido salicílico. *Revista Colombiana de Biotecnología* 6(1):6-13.
- Herrera, H. J. G. y García A. C. 2011. *Bioestadística en ciencias veterinarias. Procedimientos de Análisis de datos con SAS*. Universidad Complutense de Madrid. 251p. ISBN: 978-84-96704-31-2.

- Hervás, A., Landa, B. y Jiménez, D. R. M. 1997. Influence of chickpea genotype and *Bacillus* sp. On protection from *Fusarium* wilt by seed treatment with nonpathogenic *Fusarium oxysporum*. *Eur. J. Plant Pathol.* 103:631-642.
- Hilie, L. y Saunders, J. L. 2008. Manejo integrado de plagas en Mesoamerica: aportes conceptuales Ediciones Tecnologica de Costa Rica. 1ª ed. Cartago, Costa Rica. p. 719.
- Jha, C. K. y Saraf, M. 2015. Plant growth promoting Rhizobacteria (PGPR): a review. *Journal of Agricultural Research and Development*, 5(2). doi:10.13140/RG.2.1.5171.2164.
- Jiménez D. R. M. y Jiménez G. M. M. 2011. Integrated Management of *Fusarium* Wilt Diseases. In *Control of Fusarium Diseases; Transworld Research Network: Kerala, India*, pp. 177–215.
- Jiménez F. D. Montes B. M. Jiménez D. R. M. Navas C. J. A. y Landa, B. B. 2011a. In Planta and Soil Quantification of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* and Evaluation of *Fusarium* Wilt Resistance in Chickpea with a Newly Developed Quantitative Polymerase Chain Reaction Assay. *Phytopathology*, 101, 250–262.
- Jiménez G. M. M. y Jiménez D. R. M. 2003. Development of a Specific Polymerase Chain Reaction-Based Assay for the Identification of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* and Its Pathogenic Races 0, 1A, 5, and 6. *Phytopathology*, 93, 200–209.
- Jiménez G. M. Pérez A. E. Jiménez D. R. M. 2001. Identification of Pathogenic Races 0, 1B/C, 5, and 6 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* with Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD). *Eur. J. Plant Pathol.*, 107, 237–248.
- Jiménez, D. R. M., Castillo, P., Jiménez G. M. M., Landa, B. B. y Navas-Cortes, J. A. 2015. *Fusarium* Wilt of Chickpeas: Biology, Ecology and Management. *Crop Protection*, 73, 16-27. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2015.02.023>.
- Jiménez, D. R. M., Jiménez A., Hervás R. y Trapero C. J. L. 1993. Pathogenic variability and host resistance in the *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris/Cicer arietinum* pathosystem. In: Arseniuk, E. and Goral, T. (Eds.). *Fusarium* mycotoxins, taxonomy, pathogenicity and host resistance. Proceeding of the 3rd European Seminar. Plant Breeding and Acclimatization Institute, Radzikov, Poland. 325:87-94.

- Jiménez, D. R. M., Jiménez G. M. M., Landa, B. B.; Castillo, P. y Navas-Cortes, J. A. 2011. *Fusarium* Wilt of chickpea. In Compendium of Chickpea and Lentil Diseases and Pests; Chen, W., Sharma, H.C., Muehlbauer, F.J., Eds.; The American Phytopathological Society: St. Paul, MN, USA.
- Jiménez, F. D., Landa, B. B. Kang, S., Jiménez D. R. M. y Navas C. J. A. 2013. Quantitative and Microscopic Assessment of Compatible and Incompatible Interactions between Chickpea Cultivars and *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* Races. PLoS ONE, 8, e61360.
- Jiménez, F., Navas Cortes, J. A., Montes B. M., Jiménez D. R. M.; Landa, B.B. 2011b. Molecular and Pathogenic Characterization of *Fusarium redolens*, a New Causal Agent of *Fusarium* Yellows in Chickpea. Plant Dis., 95, 860–870.
- Jiménez, G. M. M., Navas C. J. A. y Jiménez D. R. M. 2004. The *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris/cicer arietinum* pathosystem: A case study of the evolution of plant-pathogenic fungi into races and pathotypes. Int. Microbiol., 7, 95–104
- Joffe, A. Z., y Palti, J. 1977. Species of *Fusarium* found in uncultivated desert-type soils in Israel. Phytoparasitica 5: 119-122.
- Jukanti, A. K., Gaur, P. M., Gowda, C. L. y Chibbar, R. N. 2012. Nutritional Quality and Health Benefits of Chickpea (*Cicer arietinum* L.): A Review. British Journal of Nutrition, 108, S11-S26. <https://doi.org/10.1017/s0007114512000797>.
- Kalbe, C, Marten, P. y Berg, G. 1996. Strains of the genus *Serratia* as beneficial rhizobacteria of oilseed rape with antifungal properties. Microbiol. Res. (1996) 151, 433-439
- Karimi, K., Amini, J., Harighi, B. y Bahramnejad, B. 2012. Evaluation of Biocontrol Potential of *Pseudomonas* and *Bacillus* spp. against *Fusarium* Wilt of Chickpea. Australian Journal of Crop Science, 6, 695-703.
- Kaur, N. P. y Mukhopadhyay, A.N. 1992. Integrated Control of Chickpea Wilt Complex by *Trichoderma* and Chemical Methods in India. Trop. Pest Manag., 38, 37–41.
- Kaymak, H. C. 2010. Potential of PGPR in agricultural innovations. In *Plant growth and health promoting bacteria* (pp. 45-79). Springer Berlin Heidelberg.
- Kelly, A. G., Alcalá J. A. R., Bainbridge B. W., Heale J. B., Pérez A. E. y Jiménez D. R. M. 1994. Use of genetic fingerprinting and random amplified polymorphic DNA

- to characterize pathotypes of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* infecting chickpea. *Phytopathology* 84:1293–1298.
- Kim, K., Yim, W., Trivedi, P., Madhaiyan, M., Boruah, H. P. D., Rashedul, M. I., Lee, G. y Sa, T. 2010. Synergistic effects of inoculating arbuscular mycorrhizal fungi and *Methylobacterium oryzae* strains on growth and nutrient uptake of red pepper (*Capsicum annuum* L.). *Plant Soil*. 327: 429-440.
- Kim, Y. C., Kim, K. Y., Jung, H. y Park, S. K. 2008. An effective biocontrol bioformulation against *Phytophthora* blight of pepper using growth mixtures of combined chitinolytic bacteria under different field conditions. *Eur. J. Plant Pathol.* 120 (4), 373-382. DOI: 10.1007/s10658-007-9227-4.
- King, S. R., Davis, A. R., Zhang, X. y Crosby, K. 2010. Genetics, breeding and selection of rootstocks for *Solanaceae* and *Cucurbitaceae*. *Sci Hortic.* 127:106–111.
- Kistler, H. C. 1997. Genetic diversity in the plant-pathogenic fungus *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology*. 87:474–479.
- Kloepper, J. W., Rodriguez K. R., Zehnder, A. W., Murphy, J. F., Sikora, E., y Fernandez, C. 1999. Plant root-bacterial interactions in biological control of soilborne diseases and potential extension to systemic and foliar diseases. *Australasian Plant Pathology*, 28(1), 21-26.
- Kloepper, J. W., Ryu C.M. y Zhang, S. 2004. Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus* spp. *Phytopathology* 94(11):1259-1266.
- Kommedahl, T., Abbas H. K., Burnes, P. M, y Mirocha, C. J. 1988. Prevalence and toxigenicity of *Fusarium* spp. from soils of Norway near the Arctic Circle. *Mycologia* 80: 790-794.
- Kumar, A., Prakash A. y Johri B. N. 2011. *Bacillus* as PGPR in crop ecosystem. En: Maheshwari DK, editor. *Bacteria in agrobiología cropecosystems*. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag; p. 37-59.
- Kumar, S. 1998. Inheritance of resistance to *Fusarium* wilt (race 2) in chickpea. *Plant Breed.*, 117, 139–142.
- Landa, B. B. Navas C. J. A., Jiménez G. M. M., Katan, J. y Retig, B.; Jiménez D. R. M. 2006. Temperature response of chickpea cultivars to races of *Fusarium*

- oxysporum* f. sp. *ciceris*, causal agent of *Fusarium* wilt. *Phytopathology*, 90, 365–374.
- Landa, B. B., Navas C. J. A. y Jiménez D. R. M. 2004. Integrated management of *Fusarium* wilt of chickpea with sowing date, host resistance, and biological control. *Phytopathology*, 94, 946–960.
- Landa, B. B., Navas, C. J. A., Hervás, A. y Jiménez, D. R. M. 2001. Influence of temperature and inoculum density of *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris* on suppression of *Fusarium* wilt of chickpea by rhizosphere bacteria. *Phytopathology* 91:807-816.
- Landa, B. B.; Hervás, A. Bettiol, W. y Jiménez D. R. M. 1997. Antagonistic activity of Bacteria from the chickpea rhizosphere against *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*. *Phytoparasitica*, 25, 305–318
- Lee, S., Ge, C., Bohrerova, Z., Grewal, P. S. y Lee, J., 2015. Enhancing plant productivity while suppressing biofilm growth in a windowfarm system using beneficial bacteria and ultraviolet irradiation. *Canadian Journal of Microbiology*. 61: 457-466.
- Leslie, J. F. y Summerel B. A. 2006. *The Fusarium Laboratory Manual*. Blackwell Publishing. Ames, Iowa, USA. 388p.
- Lucas, J. 1998. Plant diseases. In *Plant pathology and plant pathogens*; Blackwell Publishing: Malden, MA, USA,
- Maheri, N., Chamani, M., Sadeghi, A. A., Aghazadeh, A. A. y Golshani, A.A. 2008. Nutritional evaluation of kabuli and desi type chickpeas (*Cicer arietinum* L.) for ruminants using *in vitro* gas production technique. *Afr. J. Biotechnol.*, 7, 2946–2951.
- Majaw, S., Khonglah, D., Kayang, H. y Rao, M. 2016. Isolation and identification of indigenous microbial bioagents strains from Meghalaya and *in vitro* evaluation of the antagonistic properties against common fungal phytopathogens. *J Agric Technol*. 12(4):743-752.
- Mandeel, Q. A., Abbas J. A. y Saeed, A. M. 1995. Survey of *Fusarium* species in an arid environment of Bahrain: II. Spectrum of species on five isolation media. *Sydowia* 47: 223-239.

- Marlatt, M. J., Kaufmann P. y Copper P. 1996. Two genetically distinct populations of *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici* race 3 in the United States Plant Dis 80:1336-1342.
- McMullen, M. P., Stack R. W. 1983a. *Fusarium* species associated with grassland soils. Canadian Journal of Botany 61: 2530-2538.
- McMullen, M. P., Stack, R. W. 1984b. The effects of surface mining and reclamation on *Fusarium* populations of grassland soils. Reclamation and Revegetation Research 2: 253-266.
- Mendgen, K., Hahn, M. y Deising, H. 1996. Morphogenesis and mechanisms of penetration by plant pathogenic fungi. Annu. Rev. Phytopathol., 34, 367–386.
- Michielse, C. B., Rep, M. 2009. Pathogen profile update: *Fusarium oxysporum*. Mol Plant Pathol. 10:311–324.
- Millan, T., Madrid, E., Cubero, J. I., Amri, M., Castro, P. y Rubio, J. 2015. Chickpea. In Grain Legumes; De Ron Antonio, M., Ed.; Springer: New York, NY, USA.
- Millan, T., Winter, P., Jüngling, R., Gil, J., Rubio, J., Cho, S., Cobos, M. J., Iruela, M., Rajesh, P. N. y Tekeoglu, M. *et al.* 2010. A consensus genetic map of chickpea (*Cicer arietinum* L.) based on 10 mapping populations. Euphytica, 175, 175–189.
- Mojica, M. V., Luna O. C. F., Sandoval, C. B., Pereyra-Alfárez, L. H. Morales, R. N. A. González, A. y Alvarado, G. O. G. 2009. Control biológico de la marchitez del chile (*Capsicum annum* L.) por *Bacillus thuringiensis*. Phytom. Rev. Int. Bot. Exp. 78: 105-110.
- Montgomery, D. C. 2004. Diseño y Análisis de experimentos. Editorial Limusa, S.A. de C.V. México D.F. 686p.
- Mora, I., Cabrefiga, J. y Montesinos, E. 2011. Antimicrobial peptide genes in *Bacillus* strains from plant environments. Int. Microbiol. 14: 213-223.
- Moradi, H., Bahramnejad, B., Amini, J., Siosemardeh, A. y Haji, A. K. 2012. Supresión of Chickpea (*Cicer arietinum* L.) *Fusarium* Wilt by *Bacillus subtilis* and *Trichoderma harzianum*. Plant Omics Journal, 5, 68-74.
- Muhammad, A. Fatema, T., Shamima, N., Sanzida, M., Anwar, H. y Rashed, N. 2016. Isolation of a potential antifungal *Bacillus subtilis* 37-JM07 strain from straw

- and its biocontrol efficacy to combat greenmold disease of commercial mushroom, *Pleurotus ostreatus*. *Environm Sci Indian J.* 12(1): 1-14.
- Muller, H., Westendorf, C., Leitner, E., Chernin, L., Riedel, K., Schmidt, S., Eberl, L. y Berg, G. 2009. Quorum-sensing effects in the antagonistic rhizosphere bacterium *Serratia plymuthica* HRO-C48. *FEMS Microbiol. Ecol.* 67 (3), 468-478.
- Nautiyal, C. S. 1997. Selection of Chickpea-Rhizosphere-Competent *Pseudomonas fluorescens* NBRI1303 Antagonistic to *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri*, *Rhizoctonia bataticola* and *Pythium* sp. *Curr. Microbiol.*, 35, 52–58.
- Navas C. J. A. Hau, B. y Jiménez D. R. M. 1998. Effect of Sowing Date, Host Cultivar, and Race of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* on Development of *Fusarium* Wilt of Chickpea. *Phytopathology*, 88, 1338–1346.
- Navas, C. J. A. Landa, B. B., Méndez R. M. A. y Jiménez D. R. M. 2007. Quantitative modeling of the effects of temperature and inoculum density of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* races 0 and 5 on development of *Fusarium* wilt in chickpea cultivars. *Phytopathology*. 97:564-573.
- Navas, C. J. A., Hau, B., Jiménez D. R. M. 2000. Yield loss in chickpeas in relation to development of *Fusarium* wilt epidemics. *Phytopathology*, 90, 1269–1278.
- Nelson, P. E. 2012. Life Cycle and Epidemiology of *Fusarium oxysporum*. In *Fungal Wilt Diseases of Plants*; Mace, M., Bell, A.A., Beckman, C., Eds.; Academic Press: London, UK, pp. 51–78.
- Nelson, P. E. Tousson, T. A. y Cook, R. J. 1981. *Fusarium: Diseases, Biology and Taxonomy*; Pennsylvania State University Press: University Park, PA, USA.
- Nene, Y. L. 1980. Diseases of chickpea. *Proceedings, International Workshop on Chickpea Improvement. ICRISATI, 28 Feb-2 Mar 1979, Hyderabad, A. P., India*, pp. 191-178.
- Noumavo, P. A., Agbodjato, N. A., Baba-Moussa, F., Adjanooun, A. & Baba-Moussa, L. 2016. Plant growth promoting rhizobacteria: Beneficial effects for healthy and sustainable agriculture. *African Journal of Biotechnology*, 15(27), 1452-1463. doi:10.5897/ajb2016.15397.
- Novaes, S., Resende, M. y Paiva, P. 2005. Efeito de diferentes fungicidas e de resistencia na inibicao do crescimento mivelial de *Fusarium oxysporum* f.p.

- gladioli* e comparacao de metodologias de inoculacao em bulbos. Sum. Phytopathol. 31: 371-373.
- O'Donnell, K. 1993. *Fusarium* and its near relatives. See Ref. 84a, pp. 225–33.
- Oliva, O. L. C., Velázquez, A. T. J., Sosa, P. R., Partida, R. L., Díaz, V. T., Arciniega, R. J. y López, O. C. A. 2017. Control de la fusariosis vascular del garbanzo (*Cicer arietinum* L.) por microorganismos nativos de sinaloa, México. Colegio de Postgraduados Texcoco, México. ISSN: 1405-3195. Agrobiencia, vol. 51, núm. 6, agosto-septiembre, pp. 683-695.
- Olsen, S. R. y Sommers, L. E. 1982. Phosphorus. In: Page AL, et al (eds), Methods of Soil Analysis, Part 2, 2nd edn, Agron Monogr 9. ASA and ASSA, Madison WI, pp 403–430.
- Ortega, M. P. F., Manjarrez S. P., Fierros L. G. A., Salinas P. R. A., Padilla V. I., Gutiérrez P. E. y Castillo T. N. 2013. Blanoro: Nueva Variedad de Garbanzo Blanco para Exportación. INIFAP Campo Experimental Costa de Hermosillo. Sonora, México. 22p.
- Palmieri, D., Vitullo, D. De Curtis, F. y Lima, G. 2016. A microbial consortium in the rhizosphere as a new biocontrol approach against *Fusarium* decline of chickpea. Plant Soil. DOI 10.1007/s11104-016-3080-1.
- Parray, J. A., Jan, S., Kamili, A. N., Qadri, R. A., Egamber-dieva, D. y Ahmad, P. 2016. Current Perspectives on Plant Growth-Promoting Rhizobacteria. *Journal of Plant Growth Regulation*, 35(3), 877-902. doi:10.1007/s00344-016-9583-4.
- Pineda, M. D. Y., Almaraz J.J., Lara H.M.E., Arteaga G. R. y Silva R. H.V. 2017. Cepas de bacterias aisladas de esporomas de hongos ectomicorrízicos promueven el crecimiento vegetal. ITEA-Información Técnica Económica Agraria 115(1): 4-17. <https://doi.org/10.12706/itea.2018.027>.
- Radzhabov, U. R., y Davranov, K. 2010. Metabolites of *Bacillus subtilis* SKB 256, growth inhibitors of phytopathogenic fungi. Chem. Nat. Compd. 46: 160-162.
- Ramarathnam, R. S. Bo, Y. Chen, W. G. Fernando, G. Xuewen. y Kievit T. 2007. Molecular and biochemical detection of fengycin-and bacillomycin D-producing *Bacillus* spp., antagonistic to fungal pathogens of canola and wheat. Can. J. Microbiol. 53:901-911.

- Ramírez., Soto, Z., Castro, L., Arauz, L.F., Uribe L. L. y Uribe, L. 2015. Efecto de cuatro rizobacterias promotoras de crecimiento sobre la pudrición basal causada por *Phytophthora capsici* en plantas de chile dulce (*Capsicum annuum*). Rev Agronomía Costarricense 39(3): 87-100.
- Reyes, I., Alvarez, L., El-Ayoubi H. y Valery, A. 2008. Selección y evaluación de Rizobacterias Promotoras del Crecimiento en pimentón y maíz. Bioagro 20(1) p.37-48.
- Riccioni, L., Haegi, A. y Valvassori, M. 2008. First Report of Vascular Wilt Caused by *Fusarium redolens* on Lentil in Italy. Plant Dis., 92, 1132.
- Rodríguez, C. F. G., Saucedo A. R. H., Valenzuela H. V., Mondaca E. C. y Cervantes J. M. 2017. TECNOLOGÍA PARA PRODUCIR GARBANZO EN SINALOA. Instituto Nacional de investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias., Primera edición., ISBN: 978-607-37-0811-1.
- Rodríguez, F. H. y Rodríguez A. F. 2015. Metodos de análisis de suelos y plantas: criterios de interpretación. 3ª ed. México: trillas: UAML, ISBN: 978-607-17-2243-0. 288 p.
- Roy, F., Boye, J. I. y Simpson, B.K. 2010. Bioactive proteins and peptides in pulse crops: Pea, chickpea and lentil. Food Res. Int., 43, 432–442.
- Rubio, J. Hajj M. E.; Kharrat, M. Moreno, M. T. Millan, T. y Gil, J. 2003. Two genes and linked RAPD markers involved in resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* race 0 in chickpea. Plant Breed., 122, 188–191.
- Rubio, R. G. L., Baltodano, S. F. M., Abanto C. L. I., Wilson K. J. H. y Muñoz R. M. A. 2008. Resistencia *in vitro* de *Rhizoctonia solani* y *Fusarium oxysporum* a los fungicidas Benzomil 500, Rhizolex-T y Homai-WP. Rebiol 28: 1-12.
- Ruiz, S. E., Cristóbal, A. J., Reyes, R. A., Tun, S. J., García, R. A. y Pacheco, A. J. 2014. *In Vitro* Antagonistic Activity of *Bacillus subtilis* Strains Isolated from Soils of the Yucatan Peninsula against *Macrophomina phaseolina* and *Meloidogyne incognita*. International Journal of Experimental Botany, 83, 45-47.
- Rzedowski, J. 2006. Vegetación de México. 1ra. Edición digital. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, México. 504p.

- Sadhna, A. y Berndt, G. 1997. Characteristics of a *Serratia plymuthica* isolate from plant rhizospheres Plant and soil Vol. 103, núm. 2, págs. 185-189.
- Salinas, P. R. A., Cortez M. E. y Macias C. J. 2008. Guía para Producir Garbanzo en el Norte de Sinaloa. INIFAP-CIRNO. Campo Experimental Valle del Fuerte. Folleto Técnico No. 29. Los Mochis, Sinaloa, México. 44 p.
- Saxena, N. P., Krishnamurthy, L., y Sheldrake, A. R. 1980. Chickpea Physiology, In *Pulse Physiology Annual Report 1979-80*. Part II. ICRISAT. Hyderabad, India, pp. 112.
- Schippers, B. y van E. W. H. 1981. Formation and survival of chlamydospores in *Fusarium*. In *Fusarium: Diseases, Biology and Taxonomy*; The Pennsylvania State University Press: London, UK.
- Schroth, M. N y Hancock J. G. 1982. Disease-suppressive soil and root colonizing bacteria. *Science* 216: 1376-1381.
- Sexena, M. C. y Singh, K. B. 1987. The Chickpea. C. A. B. International., Wallingford, Oxon, UK., ISBN: 0-95198-571-8, pp. 233-270.
- Shakir, A. S. y Mirza, J. H. 1994. Location of seed-borne fungi in chickpea seed. *Pakistan J. Phytopathol.*, 6, 87–90.
- Sharma, D. y Jodha, N. S. 1984. Pulse production in semi-arid regions of india. In *Proceedingsm pulses production constraints and opportunities*, Hindustan Lever Research Foundation, octuver 1982, New Delhi, India. Bombay, India: Oxford and IBH Publising Company, pp. 241-265.
- Sharma, K. D. Chen, W. y Muehlbauer, F. J. 2005. Genetics of chickpea resistance to five races of *Fusarium* wilt and a concise set of race differentials for *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*. *Plant Dis.*, 89, 385–390.
- Sharma, K. D. y Muehlbauer, F. J. 2007. *Fusarium* wilt of chickpea: physiological specialization, genetics of resistance and resistance gene tagging. *Euphytica*. 157:1-14.
- Sharma, K. D., P. Winter, G. Kahl y F. J. Muehlbauer. 2004. Molecular mapping of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* race 3 resistance gene in chickpea. *Theoretical Applied Genetics* 108:1243-1248.

- Shehabu, M. Ahmed, S. Sakhuja, P. K. 2008. Pathogenic variability in Ethiopian isolates of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* and reaction of chickpea improved varieties to the isolates. *Int. J. Pest Manag.*, 54, 143–149.
- Shi, J., Mueller, W. C., y Beckman, C. H. 1992. Vessel occlusion and secretory activities of vessel contact cells in resistant or susceptible cotton plants infected with *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 40: 133-147.
- SIAP. 2015. Anuario Estadístico de la Producción Agrícola. http://infosiap.siap.gob.mx/aagricola_siap_gb/icultivo/index.jsp (Consultado, enero 2019).
- Simons, G. V. P., Groenendijk, J., Wijbrandi, J., Diegaarde, P. 1996. Isolation and characterization of the I2 *Fusarium oxysporum* resistance locus from tomato. *Int. Congr. Mol. Plant-Microbe Int.*
- Singh, J. S. y Singh D. P. 2013. Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR): Microbes in Sustainable Agriculture. Malik A, Grohmann E, Alves ME, Management of Microbial Resources in the Environment, Springer, Berlin, 361-385. DOI: 10.1007/978-94-007-5931-2_14.
- Singh, K. B., Malhotra, R. S., Halila, M. H., Knights, E. J. y Verma, M. M. 1993. Current status and future strategy in breeding chickpea for resistance to biotic and abiotic stresses. *Euphytica*, 73, 137–149.
- Singh, R., Sharma, P., Varshney, R. K. Sharma, S. K. y Singh, N. K. 2008. Chickpea Improvement: Role of Wild Species and Genetic Markers. *Biotechnol. Genet. Eng. Rev.*, 25, 267–314.
- Singh, S. 1984. Source-sink interaction in relation to seed development *Cicer arietinum* L., Ph. D. Tesis. University of Delhi, India.
- Singh, S. Singh, I. K., Gaur K., Chaturvedi P. M., S. K. Singh, N. P. y Sandhu, J. S. 2014. In Broadening the Genetic Base of Grain Legumes; National Bureau of Plant Genetic Resources: New Delhi, India.
- Snyder, W. C. y Hansen, H. N. 1940. The species concept in *Fusarium*. *Am J Bot.* 27:64–67.

- Son, J. S., Sumayo M., Hwang Y. J., Kim B. S. y Ghim S. Y. 2014. Screening of plant growth-promoting rhizobacteria as elicitor of systemic resistance against gray leaf spot disease in pepper. *Appl SoilEcol.* 73:1-8.57.
- Stapleton, J. J. y de Vay, J. E. 1986. Soil solarization: A non-chemical approach for management of plant pathogens and pests. *Crop Prot.*, 5, 190–198.
- Stover, R. H. 1970. Banana root diseases caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, *Pseudomonas solanacearum*, and *Radopholus similis*: A comparative study of life cycles in relation to control. In *Root diseases and soil-borne pathogens*; Toussoun, T.A., Bega, R.V., Nelson, P., Eds.; University California Press: Oakland, CA, USA.
- Strange, R. N. 2003. *Introduction to Plant Pathology*; John Wiley & Sons Ltd.: London, UK.
- Tanwar, A. y Aggarwal, A. 2014. Multifaceted potential of bioinoculants on red bell pepper (F1 hybrid, Indam Mamatha) production. *Journal of Plant Interactions.* 9: 82-91.
- Tekeoglu, M., Tullu A., Kaiser W. J., y Muehlbauer F. J. 2000. Inheritance and Linkage of Two Genes that Confer Resistance to *Fusarium* Wilt in Chickpea. *Crop Sci* 40:1247–1251.
- Trapero, C. A. y Jimenez D. R. M. 1985. Fungal wilt and root rot diseases of chickpea in southern Spain. *Phytopathology*, 75, 1146–1151.
- Tullu, A. Kaiser, W. J. Kraft, J. M. y Muehlbauer, F.J. 1999. A second gene for resistance to race 4 of *Fusarium* wilt in chickpea and linkage with a RAPD marker. *Euphytica*, 109, 43–50.
- Upadhyaya, H. D. Haware, M. P.; Kumar, J. y Smithson, J. B. 1983. Resistance to wilt in chickpea. I. Inheritance of late-wilting in response to race 1. *Euphytica*, 32, 447–452.
- Van der Molen, G. E., Labavitch J. M., y Devay J. E. 1986. *Fusarium* induced vascular gels from banana, *Musa acuminata*, roots: A partial chemical characterization. *Physiologia Plantarum* 66: 298-302.

- Vásquez, L. A., Tlapal, B. B., Yáñez, M. M., Pérez, P. R. y Quintos, E. M. 2009. Etiología de la marchitez del 'chile de agua' (*Capsicum annuum* L.) en Oaxaca, México. *Revista fitotecnia mexicana*, 32(2), 127-134.
- Velarde, F. S., Garzón, T. J. A., Hernández, V. S., López, O. C. A. y Retes, M. J. E. 2018. Occurrence of *Fusarium oxysporum* causing wilt on pepper in Mexico, *Canadian Journal of Plant Pathology*, 40:2, 238-247, DOI: 10.1080/07060661.2017.1420693.
- Velarde, F. S., Ortega M. P. F., Fierros L. G. A., Padilla V. I., Gutierrez P. E., Rodríguez-C. F. G., López V. J. A., Acosta G. J. A y Garzón T. J. A. 2015. Identificación molecular y biológica de las razas 0 y 5 de *Fusarium oxysporum* Schlechtend.: Fr f. sp. *ciceris* (Padwick) Matuo & K. Sato del garbanzo en el noroeste de México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* Vol.6 Núm.4 p. 735-748.
- Velarde, F. S., Zamora G. F., Valdez R. N., Cárdenas M. L., López M. R., Ángeles V. J. A., Fierros L. G. A. Ortega M. P. F. Padilla V. I. y Gutierrez P. E. 2013. Distribución y presencia de la fusariosis del garbanzo (*Cicer arietinum* L.) en el Noroeste de México y búsqueda de resistencia en condiciones controladas. In: *Memoria Simposio Nacional de Garbanzo 2013*. INIFAP. 54-64 pp.
- Vidhyasekaran, P. y Muthamilan, M. 1995. Development of Formulations of *Pseudomonas fluorescens* for Control of Chickpea Wilt. *Plant Dis.*, 79, 782–786.
- Villanueva, A. R., Aguilar, P. C. A., Y. de las M., Gómez, G. G., Valencia, T. A., Piña, G. B. y Bautista, B. S. 2013. Control de bacterias patógenas y hongos de postcosecha con extractos del pigmento de *Gibberella zeae* (*Fusarium graminearum*). *Agrociencia* 47: 691-705.
- Warda, J., Mariem B., Amal B., Mohamed B. y Mohamed Kharrat. 2017. *Fusarium* Wilt Affecting Chickpea Crop. *Agriculture*, 7, 23; doi:10.3390/agriculture7030023.
- Winter, P., Benko-Iseppon, A.-M., Hüttel, B., Ratnaparkhe, M. y Tullu, A.; Sonnante, G.; Pfaff, T.; Tekeoglu, M.; Santra, D.; Sant, V.J. 2000. A linkage map of the chickpea (*Cicer arietinum* L.) genome based on recombinant inbred lines from a *C. arietinum* × *C. reticulatum* cross: Localization of resistance genes for *Fusarium* wilt races 4 and 5. *Theor. Appl. Genet.*, 101, 1155–1163.

- Yadav, S. S., Longnecker N, Dusunceli S, Bejiga G, Yadav M, Rizvi A. H., Manohar M, Reedy A.A., Xaxico Z y Chen W. 2007. Consumption uses and utilization. In: chickpea, breeding and management. Yadav, S. S.; Redden, R. J.; Chen. W. and Sharma, B. (Eds.). CAB Intl. Wallingford, Oxfordshire OX108DE. UK. 72-100 pp.
- Yadegari, M., Rahmani, H. A., Noormohammadi, G., y Ayneband, A. 2010. Plant growth promoting rhizobacteria increase growth, yield and nitrogen fixation in *Phaseolus vulgaris*. *Journal of Plant nutrition*, 33(12), 1733-1743.
- Yu, X., Liu, X., Zhu, T., Liu, G. y Mao, C. 2012. Co-inoculation with phosphate-solubilizing and nitrogen-fixing bacteria on solubilization of rock phosphate and their effect on growth promotion and nutrient uptake by walnut. *European Journal of Soil Biology*. 50: 112-117.
- Zahid, M., Abbasi, M. K., Hameed, S. & Rahim, N. 2015. Isolation and identification of indigenous plant growth promoting rhizobacteria from Hi-malayan region of Kashmir and their effect on improving growth and nutrient contents of mai-ze (*Zea mays* L.). *Front Microbiol*, 6, 207. doi:10.3389/fmicb.2015.00207.
- Zasada, I. A., Halbrendt, J. M., Kokalis-Burelle, N., LaMondia, J., McKenry, M. V. y Noling, J. W. 2010. Managing nematodes without methyl bromide. *Annu Rev Phytopathol*. 48:311–328.