

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LUJAN

**Cepas autóctonas del género *Pseudomonas* como  
biocontroladores de *Phytophthora capsici* y promotoras  
del crecimiento de *Cucurbita máxima* var. zapallito**

Trabajo de Investigación

Trabajo Final de Aplicación para optar por el título de  
Ingeniero Agrónomo Carrera Ingeniería Agronómica

Alumno: Erik Matias Caballero

Consejero: Ing. Agr. Pablo Alejandro Ojeda

Tribunal Evaluador:

Ing. Agr. Federico Vita

Ing. Agr. María Cecilia Litardo

Ing. Agr. María del Pilar Sobero y Rojo

Febrero 2021

Luján, Buenos Aires Argentina

## Agradecimientos

*En primer lugar quiero agradecer a mi tutor Pablo Ojeda, quien con sus conocimientos y apoyo me guió a través de las etapas de este proyecto para alcanzar los resultados que buscaba.*

*También quiero agradecer al departamento de fitopatología de la Universidad Nacional de Lujan, por brindarme todos los recursos y herramientas que fueron necesarios para llevar a cabo el proceso de investigación.*

*Por último pero no menos importante, quiero agradecer a mi familia, por apoyarme y brindarme la oportunidad de asistir a la universidad. En especial, quiero hacer mención de mis padres, mis hermanos y mi compañera de vida que siempre estuvieron ahí para darme palabras de apoyo y un abrazo reconfortante para renovar energías. No hubiese podido arribar a estos resultados de no haber sido por su incondicional ayuda.*

*Muchas gracias a todos.*

# Índice

<b>1.</b>	<b>RESUMEN</b>	<b>3</b>
<b>2.</b>	<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>4</b>
2.1	EL ZAPALLITO DE TRONCO. ASPECTOS GENERALES, CULTIVO Y CONSUMO.....	8
2.2	LAS PRINCIPALES ENFERMEDADES QUE AFECTAN AL CULTIVO.....	11
2.2.1	<i>Fusariosis de la corona</i> .....	11
2.2.2	<i>Oídio</i> .....	12
2.2.3	<i>Podredumbre húmeda producida por Phytophthora</i> .....	13
2.3	EL CONTROL BIOLÓGICO COMO ALTERNATIVA DE MANEJO.....	19
2.4	EL GÉNERO <i>PSEUDOMONAS</i> . POTENCIALIDAD DE SU USO EN LA AGRICULTURA .....	24
<b>3</b>	<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>32</b>
3.1	TRABAJO EN EL CAMPO.....	32
3.1.1	<i>Zona de muestreo</i> .....	32
3.2	TRABAJO EN LABORATORIO.....	34
3.2.1	<i>Aislamiento y selección de cepas de Pseudomonas</i> . .....	34
3.2.2	<i>Preparación del inóculo</i> .....	37
3.2.3	<i>Cultivo de Phytophthora capsici</i> .....	38
3.2.4	<i>Biocontrol de Phytophthora en macetas en invernadero</i> .....	38
3.2.5	<i>Biocontrol de Phytophthora en bandejas en cámara de cultivo. Ensayo preliminar</i>	
3.2.6	<i>Ensayo de Biocontrol en bandejas en cámara de cultivo</i> .....	43
3.2.7	<i>Ensayo de Pseudomonas sp. como promotoras de crecimiento</i> .....	45
3.2.8	<i>Uso de software Imagen J</i> .....	47
<b>4</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>49</b>
4.1	<i>Biocontrol de Phytophthora capsici en macetas en invernadero</i> .....	49
4.2	<i>Biocontrol de Phytophthora (Ensayo preliminar) en cámara de cultivo</i> .....	51
4.3	<i>Ensayo de Biocontrol en bandejas, en cámara de cultivo</i> .....	52
4.4	<i>Ensayo de Pseudomonas sp. como promotoras de crecimiento</i> .....	55
<b>5</b>	<b>CONCLUSIONES</b>	<b>59</b>
<b>6</b>	<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>61</b>
<b>7</b>	<b>ANEXO</b>	<b>76</b>
7.1	<i>Biocontrol de Phytophthora en macetas en invernadero</i> .....	78
7.2	<i>Ensayo de Biocontrol en bandejas en cámara de cultivo</i> .....	79
7.3	<i>Ensayo de Pseudomonas sp. como promotoras de crecimiento</i> .....	80

## **1. Resumen**

Se realizaron muestreos en suelos de establecimientos hortícolas, con el propósito de encontrar cepas de *Pseudomonas* autóctonas. Se obtuvieron diversas colonias de estas bacterias, de las cuales se escogieron cinco cepas según características fenotípicas. Se llevó a cabo un primer ensayo en bandejas de arena con presencia de *P. capsici* en las cuales se dispusieron plántulas de zapallito de tronco inoculadas con las cepas aisladas, para descartar aquellas que no ofrecieran ningún grado de biocontrol. El segundo ensayo de biocontrol fue realizado en bandejas de arena. Se utilizaron dos testigos sin inoculación de *Pseudomonas*, uno con presencia del patógeno y otro sin este. Posteriormente se evaluó la capacidad de promoción de crecimiento con las cinco cepas seleccionadas inicialmente. En este segundo ensayo se midió el área foliar, radicular, peso seco foliar y radicular. Los resultados fueron comparados con un análisis de varianza y test de comparaciones múltiples LSD de Fisher. Con los resultados se evidenció que las dos cepas elegidas presentaron control significativo sobre *P. capsici*. En cuanto a los resultados del ensayo de promotor de crecimiento no hubo diferencias significativas entre las cepas evaluadas respecto al testigo sin inocular.

## **2. Introducción**

En Argentina la producción de hortalizas se realiza en casi todo el territorio debido a la diversidad de climas con condiciones que permiten producir la mayor parte del año en distintas regiones. Sin embargo, la producción comercial que abastece a los principales centros urbanos de consumo se localiza en determinadas regiones específicas. Esto se debe a condiciones agroecológicas adaptadas específicamente para cada especie, a la ventaja competitiva obtenida según su cercanía al mercado, infraestructura, tecnología disponible y presencia de productores con conocimiento (Fernández Lozano, 2012). La implantación anual de hortalizas ocupa una superficie de 500.000 hectáreas, con producciones de 8 a 10 millones de toneladas, (Leguizamón, 2018). Las principales especies cultivadas son Papa, Cebolla, Tomate y Zapallito (Figura 1).

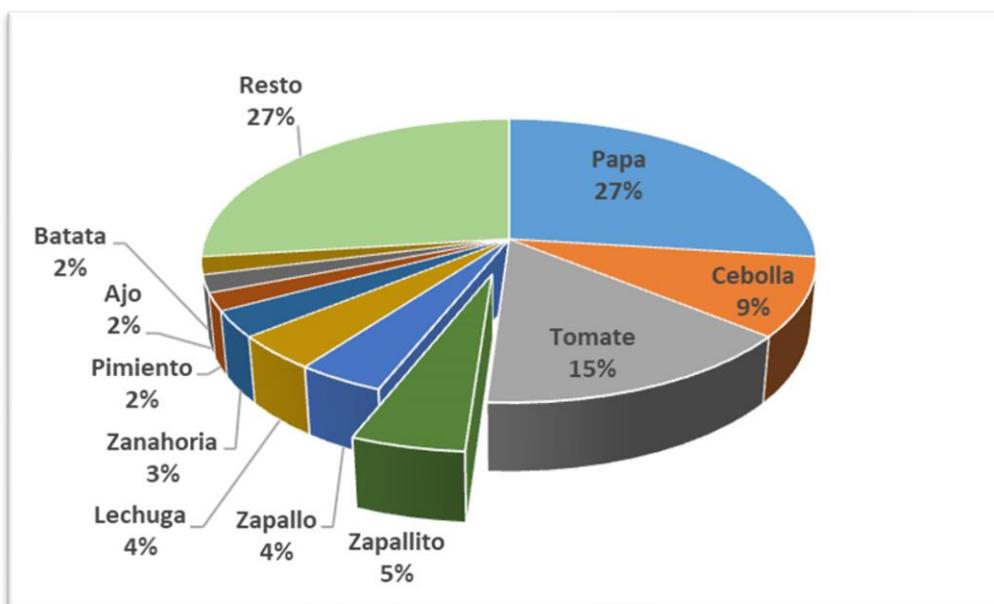


Figura 1.- Volumen de producción (en porcentaje) de las hortalizas producidas en Argentina.

Fuente: Fernández Lozano, 2012.

Diversos factores climáticos, edáficos y socioeconómicos determinan la caracterización de diversas regiones en Argentina (Figura 2.A). Cabe destacar dentro de estas regiones al Cinturón hortícola del Gran Buenos Aires (Figura 2.B). El mismo comprende a 15 distritos de la provincia, y abarca una superficie de 5.510 km<sup>2</sup>, con una población de 4,5 millones de personas. Los partidos involucrados son: La Plata, Florencio Varela, Berazategui; Almirante Brown, Esteban Echeverría, La Matanza, Merlo, Cañuelas, General Rodríguez, Luján, Marcos Paz y Moreno. En esa región, la actividad hortícola involucra aproximadamente 16.000 ha, con 1.550 explotaciones hortícolas. En las cuales las principales especies cultivadas son tomate, apio, lechuga, pimiento, espinaca, zapallito de tronco, alcaucil, repollo y remolacha (Ferratto *et al.*, 2010).

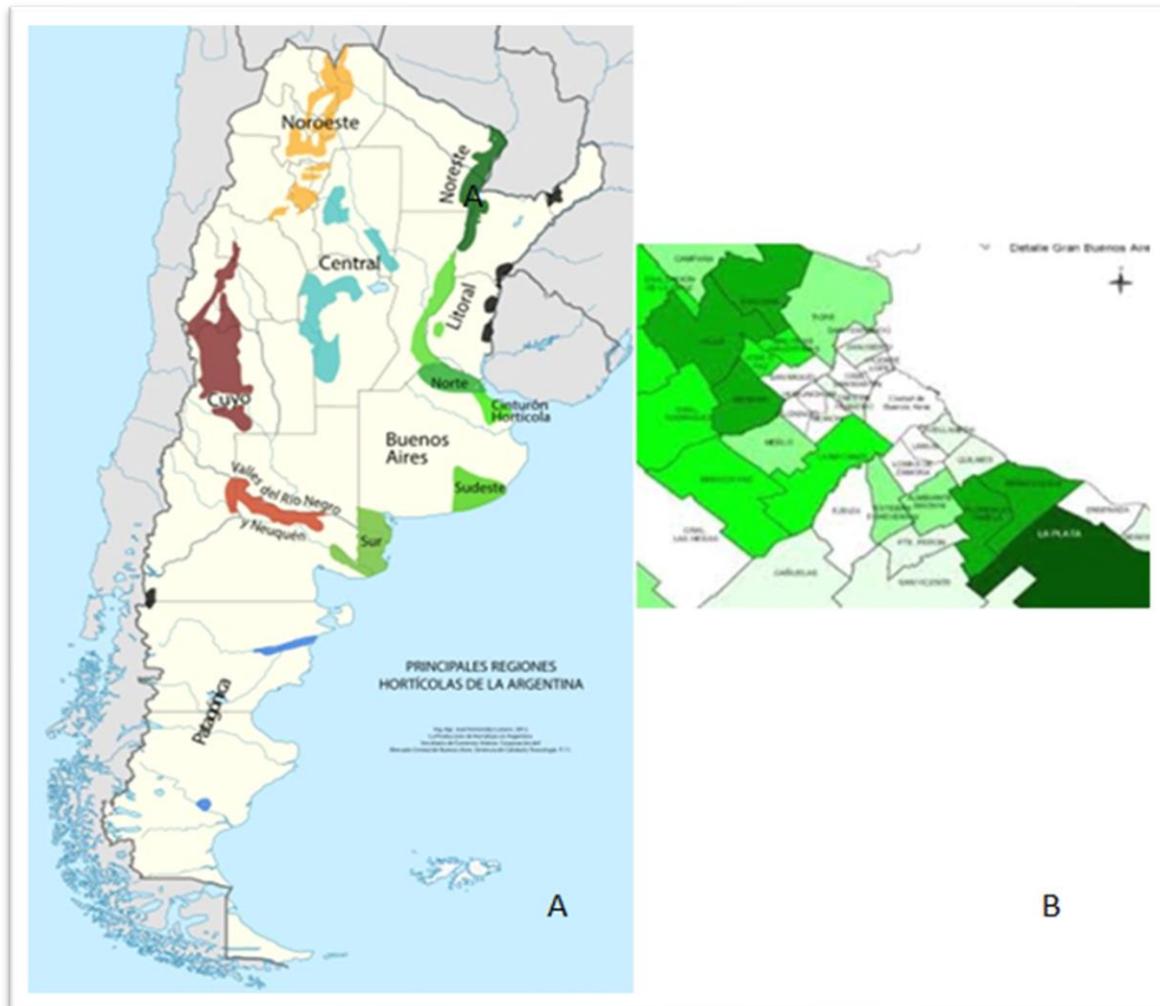


Figura 2.- A. Distribución geográfica de producción hortícola Argentina. -B. Cinturón hortícolas de Buenos Aires. Fuente: Fernández Lozano, 2012.

La producción periurbana se ve reflejada con intensidad en el Gran Buenos Aires, donde habitan 13.7 millones de personas. Abastecer de alimentos a esta población conlleva un conflicto ya que para lograrlo se hace un uso intensivo de insumos, generando rebrotes recurrentes de plagas y enfermedades entre otros efectos indeseables, acelerando un deterioro físico, químico y biológico del suelo (Mitidieri, 2012).

Dentro de esta región, el partido de General Rodríguez fue donde se realizó dicho estudio. Sus principales características son tener un clima templado húmedo, con temperaturas medias anuales de 16 °C y precipitaciones anuales en promedio de 1000 mm. El suelo se encuentra formando asociaciones o complejos con suelos más o menos alcalinos constituidos por Argiudoles, Natracualfes y Argialboles (INTA, 2014).

Productivamente es caracterizado por destinar su elaboración para el consumo en fresco en el mercado interno, el que se comercializa a través de mercados mayoristas. Las explotaciones son predominantemente de tipo familiar destacándose la producción de especies de hortalizas de hoja, seguida por la producción de frutos (Garbi & Sangiacomo, 2018).

A nivel nacional cabe destacar la producción de especies de la familia cucurbitáceas, dado que se encuentran presentes en la mayoría de las producciones (González, B. comunicación personal). Se cultivan alrededor de 37.000 ha con estas especies, y se estima que toda la cadena moviliza cuatrocientos treinta y cuatro millones de dólares. Se adapta a la mayoría de las regiones productivas del país, representando el 9% de la superficie implantada en la cadena agroalimentaria hortícola del país. La oferta de zapallo varía durante el año, se cuenta con períodos de abundancia, donde los precios son bajos y no llegan a cubrir los costos de producción, seguido por un periodo de escasez con precios elevados. Su consumo promedio es de 22 kg per cápita por año. La media nacional de rendimiento es de 18 t/ha, pero con una gran brecha que va desde las 15 t/ha hasta los 60 t/ha (Della Gaspera, 2017). Dentro de esta familia, el “zapallito de tronco” es uno de los cultivos más importantes en el cinturón

hortícola de Buenos Aires. Se destaca por tener un ciclo corto de producción, lo que permite anticipar su entrada al mercado y obtener mejores precios (Sangiaco & Garbi, 2016). Esta importancia se ve reflejada en los datos estadísticos llevados a cabo por el Mercado Central de Buenos Aires, en el que ingresaron en el año 2018 un total de 28.524 toneladas, representando el 3 % del total de los productos comercializados (Mercado Central, 2019).

### **2.1 El zapallito de tronco. Aspectos generales, cultivo y consumo**

El zapallito de tronco, *Cucurbita maxima* var. *zapallito*, es un cultivo de verano, susceptible a heladas, de ciclo anual, semiarbustivo, no rastrero, con tallos en forma de roseta. Su raíz principal llega a una profundidad de más de dos metros, las raíces laterales y sus ramificaciones múltiples se extienden, llegando a alcanzar una profundidad de 60 centímetros. Las hojas son grandes (Figura 4a), pubescentes, con pecíolos largos. Presenta sexualidad diclinomonoica con flores masculinas y femeninas (Figura 3). Las semillas son de tamaño grande (Figura 4b) y necesitan poca agua en el suelo para germinar (Della Gaspera, 2013).

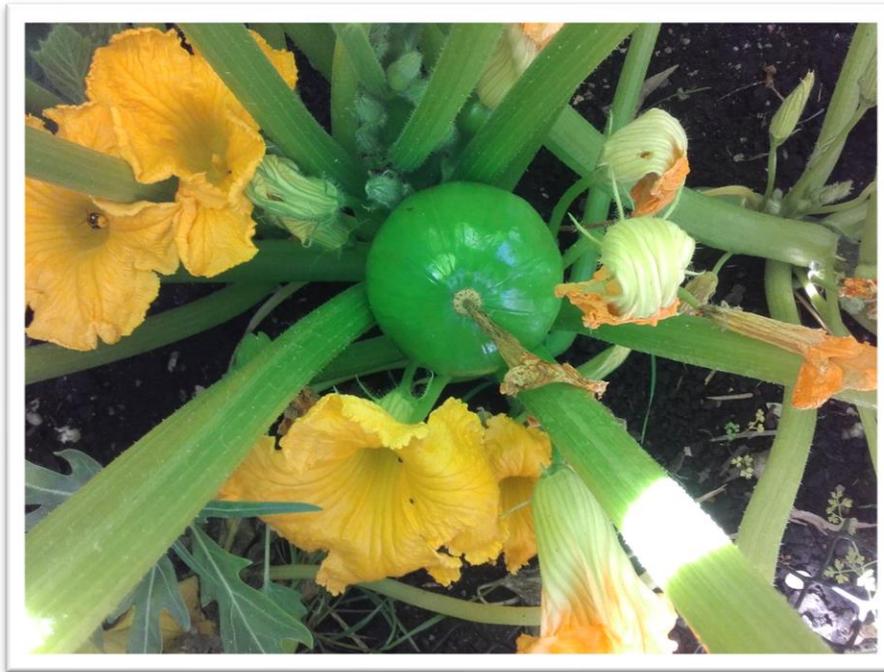


Figura 3.- Flor y fruto zapallito de tronco. Fuente: Foto propia.

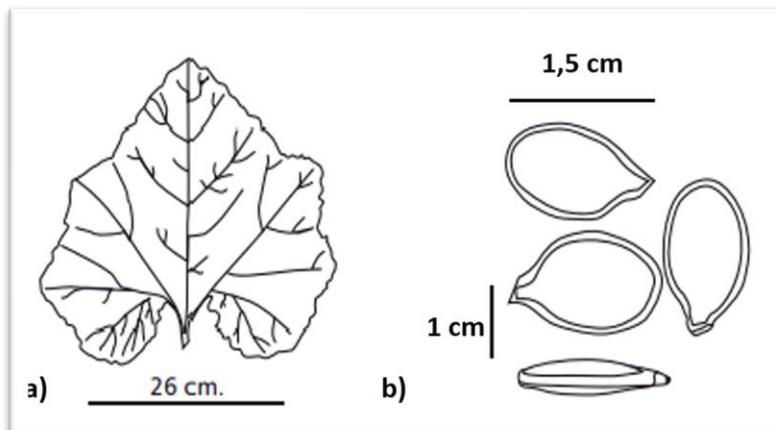


Figura 4.- a) Diagrama con la medida de la hoja de zapallito de tronco.- b) Diagrama con las medidas de la semilla zapallito de tronco. Fuente: Della Gaspera 2013.

Cuanto más duro es el fruto, mayor el poder germinativo de las semillas y más rápida la germinación. El poder germinativo se mantiene por varios años La siembra se inicia de forma directa colocando 2 a 3 semillas por golpe. Si la

siembra es manual se recomienda; la distancia es de 1 - 1,40 m x 0,5 - 0,6 m. Si la siembra es mecánica; se hace a 0,70 x 0,70 m (Figura 5).

La germinación es rápida pero requiere de altas temperaturas, las óptimas son de 30°C a 35°C (Sangiaco & Garbi, 2016). Otra forma de iniciación es por almácigo y trasplante. El plantín se destaca por tener alta tasa de crecimiento, es importante la colocación de las plantas en un lomo alto.



Figura 5.- Producción de zapallito de tronco. Fuente: Foto propia.

Se puede realizar un forzado para proteger parte del ciclo y, de esta manera, adelantar la cosecha. Se pueden usar barandillas o túneles de polietileno. Para Buenos Aires, la época de siembra es septiembre, y si es forzado, agosto. La densidad para la siembra manual es de 2 a 3 kg/ha y para la mecánica de 4 a 5 kg/ha. Luego de la siembra, se pueden efectuar controles mecánicos de malezas entre líneas (Mondino *et al.*, 1997). El zapallito responde en forma satisfactoria al agregado de abonos orgánicos y fertilizantes químicos con fósforo, es distinto

para formulaciones con nitrógeno y potasio. Los abonos foliares tienen buena respuesta debido a la amplia superficie de absorción que presentan sus hojas (Cantamiutto *et al.*, 1999).

El consumo del fruto se realiza en estado inmaduro, ya que la cosecha es con corteza aún tierna, comestible, las semillas están muy poco formadas y la parte interna del fruto está completa, sin cavidades. La recolección se realiza día por medio, durante 45 días a 60 días. Luego de este período la producción declina, y es preferible renovar el lote. En otoño, la baja irradiación provoca disminución de la productividad (Della Gaspera, 2013).

El rendimiento puede variar de 20.000 a 30.000 kg.ha<sup>-1</sup>, según la época del año y la productividad del lote. En Argentina se prefiere los zapallitos redondos verdes y brillantes, de tamaño mediano a chico. Su conservación es mejor en frío y con alta humedad evitando la deshidratación y pérdida de brillo (Della Gaspera, 2013).

## **2.2 Las principales enfermedades que afectan al cultivo**

El zapallito de tronco puede ser afectado por numerosas enfermedades, las más destacadas en la región en estudio son:

### **2.2.1 Fusariosis de la corona**

El patógeno es un hongo, *Fusarium solani* f. sp. *cucurbitaceae*. Los síntomas comienzan con una podredumbre húmeda en la zona superior de las raíces y la corona (Figura 6b), esto lleva a una afección interna sin destruir los vasos. Se produce el marchitamiento generalizado de la planta la cual finalmente muere (Figura 6a). Los frutos que tocan el suelo también pueden ser infectados (Vásquez-Ramírez & Castaño-Zapata, 2017). En el campo, sobre los tejidos

afectados, puede observarse la formación de un moho de color blanco o rosa característico de este patógeno.

El patógeno puede sobrevivir en el suelo como clamidosporas durante 2-3 años, y en las semillas externa o internamente. Las prácticas de manejo de la enfermedad incluyen rotación de 3 a 4 años sin cucurbitáceas y siembra de semillas sanas, ya que su tratamiento con fungicidas resulta poco efectivo (González, 2016).



Figura 6.- a) Fusariosis de la corona. Marchitamiento generalizado.- b) Podredumbre en raíces y corona. Fuente: González, 2016.

### 2.2.2 Oídio

Esta enfermedad es producida por dos patógenos semejantes -*Golovinomyces cichoracearum* (Syn. *Erysiphe cichoracearum*) y *Podosphaera fusca* (Syn. *Podosphaera xanthii*; *Sphaerotheca fuliginea*). Se caracteriza por comenzar con pequeñas manchas de moho blanquecino y pulverulento sobre tejidos verdes (Figura 7); suele iniciar en la cara inferior de las hojas viejas. Estas manchas con el tiempo crecen de forma homogénea y cubren la superficie foliar. Con ataques severos se ven infectados los pecíolos. Puede ocurrir que las manchas se tornen de color grisáceo, con presencia de puntos negros sobre ellos, que constituyen

las estructuras reproductivas sexuales del patógeno (González Morejón *et al.*, 2010).

Las prácticas de manejo consisten en ajustar la densidad de siembra para que las hojas inferiores no resulten sombreadas, limitar la fertilización para no obtener plantas de crecimiento exuberante. Es importante mantener una buena ventilación en invernaderos. La aplicación de fungicidas es efectiva rotando los principios activos para evitar generar resistencia (González, 2016).



Figura 7. Oídio sobre los tejidos del zapallito de tronco. Fuente: González, 2016

### 2.2.3 Podredumbre húmeda producida por *Phytophthora*

Entre los principales problemas sanitarios del zapallito de tronco el más importante es la podredumbre de la corona, raíces y frutos causada por *Phytophthora capsici*. La infección se produce en manchones aislados en el lote (Figura 8). Los síntomas pueden ser varios. Durante la germinación se observa *damping-off*, tanto en pre como en postemergencia. En plantas adultas, se observa marchitamiento foliar, debido a la podredumbre de raíces y tallo (Figura 9). La raíz se torna aguanosa, la cual rápidamente se deshidrata y toma color pajizo. En ocasiones, en los pecíolos se pueden observar manchas redondeadas,

también aguanosas. En frutos se produce podredumbre húmeda. El signo es un moho compacto de color blanco-grisáceo que se forma abundantemente en los frutos y esporádicamente en el tallo (figura 10). Esto permite identificar la enfermedad en el campo (González, 2016).



Figura 8.- Detalle ataque enfermedad en zona. Fuente: Foto propia.



Figura 9.- Podredumbre tallo y raíz. Fuente: Foto propia



Figura 10.- Signo moho blanco-grisáceo. Fuente: Foto propia

- **Características biológicas de *Phytophthora***

*Phytophthora capsici* pertenece al Phylum Oomycota, Orden Peronosporales, familia Phythiaceae. Se la incluye en el reino Straminipila y comprende una línea evolutiva única y distante de los hongos verdaderos (Medina, 2000). Los Oomycota se caracterizan por tener micelio cenocítico sin septos. (Erwin y Ribeiro, 1996).

Se trata de una especie heterotática que requiere para su reproducción sexual la presencia de talos compatibles A<sub>1</sub> y A<sub>2</sub>, a partir de los cuales se formarán las esporas sexuales: oosporas (Agrios, 2005). También Se puede reproducir de manera asexual, formando zoosporangios, dentro de los cuales se originan las zoosporas (Figura 11). En Argentina, hasta el presente solo se observó el grupo de apareamiento, A<sub>1</sub> por lo que la reproducción sexual aún no ha sido comprobada (Hardam, 2005 & Iribarren, 2015).

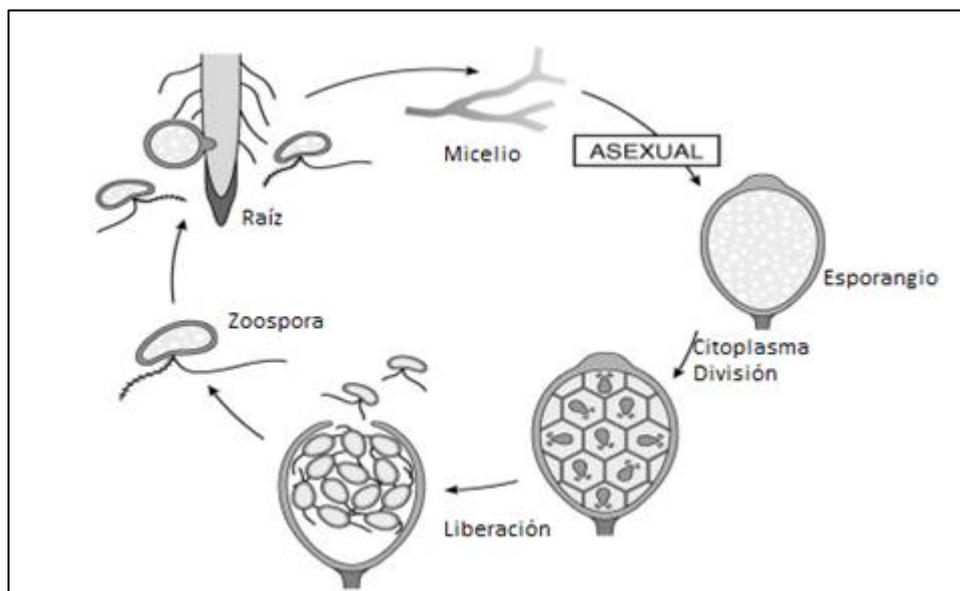


Figura 11.- Ciclo Asexual de *Phytophthora*. Fuente: Hardam, 2005.

Las zoosporas se caracterizan por ser móviles (Figura 12), ya que poseen 2 flagelos heterocontes. Esta particularidad le permite difundirse en ambientes anegados. Por este motivo, para infectar a las raíces es indispensable la presencia de agua que le permita desplazarse hacia su hospedante (Medina, 2000).

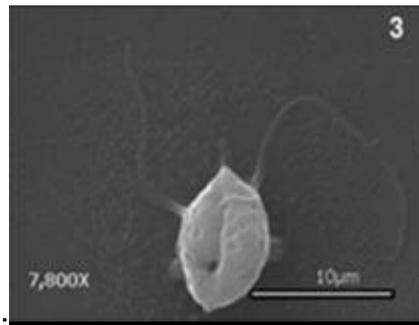


Figura 12.- Vista de zoospora de *Phytophthora* a través del microscopio ENB. Fuente: Nicholls, 2004.

*P. capsici* puede ser cultivado en distintos medios, lo más utilizados son Agar papa dextrosado (APD), Medio manzana tomate (MT) (Figura 13), Agar V8, Extracto de tabaco (Flores *et al.*, 2013). Para realizar un cultivo *in vitro* se recomienda un pH entre 3.5 y 10, con valores óptimos entre 4.5 y 5.5. Generalmente, los valores de pH que permiten el mejor desarrollo del micelio, también son favorables para la producción de esporangios, y oosporas (Flores Salinas, 2015). La temperatura mínima para su crecimiento es de 10 °C, el óptimo se estima en 28 °C y el máximo supera los 35 °C (Erwin y Ribeiro, 1996).

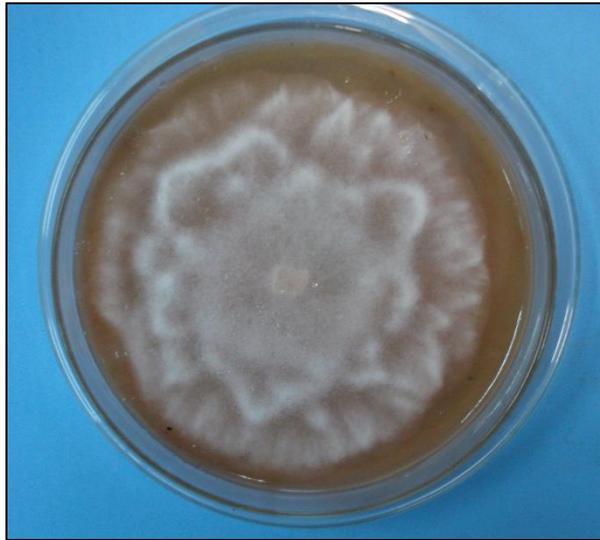


Figura 13.- Morfología de colonias de *Phytophthora capsici* en medio MT. Fuente: Marina Yabar.

- **Manejo de la enfermedad en el cultivo de zapallito de tronco**

Dada la capacidad que tiene el patógeno de dispersarse en ambientes anegados, las medidas de control más importantes radican en evitar la permanencia de agua en los entresurcos y rotar con cultivos no susceptibles. Con el fin de evitar la muerte de plántulas, a causa del inóculo presente en el suelo, se deben tratar las semillas con un fungicida específico para este tipo de patógenos.

Es aconsejable revisar el cultivo unos días después de lluvias y eliminar las plantas que se empiezan a marchitar, así como las vecinas sanas. La utilización de camellones elevados y mulching es beneficioso, para evitar la acumulación de agua cerca de la corona de las plantas, siempre y cuando el lote no tenga historia de presencia de la enfermedad (González, 2016).

Otra de las tácticas más frecuentes es el control químico en el cual los productores comúnmente utilizan fungicidas sistémicos para el control de enfermedades durante prolongados períodos de tiempo (Gluber & Davis, 2004).

Esta alternativa es acotada como consecuencia de la poca disponibilidad de principios activos. Los disponibles actualmente son Fluopicolide, Propamocarb y Mancozeb + Metalaxil -M (Longone & Escoriaza, 2017), pero el uso reiterado de los mismos puede generar resistencias (Díaz Nájera *et al.*, 2015) lo que hace del control químico una táctica con deficiencias en el manejo de esta enfermedad.

Otras alternativas en estudio están relacionadas con algunos suelos llamados supresivos, ya que contienen microorganismos que protegen a las plantas de enfermedades a pesar de la presencia de patógenos en el suelo. Existen trabajos en los que la mezcla de pequeñas cantidades de suelo supresor con una gran cantidad de suelo propicio hace que este último adquiera supresividad (Bautista-Calles, 2008).

### **2.3 El control biológico como alternativa de manejo**

Desde hace algún tiempo se están realizando numerosos trabajos de investigación en la búsqueda de alternativas que reemplacen o complementen al control químico. Una de ellas es el control biológico, dentro de estos grupos se destacan las bacterias promotoras del crecimiento vegetal o PGPB (por sus siglas en inglés, **plant growth promoting bacteria**). Dentro de este grupo se destacan aquellas que colonizan la rizósfera, a menudo referidas como rizobacterias promotoras del crecimiento o PGPR (plant growth promoting rhizobacteria). Las rizobacterias pueden encontrarse en las plantas de forma intra o extra celular, bajo diversos mecanismos que involucran múltiples interacciones que dan efectos positivos en el crecimiento y desarrollo vegetal (Argo *et al.*, 2012). Algunas de estas interacciones pueden clasificarse como **directas** cuando los mecanismos afectan directamente a los vegetales en

ausencia del patógeno, mientras que son mecanismos **indirectos** cuando actúan indirectamente en los vegetales al actuar negativamente sobre los patógenos que los afectan, mejorando el bienestar de la planta. Estos mecanismos de control puede ocurrir en la rizósfera así como en la filósfera (Lugtenberg y Kamilova, 2009) (figura 14).

<b>Mecanismos de promoción directos</b>	<b>Mecanismos de promoción indirectos (Biocontrol)</b>
Biofertilización Rizoremediación Controladores de Stress Fitoestimulación	Antagonismo Interferencia de señales Predación y parasitismo Resistencia Sistémica Inducida (ISR) Competencia por el ión férrico. Competencia con nutrientes y nicho. Interferencia con la actividad, supervivencia, germinación y esporulación del patógeno

Figura 14.- Principales mecanismos de promoción microbiana.

Entre los mecanismos de promoción **directos**, a través de un mejor crecimiento de las plantas en ausencia de patógenos, se pueden mencionar los pertenecientes a los **biofertilizantes**, microorganismos que fijan, sintetizan y/o solubilizan nutrientes destinados a las plantas. Las experiencias más conocidas son las llevadas a cabo por bacterias fijadoras de nitrógeno atmosférico (FBN) simbióticas, entre las cuales se encuentra algunos géneros de la familia de las Rizobiáceas, como *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, entre los más estudiados, que

forman nódulos en las raíces de las leguminosas (Cuadrado *et al*, 2009). También, mediante asociaciones rizosféricas asimbióticas como las pertenecientes al género *Azospirillum*. Finalmente estos grupos de bacterias fijan el nitrógeno molecular (N<sub>2</sub>), convirtiéndolo en formas químicas que pueden ser utilizados por las plantas. Es de destacar que estos mecanismos están limitados por el nitrógeno disponible en el suelo dado el costo energético utilizado por la planta para sostener la simbiosis con la bacterias fijadoras (Mayz-Figueroa, 2004). Otro aporte generado por microorganismos es la solubilización de fósforo. Especies hongos micorrícicos, bacterias del género *Pseudomonas* y *Bacillus*, entre otras, tienen la capacidad de liberar a su entorno cantidades de protones o ácidos orgánicos, como citrato, malato y oxalato, que modifican la estructura química de las moléculas con fósforo a formas disponibles para la planta (Restrepo-Franco *et al.*, 2014). Los bajos niveles de fosfatos solubles pueden limitar el crecimiento de las plantas (Lugtenberg y Kamilova, 2009).

**El control del estrés y la rizoremediación** son otros mecanismos relacionados a la degradación de sustancias que limitan el normal desarrollo de las plantas (Esquivel-Cote *et al*, 2013). En el caso de la **rizoremediación**, esta acción se da en suelos contaminados por sustancias que limitan y/o impiden el crecimiento de las plantas. Ciertos microorganismos pueden degradar estos compuestos más eficientemente cuando están alojadas en la rizósfera. Esta capacidad está asociada al uso de exudados radicales como su principal fuente de nutrientes, alternando su alimentación con las sustancias contaminantes (Hernández Bejarano *et al.*, 2011).

Entre los mecanismos de promoción **indirectos**, se pueden mencionar a los mecanismos de **biocontrol**. Uno de los más estudiados es la **producción de sustancias antagonistas** como HCN, fenazinas, ácido glucónico, compuestos volátiles cianhídricos y sustancias biosurfactantes polipeptídicas, estudiadas en microorganismos de especies de *Bacillus*, *Pseudomonas* y algunos géneros de hongos del reino fungi. Todas sustancias involucradas en la protección de las plantas, al afectar negativamente a muchos microorganismos fitopatógenos (Shephard & Lindow, 2008). **La predación y parasitismo** es el principal mecanismo de biocontrol utilizado en algunas especies de hongos, como las pertenecientes al género *Trichoderma*. (Harman *et al*, citado en Lugtenberg & Kamilova, 2009). Otro mecanismo mencionado es la **Resistencia Sistémica Inducida (RSI)** que resulta de la interacción de algunas bacterias con las raíces de las plantas. Esta asociación puede dar como resultado la resistencia de algunas plantas sobre infección de bacterias, hongos e inclusive virus fitopatógenos (Blanka *et al.*, 2017). También se reportan casos de microorganismos promotores como especies de los géneros *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Pseudomonas* y *Bacillus* (Samaniego-Gamez, *et al* 2017). También está demostrado que en ambientes en donde el ión férrico está limitado a bajas concentraciones, **la competencia por el ión férrico** estimula la producción de sideróforos por parte de algunas bacterias, como por ejemplo del género *Pseudomonas*. Esta molécula, al quelatar el ión férrico, limitan su uso a los hongos fitopatógenos que lo necesitan para crecer y por lo tanto no pueden desarrollarse (Schippers *et al*, 1987).

Muchos de estos microorganismos que ya superaron pruebas de laboratorio, ambientes controlados, parcelas experimentales y demostrativas se encuentran registradas y disponibles en forma comercial en el país (Cuadro 1). Estos formulados comerciales están realizados en base a microorganismos, y soportes físico-químicos que conservan las condiciones de almacenamiento que le permiten mantener la viabilidad de los microbios. Estos formulados están compuestos principalmente por especies de bacterias (SENASA, 2020).

Empresa	Marca comercial	Género utilizado
AGRIMARKETING S.A.	BIO-TAK P	<i>Pseudomonas</i>
ALTERBIO S.A.	ALTER PSE	<i>Pseudomonas</i>
BAYER S.A.	BIAGRO PSA LIQUID	<i>Pseudomonas</i>
BILAB S.A.	NITRO - FIX PF MAIZ	<i>Pseudomonas</i>
CHEMICAL - BIO ARGENTINA S.A.	RADIXIUS	<i>Azospirillum</i>
FACYT I+D S.A.	INOCULANTE FACYT PSF	<i>Pseudomonas</i>
GREEN QUALITY S.A.	PGPR	<i>Bradyrhizobium- Pseudomonas- Azospirillum</i>
LABORATORIO BIOTECH S.A.	N AZOSPIRRILLUM (SOLO EXPORTACION)	<i>Azospirillum</i>
MICROVIDAS S.R.L.	PSEUDOVIDAS	<i>Pseudomonas</i>
RIZOBACTER ARGENTINA S.A.	RIZOFOS – LIQ	<i>Pseudomonas</i>
RIZOBACTER ARGENTINA S.A.	RIZOFOS LIQMILHO (SOLO EXPORTACION)	<i>Pseudomonas</i>
SINTESIS QUIMICA S.A.I.C.	NOCTIN FOS	<i>Pseudomonas</i>

**Cuadro 1.- Ejemplos de fertilizantes a base de microorganismos disponibles en Argentina. Cuadro de elaboración propia con fuente SENASA, 2020.**

Como se puede observar en el cuadro 1 dentro de las bacterias comercializadas, uno de los grupos más estudiados en su capacidad de ejercer algunos de los mecanismos directos e indirectos relacionados a la capacidad promotora y biocontroladora (Muñoz, 2017) son las *Pseudomonas*. Género con un potencial relevante para evaluar en los cultivos intensivos del cinturón hortícola bonaerense.

#### **2.4 El género *Pseudomonas*. Potencialidad de su uso en la agricultura**

Las *Pseudomonas* son bacilos Gram negativos, móviles, no esporulantes, con capacidad de movilizarse gracias a sus flagelos polares, los cuales le permiten dirigirse a sus fuentes nutritivas, respondiendo a estímulos químicos (Figura 15) (Martínez, 2007).

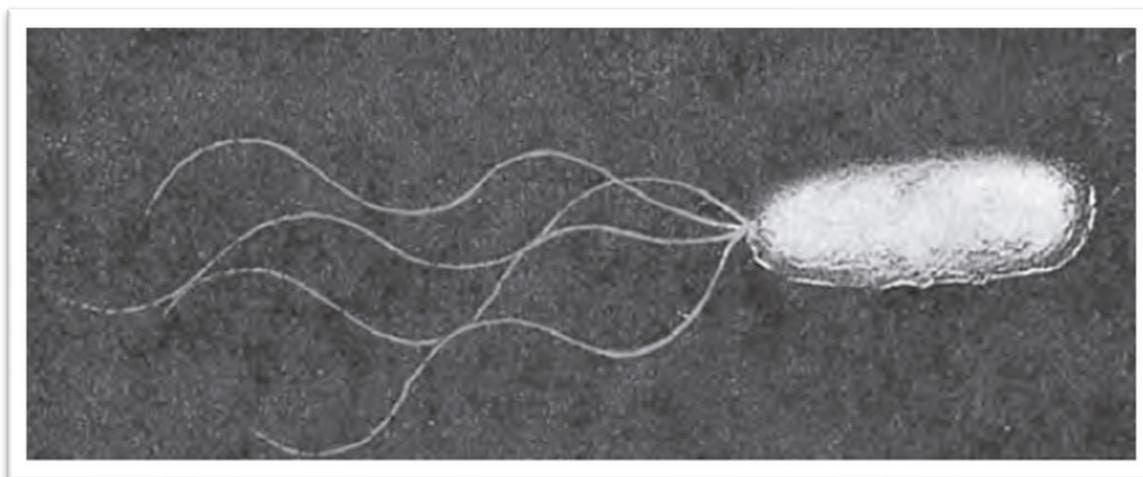


Figura 15.- Morfología celular de las *Pseudomonas*. Microfotografía electrónica de transmisión de una célula de *Pseudomonas* sp. . Fuente: Madigan *et al.*, 2015.

Conocidas por ser bacterias ubicuas, por su gran versatilidad metabólica y plasticidad genética, suelen tener rápido crecimiento y gran capacidad de metabolización en diversos sustratos. De hecho, su amplia capacidad de adaptación nutricional le permite degradar diversos sustratos como compuestos orgánicos tóxicos, hidrocarburos alifáticos y aromáticos. Este grupo suele presentar metabolismo aerobio estricto con el oxígeno como aceptor final de electrones, aunque existen especies del género con capacidad de crecer en condiciones anaerobias utilizando nitrato o la arginina como aceptor final de electrón (Madigan et al., 2015). De fácil aislamiento y caracterización en medios de cultivos generales, como el Agar Nutritivo, o medios selectivos y diferenciales como el Medio King B, Medio Gould S1, entre otros. Su temperatura óptima de crecimiento se encuentra entre 25-30 °C, sus temperaturas de crecimiento fuera del rango óptimo se encuentran entre 4 y 42 °C en condiciones de pH neutro, no creciendo bajo condiciones ácidas (Martínez, 2007). Uno de los aspectos destacados es la fenotipia de sus colonias en los distintos medios de cultivo donde pueden ser cultivadas. Esto está relacionado a que pueden tener muchos colores, entre ellos, el color verdoso observado en muchas cepas producto de la producción de pigmentos fluorescentes como la pioverdina (pigmento amarillo verdoso) o la piocianina (pigmento azul hidrosoluble), y con menor frecuencia producen piorrubina (pigmento rojo) o piomelanina (marrón negruzco). Por ejemplo, una característica común de la especie *Pseudomonas fluorescens* es la producción de pigmentos fluorescentes bajo la luz ultravioleta de longitud de onda baja (254 nm), sobre todo cuando crecen en un medio con limitación de hierro (Figura 16). La pioverdina, un pigmento fluorescente de color amarillo-verdoso,

está considerado el principal tipo de sideróforos de las especies de *Pseudomonas* (Martínez, 2007). Algunas cepas forman una cápsula polisacárida que hacen que las colonias sean mucosas.

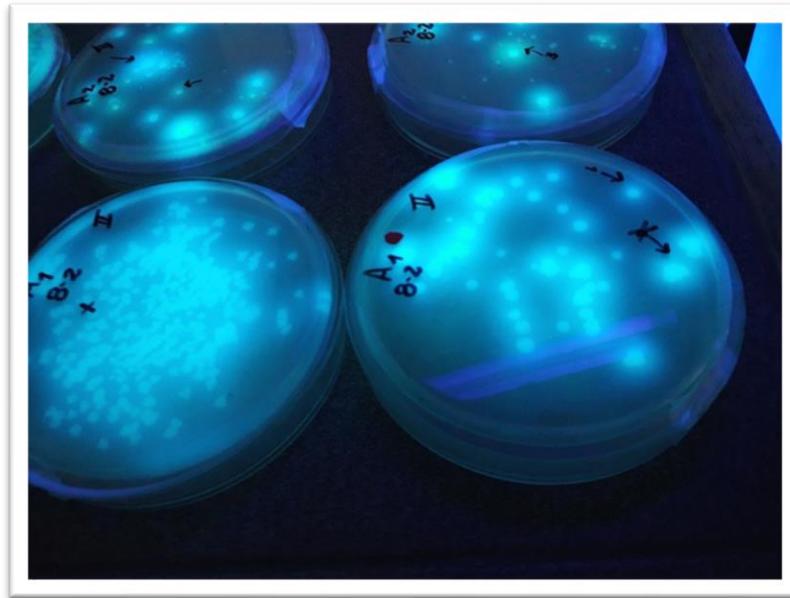


Figura 16.- Detalle de coloración fluorescente de *Pseudomonas* bajo luz ultravioleta. Fuente: Foto propia.

Este género es reconocido como un complejo grupo de especies descritas, los estudios filogenéticos permitieron establecer relaciones entre las especies que son utilizadas como promotores de crecimiento vegetal y las especies patógenas (Pérez A. *et al.*, 2015).

Una característica importante que presentan las especies identificadas como promotoras es su facilidad para colonizar las raíces de las plantas. Esto se debe a que los exudados que las plantas liberan por las raíces son ricos en carbohidratos, ácidos orgánicos y aminoácidos, los cuales son utilizados por estas bacterias como fuente de alimento (Oliveros-Bastidas, *et al.* 2009). La capacidad de producir biofilms por parte de estas bacterias facilita el proceso de colonización

que se da mediante la formación de agregados, microcolonias o biopelícula. En la primera fase de la formación de la biopelícula, la bacteria se adhiere a un sustrato (Figura 17). En tanto se fija la bacteria, se divide y diferencia, dando origen a una biopelícula madura. Las bacterias se encuentran alrededor de una matriz compuesta de polisacáridos, en especial exopolisacáridos, proteínas y ADN. Una vez que las bacterias colonizan las raíces, algunas pueden penetrar el tejido vegetal a través de la producción de enzimas celulolíticas y pectinolíticas, a través de fisuras que se forman durante la emisión de las raíces secundarias, o heridas que se producen cuando la raíz se va desarrollando (Zuno-Floriano *et al.*, 2009).

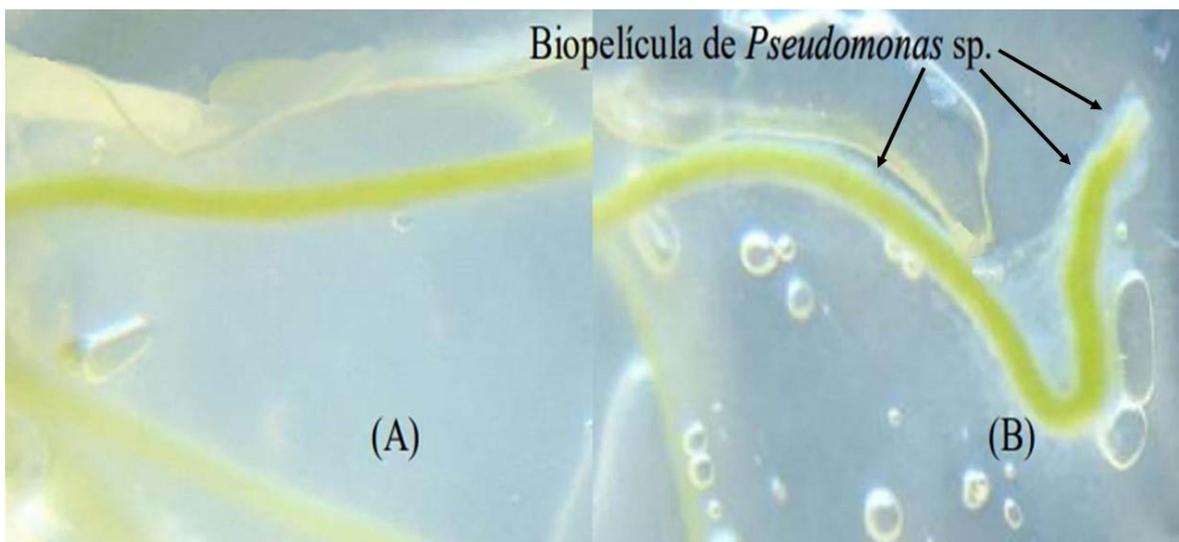


Figura 17.- Raíces de plántula de papa, (A) Sin inocular. (B) Inoculada con *Pseudomonas* sp. formando una biopelícula alrededor de las raíces. Fuente: Zuno-Floriano *et. al*, 2009.

Una vez establecidas en la rizósfera, las *Pseudomonas* pueden realizar distintas actividades clasificadas como de promoción de crecimiento vegetal descritos en la figura 14. Dentro de los mecanismos de promoción directos, sin la presencia del patógeno, se pueden mencionar a especies de *Pseudomonas* como

el caso de *P. fluorescens* con una gran capacidad **biofertilizante** al solubilizar fósforo (Martínez, 2007). La bacteria puede realizar esta actividad a través de dos vías: la primera es la producción de ácidos orgánicos (cítrico, oxálico, glucónico) que actúan sobre el pH del suelo, favoreciendo la **solubilización del fósforo inorgánico** y liberando el fosfato al suelo. La otra vía es a través de las fosfatasas, estas son enzimas hidrolasas (monoesterasas y diesterasas fosfóricas) que actúan sobre las uniones ésteres, liberando los grupos fosfatos de la materia orgánica. Ambas vías generan una mayor cantidad de fosfato, disponible para ser absorbido por las raíces de las plantas (Pérez *et al.*, 2015). También se han realizado estudios sobre los **sistemas sideróforos-férricos** marcados radiactivamente, como fuente de hierro, donde se mostró que las plantas son capaces de tomar el hierro marcado. Las plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) que crecían bajo condiciones limitadas de hierro, mostraron leves síntomas cloróticos. Posteriormente, aumentaron los niveles de clorofila, comparadas con plantas no inoculadas. Pérez (2015) experimentó con plantas de *Arabidopsis thaliana* L. que asimilaron un complejo de hierro sintetizado por *P. fluorescens*, induciendo su incremento en el interior de la planta y mejorando el desarrollo de la misma. Otro aspecto destacable en *P. fluorescens* es la **producción de sustancias estimuladoras del crecimiento**. Las principales sustancias de este tipo son hormonas (auxinas, giberelinas y citoquininas). Además, también producen aminoácidos y promotores específicos del crecimiento vegetal. La producción de estas sustancias es posible siempre que sea adecuada la concentración de organismos en el sistema radicular y que en el suelo haya suficiente cantidad de materia orgánica (Pérez *et al.*, 2015). Con respecto a la

**rizoremediación**, podemos destacar algunos ejemplos como el mencionado por Kuiper (2001), en el que cita cepas de *Pseudomonas putida* que degradan naftaleno alrededor de la raíz protegiendo las semillas y posteriormente a las plántulas contra la fitotoxicidad por dicha sustancia. Existe dentro de este género antecedentes en el estudio de mecanismos de **fitoestimulación** tal como el trabajo realizado por Rives (2009), en donde demuestra el efecto estimulador del crecimiento vegetal de cepas de *Pseudomonas*, en plantas de Arroz, con tan sólo 12 días de edad. Estos estudios mostraron la capacidad de producir metabolitos del tipo ácido 3 indolacético (IAA) en valores de alrededor de (45,5-56  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ). Leveau & Lindows (2005), determinaron el potencial de la especie *Pseudomonas putida* en la regulación de la concentración de IAA y lo cual llevo a un adecuado crecimiento de la raíz del rabanito (*Raphanus sativus*). Finalmente, podemos mencionar el uso de la vía del etileno, hormona **reguladora del estrés** vegetal, por parte de la especie *Pseudomonas chlororaphis*, demostrado en los ensayos realizados por Spenser (2003), en donde la inoculación de esta bacteria no sólo regula el estrés en la planta, sino que también induce sus mecanismos de defensa.

Con respecto a los mecanismos **indirectos** de promoción de crecimiento, podemos mencionar que algunos aislamientos han demostrado poseer gran potencial como agentes de biocontrol de diferentes fitopatógenos (Valverde *et al.*, 2013). Numerosos investigadores reportan que especies de *Pseudomonas* producen **sustancias antagonistas** basados en la detección de metabolitos antimicrobianos, los que permiten el control biológico de hongos fitopatógenos. Algunas investigaciones revelan que cepas de *P. fluorescens* pueden presentar

efectos antagónicos frente al hongo *Athelia rolfsii* (syn. *Sclerotium rolfsii*), al producir inhibición entre el 60 y 90 %, del crecimiento micelial por la excreción de los metabolitos antimicrobianos (Villa *et al.*, 2005). También es de destacar que este género produce compuestos extracelulares tensioactivos denominados biosurfactantes que tienen actividad lítica sobre zoosporas del género *Phytophthora* (Pérez *et al.*, 2015). Estos efectos fueron estudiados por Tran *et al.*, (2007) en donde identificaron el biosurfactante massetolido A. En la misma dirección, De Souza *et al.*, (2003) han demostrado que la massetolido A interrumpe las membranas de las zoosporas, lo que lleva a su lisis. Otro factor relacionado a la **competencia del ión Férrico** es la producción de sideróforos, esta es una sustancia quelante, la cual secuestra el hierro del ambiente rizosférico. La pioverdina (fluoresceína) de color amarillo verdoso, la piocianina por *P.aeruginosa* y tioquinolobactina por *P. fluorescens* (Laverde Robayo, 2016). Al realizar esta actividad estas bacterias impiden la disponibilidad de dicho elemento para los agentes patógenos. Este es un mecanismo desarrollado por muchas especies de *Pseudomonas*, en donde experimentos desarrollados por Santoyo (2010), demuestran esta inhibición del crecimiento de hongos fitopatógenos producido por *P. fluorescens*, en condiciones limitantes de hierro. De esta manera, estas bacterias tienen ventajas en la colonización y adaptación en nuevos espacios, desplazando el resto de la microbiota del suelo. Los aspectos de este género relacionados al biocontrol mediante el **Sistema de Resistencia Inducida (RSI)** se demuestran en el trabajo de Lavicoli (2007), en donde mediante el uso de mutantes derivados de la cepa CHAO, deficientes en la producción de diacetilfluoroglucinol (DAPG) condujeron a una disminución

significativa de ISR a *Peronospora parasítica*, por lo que para la inducción de ISR es necesaria la producción de DAPG. Por último, los mecanismos relacionados a la **competencia por nutrientes y nicho** en *Pseudomonas*, trabajos como el publicado por Valencia (2005), demuestran la importancia de una inoculación temprana, en donde en condiciones de escasez de hierro, cuando se inoculó el hongo fitopatógeno *Fusarium oxysporum* con cepas de *Pseudomonas* con al menos 48 h de anticipación, la inhibición del patógeno fue total, mientras que sólo una de las cepas estudiadas inhibió *Fusarium* cuando el hongo fue inoculado con 48 h de antelación a las bacterias.

Existen muy pocas experiencias llevadas a cabo con microorganismos promotores autóctonos y en menor medida del género *Pseudomonas*, por lo que el presente trabajo busca **“evaluar la capacidad de biocontrol de cepas autóctonas del género *Pseudomonas* sobre *Phytophthora capsici* y su capacidad como promotor de crecimiento en plantas de zapallito de tronco”** como principal objetivo. Se focalizará en asegurar si las hipótesis “la inoculación de semillas de zapallito con cepas de género *Pseudomonas* disminuye la incidencia de la enfermedad producida por *Phytophthora capsici*” como también “la inoculación de semillas de zapallito con cepas de género *Pseudomonas* promueve el crecimiento de las plantas” son verdaderas. Esto permitiría conocer en profundidad algunos comportamientos de microorganismos establecidos en las producciones hortícolas de las inmediaciones de Universidad Nacional de Luján, y conocer su potencial como parte de futuras prácticas de manejo.

### 3 Materiales y métodos

#### 3.1 Trabajo en el campo

Se realizaron visitas a establecimientos hortícolas ubicados geográficamente en la localidad de General Rodríguez (Figura 18).

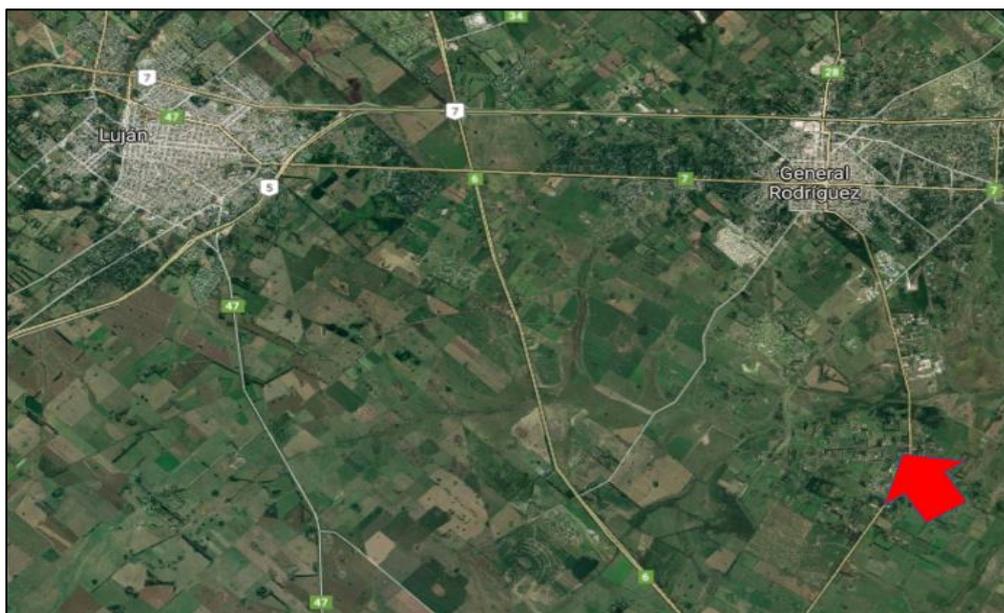


Figura 18.- Vista Satelital de la ubicación geográfica de los establecimientos hortícolas señaladas con una flecha roja en relación a los centros urbanos de Luján y General Rodríguez, Fuente: Google Maps.

##### **3.1.1 Zona de muestreo**

Para la obtención de cepas de *Pseudomonas* biocontroladoras, se recorrieron producciones con zapallito de tronco, buscando aquellas plantas que presentaran síntomas correspondientes a enfermedades causadas por *P. capsici*, preferentemente en lotes afectados en forma de “manchones” de acuerdo a la distribución de la enfermedad. Se extrajeron raíces de plantas sanas lindantes a plantas enfermas (Figura 19) localizadas en los límites de los focos de la

enfermedad (Figura 20, A). Se colectaron 3 muestras de raíces enteras junto a una pequeña cantidad de rizósfera (Figura 20, B), las que en bolsas plásticas, fueron llevadas al laboratorio para su procesamiento.

Los aislamientos de las cepas de *Pseudomonas*, la producción del inóculo de los microorganismos a evaluar y los ensayos de biocontrol en bandejas fueron realizados en el laboratorio de Fitopatología, mientras que el ensayo de biocontrol en macetas fue ejecutado en el invernadero perteneciente al Instituto de Ecología y Desarrollo Sustentable (INEDES). Ambos espacios se encuentran ubicados en la Universidad Nacional de Luján.



Figura 19.- Detalle de selección de planta sana para extracción de muestra. Fuente: Foto propia.

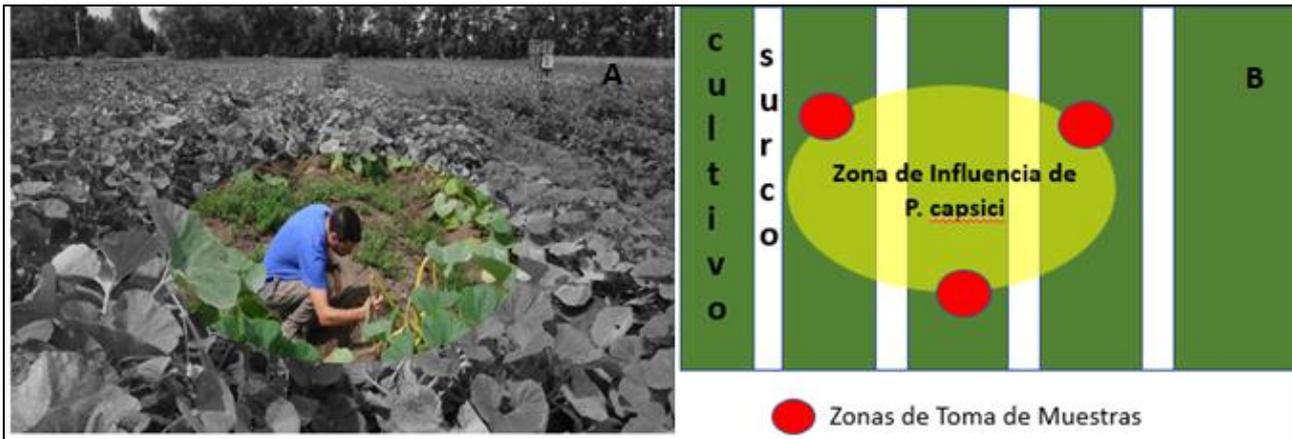


Figura 20.- A. Recolección de material a campo.- B. Diagrama de toma de muestra. Fuente:

Foto propia.

## 3.2 Trabajo en Laboratorio

### 3.2.1 **Aislamiento y selección de cepas de *Pseudomonas*.**

Las muestras fueron procesadas del siguiente modo:

- Las raíces de cada muestra fueron cortadas en segmentos muy pequeños (Figura 21A y 21B). Se colocaron en una botella de vidrio con 150 ml de solución fisiológica agregándose 1ml de un tensioactivo tipo polisorbato (Tween 40) para facilitar el desprendimiento del suelo rizosférico durante el lavado.

- Para el lavado de raíces, las botellas fueron colocadas en un agitador orbital, durante 10 min a 145 revoluciones por minuto (RPM) (Figuras 21 C y D).

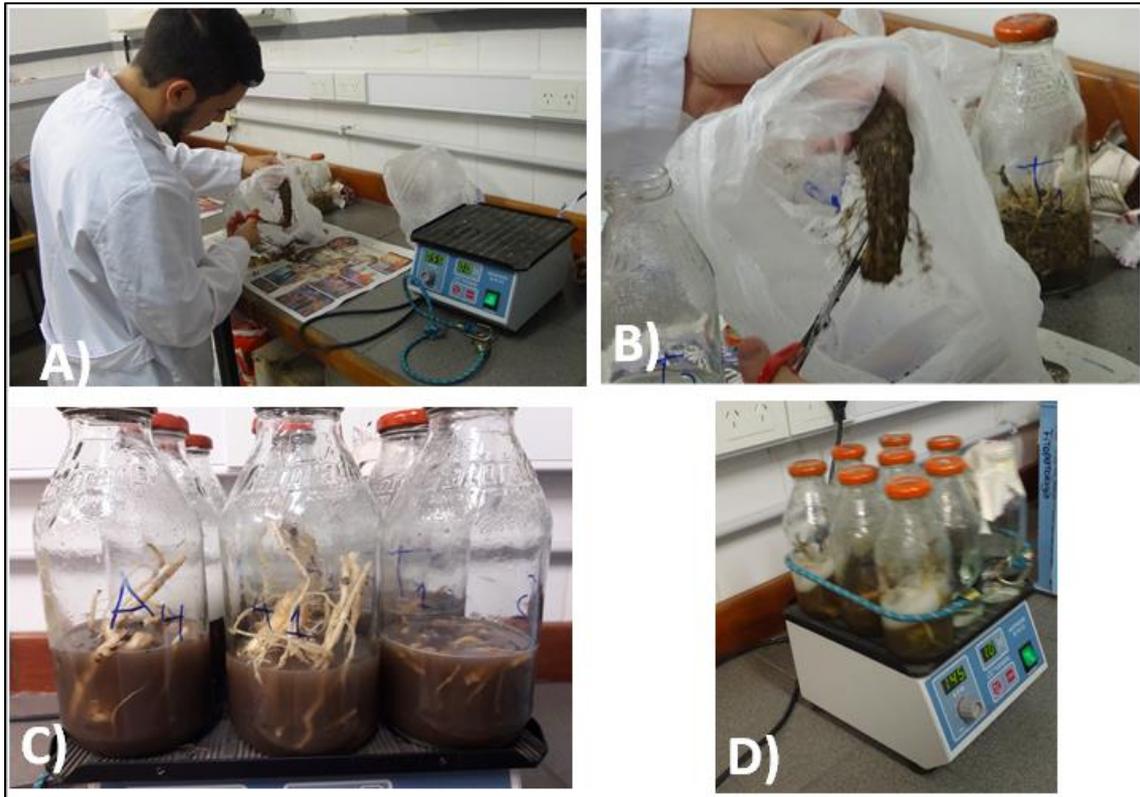


Figura 21.- A) y B), Raíz cortada en segmentos. C) y D) Frascos con solución fisiológica y agitador orbital. Fuente: Foto propia.

-Se tomaron alícuotas de 1ml por cada botella y se llevaron a cabo diluciones decimales  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  y  $10^{-3}$ , en solución fisiológica al 1 % (Figura 22).



Figura 22.- Toma de alícuota para realizar las diluciones en tubos de ensayo. Fuente: Foto Propia.

- Las diluciones fueron agregadas al medio de cultivo Gould S1, utilizado para la detección y recuento de *Pseudomonas* (descripción en anexo). El medio contiene dos agentes selectivos, el detergente Lauril éter sulfato sódico y el antibiótico Trimetoprima y es específico para *Pseudomonas* fluorescentes.

- Las placas fueron selladas con Parafilm y puestas a incubar a 25 °C durante 48 h.

- Se examinaron las colonias desarrolladas en luz visible observando, la forma, color, consistencia y tamaño. Posteriormente fueron sometidas a la luz UV (240nm  $\pm$  20) para detectar la emisión de fluorescencia (Figura 23).

- A partir de las observaciones fenotípicas descritas (Figura 22), se escogieron cinco colonias de características diferentes. Estas fueron aisladas en siembra por agotamiento.

- Se realizó la conservación de las cepas seleccionadas, por criopreservación a (- 80°C) en glicerol al 25%, para minimizar la posibilidad de variabilidad genética en futuros ensayos.



Figura 23.- Coloración de colonias de *Pseudomonas* bajo luz UV. Fuente: Foto propia.

### 3.2.2 Preparación del inóculo

-Se repicaron cada una de las cepas elegidas a Caldo Nutritivo (CN) y se llevaron a incubación durante 24 h, a  $25 \pm 1$  °C.

-Se transvasaron 10 ml del caldo con crecimiento de cada una de las cepas a tubos Falcon estériles. Luego, fueron centrifugados durante 15 min a 3500 RPM mediante una centrífuga modelo 2036 Analen®.

-Se descartó el sobrenadante, y el pellet obtenido de la centrifugación fue resuspendió en solución fisiológica (SF). Se ajustó la cantidad de SF a cada tubo hasta alcanzar una Absorbancia de 1 medida a 600 nm, con un espectrofotómetro UV- VIS HITACHI®. Este nivel de absorbancia fue confirmado mediante un recuento en placa con medio Agar King B, ya que los inoculantes preparados presentaron un título aproximado entre  $1 \times 10^7$ - $1 \times 10^8$  UFC/ml (Ver Anexo).

Se obtuvieron de este modo cinco cepas de *Pseudomonas* en medio agarizado que luego se utilizaron en los ensayos como inóculo.

### 3.2.3 Cultivo de *Phytophthora capsici*

-Se utilizó un aislamiento de *P. capsici* identificado morfológicamente y mediante técnicas de biología molecular, cedido por el equipo de Fitopatología de la Universidad Nacional de Luján. El aislamiento fue repicado al medio denominado Agar Zapallito (AZ) (Ver Anexo).

-Se sembró un trocito de APD con crecimiento de *P. capsici* en el centro de cada placa con AZ. Se llevó a incubación a 25°C durante 10 días en oscuridad (Figura 24), tiempo necesario para que la colonia tenga un crecimiento abundante.

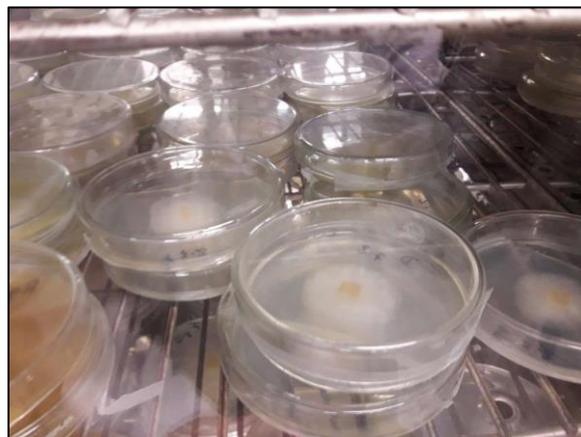


Figura 24.- Placas con crecimiento de *P. capsici* en AZ. Fuente: Foto propia.

### 3.2.4 Biocontrol de *Phytophthora* en macetas en invernadero

Este ensayo se realizó en el invernadero perteneciente al INEDES, bajo condiciones de temperatura y humedad controladas, en un Diseño de bloques completos al azar, para reducir y controlar la varianza del error experimental. Para

los ensayos de biocontrol se utilizaron semillas de zapallito de tronco variedad “Cachi Magnif”.

- Se sumergieron las semillas de zapallito en cada uno de los inoculantes de las cepas de *Pseudomonas* durante 10 minutos, hasta que fuera impregnado. Para los tratamientos control, las semillas se trataron con solución fisiológica estéril.

- Las semillas inoculadas se sembraron con pinzas estériles en macetas plásticas N°10 con sustrato Grow Mix Pro, utilizado para la siembra de plántulas hortícolas (Anexo cuadro 5). Cada tratamiento consistió en una maceta fue preparada con 2 semillas. Se realizaron 5 repeticiones por tratamiento.

Los tratamientos fueron los siguientes:

<b>Tratamiento</b>	<b>Rótulo</b>	<b>Descripción</b>
Testigo 1	T	Semillas mojadas con solución fisiológica.
Testigo 2	P	Semillas mojadas con solución fisiológica + inóculo de <i>Phytophthora</i>
Cepa 1	C 1	Semillas inoculadas con la cepa 1 de <i>Pseudomonas</i> + inóculo de <i>Phytophthora</i>
Cepa 2	C 2	Semillas inoculadas con la cepa 2 de <i>Pseudomonas</i> + inóculo de <i>Phytophthora</i>
Cepa 3	C 3	Semillas inoculadas con la cepa 3 de

		<i>Pseudomonas</i> + inóculo de <i>Phytophthora</i>
Cepa 4	C 4	Semillas inoculadas con la cepa 4 de <i>Pseudomonas</i> + inóculo de <i>Phytophthora</i>
Cepa 5	C 5	Semillas inoculadas con la cepa 5 de <i>Pseudomonas</i> + inóculo de <i>Phytophthora</i>



Figura 25.- Detalle de macetas N°10 con sustrato, con plántulas comenzando a emerger.

Fuente: Foto propia.

- Al cabo de 5 días se raleó el ensayo dejando una sola planta por maceta.
- Exceptuando el tratamiento testigo 1, a los 7 días las macetas fueron inoculadas con 2 trocitos de 1 cm<sup>2</sup> de diámetro, de agar con medio AZ con crecimiento de *P. capsici* (Figura 26), ubicándolos a 1 cm del cuello de la planta.



Figura 26.- Inoculación de *Phytophthora capsici* en macetas. Fuente: Elaboración Propia.

- Las macetas fueron incubadas en invernadero sobre una mesada ranurada y fueron regadas periódicamente.

- Se realizó un seguimiento de los plantines durante 25 días, registrando la manifestación de síntomas correspondientes a *P. capsici*.

- Los valores resultantes fueron analizados estadísticamente, mediante análisis de varianzas, ANOVA y comparación de medias.

### **3.2.5 Biocontrol de *Phytophthora* en bandejas en cámara de cultivo.**

#### **Ensayo preliminar**

Con el objetivo de descartar aquellas cepas que no ofrecieran ningún grado de biocontrol ante *P. capsici*, se realizó un ensayo preliminar al definitivo. Este se realizó bajo condiciones de temperatura, humedad y luminosidad controladas en cámara de cultivo perteneciente al laboratorio de Fitopatología.

- Cada tratamiento consistió en bandejas con arena húmeda (30 %) que contenían 24 semillas de zapallito inoculadas con las 5 cepas de *Pseudomonas*,

según lo descrito anteriormente. El diseño experimental utilizado fue bloques completos al azar con 3 repeticiones por tratamiento. Exceptuando el tratamiento testigo 1, al resto se le incorporo pasado 24 horas 4 cuadrados distribuidos homogéneamente de 1 cm<sup>2</sup> de agar zapallito con *P. capsici*.

Los tratamientos fueron los siguientes:

<b>Tratamiento</b>	<b>Rótulo</b>	<b>Descripción</b>
Testigo 1	T	Semillas mojadas con solución fisiológica.
Testigo 2	P	Semillas mojadas con solución fisiológica + inóculo de <i>Phytophthora</i>
Cepa 1	C 1	Semillas inoculadas con la cepa 1 de <i>Pseudomonas</i> + inóculo de <i>Phytophthora</i>
Cepa 2	C 2	Semillas inoculadas con la cepa 2 de <i>Pseudomonas</i> + inóculo de <i>Phytophthora</i>
Cepa 3	C 3	Semillas inoculadas con la cepa 3 de <i>Pseudomonas</i> + inóculo de <i>Phytophthora</i>
Cepa 4	C 4	Semillas inoculadas con la cepa 4 de <i>Pseudomonas</i> + inóculo de <i>Phytophthora</i>
Cepa 5	C 5	Semillas inoculadas con la cepa 5 de <i>Pseudomonas</i> + inóculo de <i>Phytophthora</i>

- Las bandejas fueron incubadas en un cuarto de incubación, acondicionado a 27°C, con lámparas fluorescentes.

- Al cabo de 24 hs se realizó la inoculación de *P. capsici* con 4 cuadrados de medio de cultivo de 1 cm<sup>2</sup>. Al cabo del día 7 se registraron las plántulas con síntomas correspondientes a *P. capsici*.

-Se seleccionaron para el siguiente ensayo aquellas cepas de *Pseudomonas* que hubieran mostrado un buen comportamiento frente a de *P. capsici*. Se consideró como buen comportamiento aquellos tratamientos en los que en la bandeja el número de plantas sin síntomas era mayor al 50 % con respecto al testigo, en al menos 2 repeticiones.

### **3.2.6 Ensayo de Biocontrol en bandejas en cámara de cultivo**

Este ensayo se realizó con las cepas de mejor comportamiento seleccionadas en el ensayo preliminar (cepas 2 y 5). El mismo se realizó bajo condiciones de temperatura, humedad y luminosidad controladas en cámara de cultivo perteneciente al laboratorio de Fitopatología.

- Cada tratamiento consistió en bandejas con arena húmeda (30 %) que contenían 15 semillas de zapallito inoculadas con las cepas de *Pseudomonas*, e inóculo de *P. capsici*. Teniendo dos testigos, el primero solo con zapallitos de tronco inoculadas con solución fisiológica, y el segundo exactamente igual al anterior pero con el inóculo de *P. capsici*. El diseño experimental utilizado fue bloques completos al azar, para reducir y controlar la varianza del error experimental, con 5 repeticiones por tratamiento.

Los tratamientos fueron:

Tratamiento	Rótulo	Descripción
Testigo 1	T	Semillas mojadas con solución fisiológica.
Testigo 2	P	Semillas mojadas con solución fisiológica + inóculo de <i>Phytophthora</i>
Cepa de buen comportamiento 2	C 2	Semillas inoculadas con la cepa 2 de <i>Pseudomonas</i> + inóculo de <i>Phytophthora</i>
Cepa de buen comportamiento 5	C 5	Semillas inoculadas con la cepa 5 de <i>Pseudomonas</i> + inóculo de <i>Phytophthora</i>

-Las bandejas se incubaron en cámara a 27 °C, con luminosidad controlada con luz fluorescente, manteniendo las condiciones hídricas mediante el agregado de agua cada 48 h.

-A las 24 horas las macetas se inocularon con 2 trocitos de 1 cm<sup>2</sup> de medio AZ con crecimiento de *P. capsici* a 1 cm del cuello de la planta

- A los 7 días se realizó un recuento donde se registró el número de plantas con síntomas correspondientes a *P. capsici*.

Los valores resultantes fueron analizados estadísticamente con el software Infostat (Di Rienzo *et al*, 2019) mediante análisis de varianzas, ANOVA y comparación de medias.

### 3.2.7 Ensayo de *Pseudomonas sp.* como promotoras de crecimiento

- Se inocularon las semillas de zapallito con las 5 cepas de *Pseudomonas* seleccionadas en el Punto 3.2.1.

- El diseño utilizado fue bloques completos al azar, para reducir y controlar la varianza del error experimental con 5 repeticiones.

Cada tratamiento consistió en maceta plásticas con 2 semillas de zapallito, con sustrato Grow Mix.

Los tratamientos fueron:

<b>Tratamiento</b>	<b>Rótulo</b>	<b>Descripción</b>
Testigo 1	T	Semillas mojadas con solución fisiológica.
Cepa 1	C 1	Semillas inoculadas con la cepa 1 de <i>Pseudomonas</i> .
Cepa 2	C 2	Semillas inoculadas con la cepa 2 de <i>Pseudomonas</i> .
Cepa 3	C 3	Semillas inoculadas con la cepa 3 de <i>Pseudomonas</i> .
Cepa 4	C 4	Semillas inoculadas con la cepa 4 de <i>Pseudomonas</i> .
Cepa 5	C 5	Semillas inoculadas con la cepa 5 de <i>Pseudomonas</i> .

- Los tratamientos se incubaron en cámara a 25°C con luz fluorescente, manteniendo las condiciones hídricas con riego cada 48 h. Al cabo de 5 días se raleó cada maceta dejando una sola planta por maceta.

- A los 21 días Se extrajeron las plantas de las macetas, separando la parte aérea de la radicular.

-Se fotografiaron las raíces y el conjunto de hojas de cada planta frescas (figura 27). Las imágenes digitalizadas fueron procesadas mediante el software Imagen J.

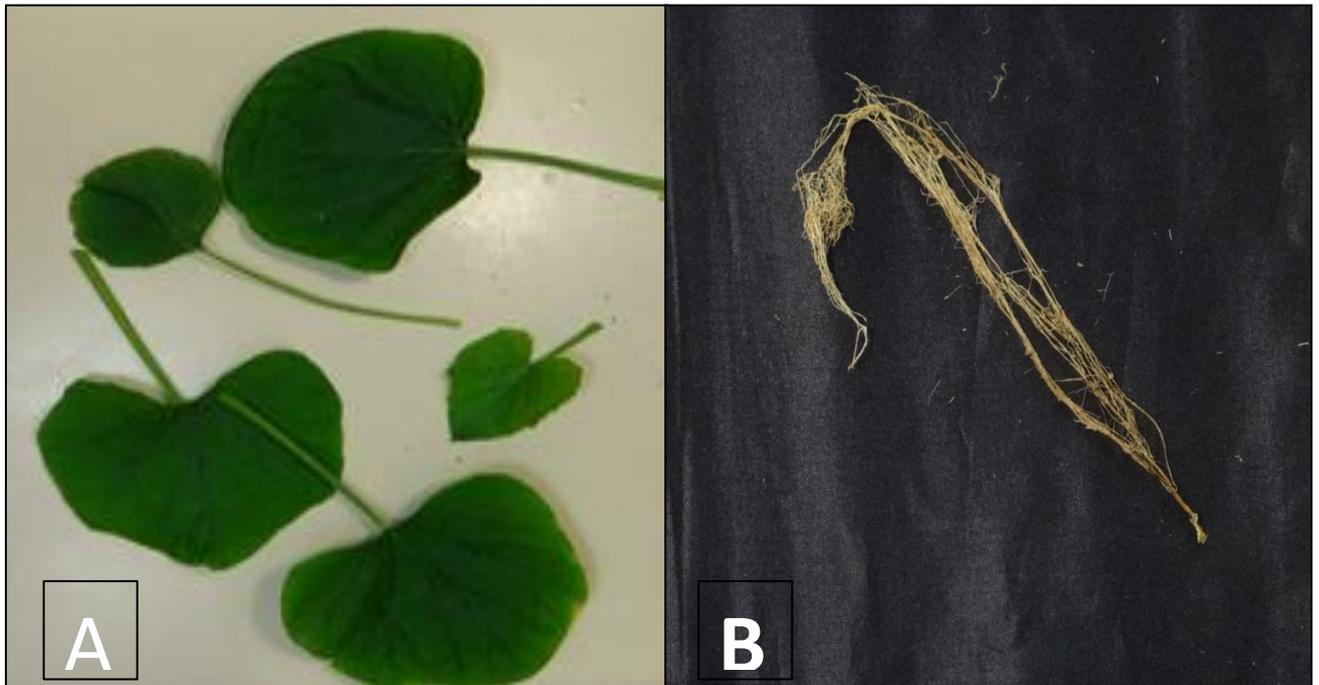


Figura 27.- Fotos tomadas para determinar Área Foliar. A , hojas de zapallito; B raíz de zapallito Fuente: Foto propia.

- Luego de fotografiar se puso el material en estufa de secado a 70°C durante 48 h. Al cabo de ese tiempo se registró el peso seco foliar y radicular.

### **3.2.8 Uso de software Imagen J**

-Para comenzar a trabajar se realizó una calibración de la imagen para obtener una escala a partir de una referencia, en este caso una regla colocada en la imagen (Figura 28).

-Una vez realizada la calibración se procedió a cuantificar el área utilizando la herramienta de “varita” la cual permite seleccionar objetos de colores uniformes (Figura 29).

-Por último, la función analizar permite cuantificar el Área, la cual se sombrea mediante el software.

- Se cuantificó cada una de las imágenes correspondiente a los tejidos foliares y radicales fresco de cada tratamiento.

Se realizó un análisis estadístico ANOVA, mediante el software InfoStat (Di Rienzo, 2019).



Figura 28.- Procesamiento de área radicular de las muestras a través del programa Imagen J. Se puede observar el detalle de la regla para poder medir la escala. Fuente: Elaboración propia.

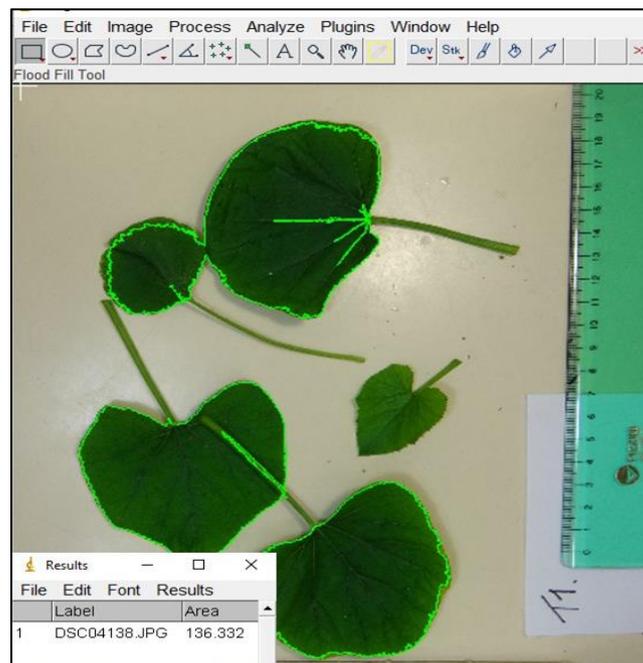


Figura 29.- Procesamiento de área foliar de las muestras a través del programa Imagen J. El verde fluorescente es el área seleccionada por el software y el cuadro en la zona inferior izquierda el resultado arrojado. Fuente: Foto propia.

## 4 Resultados y Discusión

### 4.1 Biocontrol de *Phytophthora capsici* en macetas en invernadero

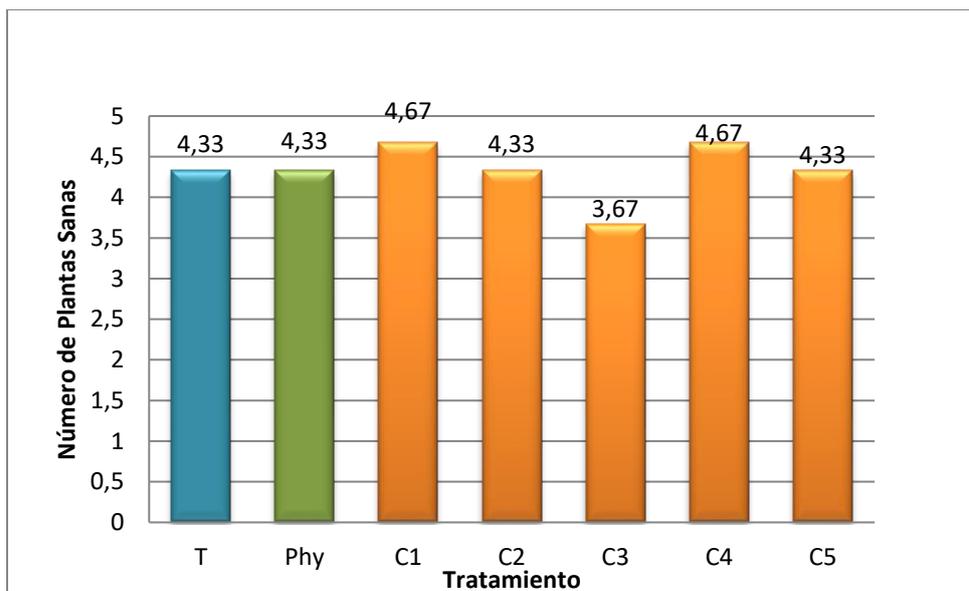
Durante el ensayo se vio que las plantas se encontraban con síntomas de etiolación. Este proceso ocurre por carencia de luz y se caracteriza por poseer tallos largos y débiles, con entrenudos largos y hojas de coloración amarilla pálida (Figura, 30). Además, todas las plantas fueron afectadas por otra enfermedad, ya que se pudieron observar signos correspondientes a Oídio.



Figura 30.- Detalle de planta etiolada. Fuente: Foto propia.

Debido a las condiciones ambientales presentadas durante el ensayo, los resultados obtenidos no fueron los esperados según los objetivos planteados. En la figura 31 se observa que el tratamiento Testigo tiene un promedio de plantas

afectadas igual al Testigo con *Phytophthora*. Además el promedio de alguno de los tratamientos con las cepas de *Pseudomonas* presentó un número de plantas afectadas mayor que el tratamiento Testigo. Se contrastó con un análisis ANOVA, donde el p-valor dio 0,29 (Alfa=0,05), esto indica que no presenta diferencias significativas.



**Figura 31, Número promedio de plantas sanas de cada tratamiento**

Las condiciones ambientales pudieron haber afectado al desarrollo del inóculo de *P. capsici*. Las fluctuaciones de temperatura máximas promediaron los 25°C, insuficiente para que se establezcan las condiciones del patosistema (González, 2016). Otra posibilidad es que la composición fisicoquímica o la microbiota del sustrato hayan afectado el normal desarrollo del patógeno.

A partir de esta experiencia se decidió continuar con los ensayos de Biocontrol en bandejas en otro ambiente bajo condiciones más controladas.

#### 4.2 Biocontrol de *Phytophthora* (Ensayo preliminar) en cámara de cultivo

Se observaron los síntomas a los séptimo días y se registró la supervivencia de plantas (Cuadro 2).

Cuadro 2.- Resultados de biocontrol de *P. capsici*, el valor de cada dato representa al número de plantas sanas. Ensayo preliminar.

Tratamiento	Rotulo	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3
TESTIGO	T	22	22	10
<i>Phytophthora</i>	Phy	4	1	1
Cepa 1 + <i>Phytophthora</i>	C1	<b>23</b>	<b>22</b>	<b>0</b>
Cepa 2 + <i>Phytophthora</i>	C2	0	2	0
Cepa 3 + <i>Phytophthora</i>	C3	0	1	0
Cepa 4 + <i>Phytophthora</i>	C4	1	1	0
Cepa 5 + <i>Phytophthora</i>	C5	<b>21</b>	<b>16</b>	<b>1</b>

Las cepas 1 y 5 son las que cumplen con los requisitos para ser evaluadas en el ensayo posterior, ya que en estos tratamientos el número de plantas afectadas fue menor a los 50% totales en el Testigo en al menos 2 de las 3 repeticiones (Figura 32).

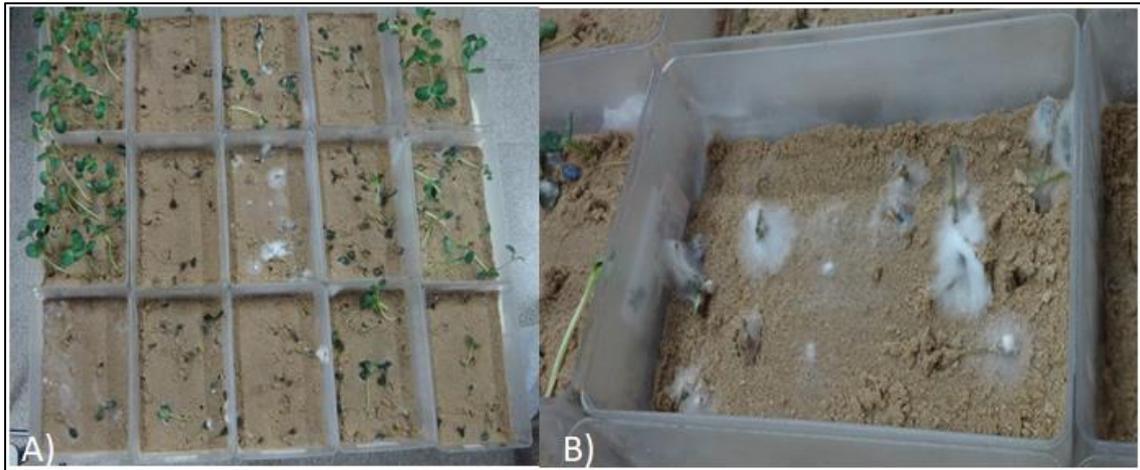


Figura 32.- Prueba de biocontrol. A) Detalle de las 5 cepas. B) Detalle de *P. capsici* infectando las plántulas de Zapallito de tronco. Fuente: Elaboración propia.

#### 4.3 Ensayo de Biocontrol en bandejas, en cámara de cultivo

El resultado del ANOVA arrojó un p-valor 0,01 (Alfa=0,05). La comparación de medias indicó que las cepas C5 y C1 no mostraron diferencias significativas entre si, ni con respecto al testigo, pero si hubo diferencias significativas con respecto al tratamiento con *Phytophthora* (Figura 33) (Cuadro 3 y4).

**Cuadro 3.- Media por tratamiento de plantas emergidas sin daño producido por *Phytophthora capsici*.**

Tratamiento	Testigo T	<i>Phytophthora</i> Phy	Cepa 1 C1	Cepa 5 C5
Media	11,2	6,8	9,2	9,2

Test LSD Fisher Alfa=0, 05 DMS=12, 0300 CV=19, 27 y R2=0, 5.

**Cuadro 4.- Resultados de análisis comparación de medias. Test de Fisher.**

Tratamiento	Medias	N	E.E	Columnas	Columnas
<i>Phytophthora</i>	6,8	5	0,78	A	
Cepa 5 + <i>Phytophthora</i>	9,2	5	0,78		B
Cepa 1 + <i>Phytophthora</i>	9,2	5	0,78		B
Testigo	11,2	5	0,78		B

Test LSD Fisher Alfa=0, 05 DMS=2,351 CV=19, 27 y R2=0, 50

En la siguiente figura se puede observar la media de plantas emergidas por bandejas, las letras diferentes indican diferencias significativas. Como se puede observar el tratamiento con *Phytophthora* sin inoculación de semillas presenta un número de plantas emergidas menor al resto de los tratamientos.

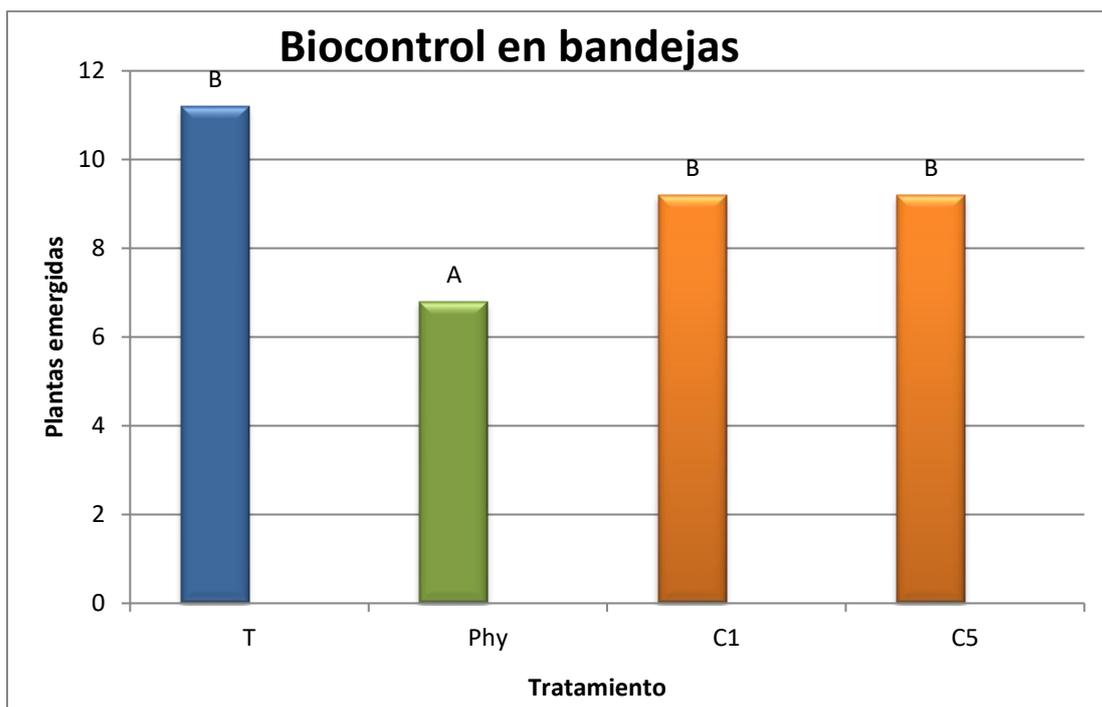


Figura 33.- Representación de media por tratamiento de plantas emergidas sin daño producido por *Phytophthora capsici*. Test de Fisher (Alfa = 0,05). Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos.

En base a los resultados obtenidos en el ensayo de biocontrol se puede observar que los tratamientos con las cepas de *Pseudomonas* seleccionadas en el ensayo preliminar, C1 y C5, han tenido un control significativo sobre *Phytophthora capsici*. Esto coincide con los resultados obtenidos por Pérez A. *et al.*, (2015), en donde justifica este comportamiento debido mecanismos de producción de compuestos extracelulares tensioactivos denominados biosurfactantes, con actividad lítica sobre zoosporas del género *Phytophthora*. Del mismo modo, en Investigaciones realizadas por Tran *et al.*, (2007) en donde identificó compuestos como massetolido A, en la interferencia de los mecanismos del patógeno. Otro estudio realizado por De Souza *et al.*, (2003) ha demostrado que las *Pseudomonas* producen sustancias como el biosurfactante massetolido A

interrumpiendo las membranas de las zoosporas, lo que lleva a la lisis de poblaciones enteras de zoosporas.

Otro mecanismo relacionado con los resultados obtenidos es la disponibilidad de Hierro (Fe). Las *Pseudomonas* producen sideróforos, esta es una sustancia quelante, la cual secuestra el hierro del ambiente rizosférico; al realizar esta actividad impide la disponibilidad de dicho elemento para los agentes patógenos. De esta manera las *Pseudomonas sp.* Tendrán ventaja en la colonización de nuevos espacios, desplazando a *P. capsici*. Algunos estudios comprobaron que *P. fluorescens*, inhibe el crecimiento del fitopatógeno en condiciones limitantes de hierro (Santoyo et al., 2010). Sin embargo, no todas las cepas utilizadas tuvieron éxito en

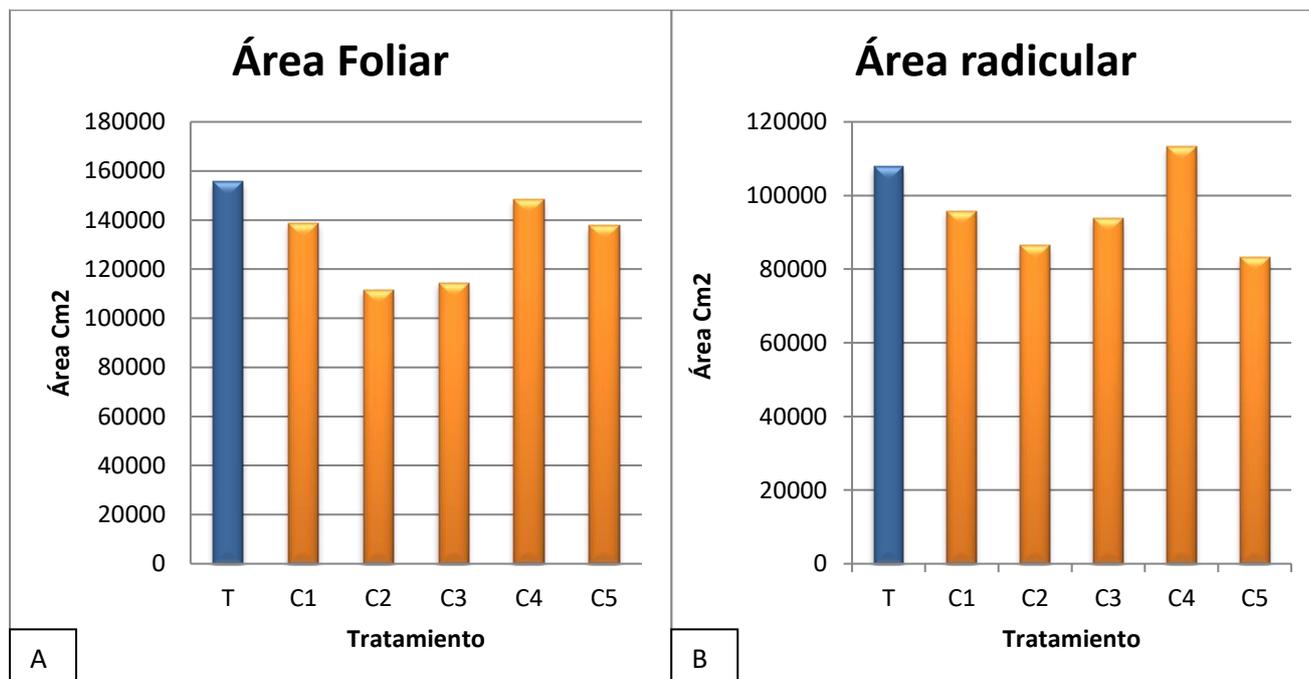
controlar al patógeno, esto se puede relacionar en la gran variabilidad inter e intra específicas del género *Pseudomonas* (Koehorst, 2016).

#### **4.4 Ensayo de *Pseudomonas sp.* como promotoras de crecimiento**

El Área foliar no presentó diferencias significativas entre tratamientos ( $p$ -valor  $0,76 > \alpha$ ). Esto mismo sucedió con el Área radicular ( $p$ -valor  $0,82 > \alpha$ ) (cuadro 5), (Figura 34).

**Cuadro 5.- Media de área foliar y radicular.**

Tratamiento	TESTIGO T	Cepa 1 C1	Cepa 2 C2	Cepa 3 C3	Cepa 4 C4	Cepa 5 C5
Área media foliar (cm <sup>2</sup> )	155615,4	138884,6	111588,4	114418,7	148357,2	137644,6
Área media radicular (cm <sup>2</sup> )	107979,4	95805,2	86472,6	93672,5	113284,6	83199,2

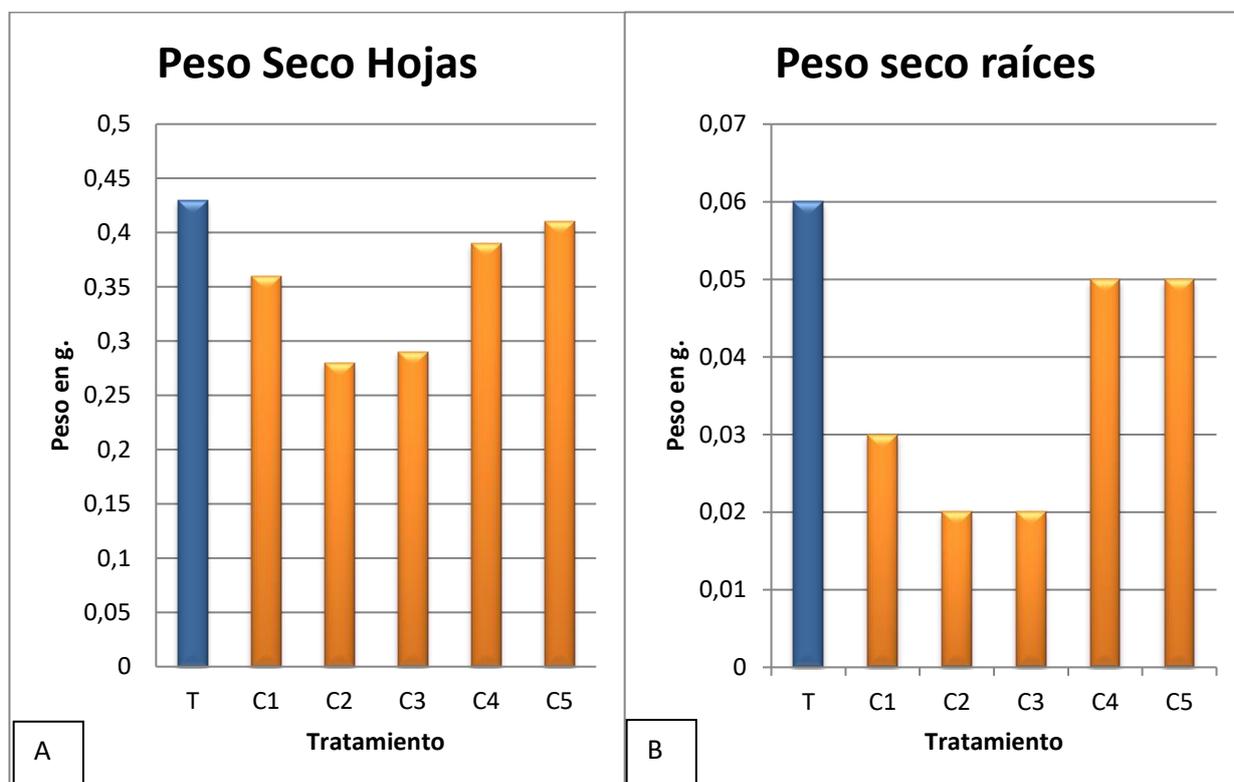


**Figura 34, A. Representación de media de área foliar en cm<sup>2</sup>. B. Representación de media de área radicular en cm<sup>2</sup>.**

El Peso foliar no presentó diferencias significativas entre tratamientos ( $p$ -valor  $0,47 > \alpha$ ). Esto mismo sucedió con el Peso radicular ( $p$ -valor es  $0,055 > \alpha$ ) (cuadro 6), (Figura 35).

**Cuadro 6.- Media de peso seco radicular en gramos.**

Tratamiento	Testigo T	Cepa 1 C1	Cepa 2 C2	Cepa 3 C3	Cepa 4 C4	Cepa 5 C5
Media radicular (g)	0,06	0,03	0,02	0,02	0,05	0,05
Media Foliar (g)	0,43	0,28	0,29	0,36	0,39	0,41



**Figura 35, A. Representación de media de peso radicular. B. Representación de media de peso foliar.**

En cuanto a los resultados del ensayo no se observaron diferencias significativas en las cepas de *Pseudomonas* utilizadas como promotoras de crecimiento respecto al testigo. Esto puede deberse a la abundancia de fósforo en

el sustrato, que pudo haber afectado la interacción planta- microorganismo promotor. Esta situación se ve reflejada en algunos trabajos como el presentado por Puente *et al.*, (2010) en donde se observó una respuesta positiva al rendimiento de trigo con inoculación de *Pseudomonas* en sitios donde la disponibilidad de fósforo es baja, a diferencia de lo ocurrido en ambientes con una alta disponibilidad de fósforo. Cabe destacar que el proceso de promoción de crecimiento se podría manifestar en estadios posteriores, Alfonso *et al.*, (2010) analizaron a los 7 días el crecimiento de tomate inoculado con metabolitos activos de *Pseudomonas aeruginosa* sin encontrar diferencias significativas en el crecimiento, pero sí las encontraron a los 15 días y en rendimiento a cosecha. Con lo cual se debería estudiar a futuro esta interacción con un periodo de observación mayor.

## **5 Conclusiones**

- **Se encontraron cepas autóctonas del género *Pseudomonas* con capacidad de biocontrol de la enfermedad producida por *P.capsici* en zapallito de tronco cuando son inoculadas en las semillas previas a ser sembradas.**
- **No se encontraron diferencias de crecimiento en las plantas de zapallito entre el testigo y los tratamientos inoculados con *Pseudomonas* autóctonas.**

### Consideraciones finales

Esta experiencia nos permite concluir la necesidad de continuar con las investigaciones con estos microorganismos realizando exploraciones sobre la inoculación de *Phytophthora*, para determinar cuál sería el método que permita identificar las mejores condiciones del patosistema. Es interesante realizar el ensayo de biocontrol en macetas con el sustrato utilizado normalmente en producciones hortícolas, para poder acercar esta herramienta al uso de los productores.

Se propone en futuros estudios, comprobar el comportamiento de las cepas en condiciones normales de producción.

En cuanto al ensayo de promoción de crecimiento, un punto importante es evaluar el ciclo completo de producción para observar si se presentan diferencias productivas.

En el caso del área radicular se dificultó el procesamiento digital de las raíces debido al poco contraste entre estas y el fondo de la imagen. Para próximas experiencias se debería buscar una forma de mejorar el contraste como por ejemplo, el uso de colorantes oscuros en el mojado de las raíces previo a la captura de las imágenes fotográficas. Otro aspecto a tener en cuenta es el ordenamiento de las raíces dentro de la bolsa de secado para evitar la superposición de los tejidos y obtener imágenes más representativas.

En base a la experiencia que constituye este trabajo final de aplicación, y en el objeto de alcanzar a medio o largo plazo la disminución del impacto ambiental provocado por el uso excesivo de agroquímicos, se sugiere la continuidad de ensayos en experimentos relacionados con este género de microorganismos.

## **6 Bibliografía**

AGRIOS, G. N. (2005). Fitopatología, 2A Edición. Editorial Limusa.

ALFONSO, E. T., PADRON, J.R., TAMARA T. (2010). *Efecto de un bioproducto a base de Pseudomonas aeruginosa en el cultivo del tomate (Solanum lycopersicum)*. Rev. colomb. biotecnol., Volumen 12, Número 1, p. 32-38, 2010.

ARGO, J., URIBE, L., NARANJO, J. (2012). *Distribución diferencial de bacterias con Potencial Biocontroladores de Spongospora subterránea en plantas de Papa*. Rev. Fac. Nal. Agr. Medellín 65(1): 6337-6348.

BAUTISTA-CALLES, J., GARCÍA-ESPINOSA, R., PÉREZ-MORENO, J., ZAVALETA-MEJÍA, E., MONTES-BELTMONT, R., FERRERA-CERRATO, R. (2008). *Inducción de supresividad a fitopatógenos del suelo. Un enfoque holístico al control biológico*. Interciencia, vol. 33, núm. 2, febrero, 2008, pp. 96-102 Asociación Interciencia Caracas, Venezuela.

CANTAMIUTTO, M., KROEGER I., AYASTUY M., BECKER C. (1999). *Evaluación de la respuesta a la fertilización con N-P-K en zapallo anquito en el sur de la provincia de Buenos Aires*. Boletín Hortícola, año 7, n° 24. Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales – UNLP- Unidad de Extensión y Experimentación Adaptativa INTA Gran Bs. As., 64 pp.

CUADRADO, B.; RUBIO, G.; SANTOS, W. (2009). *Caracterización de cepas de Rhizobium y Bradyrhizobium ( con habilidad de nodulación) seleccionados del cultivo de frijol caupi (Vigna unguiculata) como potenciales bioinóculos*. Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm. Vol. 38 (1), 78-104, 2009 Disponible en

<http://www.scielo.org.co/pdf/rccqf/v38n1/v38n1a06.pdf> Consultado 28 de septiembre de 2020.

DE SOUZA, J.T., DE BOER, M., DE WAARD, P., VAN BEEK, T.A., RAAIJMAKERS, J.M. (2003). *Biochemical, genetic, and zoosporicidal properties of cyclic lipopeptide surfactants produced by Pseudomonas fluorescens* [Propiedades bioquímicas, genéticas y zoosporicidas de los tensioactivos lipopéptidos cíclicos producidos por *Pseudomonas fluorescens*]. *Microbiología aplicada y ambiental* 69: 7161–7172. Disponible en <https://aem.asm.org/content/aem/69/12/7161.full.pdf>. Consultado 28 de septiembre de 2020.

DELLA GASPERA, P. (2013). *Manual del cultivo del zapallo anquito (Cucurbita moschata Duch.)*. Estación Experimental Agropecuaria La Consulta Centro regional Mendoza- San Juan. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria.

DI RIENZO J.A., CASANOVES F., BALZARINI M.G., GONZALEZ L., TABLADA M., ROBLEDO C.W. InfoStat versión 2019. Centro de Transferencia InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>.

DÍAZ-NÁJERA, J. F., VARGAS-HERNÁNDEZ, M., LEYVA MIR, S.G., AYVAR SERNA, S., MICHEL ACEVES, A. C., ALVARADO GÓMEZ, O. G. (2015). *Morphological and molecular identification of Phytophthora capsici L. in piping pumpkin and its greenhouse management* [Identificación morfológica y molecular de *Phytophthora capsici L.* en la tubería de calabaza y su manejo en invernadero]. *Revista chapingo serie horticultura*, vol. XXI, núm. 2, julio, 2015, pp. 157-168

Universidad Autónoma Chapingo Chapingo, México. Disponible en <http://www.scielo.org.mx/pdf/rcsh/v21n2/v21n2a4.pdf>. Consultado 28 de septiembre 2020.

ERWIN, D.C., & RIBERO, O. K. (1996). *Phytophthora diseases worldwide*. St. Paul, Minnesota, USA. APS Press.

ESQUIVEL-COTE, R., GAVILANES-RUIZ, M., CRUZ-ORTEGA, R. & HUANTE, P. *Importancia agrobiotecnológica de la enzima ACC desaminasa en rizobacterias, una revisión*. Revista fitotecnica Mexicana. Disponible en: <[http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0187-73802013000300010&lng=es&nrm=iso](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-73802013000300010&lng=es&nrm=iso)>. Último acceso: 27 de mayo de 2019.

FERNÁNDEZ LOZANO, J. (2012). *La producción de hortalizas en Argentina*. Secretaría de Comercio Interior de la Corporación del Mercado Central de Buenos Aires. Buenos Aires: Mercado Central de Buenos Aires, informe técnico Disponible en: [http://www.central-servicios.com.ar/cmcba/zip tecnicas/la\\_produccion\\_de\\_hortalizas\\_en\\_argentina.pdf](http://www.central-servicios.com.ar/cmcba/zip tecnicas/la_produccion_de_hortalizas_en_argentina.pdf). Último acceso: 27 de mayo de 2019.

FERRATTO, J. A., MONDINO, M. C., GRASSO, R., ORTIZ MACKINSON, M., LONGO, A., CARRANCIO, L., FIRPO, I. T., ROTONDO, R., ZEMBO, J. C., CASTRO, G., GARCÍA, M., RODRÍGUEZ FAZZONE, M., IRIBARREN, M. J. (2010). *Buenas prácticas agrícolas para la agricultura familiar, Cadena de las principales hortalizas de hojas en Argentina*. Editores: Ferrato, J. A. y Fazzone, M. R. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación –

FAO. Representación de la FAO en Argentina. Ciudad Autónoma de Buenos Aires – Argentina. 1ra edición.

FLORES SALINAS, C. (2015). *Evaluación de la tasa de crecimiento de Phytophthora cinnamomi Rands en Medios Alternativos*. Universidad autónoma agraria Antonio Narro, División Agronomía, Departamento de Parasitología. Saltillo, Coahuila, México. Disponible en: <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/7753/T20698%20FLORES%20SALINAS%2C%20CARLOS%20URIEL%20%20TESIS.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Consultado 3 de abril de 2020.

FLORES, D., GARCIA, M., OCHOA, R. (2013). *Propuesta de medio de cultivo para el estudio de Phytophthora nicotianae Breda de Han*. Revista de Ciencia y Tecnología. 24-27.

GARBI, M., SANGIACOMO, M. A. (2018). *Buenas prácticas en producciones horti-florícolas en áreas periurbanas*. Proyecto INTA-AUDEAS-CONDEV CIAC 940135. Edunlu.

GLUBER, W.D., & DAVIS, R.N. (2004). *Podredumbre de la corona y de las raíces por Phytophthora*. Plagas y enfermedades de las cucurbitáceas. Edición mundi-prensa.

GONZÁLES, A. (2018). *Image J: una herramienta indispensable para medir el mundo biológico*. Folium Relatos botánicos, Número 1. Sociedad Argentina de Botánica.

GONZÁLEZ GUERRERO, M. (2005). *Estudio de los mecanismos implicados en la homeostasis de metales pesados en el hongo formador de micorrizas*

*arbusculares Glomus intraradices*. Tesis doctoral. Universidad de Granada. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Disponible en: <https://hera.ugr.es/tesisugr/15432440.pdf>. Consultado 28 de septiembre de 2020.

GONZÁLEZ MOREJÓN, N., MARTÍNEZ COCA, B, & INFANTE MARTÍNEZ, D. (2010). *Mildiu polvoriento en las cucurbitáceas*. *Revista de Protección Vegetal*. 25(1), 44-50. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1010-27522010000100009&lng=es&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522010000100009&lng=es&tlng=es). Consultado 29 de junio de 2019.

GONZÁLEZ, B.A. (2016). Patología vegetal UNLu. *Zapallito de tronco*. Disponible en: <http://www.patologiavegetal.unlu.edu.ar/?q=node/54#OIDIO> Consultado 28 de Mayo 2019.

GOOGLE MAPS, (2019). Disponible en: <https://www.google.com.ar/maps/place/Gral.+Rodr%C3%ADguez,+Buenos+Aires/@-34.6635979,58.9757579,11.75z/data=!4m5!3m4!1s0x95bc8e48e4cd75cb:0xaa5203098e3dc2c3!8m2!3d-34.6083013!4d-58.9543265>. Consultado 27 de noviembre de 19.

GOULD, E. A., BUCKLEY, A. & CAMMACK, N. (1985). *Use of the biotin streptavidin interaction to improve flavivirus detection by immunofluorescence and ELISA tests [Uso de la interacción biotina estreptavidina para mejorar la detección de flavivirus mediante pruebas de inmunofluorescencia y ELISA]*. *Revista de métodos virológicos*. Volumen 11, Número 1, mayo de 1985, páginas 41-45.

HARDAM, A. R. (2005). *Pathogen profile: Phytophthora cinnamomi* [Perfil de patógenos: *Phytophthora cinnamomi*]. *Patología Molecular de Plantas* 19(2), 260–285.

HERNÁNDEZ BEJARANO, A. L., RODRIGUEZ DORANTES, A. M., BARRIOS RODRIGUEZ, M. A., RODRIGUEZ TOVAR, A., GUERRERO ZÚÑIGA, A. L. (2011). *Análisis de la diversidad microbiana de la rizosfera de tres especies vegetales de un suelo contaminado con hidrocarburos del petróleo y su potencial rizoremediador*. *Revista latinoamericana de biotecnología ambiental y algal*. Artículo original de investigación.

*Interacciones de microorganismos nocivos y beneficiosos y el efecto en las prácticas de cultivo*]. *Revisión anual de fitopatología*, edición 25:339-58.

Disponible en <https://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.py.25.090187.002011>.

Consultado 15 abril 2019.

IRIBARREN, M. J. (2015). *Caracterización de Phytophthora capsici como patógeno de especies hortícolas presentes en la zona noreste de la provincia de Buenos Aires*. Tesis para optar el título de doctor en ciencias naturales. Facultad de ciencias naturales y museo. Universidad Nacional de La Plata.

JIMÉNEZ, M., ASDRUBAL ARCIA, A., RAMIS, C., FARÍA, Y. (2013). *Evaluación de Trichoderma harzianum Rifai como inductor de resistencia a la pudrición blanca Sclerotium rolfsii. Sacc de la caraota (Phaseolus vulgaris L.) bajo condiciones controladas*. Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado, Laboratorio de Fitopatología, estado Lara Venezuela. Universidad Central de

Venezuela, estado Aragua. Disponible en:  
[https://www.researchgate.net/publication/297242811\\_Evaluacion\\_de\\_Trichoderma\\_harzianum\\_Rifai\\_como\\_inductor\\_de\\_resistencia\\_a\\_la\\_pudricion\\_blanca\\_Sclerotium\\_rolfsii\\_Sacc\\_de\\_la\\_caraota\\_Phaseolus\\_vulgaris\\_L\\_bajo\\_condiciones\\_controladas](https://www.researchgate.net/publication/297242811_Evaluacion_de_Trichoderma_harzianum_Rifai_como_inductor_de_resistencia_a_la_pudricion_blanca_Sclerotium_rolfsii_Sacc_de_la_caraota_Phaseolus_vulgaris_L_bajo_condiciones_controladas) . Consultado 28 de septiembre de 2020.

KOEHORST, J., VAN DAM, J., VAN HECK, R., SACCENTI, E., MARTINS DOS SANTOS, V., SUAREZ-DIEZ, M., SCHAAP, P. (2016). *Comparison of 432 Pseudomonas strains through integration of genomic, functional, metabolic and expression data [Comparación de 432 cepas de Pseudomonas mediante la integración de datos genómicos, funcionales, metabólicos y de expresión]*. Reporte científico 2016; 6: 38699. Disponible en <https://www.nature.com/articles/srep38699>. Consultado 28 de septiembre de 2020.

KUIPER, I., BLOEMBERG, G.V., LUGTENBERG, B.J.J. (2001). *Selection of a plant-bacterium pair as a novel tool for rhizostimulation of polycyclic aromatic hydrocarbon-degrading bacteria [Selección de un par planta-bacteria como nueva herramienta para la rizostimulación de bacterias que degradan los hidrocarburos aromáticos policíclicos]*. Universidad de Leiden, Instituto de Ciencias Moleculares de Plantas, Wassenaarseweg 64, 2333 AL Leiden, Los Países Bajos. Disponible en [https://www.researchgate.net/publication/11744515\\_Selection\\_of\\_a\\_Plant-Bacterium\\_Pair\\_as\\_a\\_Novel\\_Tool\\_for\\_Rhizostimulation\\_of\\_Polycyclic\\_Aromatic\\_Hydrocarbon-Degrading\\_Bacteria/link/00b7d516be1eeb1a0d000000/download](https://www.researchgate.net/publication/11744515_Selection_of_a_Plant-Bacterium_Pair_as_a_Novel_Tool_for_Rhizostimulation_of_Polycyclic_Aromatic_Hydrocarbon-Degrading_Bacteria/link/00b7d516be1eeb1a0d000000/download). Consultado 28 de septiembre de 2020.

LAVERDE ROBAYO, P. (2016). *Caracterización fenotípica de aislamientos nativos de Pseudomonas spp. con potencial biocontrolador de agentes fitopatógenos asociados al cultivo de papa trabajo de grado*. Presentado como requisito parcial Para optar al título de M.Sc. En Ciencias Biológicas Bogotá, D. C., Colombia. Disponible en: <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/20626/LaverdeRobayoPaolaLiliana2016.pdf?sequence=1>. Consultado 28 de septiembre de 2020.

LAVICOLI, A., BOUTET, E., BUCHALA, A., & METRAUX J. (2007). *Induced Systemic Resistance in Arabidopsis thaliana in Response to Root Inoculation with Pseudomonas fluorescens CHA0 [Resistencia sistémica inducida en Arabidopsis thaliana en respuesta a la inoculación de la raíz con Pseudomonas fluorescens CHA0]*. Departamento de Biología, Unité Biologie végétale, Université de Fribourg, cap. du musée 10, 1700 Fribourg, Suiza. Disponible en : <https://core.ac.uk/download/pdf/20638946.pdf>. Consultado 28 de septiembre de 2020.

LEVEAU J., & LINDOW S. 2005. *Utilization of the plant hormone indole-3-acetic acid for growth by Pseudomonas putida strain 1290 [Utilización de la hormona vegetal ácido indol-3-acético para el crecimiento por la cepa 1290 de Pseudomonas putida]*. Appl Environ Microbiol. 2005;71(5):2365-2371.

LONGONE, V. & ESCORIAZA, G. (2017). *Fungicidas para los cultivos de zapallo y zapallito de tronco*. Proyecto regional, cinturón verde, Mendoza. Instituto nacional de tecnología agropecuaria.

LUGTENBERG, B. & KAMILOVA, F. (2009). Rizobacterias promotoras del crecimiento de plantas. Universidad de Leiden, Instituto de Biología, Laboratorio Clusius, 2333 AL Leiden. *Bacteria in Agrobiolgy: Crop Ecosystems* (págs.295-343). Disponible en:

<https://www.annualreviews.org/doi/pdf/10.1146/annurev.micro.62.081307.162918>.

Consultado 28 de septiembre de 2020.

MADIGAN, T.; MARTINKO, J.; BENDER, K.; BUCKLEY, D. & STAHL, D. (2015). *Brock. Biología de los microorganismos*. PEARSON EDUCACIÓN, S.A. C/ Ribera del Loira, 28. 28042 Madrid (España).

MARTÍNEZ, R. L. (2007). Tesis doctoral. Unidad de microbiología departamento de patología y terapéutica experimental. Universidad de Barcelona. Disponible en:

[https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/2521/LRM\\_TESIS.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/2521/LRM_TESIS.pdf?sequence=1&isAllowed=y) consultado 28 de septiembre de 2020.

MAYZ-FIGUEROA, J. (2004). *Fijación biológica de nitrógeno*. Universidad de Oriente, Núcleo de Monagas, Laboratorio de Rizobiología, Campus Juanico, Manturín, Estado Monagas. *Revista Científica UDO Agrícola*, ISSN-e 1317-9152, Vol. 4, N°. 1, 2004, págs. 1-20.

MEDINA, Y. (2000). *Phytophthora: Características, diagnóstico y daños que provoca en algunos cultivos tropicales*. Medidas de control. Disponible en: <http://www.fao.org/docs/eims/upload/cuba/1060/cuf0022s.pdf>. Consultado el 8 de abril de 2018.

MERCADO CENTRAL DE BUENOS AIRES. (2019). *Boletín de Frutas y Hortalizas del Convenio INTA- CMCBA Nº 88 – Zapallito*. Gerencia de Calidad y Tecnología. Corporación del Mercado Central de Buenos Aires. Disponible en: <http://www.mercadocentral.gob.ar/sites/default/files/docs/boletin-INTA-CMCBA-88-zapallitos.pdf> Consultado en Febrero de 2020.

MITIDIERI, M.S., CONSTANTINO, A., CORBINO, G. (2012). *Introducción*. En: *Manual de horticultura periurbana*. Mitidieri, M.S. y Corbino, G. Eds. 1a ed. – San Pedro, Buenos Aires: Ediciones INTA. 2012.

MONDINO, M. C., FERRATTO, J. A., FIRPO, I. T., GRASSO, R. & LONGO, A. (1997). *Efecto del sistema de conducción y de la densidad en la productividad del zapallo alargado de tronco (Cucúrbita pepo var. medullosa L.) bajo invernadero*. XX Congreso Argentino de Horticultura. Bahía Blanca, 22-25/09/97.

MUÑOZ, D. (2017). *Bacterias promotoras del crecimiento vegetal: Mecanismos y aplicaciones*. Trabajo de fin de grado. Universidad de Sevilla. Facultad de Farmacia. Disponible en <https://idus.us.es/bitstream/handle/11441/65140/BENJUMEA%20MU%20D%20DANIEL.pdf?sequence=1&isAllowed=y> . Consultado 28 de septiembre de 2020.

NICHOLLS, H. (2004). *Phytophthora species blight potatoes and tomatoes, devastate soybean, rot cacao, and are the cause of sudden oak death. [Las especies de Phytophthora arruinan las papas y los tomates, devastan la soja, pudren el cacao y son la causa de la muerte súbita del roble]*. Comprender este género versátil será clave para su control. Detener la putrefacción. Biología de plos. 2. E213. Disponible en

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC449898/>. Consultado 28 de septiembre de 2020.

OLIVEROS-BASTIDAS, A.; MACÍAS, F.; FERNANDEZ, C.; MARIN, D.; MOLINILLO, J. (2009). *Exudados de la raíz y su relevancia actual en las interacciones alelopáticas*. Química Nova, 32(1), 198-213. Disponible en [https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-](https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-40422009000100035&script=sci_arttext&tlng=es)

[40422009000100035&script=sci\\_arttext&tlng=es](https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-40422009000100035&script=sci_arttext&tlng=es). Consultado 28 de septiembre de 2020.

PÉREZ, A. S. , COTO, A. O., ECHEMENDÍA, P. M., & ÁVILA, Q. G. (2015). *Pseudomonas fluorescens Migula, ¿control biológico o patógeno?* Revista de Protección Vegetal, 30(3), 225-234. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1010-](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522015000300008&lng=es&tlng=es)  
[27522015000300008&lng=es&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522015000300008&lng=es&tlng=es). Consultado el 20 de enero de 2019.

PUENTE, M. L., GARCÍA, J. E, RUBIO, E. & PERTICARI, A. (2010). *Microorganismos promotores del crecimiento vegetal empleados como inoculantes en trigo*. INTA – Estación Experimental agropecuaria Rafaela. información técnica de trigo y otros cultivos de invierno, campaña 2010 publicación miscelánea nº 116.

RESTREPO-FRANCO, G. M., MARULANDA-MORENO, S., YEISED DE LA FE-PÉREZ, DÍAZ-DE LA OSA, A., LUCIA-BALDANI, V., HERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ, A. (2014). *Bacterias solubilizadoras de fosfato y sus potencialidades de uso en la promoción del crecimiento de cultivos de importancia económica*. Instituto de Investigación en Microbiología y Biotecnología

Agroindustrial, Grupo de Investigaciones Biológicas de la Universidad Católica de Manizales, Caldas, Colombia. Departamento de Microbiología y Virología, Facultad de Biología, Universidad de La Habana, Cuba. Laboratorio de Gramíneas. EMBRAPA Agrobiología. Seropédica, Rio de Janeiro, Brasil. Disponible en <https://www.redalyc.org/pdf/1812/181238817006.pdf>. Consultado 28 de septiembre de 2020.

RIVES, N., ACEBO, Y., ALMAGUER, M., GARCÍA, J.C. Y HERNÁNDEZ, A. (2009). *Actividad antagónica frente a pyricularia grisea (sacc.) y fitoestimulación en el cultivo del arroz de cepas autóctonas de Pseudomonas putida (trev.)*. Rev. Protección Vegetal. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1010-27522009000200006](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522009000200006). Consultado el 25 de julio de 2020.

SAMANIEGO-GAMEZ, B., REYES-RAMIREZ, A., MORENO-VALENZUELA, O. A., & TUN-SUAREZ, J. M. (2017). *Resistencia sistémica inducida contra virus fitopatógenos mediada por la inoculación con la rizobacteria Bacillus spp.* Rev. Protección Vegetal. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1010-27522017000100002&lng=es&nrm=iso](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522017000100002&lng=es&nrm=iso). Consultado el 24 de julio de 2020.

SANGIACOMO, M.A., & GARBI, M. (2016). *Zapallo y Zapallito de tronco*. Cátedra horticultura Universidad Nacional de Luján. Disponible en <http://www.hort.unlu.edu.ar/sites/www.hort.unlu.edu.ar/files/site/Zapallo%20y%20zapallito.pdf>. Consultado el 15 de agosto de 2019.

SANTOYO, G., VALENCIA-CANTERO, E., OROZCO-MOSQUEDA, MA., PEÑA-CABRIALES, J. J., & FARÍAS-RODRÍGUEZ, R. (2010). *Papel de los sideróforos en la actividad antagónica de Pseudomonas fluorescens ZUM80 hacia hongos fitopatógenos*. Terra Latinoamericana, 28(1), 53-60. Disponible en [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0187-57792010000100006&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-57792010000100006&lng=es&tlng=es). Consultado 23 de agosto de 2019

SCHIPPERS B., BAKKER A.W. & BAKKER P.A.H.M. (1987). *Interactions of deleterious and beneficial microorganisms and the effect on cropping practices*

SENASA, SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD Y CALIDAD AGROALIMENTARIA, (2020). *Registro Nacional de terapéutica vegetal*. Visto el 11 de mayo de 2020. Disponible en: <https://www.argentina.gob.ar/>.

SHEPHARD R. W. & LINDOW S. 2008. *Two dissimilar N-acyl-homoserine lactone acylases of Pseudomonas syringae influence colony and biofilm morphology*. [ Dos acilasas de N-acil-homoserina lactona diferentes de Pseudomonas syringae influyen en la morfología de la colonia y la biopelícula]. Departamento de Biología Vegetal y Microbiana, Universidad de California, Berkeley, California 94720-3102. Disponible en <https://aem.asm.org/content/aem/75/1/45.full.pdf>. Consultado 3 de mayo 2018.

SPENCER, M., RYU, C.M., YANG, K.Y., KIM, Y.C., KLOEPPER, J.W., & ANDERSON, A.J. 2003. Induced defence in tobacco by Pseudomonas chlororaphis strain O6 involves at least the ethylene pathway. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. 63:27-34.

TRAN H, FICKE A., ASIIMWE T., HÖFTE M. & RAAIJMAKERS J.(2007). Role of the cyclic lipopeptide massetolide A in biological control of Phyto-phthora

infestans and in colonization of tomato plants by *Pseudomonas fluorescens*. Laboratory of Phytopathology, Wageningen University, Wageningen, the Netherlands; Department of Plant Protection, Hue University of Agriculture and Forestry, Hue, Vietnam; Laboratory of Phytopathology, Ghent University, Ghent, Belgium.

VALENCIA, E. VILLEGAS, J. , SÁNCHEZ, J.M. , PEÑA, J. FARÍAS, R. (2005). *Inhibición de fusarium oxysporum por cepas mutantes de Pseudomonas fluorescens zum80 incapaces de producir sideróforos*. Terra Latinoamericana, vol. 23, núm. 1, enero-marzo, 2005, pp. 81-88 Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo, A.C. Chapingo, México.

VALVERDE, C., AGARAS, B., MARRERO, M., FARINA, F. (2013). *Pseudomonas como potenciales biocontroladores de fitopatógenos: un largo y sinuoso camino*. Taller sobre microbiología destinado al biocontrol de plagas y enfermedades.

VÁSQUEZ-RAMÍREZ, L., & CASTAÑO-ZAPATA, J. (2017). *Manejo integrado de la marchitez vascular del tomate [*fusarium oxysporum f. sp. lycopersici* (sacc.) w.c. snyder & h.n. hansen]: una revisión*. Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica, 20(2), 363-374. Disponbiel en: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0123-42262017000200014&lng=en&tlng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-42262017000200014&lng=en&tlng=es). Consultado 27 de junio de 2019.

VILLA, P., FARIAS, A., GONZALES, G. (2005). *Evaluación de cepas de Pseudomonas sp. para el control de hongos fitopatógenos que afectan cultivos de*

*interés económico*. ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar, vol. XXXIX, núm. 3.

ZUNO FLORIANO, G., ESTRADA DE LOS SANTOS, P., GALLEGOS INFANTE, J. A., ROCHAGÚZMAN, N. E., ALDANA MADRID, M. L., VIRGEN CALLEROS, G., MILLER, M. G., MUÑOZ RUIZ, C. V. (2009). *Producción in vitro de plántula de papa inoculada con Pseudomonas sp. terra latinoamericana*. vol. 27, núm. 3, julio-septiembre, 2009, pp. 207-217 Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo, A.C. Chapingo, México.

## **7 Anexo**

Composición del medio de cultivo Gould S1 (Gould *et al.*, 1985)

- Sacarosa	10 g.	- NaHCO <sub>3</sub>	1 g
- MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	1 g	- K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	2,3 g
- N-laurilsarcosinato de sodio	1,2 g	- Casaminoacidos	5 g
- Glicerol	10 g	- Trimetoprima	20 mg.
- Agua destilada	1000 ml		

### **Composición y elaboración del Medio de Cultivo Agar Zapallito (AZ):**

Para la elaboración de este medio se requiere procesar zapallitos de tronco en cuadrados, descartar la pulpa y hervir durante 30 minutos. Se extrae el líquido por colación y se le agrega 15 g de Agar. Una vez disuelto el agar, se autoclave

<b>Composición del Medio AZ</b>	
- Zapallito de tronco	500 g
- Agua destilada	1000 ml
- Agar	15 g

durante 15 minutos a 121°C.

Cuadro 7.- Características del sustrato Grow Mix.

 <p><b>Componentes:</b></p> <p>Turba de musgo Sphagnum de fibras medias, Compost de corteza, Cal calcita, Cal dolomita, Agentes humectantes.</p>	<p><b>Composición química:</b></p> <p>pH: 5,0 - 5,8 (corregido)*                  C.E: 0,20 - 0,60 ds/m*                  Humedad: 55 - 65%                  **M.O: 80 - 85%                  **Cenizas: 20 - 15%</p> <p>**Valores referidos a materia seca.</p> <p><b>Características físicas:</b></p> <p>Densidad Sustrato Seca: 140-180 Kg/m3                  Densidad de Partícula: 1600 Kg/m3                  Porosidad total: 80-85%                  Capacidad de retención de agua: 60%                  Porosidad de aire: 20-25%                  Agua fácilmente disponible: 30-35%</p>
---	--

Cuadro 8, Conteo de colonias con una absorbancia de 1 en una longitud de onda de 600 nm.

		Cepas				
		Cepa 1	Cepa 2	Cepa 3	Cepa 4	Cepa 5
Repetición	1	$3,5 \times 10^7$	$3,3 \times 10^7$	$6 \times 10^7$	$4 \times 10^7$	$4 \times 10^7$
	2	$5 \times 10^7$	$5,2 \times 10^7$	$5,5 \times 10^7$	$6 \times 10^7$	$5 \times 10^7$
	3	$2,6 \times 10^7$	$1 \times 10^8$	$4 \times 10^7$	$3,3 \times 10^7$	$2 \times 10^7$
	4	$6 \times 10^7$	$6,6 \times 10^7$	$6 \times 10^7$	$7,1 \times 10^7$	$1 \times 10^8$
	5	$2 \times 10^7$	$5,5 \times 10^7$	$1 \times 10^8$	$2 \times 10^7$	$3,3 \times 10^7$

## 7.1 Biocontrol de *Phytophthora* en macetas en invernadero

Cuadro 9, Contabilización de plantas emergidas sin daño producido por *Phytophthora capsici*, luego de 25 días a la siembra.

Tratamiento	Rotulo	Repetición			Media
		1	2	3	
TESTIGO	T	5	4	4	4,33
<i>Phytophthora</i>	Phy	4	5	4	4,33
Cepa 1 + <i>Phytophthora</i>	C1	4	5	5	4,67
Cepa 2 + <i>Phytophthora</i>	C2	3	5	5	4,33
Cepa 3 + <i>Phytophthora</i>	C3	3	4	4	3,67
Cepa 4 + <i>Phytophthora</i>	C4	5	5	4	4,67
Cepa 5 + <i>Phytophthora</i>	C5	3	5	5	4,33

## 7.2 Ensayo de Biocontrol en bandejas en cámara de cultivo

Cuadro 10, Contabilización de plantas emergidas sin daño producido por *Phytophthora capsici*, luego del 5to día de siembra. Sobre un total de 15 semillas sembradas.

Tratamiento	Rotulo	1	2	3	4	5
Testigo	T	12	11	12	10	11
Cepa 5 + <i>Phytophthora</i>	C5	10	10	5	10	11
Cepa 1 + <i>Phytophthora</i>	C1	11	7	7	10	11
<i>Phytophthora</i>	Phy	8	7	5	8	6

### Resultados del análisis estadístico LSD Fisher

Cuadro 11.- Análisis de la Varianza (SC tipo III)

FV	SC	Gl	CM	F	P-valor
Modelo	48,6	3	16,2	5,27	0,01
Tratamiento	48,6	3	16,2	5,27	0,01
Error	49,2	16	3,08		
Total	97,8	19			

Cuadro 12.- Test LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=2,351 CV=19,27 y R2=0,50

Tratamiento	Medias	N	E.E	Colum nas	Colum nas

<i>Phytophthora</i>	6,8	5	0,78	A	
Cepa 5 + <i>Phytophthora</i>	9,2	5	0,78		B
Cepa 1 + <i>Phytophthora</i>	9,2	5	0,78		B
Testigo	11,2	5	0,78		B

### 7.3 Ensayo de *Pseudomonas sp.* como promotoras de crecimiento

Cuadro 13.- Resultados de Área en cm<sup>2</sup> y Peso en g por cada tratamiento.

Tratamiento	Rep etición	Área foliar (Cm <sup>2</sup> )	Peso seco Foliar (g)	Área radicular (Cm <sup>2</sup> )	Peso seco radicular (g)
TESTIGO	1	158781	0,43	94924	0,06
TESTIGO	2	210565	0,62	158637	0,10
TESTIGO	3	122687	0,35	130151	0,07
TESTIGO	4	97779	0,26	48493	0,01
TESTIGO	5	188265	0,47	107692	0,05
CEPA 1	1	86258	0,26	70924	0,05
CEPA 1	2	101030	0,19	33576	0,00
CEPA 1	3	187097	0,48	141992	0,06
CEPA 1	4	164995	0,32	126323	0,02
CEPA 1	5	155043	0,53	106211	0,04
CEPA 2	1	53821	0,17	50729	0,01
CEPA 2	2	152750	0,37	130051	0,04
CEPA 2	3	154709	0,37	99357	0,02

CEPA 2	4	42695	0,12	36982	0,01
CEPA 2	5	153967	0,38	115244	0,02
CEPA 3	1	166994	0,50	75062	0,01
CEPA 3	2	227880	0,53	93776	0,04
CEPA 3	3	106149	0,25	105187	0,03
CEPA 3	4	85835	0,18	84355	0,00
CEPA 3	5	68254	0,21	100729	0,03
CEPA 3	3	106149	0,25	105187	0,03
CEPA 3	4	85835	0,18	84355	0,00
CEPA 3	5	68254	0,21	100729	0,03
CEPA 4	1	169864	0,36	78717	0,05
CEPA 4	2	151197	0,48	151343	0,04
CEPA 4	3	181094	0,40	179318	0,06
CEPA 4	4	220141	0,63	135037	0,12
CEPA 4	5	19490	0,06	22008	0,00
CEPA 5	1	157330	0,50	127011	0,04
CEPA 5	2	170797	0,41	108895	0,06
CEPA 5	3	45071	0,19	47494	0,03
CEPA 5	4	91399	0,39	90121	0,06
CEPA 5	5	223626	0,57	42475	0,06

Área Foliar

Resultados del análisis estadístico ANOVA

Cuadro 14.- Análisis de la Varianza (SC tipo III)

FV	SC	GI	CM	F	P-valor
----	----	----	----	---	---------

Modelo	906661036 2	5	18133220 72	0,52	0,76
tratamiento	906661036 2	5	18133220 72	0,52	0,76
Error	939883174 11	27	34810487 93		
Total	1,03055E+ 11	32			

Área Radicular

Resultados del análisis estadístico ANOVA

Cuadro 15.- Análisis de la Varianza (SC tipo III)

FV	SC	GI	CM	F	P- valor
Modelo	352110837 6	5	70422167 5,3	0,44	0,82
Tratamiento	352110837 6	5	70422167 5,3	0,44	0,82
Error	433052026 59	27	16038963 95		
Total	468263110 36	32			

### Peso seco Foliar

#### Resultados del análisis estadístico ANOVA

Cuadro 16.- Análisis de la Varianza (SC tipo III)

FV	SC	Gl	CM	F	P-valor
Modelo	0,11	5	0,02	0,94	0,47
Tratamiento	0,11	5	0,02	0,94	0,47
Error	0,62	27	0,02		
Total	0,73	32			

### Peso seco Radicular

#### Resultados del análisis estadístico ANOVA

Cuadro 17.- Análisis de la Varianza (SC tipo III)

FV	SC	Gl	CM	F	P-valor
Modelo	0,01	5	0,02	2,94	0,055
tratamiento	0,01	5	0,02	2,94	0,055
Error	0,02	27	0,02		
Total	0,03	32			