



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

**Aislamiento e identificación de
bacterias con potencial de biocontrol
a *Alternaria* sp., asociadas a
*Solanum lycopersicum***

Viviana Sánchez Soto

Universidad Nacional de Colombia
Facultad De Ciencias Agropecuarias, Departamento Ciencias Agropecuarias
Palmira, Colombia
2017

Aislamiento e identificación de bacterias con potencial de biocontrol a *Alternaria* sp., asociadas a *Solanum lycopersicum*

Viviana Sánchez Soto

Tesis o trabajo de investigación presentada(o) como requisito parcial para optar al título
de: Bacterióloga

Magíster en Ciencias Agrarias

Director (a):

Ph.D. Eyder Daniel Gómez López

Codirector (a):

Msc. Carlos Alberto Huertas Davey

Línea de Investigación:

Protección de Cultivos

Grupo de Investigación:

Protección Vegetal para el Mejoramiento de la Productividad

Universidad Nacional De Colombia

Facultad de Ciencias Agropecuarias, Departamento Ciencias Agropecuarias

Palmira, Colombia

2017

(Dedicatoria o lema)

Agradezco primeramente a Dios por haberme dado la vida y por la oportunidad de culminar esta etapa de mi vida.

A mi madre Yolanda Soto Montoya, de manera muy especial puesto que ha sido el motor de mi vida y por brindarme su apoyo incondicional aun en momentos difíciles, eres un ejemplo de lucha y superación.

A mi querido padre José Manuel Sánchez, que donde quiera que esté siempre lo recuerdo y me ha dado las fuerzas para cumplir mis sueños.

A mi hermano Manuel José Sánchez Soto, por su apoyo incondicional, compañía y por sus palabras de aliento que no me dejaron desfallecer.

A mi familia, amigos y compañeros quienes compartieron conocimiento, alegrías y tristezas. Y en general a todas y cada una de las personas que durante este tiempo estuvieron a mi lado apoyándome para que este sueño se hiciera realidad.

Agradecimientos

Agradezco a Dios por ser mi guía y por darme la oportunidad de terminar este proyecto.

A mis padres, hermano y familiares por su apoyo incondicional, colaboración, paciencia y comprensión durante estos años.

Doy agradecimientos a la Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira por darme la oportunidad de fortalecer y adquirir nuevos conocimientos y por tener el privilegio de formar parte de ella.

Agradezco a la plataforma HERMES, por su financiación a este proyecto con los elementos necesarios para la culminación de mi tesis.

En especial agradezco a mis Directores, Eyder Daniel Gómez López y Carlos Alberto Huertas Davey por su apoyo incondicional en momentos de dificultades, por compartir sus conocimientos, experiencias y consejos que me ayudaron a fortalecerme como persona y profesional.

A mis amigos y compañeros de estudio: Carol Marulanda, Sandra Vivas, Martha Lucia Velasco y Carlos Alberto Hernández con los que compartí grandes momentos, por brindarme su apoyo y amistad incondicional.

A mis compañeros del grupo de investigación doy gracias por su tiempo y apoyo en la culminación de mi tesis: Carlos Alberto Hernández, Martha Lucia Velasco, Andrés Felipe Rendón, Ángela Domínguez, Lorena Montenegro, Claudia Carabalí y Geysson Hernández.

Agradezco al grupo de investigación “Protección vegetal para el mejoramiento de la productividad” de la Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira por abrirme sus puertas y prestarme toda su infraestructura para la culminación de mi proyecto de tesis.

Resumen

El tomate de mesa (*Solanum lycopersicum* L.) es uno de los cultivos de mayor importancia en nuestro país. Esta especie es afectada por varios problemas fitosanitarios entre ellos virus, bacterias, nematodos y hongos. Entre las enfermedades más frecuentes y limitantes se encuentran el tizón tardío, causado por hongos del género *Alternaria* sp., llegando a afectar la producción significativamente. Para el control de este fitopatógeno se aplica gran cantidad de fungicidas, los cuales afectan el ambiente y en algunos casos inducen resistencia de los patógenos, por esta razón se requiere buscar alternativas viables y seguras que reduzcan el impacto ambiental y económico que ocasionan el uso de estos productos químicos de síntesis industrial. El objetivo del presente trabajo de investigación fue estudiar el potencial de protección de los aislamientos bacterianos del género *Bacillus* y *Pseudomonas* con capacidad antagonica sobre las especies de *Alternaria* sp., asociadas al cultivo del tomate en cinco municipios productores del Valle del Cauca. Como resultado de este estudio se identificaron morfológica y molecularmente cinco aislamientos de *Alternaria alternata* de los municipios de Candelaria, La Cumbre, Palmira, Restrepo y Vijes aisladas de frutos de tomate. De igual manera se evaluaron 244 aislamientos bacterianos mediante la técnica *in vitro* de enfrentamiento dual y se identificaron 34 bacterias de suelo rizosférico con mejor antagonismo a los cinco aislamientos de *A. alternata* con un potencial antagonico que oscila entre un 80 y 97,8% de inhibición, y tres aislamientos bacterianos provenientes de raíces sanas con un porcentaje de inhibición del 70,1 al 90%. Estos aislamientos se identificaron morfológica y molecularmente, encontrándose los géneros *Bacillus amyloliquefaciens*, *B. subtilis*, *B. methylotrophicus*, *Stenotrophomonas maltophilia* y *Achromobacter mucicolens*, como también se les realizó un perfil bioquímico a cada uno de ellos. Así mismo, las *Pseudomonas* aisladas no presentaron biocontrol a *A. alternata*. De igual forma, se identificaron 14 bacterias con producción de sideróforos utilizando el ensayo de cromo azurol-S (CAS).

Palabras clave: Tomate, Antagonismo, *Bacillus*, *Stenotrophomonas*, *Achromobacter*.

Abstract

The table tomato (*Solanum lycopersicum* L.) is one of the most important crops in our country. This species is affected by several phytosanitary problems including viruses, bacteria, nematodes and fungi. The most frequent and limiting diseases are late blight, caused by fungi of the genus *Alternaria* sp., Affecting production significantly. For the control of this phytopathogen, a large amount of fungicides is applied, which affect the environment and in some cases induce pathogen resistance, for this reason it is necessary to look for viable and safe alternatives that reduce the environmental and economic impact caused by the use of these chemical products of industrial synthesis. The objective of this research was to study the protection potential of *Bacillus* and *Pseudomonas* bacterial isolates with antagonistic capacity on *Alternaria* sp. Species, associated with tomato cultivation in five producing municipalities of Valle del Cauca. As a result of this study, five isolates of *Alternaria alternata* from the municipalities of Candelaria, La Cumbre, Palmira, Restrepo and isolates of tomato fruits were morphologically and molecularly identified. Likewise, 244 bacterial isolates were evaluated using the in vitro dual challenge technique and 34 rhizospheric soil bacteria were identified with better antagonism to the five isolates of *A. alternata* with an antagonistic potential ranging between 80 and 97.8% inhibition, and three bacterial isolates from healthy roots with a percentage of inhibition of 70.1 to 90%. These isolates were identified morphologically and molecularly, with the genera *Bacillus amyloliquefaciens*, *B. subtilis*, *B. methylotrophicus*, *Stenotrophomonas maltophilia* and *Achromobacter mucicolens*, as well as a biochemical profile for each of them. Likewise, the isolated *Pseudomonas* did not present biocontrol to *A. alternata* similarly, 14 bacteria with siderophore production were identified using the chromium azurol-S (CAS) assay.

Keywords: Tomato, Antagonismo, *Bacillus*, *Stenotrophomonas*, *Achromobacter*.

Contenido

	Pág.
Resumen	IX
Lista de figuras	XIII
Lista de tablas	XVI
Abreviaturas	XVII
Introducción	1
1. Revisión de Literatura	5
1.1 Tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> L.).....	5
1.1.1 <i>Alternaria</i> en Tomate.....	8
1.1.2 Género <i>Alternaria</i>	9
1.2 Rizosfera	13
1.2.1 Rizobacterias	14
1.2.2 Sideróforos.....	16
2. Objetivos	19
2.1 Objetivo general.....	19
2.2 Objetivos específicos.....	19
3. Materiales y Métodos	21
3.1 Localización.....	21
3.2 Recolección de muestras.....	22
3.3 Aislamiento de hongo fitopatógeno	22
3.3.1 Purificación y conservación	23
3.3.2 Tasa de crecimiento micelial (TCM)	23
3.3.3 Caracterización morfológica	24
3.3.4 Caracterización molecular	24
3.3.5 Pruebas de patogenicidad.....	26
3.4 Aislamiento de bacterias.....	27
3.4.1 Procesamiento de suelo rizosférico.....	27
3.4.2 Procesamiento de raíces.....	28
3.4.3 Caracterización morfológica y bioquímica	29
3.4.4 Caracterización molecular	31
3.5 Determinación del efecto antagónico <i>in vitro</i>	32
3.6 Producción de Sideróforos.....	33
4. Resultados y Discusión	35

4.1	Aislamiento del hongo fitopatógeno.....	35
4.1.1	Tasa de crecimiento micelial (TCM).....	35
4.1.2	Caracterización morfológica.....	36
4.1.3	Caracterización Molecular	41
4.1.4	Pruebas de Patogenicidad.....	45
4.2	Determinación del efecto antagónico <i>in vitro</i>	48
4.2.1	Suelo rizosferico	49
4.2.2	Raíces	55
4.2.3	Caracterización morfológica y Bioquímica	62
4.2.4	Caracterización Molecular	68
4.2.5	Producción de Sideróforos.....	72
5.	Conclusiones y recomendaciones	77
5.1	Conclusiones.....	77
5.2	Recomendaciones.....	78
A.	Anexo: Protocolo de Extracción y purificación de ADN de hongos.....	79
B.	Anexo: Protocolo de extracción y purificación de ADN de bacterias	81
C.	Anexo: Composición del Medio CAS	83
D.	Anexo: Promedio del % de inhibición de los aislamientos bacterianos de la rizosfera frente a los aislamientos de <i>Alternaria alternata</i> evaluados	85
E.	Anexo: Promedio del % de inhibición de los aislamientos bacterianos de la raíz de Tomate de mesa frente a los aislamientos de <i>Alternaria alternata</i> evaluados ..	107
F.	Anexo: Caracterización Morfológica de las Bacterias antagónicas a los aislamientos de <i>Alternaria alternata</i>.....	121
G.	Anexo: Caracterización Bioquímica de las Bacterias antagónicas a los aislamientos de <i>Alternaria alternata</i>.....	125
	Bibliografía	127

Lista de figuras

	<u>Pág.</u>
Figura 1-1: Producción a nivel mundial de tomate en fresco.....	6
Figura 1-2: Descripción botánica y morfología del tomate	7
Figura 1-3: Representación esquemática de los componentes de la rizosfera.	14
Figura 3-1: Toma de muestras de suelo rizosferico. a) Plantas de tomate sanas; b) Recolección de suelo rizosferico; c) Selección de raíces sanas.	22
Figura 3-2: Sintomatología asociada con el hongo fitopatógeno <i>Alternaria</i> sp. a) Afección en hojas; b) Afección típica en frutos de tomate.	23
Figura 3-3: Obtención de aislamientos rizosfericos. a- Agitación del suelo rizosferico por 30 min; b- Diluciones 1:10; c- Siembra de la Dilución en Agar Nutritivo; d- Purificación de las colonias con asa bacteriológica; e- Bacterias de suelo en Agar Nutritivo; f- Cultivo puro.....	28
Figura 3-4: Obtención de aislamientos a partir de raíces sanas de Tomate. a- Macerado de raíces con NaCl al 0.9%; b- Siembra diluciones en agar King-B; c- Selección de bacterias con fluorescencia con luz negra; d-Cultivo puro con fluorescencia en luz negra.	29
Figura 3-5: Caracterización morfológica y aspecto de las bacterias.	30
Figura 4-1: <i>Alternaria alternata</i> aislamiento del municipio de La Cumbre (1H), Finca Tapias. a- Conidios y conidióforo; b- Conidios en cadena; c- Crecimiento en PDA al 2% anverso; d- Crecimiento en PDA a 2% reverso. a- y b- Escala 20 µm.	37
Figura 4-2: <i>Alternaria alternata</i> aislamiento del municipio de Vijos (3H), Finca El Samán. a- Patrón de esporulación y conidios; b- Conidios en cadena; Escala 20 µm. c- Crecimiento en Agar Papa-Zanahoria anverso; d- Crecimiento .en Agar Papa-Zanahoria reverso.	37

- Figura 4-3: *Alternaria alternata* aislamiento del municipio de Palmira (4H), Finca Lote UNALP; a- Patrón de esporulación y conidios; b- Conidios en cadena; Escala 20 μ m. c- Crecimiento en Agar V8 anverso; d- Crecimiento en Agar V8 reverso. 39
- Figura 4-4: Aislamientos en medio de cultivo de *Alternaria alternata*, a- Aislamiento Candelaria (6H), Finca CEUNP, Crecimiento en Agar V8 anverso; b- Aislamiento 6H, Crecimiento en Agar V8 reverso; c- Aislamiento Restrepo (5H), Finca Aguacate, Crecimiento en Agar V8 anverso; d- Aislamiento 5H, Crecimiento en Agar V8 reverso... 39
- Figura 4-5: Árbol filogenético de las secuencias de aislamientos de *Alternaria alternata*. Obtenidas mediante la amplificación de la región de ADNr mediante el cebador universal ITS1 –ITS4; usando el coeficiente de similitud del vecino más cercano (Neighbor joining) 45
- Figura 4-6: Severidad de *Alternaria alternata* en pruebas de patogenicidad. a- y b- Síntomas 4 días después de la inoculación de los frutos de tomate, c- y d- Síntomas 8 días de inoculados, (a, b, c y d Aislamiento 1H-La Cumbre); e- y f- Síntomas 4 días de inoculados los tomates, g- y h- Síntomas 8 días de inoculados, (e, f, g y h Aislamiento 3H-Vijes); i- y j- Síntomas 4 días de inoculados los tomates, k- y l- Síntomas 8 días de inoculados, (i, j, k y l Aislamiento 6H-Candelaria); m- y n- Síntomas 4 días de inoculados los tomates, ñ- y o- Síntomas 8 días de inoculados, (m, n, ñ y o Aislamiento 4H-Palmira); p- y q- Síntomas 4 días de inoculados los tomates, r- y s- Síntomas 8 días de inoculados, (p, q, r y s Aislamiento 5H-Restrepo); t, u, v y w Controles negativos. **¡Error! Marcador no definido.**
- Figura 4-7: Número de aislamientos antagonísticos obtenidos del suelo de la rizosfera de Tomate de mesa (*Solanum lycopersicum* L.) en cada municipio evaluado..... 49
- Figura 4-8: Prueba de antagonismo de bacterias rizosféricas frente al hongo de *Alternaria alternata* (1H - La Cumbre): a- GTBS3; b- GTBS4; c- GTBF2; d- STBS14; e- CTBS12; f- Control. 49
- Figura 4-9: Prueba de antagonismo de bacterias rizosféricas frente al hongo de *Alternaria alternata* (3H – Vijes): a- GTBS2; b- CTBS5; c- CTBS10; d- CTBS12; e- GTBF1; f- Control. 50
- Figura 4-10: Prueba de antagonismo de bacterias rizosféricas frente al hongo de *Alternaria alternata* (4H – Palmira): a- GTBS2; b- CTBS7; c- CTBS6; d- STBS21; e- CTBF2; f- Control. 51
- Figura 4-11: Prueba de antagonismo de bacterias rizosféricas frente al hongo de *Alternaria alternata* (5H – Restrepo): a- GTBS3; b- STBS18; c- STBS17; d- GTBF2; e- CTBS25; f- Control. 52

Figura 4-12: Prueba de antagonismo de bacterias rizosfericas frente al hongo de <i>Alternaria alternata</i> (6H - Candelaria): a) CTBS17; b) GTBS4; c) GTBS1; d) STBS17; e) STBS21; f) Control.	53
Figura 4-13: Número de aislamientos antagónicos obtenidos de las raíces sanas de Tomate de mesa (<i>Solanum lycopersicum</i> L.) en cada municipio evaluado.	55
Figura 4-14: Prueba de antagonismo de bacterias de raíces sanas de tomate frente al hongo de <i>Alternaria alternata</i> (1H – La Cumbre): a) ATPR11; b) BTPR7; c) STPR6; d) STPR4; e) ATPR14; f) Control.....	56
Figura 4-15: Prueba de antagonismo de bacterias de raíces sanas de tomate frente al hongo de <i>Alternaria alternata</i> (3H – Vijes): a) ATPR11; b) BTPR7; c) STPR1; d) STPR18; e) STPR4; f) Control.....	57
Figura 4-16: Prueba de antagonismo de bacterias de raíces sanas de tomate frente al hongo de <i>Alternaria alternata</i> (4H – Palmira): a) STPR4; b) BTPR7; c) STPR5; d) ATPR14; e) STPR15; f) Control.....	58
Figura 4-17: Prueba de antagonismo de bacterias de raíces sanas de tomate frente al hongo de <i>Alternaria alternata</i> (5H – Restrepo): a) ATPR11; b) BTPR7; c) STPR4; d) STPR18; e) STPR22; f) Control.....	59
Figura 4-18: Prueba de antagonismo de bacterias de raíces sanas de tomate frente al hongo de <i>Alternaria alternata</i> (6H – Candelaria): a) STPR1; b) BTPR7; c) STPR4; d) STPR10; e) STPR18; f) Control.....	60
Figura 4-19: Características macroscópicas de algunos aislamientos bacterianos con mejor antagonismo al hongo <i>Alternaria</i> sp.....	62
Figura 4-20: Características morfológicas de las bacterias con mejor antagonismo al hongo <i>Alternaria alternata</i>	64
Figura 4-21: Árbol filogenético de las secuencias de bacterias de suelo rizosferico y raíces de tomate de mesa obtenidas mediante la amplificación de la región de ADNr 16S mediante el cebador universal D1, usando el coeficiente de similitud del vecino más cercano (Neighbor joining bootstrap de 1000 réplicas). Raíz: <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> (ACX55038), <i>Bacillus subtilis</i> (EF423591), <i>Bacillus methylotrophicus</i> (LN999829), <i>Achromobacter mucicolens</i> (KP056322), <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> (LC106036). ..	69
Figura 4-22: Bacterias productoras de Sideróforos. Se observa el halo naranja claro sobre el fondo azul del medio.....	73
Figura 4-23: Bacterias antagónicas productoras de Sideróforos, Municipio de Candelaria, Vijes y Palmira.....	74

Lista de tablas

	Pág.
Tabla 1-1. Principales países productores de Tomate frescos, durante el año 2014	6
Tabla 1-2. Algunas especies filogenéticas de la Sección <i>Alternaria</i>	10
Tabla 3-1. Localidades productoras de Tomate de mesa en el Valle del Cauca	21
Tabla 3-2. “Primers” usados en la amplificación de la región 18S	25
Tabla 3-3. “Primers” usados en la amplificación de la región 16S	31
Tabla 4-1. Aislamientos de <i>Alternaria alternata</i> en Tomate de mesa	36
Tabla 4-2. Características morfológicas de los aislamientos de <i>Alternaria alternata</i>	43
Tabla 4-3. Caracterización Molecular, Número de Acceso y porcentaje de similitud (según GenBank) de aislamientos de <i>Alternaria</i> asociados a Tomate de Mesa, identificados mediante ITS1 – ITS4 (espacio interno transcrita)	44
Tabla 4-4. Resultados Incidencia de la enfermedad frutos de tomate de mesa.	46
Tabla 4-5. Resultados de la Caracterización morfológica de las bacterias antagónicas .	63
Tabla 4-6. Resultados de la caracterización molecular de los aislamientos de suelo rizosferico y raíces sanas de tomate de mesa.	70

Abreviaturas

Abreviatura	Término
A.	<i>Alternaria</i>
ADN	Ácido desoxirribonucleico
ADE	Agua destilada estéril
ADH	Arginina deshidrolasa
ALT	Altenueno
AME	Alternariol monometil éter
AMY	Amigdalina
AN	Agar nutritivo
ARA	Arabinosa
B.	Bacillus
BLAST	Basic Local Alignment Search Tool
BPCP	Bacterias Promotoras de Crecimiento Vegetal
BCAs	Agentes de control biológico
°C	Grados Centígrados
Ca	Catalasa
CAS	chromo azurol-S
cm	Centímetros
CEUNP	Centro Experimental de la Universidad Nacional en Palmira
CIT	Utilización del citrato
CURV	Curvularina
DHCURV	Dehidrocurvularina
Endos.	Endosporas
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura
FAOSTAT	FAO Dirección de Estadística
Fe²⁺	Forma ferrosa del hierro
Fe³⁺	Forma férrica del hierro
°	Grados
g	Gramos
GoTaq	Taq ADN polimerasa
GEL	Gelatinasa
GLU	Glucosa
h	Horas
ha	Hectárea
HCN	Cianuro de hidrógeno
H₂S	Producción de ácido Sulfhídrico
IAA	Ácido indol acético
IND	Producción de indol
INO	Inositol
ITS	Espacio transcripto interno – “Internal transcribed spacer”

ISR	Resistencia sistémica inducida
KB	Agar King B
kDa	Unidad de masa atómica unificada o Dalton
LDH	Lisina descarboxilasa
LB	Caldo Luria-Bertani
ml	Mililitros
mm/d	Milímetros/día
MAL	Maltosa
MADR	Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural
MEL	Melobiosa
Mm	Milimolar
MgCl₂	Cloruro de Magnesio
MPCV	Microorganismos Promotores del Crecimiento Vegetal
'	Minutos
Min	Minutos
m.s.n.m.	Metros sobre el nivel del mar
NaCl	Cloruro de Sodio
NCBI	National Center for Biotechnology Information
nM	Nanomolar
N₂	Dinitrógeno
NO₂	Dióxido de Nitrógeno
NH₃	Amoníaco
ng	Nano gramos
pb	Pares de base
PDA	Agar papa dextrosa
-	Negativo
%	Porcentaje
+	Positivo
ODH	Ornitina descarboxilasa
ONPG	Beta-galactosidasa
PCA	Agar papa-zanahoria
PCR	Reacción de cadena de la polimerasa
PDA	Agar Papa-Dextrosa
PGPR	Plant grown Promoting rizobacteria - Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal
"	Segundos
RHA	Raffinosa
r.p.m.	Revoluciones por minuto
SAR	Resistencia Sistémica Adquirida
sp.	No se ha determinado la especie
spp.	Se trata de varias especies
SOR	Sorbitol
t	Toneladas
TCM	Tasa de Crecimiento Micelial
TSB	Caldo de Tripticasa soya
UNALP	Universidad Nacional, Palmira
URE	Ureasa
V	Voltios
∕_v	Volumen/Volumen

VP	Producción de acetoina (Voges-Proskauer)
UV	Ultravioleta
V8	Agar Jugo V8
TDA	Triptófano desaminasa
TeA	Ácido tenuazónico
TBE	Tris/Borato/EDTA (ácido etilendiaminotetraacético)
OX	Oxidasa
µm	Micras
µl	Microlitros

Introducción

“El tomate de mesa, *Solanum lycopersicum* L. es la segunda hortaliza de mayor importancia después de la papa *Solanum tuberosum* L.” (Sañudo, 2013, p 8). “Esta planta es originaria de América y se cultiva en todo el mundo por su fruto comestible, su consumo se da tanto en fresco como en procesado” (Acosta y León, 2015, p 1). “El origen del género *Lycopersicon* se localiza en la región andina extendiéndose desde el sur de Colombia al norte de Chile” (Sañudo, 2013, p 11). La producción de tomate en fresco durante los años 1994 al 2014 revelan que el continente con mayor producción es Asia (52%), continuando con América (18,7%), Europa (16,9%) África (12%) y Oceanía (0,4%). (FAOSTAT, 2017).

A escala mundial, durante el año 2014 se produjeron 170.750.767 t, siendo China el principal productor seguido de India, Estados Unidos de América, Turquía, Egipto Irán, Italia, España, Brasil y México (FAOSTAT, 2017).

“En Colombia, la producción de tomate es común en casi todas las áreas productoras del país, no obstante se concentra, principalmente, en los departamentos de Cundinamarca, Norte de Santander, Valle de Cauca, Boyacá, Huila, Antioquia, Risaralda y Caldas” (Perilla *et al.*, 2011, p 222). Carreño *et al.*, (2007) señalan que:

La producción de tomate está distribuida en gran parte del territorio nacional a cargo de pequeños y medianos productores. El cultivo de esta hortaliza se presenta como una actividad de alto riesgo económico debido a los altos costos de producción por el uso intensivo de mano de obra e insumos, los altos índices de pérdidas en la poscosecha, por ser un producto altamente perecedero, los problemas fitosanitarios, la escasa tecnificación en la producción, los bajos rendimientos y la carencia de cultivares con resistencia a estas enfermedades (p 322).

Debido a la creciente demanda, el tomate tiene un gran potencial para su comercialización. “Colombia por ser un país tropical puede garantizar permanentemente la producción de muchas especies de la familia *Solanaceae*, presentándose como un cultivo con

alternativas promisorias y posibilidades de competencia en mercados globalizados” (Carreño *et al.*, 2007, p 320). “Sin embargo, la alta susceptibilidad a patógenos en esta familia afecta de forma significativa los cultivos y puede causar grandes pérdidas en la producción de vegetales y frutos” (Carreño *et al.*, 2007, p 320). “El tomate es una de las hortalizas con mayor problemática fitosanitaria, ya que las enfermedades constituyen un factor limitante en su producción” (Álvarez, 2012, p118) causada por virus, bacterias, nematodos, oomycetes y hongos (Sepúlveda *et al.*, 2012). “Las enfermedades patogénicas están presentes en plántulas (‘Daping-off’), follaje (tizones temprano y tardío), tallos (*Fusarium* spp.) y frutos (pudrición apical y pudrición por *Alternaria*)” (Álvarez, 2012, p 118). En la actualidad, esta presenta una problemática fitosanitaria extensa a causa de varios géneros como *Colletotrichum* sp., *Rhizoctonia* sp., *Fusarium* sp. y *Alternaria* sp., entre otros.

El género *Alternaria* es frecuentemente aislado de plantas de tomate afectadas, causa chancro del tallo y tizones foliares (Pastor *et al.*, 2012). Cabe señalar que este género son patógenos importantes en postcosecha, “causante de la pérdida de calidad del producto; debido a los importantes daños en el tejido, los cuales se presentan durante los procesos de comercialización desde la cosecha hasta el consumidor final, reduciendo su vida útil” (Flores *et al.*, 2013, p 182) y se estima que estas enfermedades en cultivos de tomate son responsables del 30% en el aumento de los costos de producción para su control (Kumar *et al.*, 2013).

Este patógeno afecta principalmente las hojas, los tallos, las flores y frutos de plantas, particularmente a hortalizas y ornamentales. Como también árboles cítricos y manzanos. Las pérdidas totales agregadas causadas por las diversas especies de *Alternaria* en todos sus hospederos se encuentran entre las más altas en comparación con otros patógenos. La sintomatología se asocia a “lesiones y tizones foliares, inclusive ocasiona ahogamiento de plántulas y pudriciones de tallo, tubérculos y frutos” (Sosa-Pech *et al.*, 2012, p 280). Además de que es una “actividad de alto riesgo económico debido a los altos costos de producción” por el uso intensivo de químicos en la solución de esta problemática fitosanitaria” (Carreño *et al.*, 2007, p 322).

“Los efectos nocivos de los plaguicidas químicos y la creciente demanda de alimentos libres de residuos tóxicos han provocado la revisión de su registro comercial” (Mesa *et al.*,

2010, p 65). “Esto ha motivado la evaluación entre estrategias de manejo la efectividad de bacterias y hongos como bio reguladores de estos patógenos” (Mesa *et al.*, 2010, p 65) los cuales pueden ser aislados del suelo, filosfera y rizosfera.

En raíz de las plantas se pueden identificar tres regiones - rizosfera, rizoplano, endorizosfera - que bajo ciertas condiciones pueden establecerse y desarrollar microorganismos tanto patógenos como benéficos, estas últimas llamadas bacterias de crecimiento vegetal, que favorecen el desarrollo de la planta en su crecimiento, productividad y sanidad, y también dependiendo algunas especies se pueden aislar de la filosfera. Dentro de ellos encontramos las bacterias con capacidad biofertilizante, fitoestimulante y biopesticida ó biocontroladora (Sánchez y Trigos, 2013).

El grupo de las bacterias promotoras de crecimiento vegetal (BPCP), son distinguidas por pertenecer a las bacterias promotoras en plantas con capacidad de control biológico. Conocidas también por sus diferentes nombres genéricos, incluidos los "agentes de control biológico" (BCAs) y "rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal" (PGPR). Entre estas, se destacan las *Pseudomonas* spp., del grupo fluorescente, ya que han recibido una especial atención debido a su diversidad metabólica, capacidades excelentes de colonización por la raíz, y la producción de una amplia gama de metabolitos antifúngicos (Pastor *et al.*, 2012).

El mecanismo que tienen estos microorganismos antagonistas es que pueden competir con los patógenos por nutrientes y espacio, mediante la secreción de enzimas y antibióticos, además, inhiben la multiplicación del patógeno por excreción y secreción de toxinas que reducen la población del patógeno (Zivkovic' *et al.*, 2010).

La utilización de bacterias del género *Bacillus* y *Pseudomonas* del grupo fluorescente, es una alternativa de biocontrol para los hongos fitopatógenos como *Alternaria* sp., ya que se distribuyen ampliamente, tienen una alta tolerancia térmica, crecen rápidamente en medios líquidos y sólidos y forman fácilmente esporas de resistencia (Dimkic' *et al.*, 2013). Es por esto que son considerados unos biocontroladores potenciales debido a la capacidad para ejercer actividad antagónica mediante la producción de lipopeptidos con actividad antimicrobiana, producción de enzimas y competencia por espacio y nutrientes (Sosa-Pech *et al.*, 2012).

1.Revisión de Literatura

1.1 Tomate (*Solanum lycopersicum* L.)

La familia de las Solanáceas (*Solanaceae*) según Fornes, (2012) comprende

Abundantes especies de interés económico así como numerosas plantas medicinales y venenosas. Hospeda 2.300 especies agrupadas en 96 géneros. Presentan hojas alternas, inflorescencias cimosas, con flores estrelladas (tomate) o tubulosas (tabaco), a veces de simetría bilateral, generalmente con 5 estambres y fruto en baya o cápsula. Al género *Solanum* pertenecen prácticamente la mitad de sus especies. En hortícolas, las más importantes son los tomates (*Lycopersicum esculentum* Mill.), patatas (*Solanum tuberosum* L.), pimientos (*Capsicum annuu* L.) y berenjenas (*Solanum melongena* L.), otros ejemplos son las industriales como el tabaco (*Nicotiana tabacum* L.), ornamentales como la petunia (*Petunia hybrida*) y medicinales como la belladona (*Atropa belladonna* L.) (p 29).

Conforme a lo descrito por Fornes, (2012):

El género *Lycopersicon*, además de la especie cultivada, engloba otras ocho variedades silvestres, todas ellas diploides ($2n= 24$ cromosomas) y distribuidas en la costa occidental de Sudamérica, desde el sur de Ecuador hasta el norte de Chile. El color, tamaño, tipo de hoja o inflorescencia son diferencias en los caracteres de dichas especies (p 30).

El tomate de mesa (*Solanum lycopersicum* L.) es la hortaliza con mayor área cultivada y de mayor consumo tanto a nivel nacional como internacional. En el año 2014, a nivel mundial se tenían sembradas 5.023.810 ha con una producción de 170.750.767 t. Los principales países productores de Tomate son China como el principal productor, seguido de India, Estados Unidos, Turquía, y Egipto (FAO, 2017) (Figura 1-1 y Tabla 1-1).

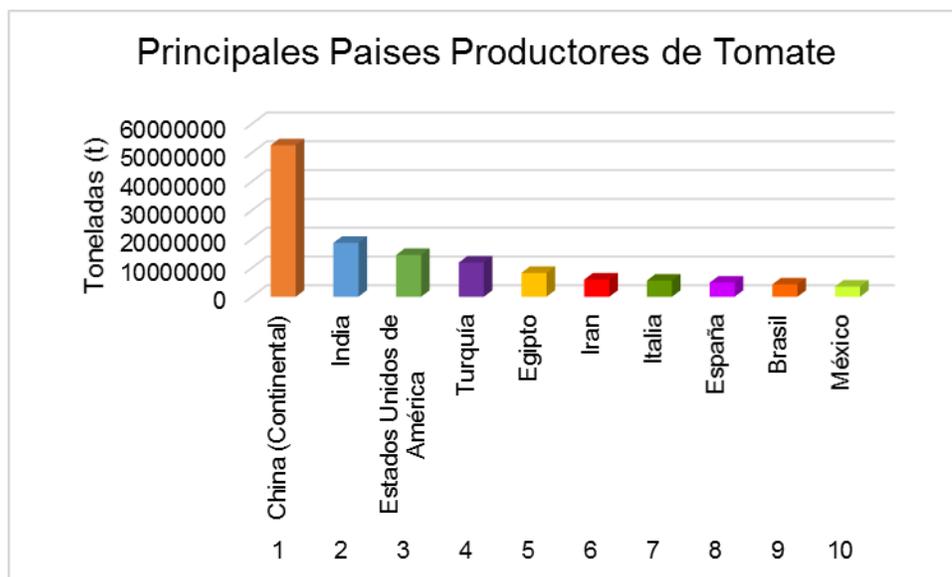


Figura 1-1: Producción a nivel mundial de tomate en fresco

Fuente: FAOSTAT | © FAO Dirección de Estadística 2014 | 14 febrero 2017

Tabla 1-1. Principales países productores de Tomate frescos, durante el año 2014

No.	País	Producción (t)
1	China (Continental)	52.586.860
2	India	18.735.910
3	Estados Unidos de América	14.516.060
4	Turquía	11.850.000
5	Egipto	8.288.043
6	Irán	5.973.275
7	Italia	5.624.245
8	España	4.888.880
9	Brasil	4.302.777
10	México	3.536.305
35	Colombia	606.151

Fuente: FAOSTAT | © FAO Dirección de Estadística 2014 | 14 febrero 2017

En tanto Colombia, ocupó el puesto número 35 en producción mundial durante el año 2014, con 606.151 t en un área de 16.388 ha, observándose un incremento en producción y área cultivada con respecto al año 2010, del cual fue de 512.912 t en producción y 13.943 ha

en su área cultivada. (FAO, 2017). Siendo Norte de Santander el principal departamento productor con 118.281 t, seguido por Antioquia con 108.792 t, Boyacá con 79.816 t, Santander con 57.589 t, Cundinamarca con 58.579 t, Nariño con 39.269 t, Huila con 23.793 t y Valle del Cauca con 28.986 t (MADR, 2017).

De acuerdo con Sañudo (2013), las plantas de tomate son:

Herbáceas perennes, aunque en su hábitat natural muy probablemente se comportan como anuales y pueden morir después de la primera estación de crecimiento debido a las heladas o la sequía. Las hojas son pinnadas con 2-6 pares de folíolos opuestos o sub-opuestos, sésiles, sub-sésiles o peciolados. El tamaño del fruto, el color y pubescencia son variables, al igual que el tamaño de las semillas, el color y el desarrollo de las paredes radiales de las células de la testa. Las frutas son bayas generalmente bilocular en las especies silvestres, y bilocular o multiloculares en las variedades cultivadas (Figura 1-2) (p 12).

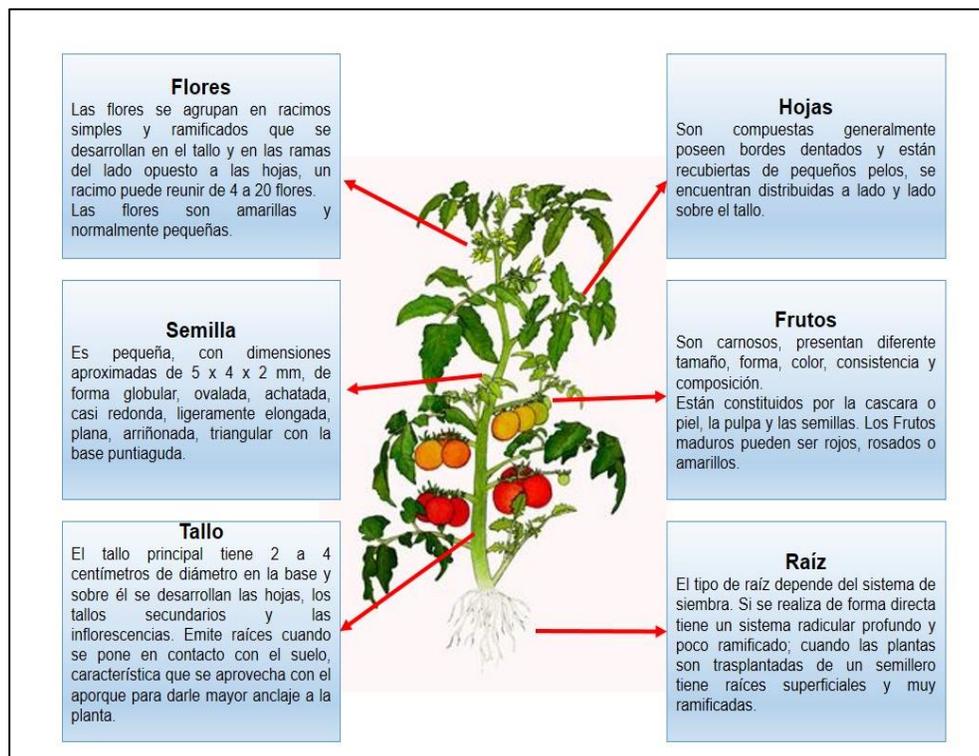


Figura 1-2: Descripción botánica y morfología del tomate

Fuente: Corpoica, 2007. Manual Tomate, Cámara de Comercio de Bogotá, 2015.

1.1.1 *Alternaria* en Tomate

El tizón temprano causado por *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler, es una enfermedad importante económicamente en el tomate. En la producción es un factor limitante, ya que el hongo afecta principalmente a las hojas, causando una pérdida significativa de la superficie fotosintética neta. En casos severos, la enfermedad puede causar la defoliación completa de las plantas, con un impacto negativo en el rendimiento. Las epidemias pueden ocurrir en regiones climáticas con lluvias fuertes, alta humedad y temperaturas bastante altas en el rango de 24 a 29 °C (Catello y Zaccardelli, 2015).

De acuerdo con Molina, (2011), los primeros síntomas de *Alternaria* en el follaje son:

Pequeñas manchas de color café a negro, rodeado de un halo amarillo, que aparecen en las hojas bajas o más viejas. Cuando las lesiones miden aproximadamente 6 mm de diámetro se observan anillos concéntricos que le dan un aspecto de tabla de tiro al blanco. La infección del fruto ocurre generalmente en la base del pedúnculo y se pueden notar manchas hundidas, oscuras y acartonadas. Estas manchas también presentan los anillos concéntricos (p 3).

En los tomates, *A. alternata* requiere tejido dañado o debilitado para la penetración y el crecimiento (Barkai-Golan, 2001). *A. alternata* es el principal agente causal del “Black-mould/Moho negro” de frutos de tomate maduros, una enfermedad que frecuentemente causa pérdidas sustanciales en poscosecha, especialmente aquellos usados para conservas (Bottalico y Logrieco, 1992). Se encontró que esta especie era el hongo más prevalente causando la pudrición madura de la fruta en tomates de procesamiento en California (Morris *et al.*, 2000). En el sur de Italia, *A. alternata* es la especie fúngica dominante, aunque también se ha recuperado *A. tenuissima* (Logrieco *et al.*, 2003). En Argentina *A. alternata* y *A. tenuissima* se han encontrado como las principales especies asociadas al deterioro de los frutos de tomate (Pose, *et al.*, 2009).

Durante la colonización del huésped, el patógeno puede producir metabolitos tóxicos en las plantas infectadas y cuando se acumulan en partes de plantas utilizadas como alimento, pueden ser un peligro para la salud humana (Pose *et al.*, 2009). Especies de *Alternaria* según Benavidez, *et al.*, (2014):

Tienen la capacidad de producir metabolitos secundarios, que pueden desempeñar un papel importante en la patogénesis de las plantas, y también ser tóxicos para el hombre y los animales. Entre los principales metabolitos secundarios tóxicos producidos se han reportado el ácido tenuazónico (TeA), el alternariol monometil éter (AME), las altertoxinas i, ii y iii, el altenueno (ALT), la curvularina (CURV) y la dehidrocurvularina (DHCURV) (p 120).

1.1.2 Género *Alternaria*

Rodriguez, (2014) señala que el género *Alternaria*:

Posee amplia distribución geográfica y múltiples papeles ecológicos, entre los que se destaca su patogenicidad contra animales y plantas. Por otra parte, la taxonomía de este género es complicada, y desde su primera descripción, se han intentado diferentes aproximaciones para resolver esta situación, aproximaciones morfológicas, bioquímicas y moleculares (p 7).

“Las especies del género *Alternaria* están presentes con frecuencia en una amplia gama de diferentes hábitats, tales como Aire, Suelo, semillas, productos agrícolas”. (Benavidez *et al.*, 2014, p 120). Estas incluyen cítricos, pistacho, manzana, pera, tabaco, tomate, frijoles, frutales, entre otros, causando enfermedades devastadoras en las plantas y que resultan en una pérdida considerable del rendimiento agrícola (Hou *et al.*, 2016).

Rodriguez, (2014) reporta que las especies del género *Alternaria* presentan:

Una amplia distribución en la naturaleza, y desempeñan un gran número de funciones en su interacción con otros organismos. Algunas especies aparecen como endófitas, y su estudio ha permitido determinar la presencia de varios metabolitos citotóxicos, que presentan potencialidad como biocontroladores de algunos patógenos y parásitos de plantas de cultivo (p 7).

“Igualmente pueden presentarse como saprófitos en sustratos orgánicos, y por la producción de compuestos biológicamente activos que alteran los alimentos y forrajes” (Rodriguez, (2014), p 7). “Posiblemente su papel más estudiado es como parásitos de plantas, ya que en un gran número de sus especies actúan como patógenos altamente

destructivos, confiriéndole al género impacto económico” (Rodríguez, 2014, p 7). “Sin embargo, la distinción entre su comportamiento parásito y saprófito todavía no es clara, ya que algunas especies ocupan una posición intermedia y cambian de un hábito a otro cuando enfrentan hospederos debilitados” (Rodríguez, 2014, p7). En la tabla 1-2 se ilustran las especies que hacen parte de la sección de *Alternaria* (Woudenberg *et al.*, 2015).

Tabla 1-2. Algunas especies filogenéticas de la Sección *Alternaria*

Especie	Material Vegetal	País	Datos
<i>Alternaria alstroemeriae</i>	<i>Alstroemeria</i> sp.	Canadá	Jul. 2005, C.F. Hill
		USA	Apr. 2002, D. Fogle E.G. Simmons & C.F. Hill, CBS Biodiversity Ser. (Utrecht) 6: 444. 2007
<i>Alternaria alternata</i>	<i>Euphorbia esula</i>	Canadá	1982, K. Mortensen
	<i>Pyrus bretschneideri</i>	China	2001, R.G. Roberts
	<i>Platycodon grandiflorus</i>		Dec. 2001, T.Y. Zhang
	<i>Broussonetia papyrifera</i>		13 Sep. 1996, T.Y. Zhang
	<i>Sanguisorba officinalis</i>		19 Sep. 1996, M.X. Gao
	<i>Godetia</i> sp.	Dinamarca	27 Jul. 1942, P. Neergaard
	Suelo	Egipto	Before Jan. 1933
	<i>Arachis hypogaea</i>	India	1 Dec. 1980, L.V. Gangawane
	<i>Minneola tangelo</i>	Israel	Before Nov. 1996, Z. Solel
	<i>Citrus unshiu</i> <i>Pyrus pyrifolia</i>	Japón	1968, K. Tubaki 1990, K. Nagano
<i>Minneola tangelo</i> <i>Dianthus chinensis</i>	Turquía	May 1996, Y. Canihos 20 Feb. 1981, A.S. Taylor	

Tabla 1-2. (Continuación)

Especie	Material Vegetal	País	Datos
<i>Alternaria alternata</i>	<i>Malus sylvestris</i>	USA	Before Dec. 1924, J.W. Roberts
	<i>Brassica oleracea</i>		Apr. 1982, R.H. Morrison
	<i>Citrus sinensis</i>		Before Nov. 1947, D.E. Bliss
	<i>Citrus paradisi</i>		12 Jul. 1947, L. Davis
	<i>Allium sp.</i>		F.A. Weiss
	<i>Stanleya pinnata</i>		19 Jun. 2002, A. Wangeline
	<i>Citrus jambhiri</i>		Before Jul. 1997
	<i>Minneola tangelo</i>		Before Feb. 1998
			19 Dec. 1980, J.O. Whiteside
	<i>Solanum lycopersicum</i>		June 1996, D. Chellemi
	<i>Citrus reticulata</i>		6 Jun. 1975, J.O. Whiteside
	<i>Daucus carota</i>		Jan. 1984, R.H. Morrison
	<i>Quercus sp</i>		28 Jul. 1953, A. Engelhard
	<i>Euphorbia ésula</i>		Before Dec. 1991
	<i>Cucumis sativus</i>		24 Sep. 1984, E.G. Simmons
<i>Cuscuta gronovii</i>		Aug. 1997, F. Caruso	
<i>Vaccinium sp.</i>		Oct. 1973, R.A. Cappellini	
<i>Astragalus bisulcatus</i>		8 Jun. 2002, A. Wangeline	
	<i>Linum usitatissimum</i>	Unknown	Before Jul. 1934, P.K. Dey
			Keissl., Beih. Bot. Centralbl., Abt. 2, 29: 434. 1912.
	<i>Solanum lycopersicum</i>	Pakistán	K. P. Akhtar <i>et al.</i> , 2004
<i>Alternaria betae-kenyensis</i>	<i>Beta vulgaris var. cicla</i>	Kenia	Before Jun. 2001
			E.G. Simmons, CBS Biodiversity Ser. (Utrecht) 6: 530. 2007

Tabla 1 2. (Continuación)

Especie	Material Vegetal	País	Datos
	<i>Cuminum cyminum</i>	India	Before Dec. 1938, B.N. Uppal
	<i>Rhizophora mucronata</i>		14 Mar. 1995
	<i>Tinospora cordifolia</i>		Before Sept. 1987
<i>Alternaria burnsii</i>	<i>Gossypium sp.</i>	Mozambique	Aug. 1950, Quintanilha
	<i>Sorghum sp.</i>		19 Dec. 1985, M. Kalicz
	<i>Gomphrena globosa</i>	Unknown	Before Mar. 1927, K. Togashi Uppal, Patel & Kamat, Indian J. Agric. Sci. 8: 49. 1938
<i>Alternaria eichhorniae</i>	<i>Eichhornia crassipes</i>	India	28 Feb. 1966, R.Charudattan
	<i>Eichhornia crassipes</i>	Indonesia	Before Dec. 1996 Nag Raj & Ponnappa, Trans. Brit. Mycol. Soc. 55: 124. 1970
	<i>Pyrus pyrifolia</i>	Japón	Jul. 1990, E.G. Simmons 11 Jul. 1990, E.G. Simmons
<i>Alternaria gaisen</i>	Hospedero desconocido	Países Bajos	Aug. 2011, S. I. R. Videira Nagano ex Hara, Sakumotsu Byorigaku, Edn 4: 263. 1928.
	<i>Minneola tangelo</i>	Colombia	Before Nov. 1996, B. L. Castro
<i>Alternaria gossypina</i>	Suelo	Sumatra	before Jun. 1936, A. von Szilvinyi J.C.F. Hopkins, Trans. Brit. Mycol. Soc. 16: 136. 1931.

1.2 Rizosfera

El término “Rizosfera” fue propuesto inicialmente por Hiltner (1904) y ha sufrido modificaciones conceptuales a través del tiempo, de tal forma ahora es definido como “el entorno de mayor actividad física, química y principalmente biológica, de gran interés agronómico y ecológico, pues presenta una interfase de comunicación de doble vía entre plantas terrestres y su sustrato, el suelo” (Sánchez de Prager, 2007).

Se puede decir que la rizósfera es donde existe una relación de aprovechamiento mutuo entre las plantas y las bacterias o microorganismos que la rodean. La rizósfera es colonizada más intensamente por microorganismos que en otras regiones del suelo, y en algunos casos no solo se benefician por las excreciones de sustancias nutritivas de las raíces (exudados radicales) sino que ejercen una acción benéfica para la planta ya que estimulan su crecimiento (Pernasetti y Di Barbaro, 2012).

Jaramillo (2002) describe tres zonas que se pueden diferenciar en la rizosfera: (Figura 2-3):

Endorrizosfera o rizosfera interna: que comprende la corteza de la raíz, es decir, el tejido que se encuentra entre la endodermis y la epidermis.

Rizoplano: que es la superficie de la raíz.

Exorrizosfera, ectorrizosfera o rizosfera externa: que es el suelo que está en íntimo contacto con la superficie de la raíz y que por ello es llamado también suelo rizosférico.

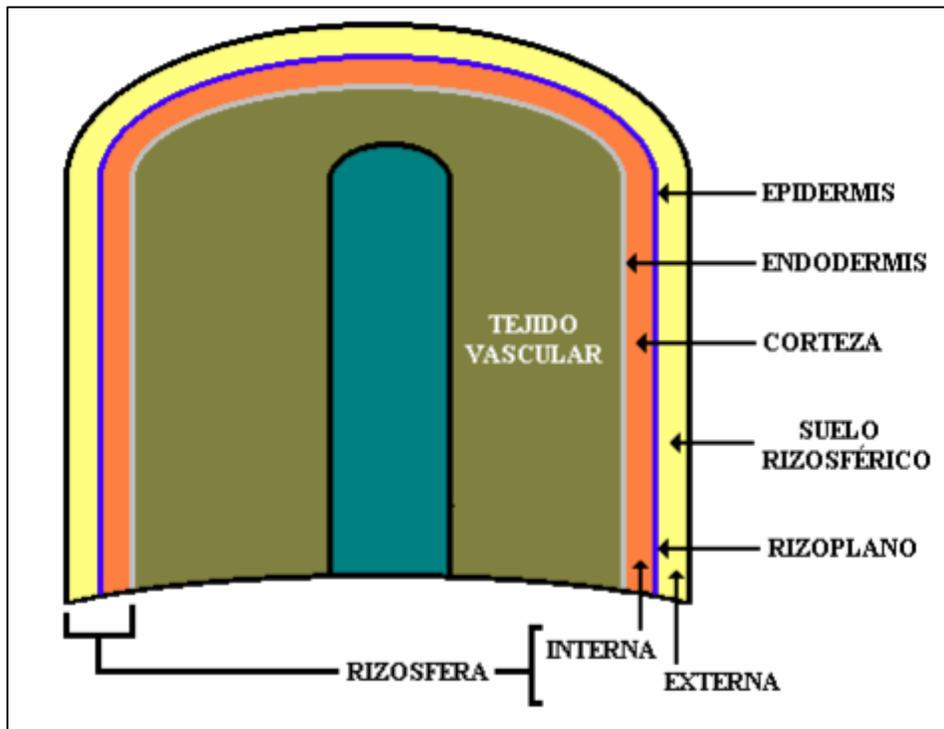


Figura 1-3: Representación esquemática de los componentes de la rizosfera.

1.2.1 Rizobacterias

Las bacterias que se desarrollan en la rizósfera de las plantas se las denomina “rizobacterias” y aquellas que además promueven el crecimiento o desarrollo de las plantas son denominadas “PGPR” es decir “Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal” (por sus siglas en inglés que significa Plant Growth Promoting Rizobacteria) o “Microorganismos Promotores del Crecimiento Vegetal” (MPCV) (Pernasetti y Di Barbaro, 2012). Estas bacterias establecen interacciones positivas con las raíces de las plantas, juegan un papel clave en ambientes agrícolas y prometen el uso potencial en la agricultura sostenible (Vallabhaneni, 2012).

Muchos géneros de bacterias del suelo han demostrado un gran potencial como agentes de biocontrol, que utilizan no sólo la secreción de antibióticos, sino también, que emplean otros mecanismos (Vallabhaneni, 2012). Estos géneros pueden pertenecer tanto al grupo de las bacterias Gram positivas como al grupo de las Gram negativas (Toledo 2013). Entre

los grupos bacterianos más destacados, están las bacterias pertenecientes los géneros *Acetobacter*, *Actinoplanes*, *Acinetobacter*, *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Amarphosporangium*, *Arthrobacter*, *Azoarcus*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Beijerinckia*, *Burkholderia*, *Derxia*, *Enterobacter*, *Gluconacetobacter*, *Herbaspirillum*, *Klebsiella*, *Ochrobactrum*, *Pantoea*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Rhodococcus*, *Serratia*, *Stenotrophomonas*, *Streptomyces* y *Zoogloea* y han sido objeto de numerosas investigaciones a lo largo de los años (Babalola, 2010; Vallabhaneni, 2012).

Rodríguez y Martín, (2009) reportaron que:

A finales de la década de las 70, Kloepper y colaboradores fueron los pioneros en introducir el término PGPR para referirse a las rizobacterias capaces de provocar un efecto benéfico en las plantas. Esta denominación se ha extendido a microorganismos PGP para incluir hongos y cualquier organismo afín (p 16).

Algunas PGPR puede tener más de un mecanismo para lograr el crecimiento vegetal (Ahmad *et al.*, 2008). Dentro de los mecanismos para la promoción del crecimiento vegetal encontramos dos tipos, mecanismos directos e indirectos. Los mecanismos directos son aquellos en donde los microorganismos actúan sobre la planta. Dentro de estos mecanismos encontramos la producción de promotores de crecimiento vegetal (también conocidos como fitohormonas), entre las que se destacan auxina, giberelinas y citoquininas (Vallabhaneni, 2012), fijación de nitrógeno, reducción de los niveles de etileno en el suelo, solubilización de fosfatos y secreción de sideróforos entre otros.

“Los mecanismos indirectos son aquellos en donde el microorganismo es capaz de inhibir diferentes patógenos que interfieren con el desarrollo de la planta” (Rodríguez y Martín, 2009, p 16). Entre los mecanismos más significativos están incluidos el antagonismo a hongos patógenos, la producción de sideróforos como un mecanismo de secuestrar el hierro disponible en el medio y con esto limitar el crecimiento de microorganismos fitopatógenos, la fijación de nitrógeno, la solubilización de fosfato, la producción de ácidos orgánicos y ácido indolacético (IAA), NH₃, HCN, la liberación de enzimas (deshidrogenasa, fosfatasa, nitrogenasa, etc.), producción de antibióticos, la competencia por nicho ecológico o sustratos y la inducción de resistencia a enfermedades sistémicas (ISR). Del mismo modo, la planta da efectos beneficiosos de las bacterias que incluyen propiedades

tales como la producción de fitohormonas, reducción de nitrato, y la fijación de nitrógeno (Babalola, 2010, p 1560).

1.2.2 Sideróforos

Uno de los cuatro metales más abundantes en el suelo es el hierro y es uno de los micronutrientes más esenciales para el crecimiento celular en prácticamente todos los seres vivos. Este metal es fundamental para el metabolismo celular como cofactor de numerosas enzimas, además de cumplir diversas funciones en procesos biológicos, como transporte de oxígeno, síntesis de ADN, fijación de nitrógeno, respiración y fotosíntesis (Aguado *et al.*, 2012).

En condiciones fisiológicas, el hierro puede existir en la forma ferrosa (Fe^{2+}) o en la forma férrica (Fe^{3+}) (Aguado *et al.*, 2012). En el suelo según Aguado *et al.*, (2012), la mayor parte del hierro se encuentra:

Formando silicatos de ferromagnesio, hidróxidos u óxidos de hierro, formas que no son fácilmente asimilables por las plantas. Los óxidos e hidróxidos de hierro son los responsables del color rojizo o amarillo de los suelos. El hierro es indirectamente, pero en gran parte, responsable del color verde de las plantas por su importante papel en la producción de clorofila (p 10).

Aguado *et al.*, (2012) reporta que:

Este metal debe ser mantenido en solución por ciertos agentes, como los llamados ligandos (agentes quelantes o queladores). Existen dos tipos mayores de ligandos producidos por los seres vivos que forman quelatos con el hierro; a) los fabricados por los microorganismos, conocidos como sideróforos microbianos o simplemente sideróforos, y b) los producidos por las plantas, conocidos como fitosideróforos (p 10).

También Aguado *et al.*, (2012) informa que los sideróforos microbianos son:

Moléculas secretadas por microorganismos en condiciones de deficiencia de hierro para secuestrar el hierro de su entorno. Los sideróforos (del griego sideros phoros

“portadores o acarreadores de hierro”) son moléculas de bajo peso molecular de 0.5 a 1.0 kDa, solubles en soluciones acuosas a pH neutro que son sintetizados por bacterias, principalmente Gram negativas, hongos, levaduras y algunas plantas (fitosideróforos), particularmente gramíneas y que actúan como agentes quelantes específicos de Fe³⁺ (p 11).

Falero (2013) reporta que:

Los sideróforos pueden ser clasificados de acuerdo al grupo funcional capaz de unir el ión férrico como: catecolatos (o fenolatos), hidroximatos e hidroxicarboxilatos. También se han descrito sideróforos con más de un tipo de grupo funcional, denominados sideróforos de ligando mixto (p 13).

Igualmente Aguado *et al.*, (2012) señalan que:

Aunque algunas bacterias producen sólo una clase de sideróforos, otras secretan diversos tipos que las hace más eficientes para colonizar diferentes ambientes. Algunas especies del género *Pseudomonas* producen sideróforos del tipo hidroximato, entre los que se encuentran la ferribactina y pseudobactina, pero otras más producen moléculas denominadas pioverdinas del tipo catecol. Se ha demostrado que *Burkholderia cepacia* produce pioquelina, cepabactina y ornibactina. En el caso de las enterobacterias, la mayoría de sus miembros sintetizan enterobactina y aerobactina (p 12).

Según Sánchez, (2011) los sideróforos:

Quelatan al ion férrico, en la rizosfera, y puede originar la inhibición del crecimiento de otros microorganismos, incluyendo microorganismos patogénicos, cuya afinidad por el hierro es baja. La competencia por el hierro es probablemente más importante en la rizosfera que en el resto del suelo. Glick y Bashan (1997) mencionan que la producción de sideróforos por bacterias inhibe a patógenos (hongos, hongos y/ virus) de plantas *in vitro* y también promueve el crecimiento de plantas en el suelo. La habilidad de los sideróforos para actuar como agentes efectivos supresores de enfermedades es afectada por el tipo de planta, la especificidad del fitopatógeno a suprimir, la composición del suelo y la bacteria que sintetiza los sideróforos. La capacidad de las bacterias del suelo de producir y

utilizar los sideróforos puede conferir ventajas ecológicas en la colonización de la rizosfera y la superficie de las plantas (p 13).

2. Objetivos

2.1 Objetivo general

Caracterizar bacterias con capacidad antagónica sobre el hongo fitopatógeno *Alternaria*.

2.2 Objetivos específicos

1. Evaluar *in vitro* el comportamiento de las bacterias antagonistas al hongo fitopatógeno *Alternaria*.
2. Caracterizar morfológica, bioquímica y molecularmente bacterias biocontroladoras asociadas a *Solanum lycopersicum*.

3. Materiales y Métodos

3.1 Localización

El muestreo cubrió localidades productoras de Tomate de mesa en el Valle del Cauca. En la tabla 3-1 se hace referencia a las localidades y a las fincas donde se realizaron los muestreos.

Tabla 3-1. Localidades productoras de Tomate de mesa en el Valle del Cauca

Municipio	Finca	Material genético	Coordenadas geográficas	Altitud (m.s.n.m.)
Candelaria	CEUNP	Tipo Chonto	3° 25' 34" N 76° 25' 51" W	950
	Guanabanazo	Tipo milano	3° 27' 54" N 76° 19' 52" W	974
Palmira	Papayalito	Tipo milano	3° 30' 54" N 76° 16' 60" W	1.010
	Lote UNALP	Tipo Chonto	-	-
Restrepo	Aguacate	Tipo Chonto	3° 46' 48" N 76° 32' 21" W	1.367
	La Siria	Tipo Chonto	3° 45' 01" N 76° 34' 01" W	1.208
	Valencia	Tipo Chonto	3° 48' 43" N 76° 32' 11" W	1.406
Vijes	El Samán	Tipo Chonto	3° 44' 57" N 76° 31' 54" W	1.231
	Quintero	Tipo Chonto	-	1.170
	Bizcocho	Tipo Chonto	-	1.198

3.2 Recolección de muestras

Se tomaron muestras de suelo rizosférico y raíces de plantas de tomate sanas (Figura 3-1), en las diferentes localidades mencionadas en la tabla 3-1.

Se recolectaron cinco muestras en forma aleatoria de cada finca y se guardaron en bolsas de cierre hermético para finalmente ser transportadas al laboratorio de Diagnóstico Vegetal en la Universidad Nacional de Colombia sede Palmira.



Figura 3-1: Toma de muestras de suelo rizosférico. a) Plantas de tomate sanas; b) Recolección de suelo rizosférico; c) Selección de raíces sanas.

3.3 Aislamiento de hongo fitopatógeno

Se recolectaron frutos con tejido enfermo en cada municipio muestreado, que presenten una sintomatología asociada a *Alternaria* sp. (Figura 3-2), estas muestras se recolectaron en bolsas de papel y se rotularon debidamente, para ser llevadas al Laboratorio de Diagnóstico Vegetal de la Universidad Nacional de Colombia, Sede Palmira.

Siguiendo el protocolo descrito por Hammami *et al.*, 2013. las muestras con síntomas se lavaron con agua corriente del grifo para eliminar impurezas; se tomaron trozos pequeños de tejido enfermo con una parte de tejido sano y se depositaron en una solución de hipoclorito de sodio al 1% durante un minuto, las muestras se lavaron varias veces con agua destilada estéril (ADE) para eliminar los residuos de hipoclorito de sodio, posteriormente se sumergieron en alcohol al 70% y nuevamente se lavaron varias veces con ADE. Las muestras secaron con papel toalla estéril y se continuó con la siembra en

cajas Petri que contenían agar PDA. Las cajas Petri se incubaron entre 25 y 28 °C y se revisaron hasta observar crecimiento o desarrollo de los hongos.

Luego se realizó un examen preliminar de los hongos aislados, de acuerdo a sus características macroscópicas y microscópicas para su identificación.



Figura 3-2: Sintomatología asociada con el hongo fitopatógeno *Alternaria* sp. a) Afección en hojas; b) Afección típica en frutos de tomate.

3.3.1 Purificación y conservación

Siguiendo la metodología sugerida por González *et al.*, (2013) después de aislar los hongos, se tomaron con un sacabocados discos de 0.5 cm de diámetro con micelio del patógeno y se transfirieron a nuevas cajas Petri. La incubación se realizó a temperatura ambiente y luz natural en el laboratorio.

Se realizó cultivos monospóricos utilizando la técnica de diluciones. Una vez obtenidos los cultivos monospóricos se colocaron discos con micelio en tubos Eppendorf con glicerol al 25% y ADE para ser conservados.

3.3.2 Tasa de crecimiento micelial (TCM)

Se efectuó la TCM empleando la metodología descrita por Benítez *et al.*, (2007) y se reportó en cm/día. Para su determinación se tuvo en cuenta el radio de crecimiento micelial de la colonia fúngica calculando su magnitud mediante la expresión:

$$TC = \frac{(Cf - Ci)}{(Tf - Ti)}$$

Donde,

Cf: es el crecimiento final expresado en cm.

Ci: es el crecimiento inicial expresado en cm.

Tf: es el tiempo final

Ti: es el tiempo inicial

3.3.3 Caracterización morfológica

Para la caracterización morfológica se siguió lo descrito por Rodríguez (2014) con algunas modificaciones en donde:

Se tomaron pequeños fragmentos de papel filtro con el inóculo de cada uno de los aislados y se dispusieron en cajas Petri con Agar Papa Zanahoria (PZA) y Agar V8.

Con el fin de inducir la formación de los patrones de esporulación característicos, las cajas se incubaron en un ciclo alternante luz/oscuridad de 12/12 horas, a 25 °C, por 7 días. Las características de la colonia se obtuvieron hasta después de los 7 días de inoculado el medio.

Se tuvieron en cuenta otras características frecuentes de las colonias del género, como la aparición de anillos concéntricos y el crecimiento parcialmente sumergido del micelio en el medio. Los conidios de cada uno de los aislados se montaron en láminas portaobjetos usando azul de lactofenol y ácido láctico. Se seleccionaron 50 conidios maduros de cada uno de los aislados y se les midió su longitud, ancho, relación largo-ancho y el número de septos transversales y longitudinales (p 32).

La observación de las estructuras se realizó con el microscopio de fases del Laboratorio de Microscopia Electrónica de la Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira.

3.3.4 Caracterización molecular

Para la caracterización molecular se partió de un aislamiento monospórico y con un crecimiento micelial entre 8 - 10 días en medio de cultivo PDA a temperatura ambiente; se obtuvieron aislamientos de cada uno los municipios ya mencionados.

- **Extracción de ADN y purificación**

Partiendo de los cultivos monospóricos de cada una de las muestras recolectadas se siguió el método descrito por Marmolejo (2008) con algunas modificaciones por Hernández (2016) (Anexo A). La calidad del ADN se evaluó mediante geles de agarosa al 0.8% y marcadores moleculares comerciales.

- **Amplificación**

Las reacciones de PCR se llevaron a cabo en un termociclador multigen optimax, con un volumen final de 25 μ l, contenían 4 μ L de muestra de ADN (20 ng), 12.5 μ L de mezcla GoTaq®Green Master Mix (1,5 mM MgCl₂; 200 nM dNTPs), 1 μ L de cada primer (10 ng / μ L) (tabla 3-2) y 6,5 μ L de agua libre de DNAsas.

Tabla 3-2. “Primers” usados en la amplificación de la región 18S

Primer	Secuencia
ITS 1	TCC GTA GGT GAA CCT GCG G
ITS 4	TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC

Las condiciones de amplificación del primer ITS, consistieron en una desnaturalización inicial de 1 min a 95 °C, seguido por 35 ciclos de 30 s a 95 °C, 1 min a 55 °C, 45 s a 72 °C y una elongación final de 5 min a 72 °C (Hernández, 2016).

Para la visualización del producto de PCR se hizo una electroforesis (90 minutos a 60V) en gel de agarosa al 1% con buffer TBE al 0.5X con adición de 1 μ L de HydraGreen™. Para determinar el tamaño de los fragmentos se empleó el marcador de peso molecular GeneRuler 100 pb. La visualización se realizó en un transiluminador UV.

- **Secuenciación de los productos de PCR**

La secuenciación de los productos de PCR se efectuó en el Instituto de Biotecnología de Corea, de la Empresa MACROGEN, a la cual se enviaron 20 μ L del producto de PCR amplificado, en tubos Eppendorf de 1,7 ml debidamente rotulados.

- **Análisis bioinformáticas**

Una vez enviadas las secuencias generadas la Empresa MACROGEN en Corea, se procedió a la limpieza de dichas secuencias. Este proceso, se ejecutó con ayuda del programa BioEdit. Las secuencias consenso se compararon mediante el programa BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) adquirido a través de NCBI (National Center for Biotechnology Information).

3.3.5 Pruebas de patogenicidad

Los aislamientos de *Alternaria* se tomaron de los cinco municipios muestreados para verificar su patogenicidad, como se describe en la sección 3.3. Se colocaron cuatro frutos maduros de tomate tipo chonto sanos por cada hongo patógeno a evaluar, en seguida se lavaron durante media hora con Tween 80 y abundante agua de grifo. Para su desinfección se dejaron por dos minutos en hipoclorito de sodio al 1% y se lavaron con ADE, posteriormente se dejaron durante dos minutos en alcohol al 70% y lavados nuevamente con ADE.

Los frutos de tomate desinfectados se depositaron en cámaras húmedas con toallas estériles impregnadas con ADE, se seleccionó los punto de inoculación en los cuatro extremos del pericarpio de cada fruto; entre tanto los conidios del hongo se colectaron de cajas Petri con agar V8 y Agar Papa-Zanahoria de ocho a diez días de crecimiento, se realizó una suspensión a una concentración de 1×10^5 conidios/ml y se inyectó con ayuda de una jeringa de 1 ml (Kesanakurtia *et al.*, 2012). Los sitios inoculados fueron evaluados a los cuatro y ocho días registrando porcentaje de incidencia de la enfermedad (Porcentaje de frutos infectados / frutos sanos x 100) y la severidad se calificó con base en la siguiente escala:

- Ausencia de síntomas (0)
- Leves visibles (1)
- Leves más visibles (2)
- Moderados (3)
- Severos (4)

3.4 Aislamiento de bacterias

3.4.1 Procesamiento de suelo rizosférico

El procesamiento de las muestras de suelo rizosférico se realizó siguiendo el protocolo de Sosa-Pech *et al.*, (2012) en donde:

Se tomó un gramo de la muestra de suelo y se mezcló con 9 ml de ADE y se llevó a agitación con intensidad por aproximadamente 30 min, después se pasteurizó en baño María a 80 °C por 30 min y se llevó a enfriamiento con hielo por 30 min. Se tomó una alícuota de 20 µl que se diluyó 1:10 en ADE en un tubo de microcentrifuga de 1.5 ml. De esta mezcla se tomaron 50 µl y se sembró en Agar Nutritivo (AN) y se llevó a incubación de 24 a 48 horas (h) a 28 °C (p) (Figura 3-3) (p 280 y 281).

Pasado el tiempo de incubación cuando aparecieron las primeras colonias bacterianas con características diversas se transfirieron a AN para su posterior purificación. Los aislados puros se conservaron en tubos de caldo nutritivo con glicerol al 50 %.

Los aislamientos bacterianos obtenidos se rotularon apropiadamente, teniendo en cuenta la siguiente información: La inicial de la finca, el cultivo, el posible género bacteriano, tipo de muestra y número consecutivo. Por ejemplo:

STBS1: Aislamiento que se consiguió de la finca El Samán; Cultivo Tomate de mesa, Posible *Bacillus*; Extraído de suelo rizosférico; y 1 es el consecutivo de las bacteria.

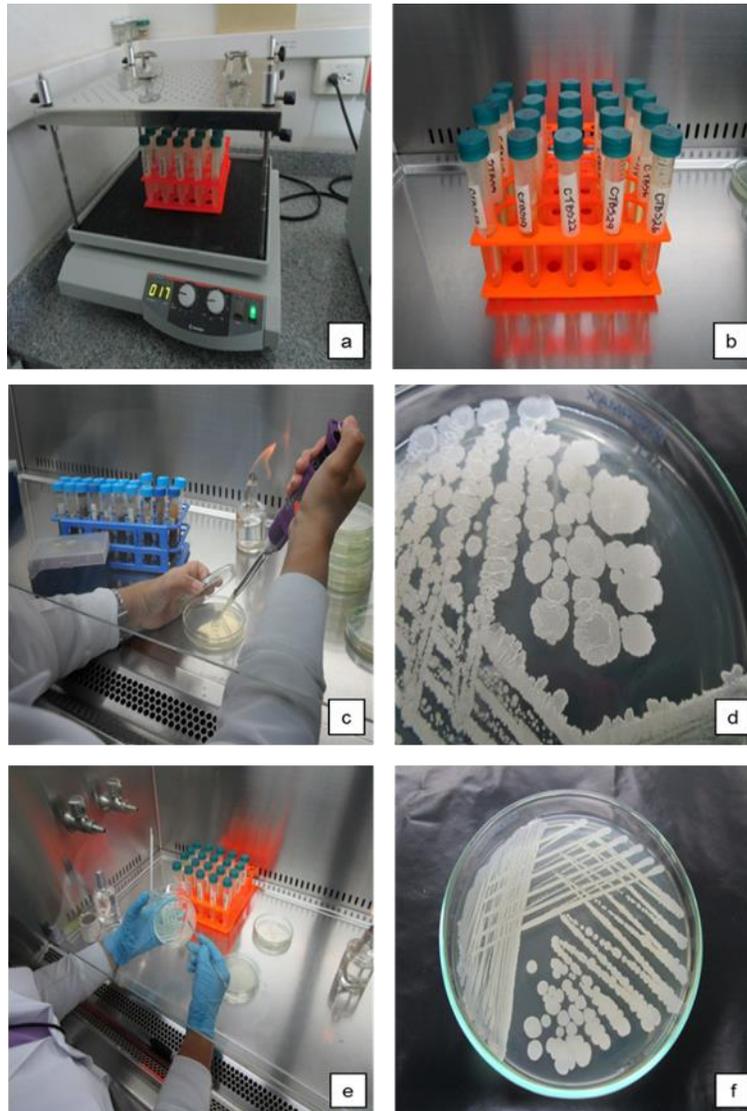


Figura 3-3: Obtención de aislamientos rizosfericos. a- Agitación del suelo rizosferico por 30 min; b- Diluciones 1:10; c- Siembra de la Dilución en Agar Nutritivo; d- Purificación de las colonias con asa bacteriológica; e- Bacterias de suelo en Agar Nutritivo; f- Cultivo puro.

3.4.2 Procesamiento de raíces

Siguiendo la metodología descrita por Hammami *et al.*, 2013 con algunas modificaciones, se tomaron raíces sanas de las plantas de tomate de las diferentes localidades muestreadas.

Las raíces se cortaron y se depositaron en un mortero estéril, se les adicionó 10 ml de una solución estéril de Cloruro de Sodio (NaCl) al 0,9% y se agitó durante 30 min. Las diluciones seriadas (10^4 , 10^5 , 10^6 , 10^7) de la raíz de lavado resultante se sembraron en medio King B (KB). Las placas se incubaron a 28 °C durante 24 a 48 h; momento en el que se observaron las colonias fluorescentes bajo luz negra (Figura 3-4). Se seleccionaron los aislamientos que mostraron fluorescencia y diferente morfología de la colonia. Todos los cultivos bacterianos se almacenaron a -20 °C en caldo de Tripticasa soya (TSB) suplementado con 15% (v/v) de glicerol (Medina J.N., 2014).

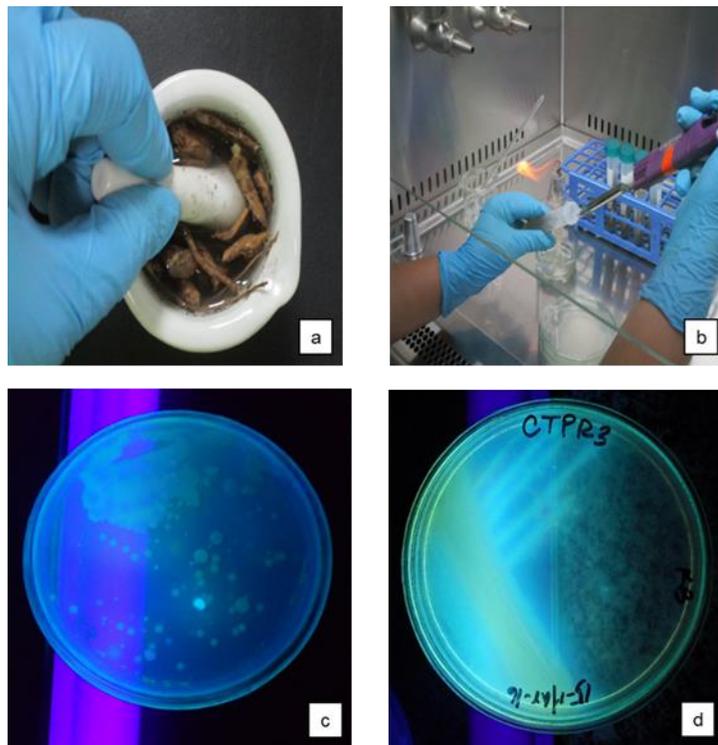


Figura 3-4: Obtención de aislamientos a partir de raíces sanas de Tomate. a- Macerado de raíces con NaCl al 0.9%; b- Siembra diluciones en agar King-B; c- Selección de bacterias con fluorescencia con luz negra; d-Cultivo puro con fluorescencia en luz negra.

3.4.3 Caracterización morfológica y bioquímica

Para la caracterización morfológica se siguió el protocolo recomendado por Velasco, (2016) observando al microscopio y al estéreoscopio las variables físicas de las bacterias como: Forma, tamaño, borde, elevación, color y pared celular con tinciones de Gram. La

descripción se realizó para los aislamientos que produjeron antagonismo y sobre las colonias formadas (masa constituida por bacterias que es visible a simple vista en la superficie de los medios sólidos), de forma aislada, tomando de ejemplo la siguiente información (Figura 3-5) y tomando como base la descripción de las colonias en el Bergey's Manual of Determinative Bacteriology - Second Edition, Volume Three, 2009.

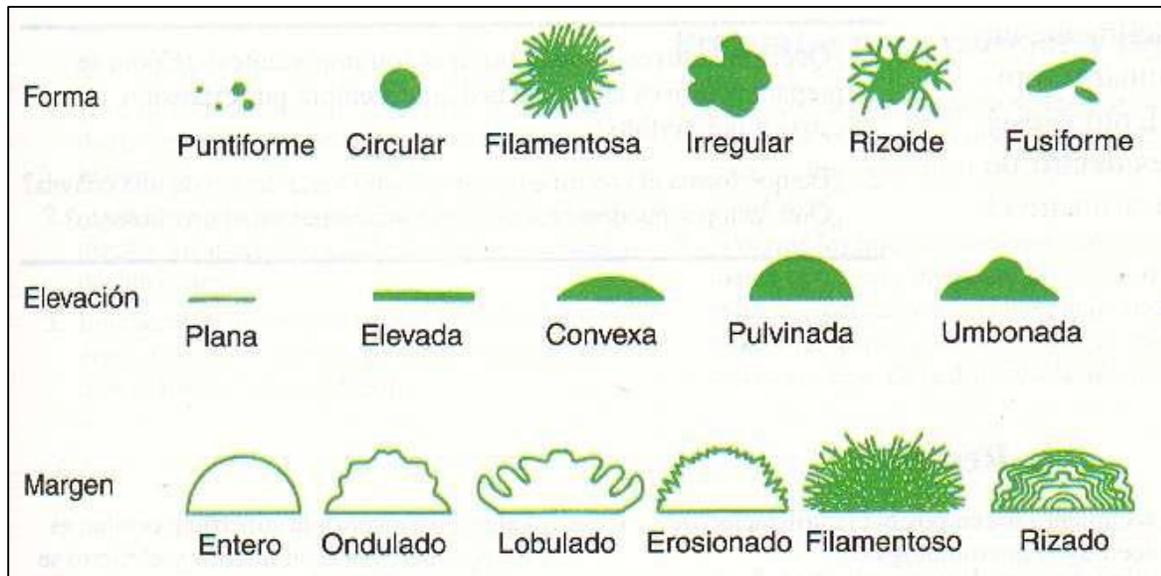


Figura 3-5: Caracterización morfológica y aspecto de las bacterias.

Fuente: Stanchi *et al.*, (2007); Citado por Velasco, (2016)

Para la identificación bioquímica de las colonias sospechosas de *Pseudomonas fluorescens* se tomaron las colonias que presentaron fluorescencia a partir del agar King-B, las colonias con fluorescencia se purificaron sembrándolas en agar nutritivo. Posteriormente se les realizó las pruebas bioquímicas; inicialmente se efectuó una coloración de Gram. Una vez se observó cocobacilos Gram-negativos fueron seleccionados para realizarles las pruebas bioquímicas utilizando las Galerías API 20E.

La identificación de los aislamientos sospechosos de *Bacillus* se realizó el siguiente procedimiento basados en Bergey (2009). Se efectuó una coloración de Gram, para escoger a los bacilos Gram positivos, luego la coloración de verde malaquita, en donde se observó la presencia de endoesporas. Se realizó algunas bioquímicas como: catalasa, oxidasa y fermentaciones de azúcares.

3.4.4 Caracterización molecular

Para la caracterización molecular de las bacterias se escogieron cultivos puros y colonias individuales que presentaron mayor porcentaje de inhibición frente a los diferentes hongos de *Alternaria*.

▪ Extracción de ADN y purificación

Para la extracción de ADN se siguió el protocolo referido por Dimkic *et al.*, (2013) con algunas modificaciones (Anexo B). En el cual, se partió de bacterias puras en crecimiento sobre 5 ml de caldo Luria-Bertani (LB), e incubadas a 37 °C, en constante agitación a 150 r.p.m. durante 24 h.

La calidad del ADN se evaluó mediante geles de agarosa al 0.8% y marcadores moleculares comerciales.

▪ Amplificación

Las reacciones de PCR se llevaron a cabo en un termociclador multigen optimax (Marca.), con un volumen final de 25 µl, contenían 4 µL de muestra de ADN (20 ng), 12.5 µL de mezcla GoTaq @Green Master Mix (1,5 mM MgCl₂; 200 nM dNTPs), 1 µL de cada primer (10 ng / µL) (tabla 3-3) y 6,5 µL de agua libre de DNAsas.

Tabla 3-3. “Primers” usados en la amplificación de la región 16S

Primer	Secuencia
fD1	5'-CCGAATTCGTCGACAACAGAGTTTGTATCCTGGCTCAG-3'
rD1	5'-CCCGGGATCCAAGCTTAAGGAGGTGATCCAGCC-3'

Las condiciones de amplificación del primer mencionado en la Tabla 3 se siguió por lo reportado por Velasco (2016), en que consistió en una desnaturalización inicial de 2 min a 95 °C, seguido por 30 ciclos de 30 s a 95 °C, 4 min a 65 °C, 4 min a 72 °C y una elongación final de 5 min a 72 °C.

Para la visualización del producto de PCR se hizo una electroforesis (90 minutos a 60V) en gel de agarosa al 1% con buffer TBE al 0.5X con adición de 1µL de HydraGreen™. Para determinar el tamaño de los fragmentos se empleó el marcador de peso molecular GeneRuler 100 pb. La visualización se realizó en un transiluminador UV.

▪ **Secuenciación de los productos de PCR**

La secuenciación de los productos de PCR se efectuó en el Instituto de Biotecnología de Corea, de la Empresa MACROGEN, a la cual se enviaron 20 µL del producto de PCR amplificado, en tubos Eppendorf de 1,7 ml debidamente rotulados.

▪ **Análisis bioinformáticas**

Una vez enviadas las secuencias generadas la Empresa MACROGEN en Corea, se procedió a la limpieza de dichas secuencias. Este proceso, se ejecutó con ayuda del programa BioEdit. Las secuencias consenso se compararon mediante el programa BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) adquirido a través de NCBI (National Center for Biotechnology Information).

3.5 Determinación del efecto antagónico *in vitro*

Se realizó la técnica de enfrentamiento dual en medio PDA citado por Rodríguez, (2013) y con algunas modificaciones. Se sembró cada aislamiento bacteriano a evaluar en Papa Dextrosa Agar (PDA), haciendo dos líneas paralelas a 2 cm del centro de la caja de Petri y se sembró el hongo *Alternaria* en el centro de la caja de Petri; Se tuvo como testigo el crecimiento solo de los aislamientos de *Alternaria*, para así poder establecer el porcentaje de inhibición correspondiente a cada aislamiento, la siembra se realizó simultáneamente. Para su evaluación se usó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{\text{Crecimiento libre} - \text{Crecimiento influenciado}}{\text{Crecimiento influenciado}} \times 100$$

Se realizó la lectura después de 15 días de inoculados el hongo y las bacterias; este proceso se realizó por duplicado en cada aislamiento de *Alternaria* seleccionado.

El comportamiento de inhibición mostrado por los diferentes aislamientos se agrupó de la siguiente manera (Benítez *et al.*, 2007):

- **Negativo:** ausencia de zona de inhibición o un porcentaje menor de 10% y crecimiento normal del patógeno, de forma similar al control.
- **Baja:** ausencia de zona de inhibición o con un porcentaje entre 10–39% y con disminución en el crecimiento del patógeno.

- **Media:** ausencia de zona de inhibición o un porcentaje entre 40–79% y con disminución en el crecimiento del patógeno.
- **Positivo:** presencia de zona de inhibición definida o en un porcentaje entre 80–100%.

3.6 Producción de Sideróforos

Se utilizó el ensayo de cromo azurol-S (CAS) descrito por Falero (2013), donde menciona que es una técnica que permite detectar la presencia de compuestos quelantes de hierro:

El cromo azurol-S se une al ión férrico formando un complejo cromogénico que otorga al medio de cultivo una coloración azul intensa. Aquellos compuestos quelantes que presenten mayor afinidad por el hierro que el CAS, podrán capturar el hierro y dejar al complejo cromogénico sin los iones férricos, provocando que el medio vire de azul a anaranjado en torno a la colonia que haya producido estos compuestos quelantes. En el anexo C se encuentra detallada la composición del medio.

4. Resultados y Discusión

4.1 Aislamiento del hongo fitopatígeno

Una vez procesado el material vegetal con síntomas característicos de la enfermedad en cajas de Petri con medio de cultivo PDA se obtuvieron cinco aislamientos de *Alternaria* provenientes de frutos, pertenecientes a los municipios de Candelaria, La Cumbre, Palmira, Restrepo y Vijes (Tabla 4-1).

Woudenberg *et al.* (2012) reportan para *Solanum lycopersicum* especies de *Alternaria*: Sección *Alternata*: *A. arborescens* (USA, Accesoión ITS: AF347033), de la Sección *Dianthicola*: *A. elegans* (Burkina Faso, Accesoión ITS: KC584195), de la Sección *Brassicicola*: *A. mimicola* (USA, Accesoión ITS: FJ266477) y de la Sección *Ulocladioides*: *A. heterospora* (China, Accesoión ITS: KC584248).

Tambien Woudenberg *et al.* (2015) mencionan las siguientes especies de *Alternaria* aisladas de *S. lycopersicum*: Sección *Alternaria alternata*: *A. tenuissima* (India, Accesoión ITS: KP124324), *A. tomaticola* (USA, Accesoión ITS: KP124357 y KP124358), Sección *Alternaria arborescens* SC: *A. arborescens* (USA, Accesoión ITS: AF347033 y KP124399), Sección *Alternaria tomato*: *Alternaria tomato* (Unknown, Accesoión ITS: KP124445 y KP124446). Sección *Dianthicola*: *A. elegans* (Burkina Faso, Accesoión ITS: KC584195), Sección *Brassicicola*: *A. mimicola* (USA, Accesoión ITS: FJ266477), Sección *Ulocladioides*: *A. heterospora* (China, Accesoión ITS: KC584248).

4.1.1 Tasa de crecimiento micelial (TCM)

La tabla 4-1, muestra los resultados obtenidos de la TCM de cada aislamiento de *Alternaria* evaluado. Donde señalamos que el aislamiento con código 5H proveniente del municipio

de Restrepo muestra un crecimiento lento con respecto al aislamiento con código 6H del municipio de Candelaria.

Tabla 4-1. Aislamientos de *Alternaria alternata* en Tomate de mesa

Codigo	Aislado en el Municipio	Finca	Procedencia	Tasa de Crecimiento micelial (cm/d)	Tiempo Final (días)
6H	Candelaria	CEUNP	Fruto	0,88	10
1H	La Cumbre	Tapias	Fruto	0,62	14
4H	Palmira	Lote UNAL	Fruto	0,62	14
5H	Restrepo	Aguacate	Fruto	0,53	15
3H	Vijes	Samán	Fruto	0,73	12

Simmons (2007) menciona que la tasa de crecimiento radial de colonias típicas de *A. alternata* oscilan aproximadamente en 0,5 cm/d en condiciones estándar, es decir, ciclos alternantes de luz/oscuridad de 12/12 horas a 25 °C durante 7 días, sembrados en Agar V8 y Agar PCA); los cinco aislamientos obtenidos en este estudio abarcan un crecimiento entre 0,53 a 0,88 cm/d, esto debido a que las condiciones estándar de crecimiento ya mencionadas se modificaron, como los periodos de luz y oscuridad.

4.1.2 Caracterización morfológica

Con base a las características morfológicas descritas por Simmons (2007), incluyendo además la clave para las especies *Alternaria* descrita por Rodríguez (2014), se pudo establecer que corresponden a una sola especie para las cinco localidades evaluadas, la cual corresponde a *Alternaria alternata* y es clasificada dentro de las especies de *Alternaria* de conidios pequeños. (Tabla 4-1, 4-2), Figura 4-1, 4-2, y 4-3.

Carreño y colaboradores (2007) reportan que para Colombia *Alternaria solani* no se ha presentado como una enfermedad limitante y de importancia, siendo está a escala mundial

un patógeno importante y considerada una de las enfermedades más destructivas en el cultivo de papa y tomate en el mundo (Dang *et al.*, 2015). Esto concuerda con los resultados encontrados en este estudio, puesto que la especie que se encontró asociada a la zona muestreada del Valle del Cauca fue *A. alternata*.

Adicionalmente los aislamientos de Restrepo (5H) y Candelaria (6H) no presentaron esporulación y por ende no se obtuvieron medidas de sus conidios, Figura 4-4.

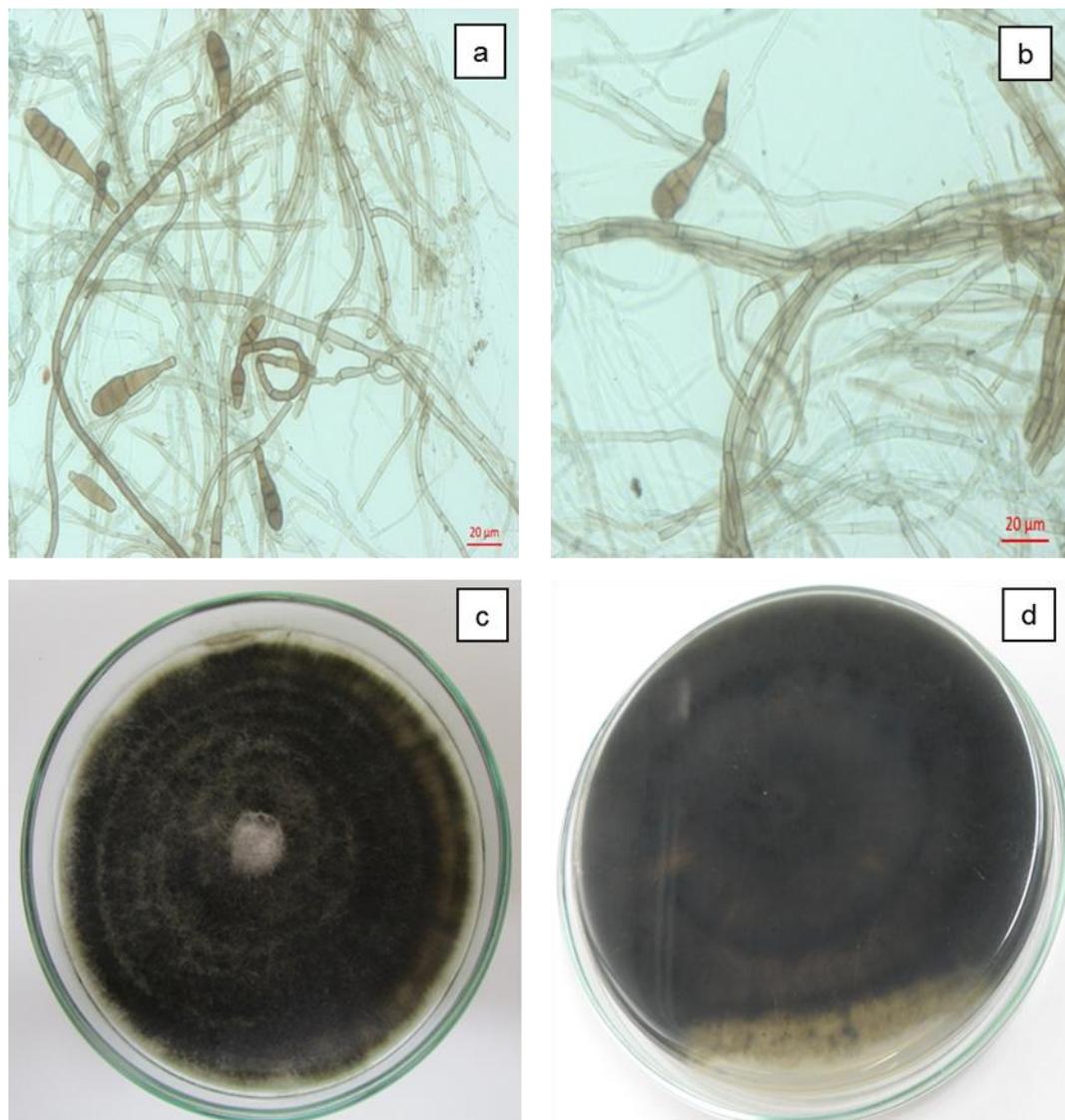


Figura 4-1: *Alternaria alternata* aislamiento del municipio de La Cumbre (1H), Finca Tapias. a- Conidios y conidióforo; b- Conidios en cadena; c- Crecimiento en PDA al 2% anverso; d- Crecimiento en PDA a 2% reverso. a- y b- Escala 20 μm.

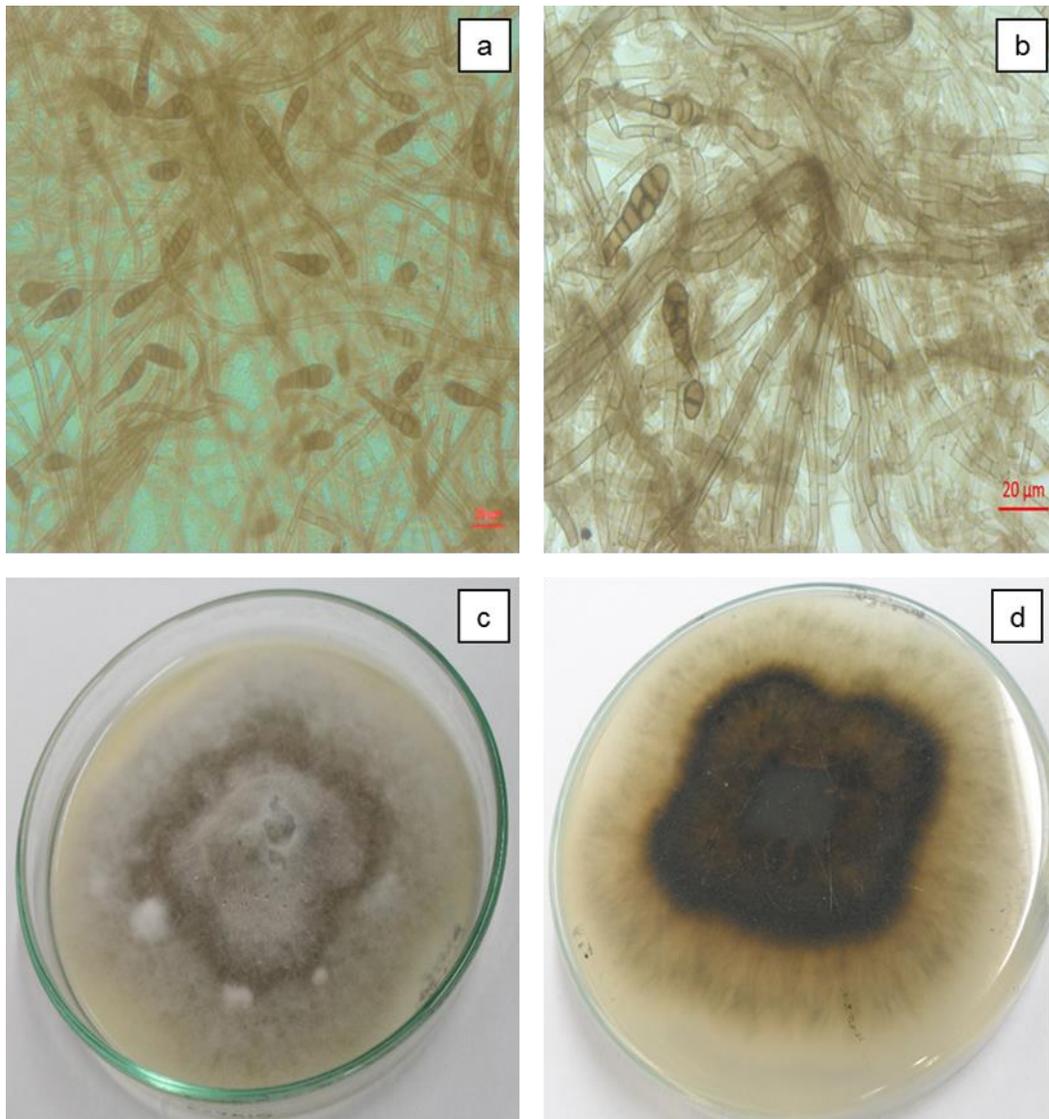


Figura 4-2: *Alternaria alternata* aislamiento del municipio de Vijos (3H), Finca El Samán. a- Patrón de esporulación y conidios; b- Conidios en cadena; Escala 20 µm. c- Crecimiento en Agar Papa-Zanahoria anverso; d- Crecimiento .en Agar Papa-Zanahoria reverso.

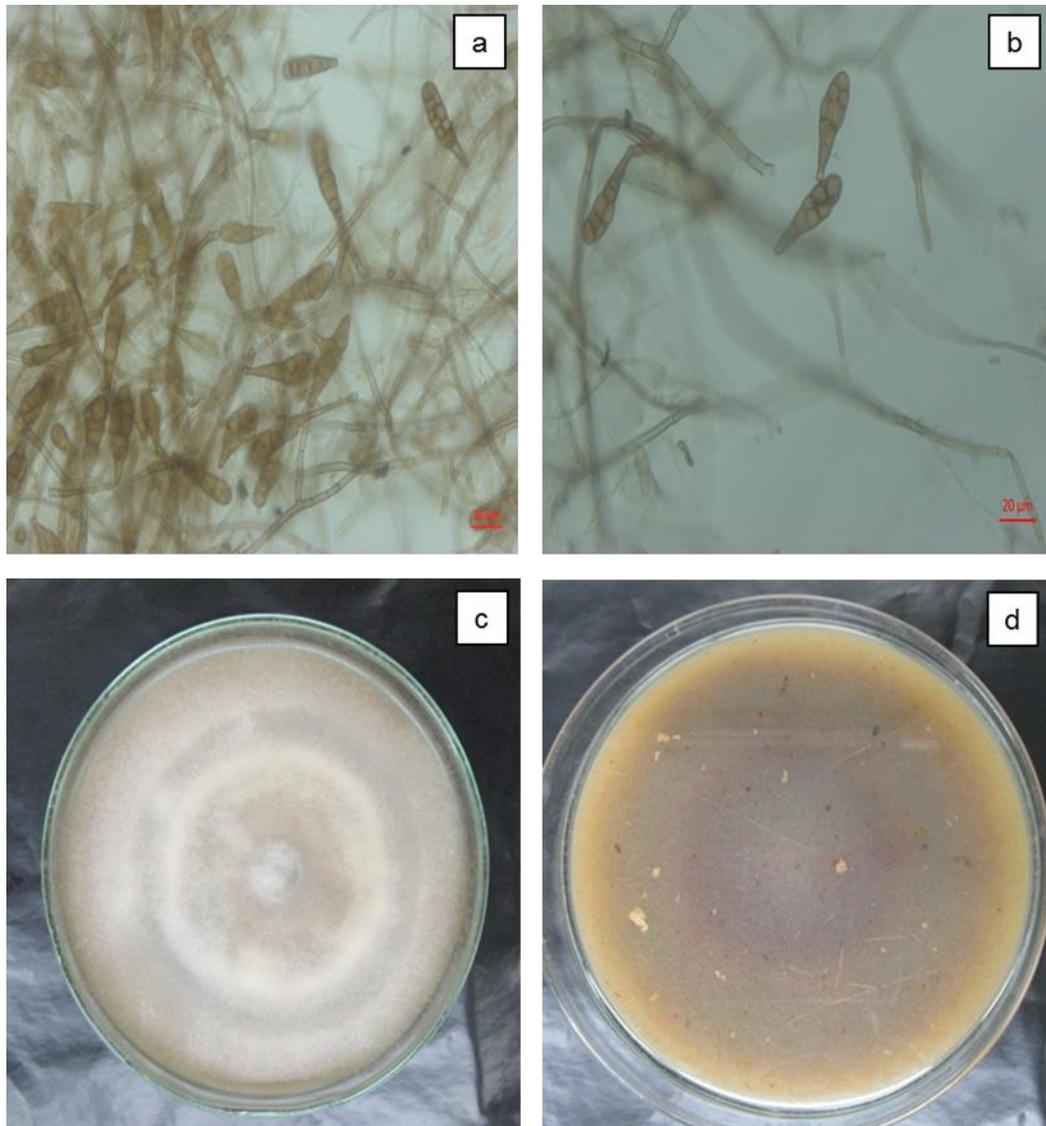


Figura 4-3: *Alternaria alternata* aislamiento del municipio de Palmira (4H), Finca Lote UNALP; a- Patrón de esporulación y conidios; b- Conidios en cadena; Escala 20 µm. c- Crecimiento en Agar V8 anverso; d- Crecimiento en Agar V8 reverso.

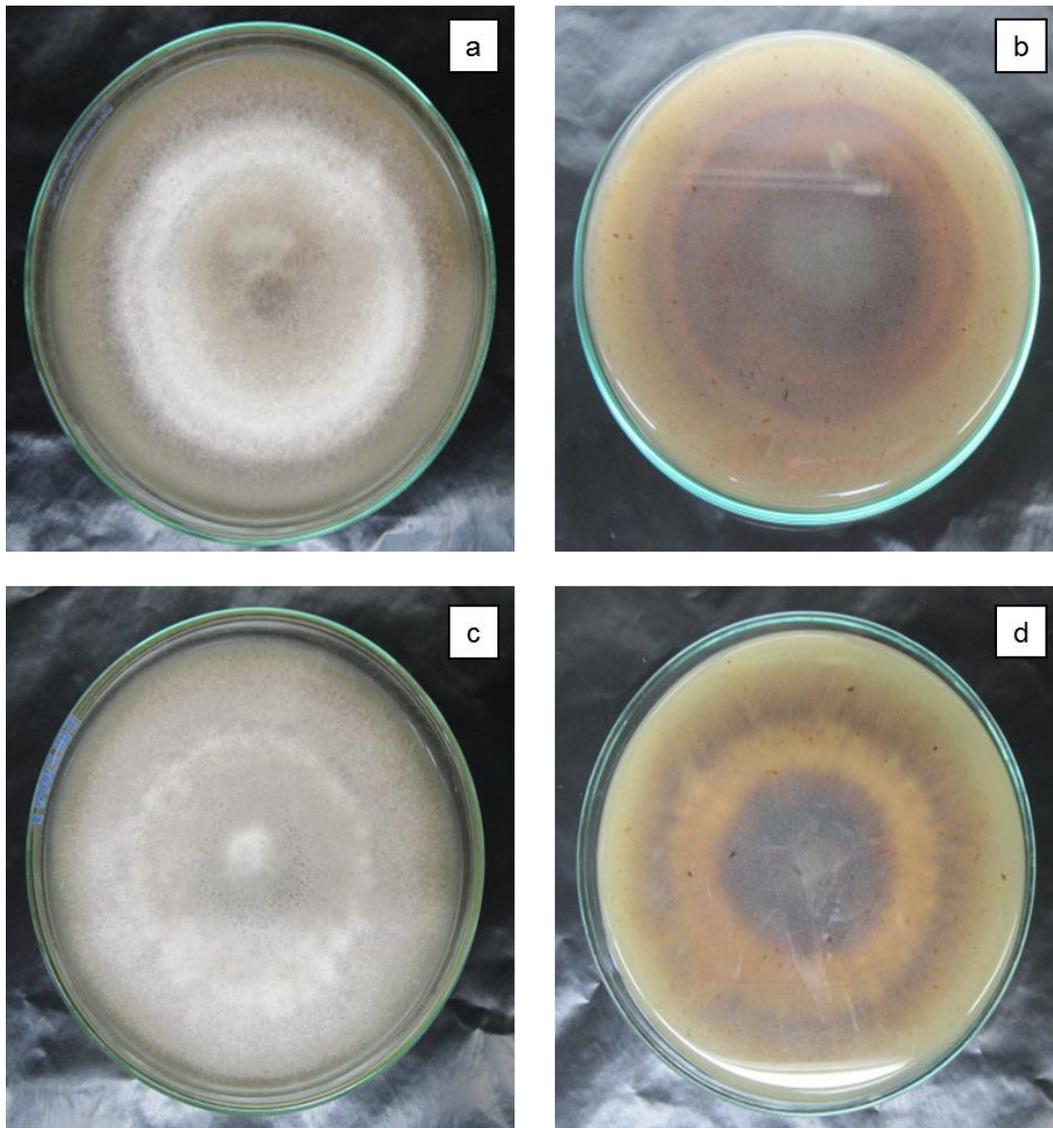


Figura 4-4: Aislamientos en medio de cultivo de *Alternaria alternata*, a- Aislamiento Candelaria (6H), Finca CEUNP, Crecimiento en Agar V8 anverso; b- Aislamiento 6H, Crecimiento en Agar V8 reverso; c- Aislamiento Restrepo (5H), Finca Aguacate, Crecimiento en Agar V8 anverso; d- Aislamiento 5H, Crecimiento en Agar V8 reverso.

Se evidencio en los cinco aislamientos características que difieren entre sí, esto concuerda a lo mencionado por Woudenberg *et al.*, (2013) en el que menciona:

Que frecuentemente al cultivar este hongo suele exhibir caracteres representativos de diferentes especies, tales como estructura colonial efusa, coloración oscura, gris, olivácea o negra, la aparición ocasional de anillos concéntricos más oscuros, o el crecimiento parcialmente inmerso de su micelio (p 183).

Como se puede observar en la tabla 4-2, el rango de longitud de los conidios en Agar PZA de las muestras evaluadas oscila entre 11,2 a 68 μm , los septos transversales de 1-7 y los septos longitudinales de 0-9. Haciendo una comparación con lo referido por Simmons (2007) este describe a *A. alternata* con un rango de conidios maduros de 10-30 μm (PZA) y 13-43 μm (V-8), de 4-7 septos transversales y normalmente no se observan septos longitudinales, aunque rara vez se ven de 1-2 septos.

Las variaciones de los datos obtenidos y los reportados por Simmons (2007) puede deberse tal vez a los componentes utilizados para preparar el medio PZA, puesto que la papa y la zanahoria fueron obtenidas de diferentes sitios y esto puede variar significativamente en términos de contenido de los carbohidratos y características bioquímicas dependiendo del cultivar y las condiciones de crecimiento, lo que puede afectar el contenido nutricional de los medios preparados a partir de ellos (Pryor y Michailides, 2002).

Los resultados obtenidos en este estudio coinciden con lo descrito por Woudenberg *et al.* (2013) en el que reporta que *Alternaria* morfológicamente se identifica por observar: Ascosporas muriformes, con formas elipsoides a fusoides, ligeramente estrechas en septos, de color pardo amarillento, sin gutulas, lisas, de 3-7 septos transversales, y de 1-2 tabiques longitudinales a través de los dos segmentos centrales originales.

4.1.3 Caracterización Molecular

De los cinco aislamientos evaluados utilizando la región ITS 1 e ITS 4 nos arrojó que la especie de *Alternaria* identificada correspondió a *A. alternata*, como se muestra en la tabla 4-3 y figura 4-5.

Estos resultados concuerdan con lo reportado por Rodríguez (2014) en donde señala que la región ITS se presenta como un marcador molecular de interés en la taxonomía del género *Alternaria*, y sugiere continuar analizando como marcador taxonómico de la sección de conidios pequeños de *Alternaria* (p 81).

Tabla 4-2. Características morfológicas de los aislamientos de *Alternaria alternata*

Código	Municipio	Finca	Color colonia	Crecimiento Parcial/Sumergido	Formación de anillos	Longitud Conidios	Septos transversales	Septos longitudinales
6H	Candelaria	CEUNP	PANTONE 5865 C Agar V8	Parcial	Si	*	*	*
1H	La Cumbre	Tapias	PANTONE 419 C Agar PDA 2%	Sumergido	Si	Rango 15,3 - 68 Promedio 35.2	2 - 6	0 - 4
4H	Palmira	Lote UNALP	PANTONE 5875 C Agar V8	Parcial	Si	Rango 19,2 - 60 Promedio 38.2	2 - 6	0 - 9
5H	Restrepo	Aguacate	PANTONE 5855 C Agar V8	Parcial	Si	*	*	*
3H	Vijes	Samán	PANTONE 5787 C Agar PCA	Parcial	No	Rango 11,2 – 47,1 Promedio 25.9	1 - 7	0 - 7

*Sin esporulación

Tabla 4-3. Caracterización Molecular, Número de Accesoión y porcentaje de similitud (según GenBank) de aislamientos de *Alternaria* asociados a Tomate de Mesa, identificados mediante ITS1 – ITS4 (espacio interno transcripto)

Código	Municipio	Especie	Accesión	% de Similitud
3H	Vijes	<i>A. alternata</i>	JQ080319.1	91
1H	La Cumbre	<i>A. alternata</i>	JQ907485.1	94
6H	Candelaria	<i>A. alternata</i>	JQ080319.1	89
5H	Restrepo	<i>A. alternata</i>	KP264960.1	91
4H	Palmira	<i>A. alternata</i>	JQ907485.1	92

Los resultados obtenidos comparando las secuencias con la opción del BLAST del NCBI arrojaron porcentajes de similitud entre el 89 % al 92 % con la especie *A. alternata* utilizando la región ITS 1 y 4. Valores que concuerdan con los encontrados en este estudio.

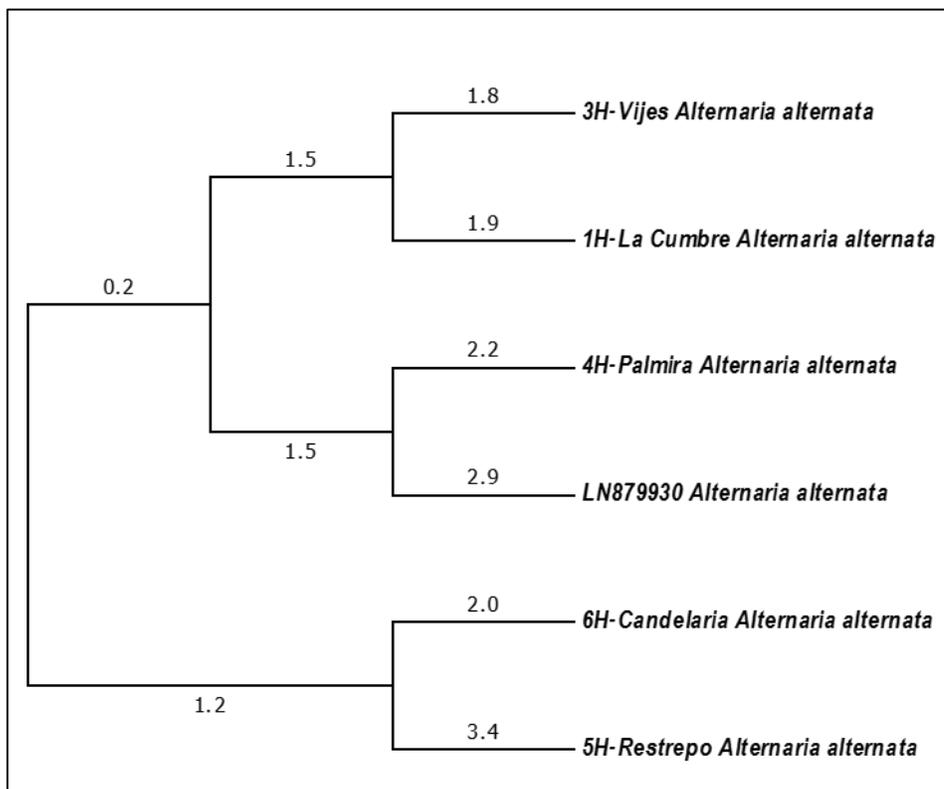


Figura 4-5: Árbol filogenético de las secuencias de aislamientos de *Alternaria alternata*. Obtenidas mediante la amplificación de la región de ADNr mediante el cebador universal ITS1 –ITS4; usando el coeficiente de similitud del vecino más cercano (Neighbor joining bootstrap de 1000 réplicas). Raíces: *Alternaria alternata* (LN879930).

La utilización de métodos moleculares ha comenzado a solucionar la taxonomía de *Alternaria*. Estudios como el de Lawrence *et al.* (2013) quienes realizaron un análisis filogenético de 176 especies que representan *Alternaria* y los géneros relacionados *Stemphylium*, *Embellisia*, *Nimbya* y *Ulocladium* usando cinco loci filogenéticos e identificaron ocho linajes filogenéticos dentro del género *Alternaria*, asignándoles el rango taxonómico de sección. Un estudio similar es de Woudenberg *et al.* (2013) en el que apoyó la designación de la denominación taxonómica del grupo de especies de *A. alternata* como sección, aunque la denominó sección *Alternata*.

La especie *A. alternata* actualmente se encuentra dentro de la sección *alternata* y se trata como un complejo que incluye alrededor de 60 especies, cuya diferenciación taxonómica está determinada más por diferencias moleculares que morfológicas” (Woudenberg *et al.*, 2015).

Para la identificación específica de especies de *Alternaria* se debe incluir la caracterización morfológica y molecular al mismo tiempo, puesto que es un género que presenta una alta variabilidad en los caracteres morfológicos de sus estructuras reproductivas (Rodríguez, 2014).

4.1.4 Pruebas de Patogenicidad

Se realizó una evaluación a los cuatro y ocho días de inoculado los frutos de tomate con los diferentes aislamientos de *Alternaria alternata*. Se expresó una alta incidencia de la enfermedad con respecto a los controles negativos, oscilando entre un 81% y 100% en los aislamientos. Tabla 4-4.

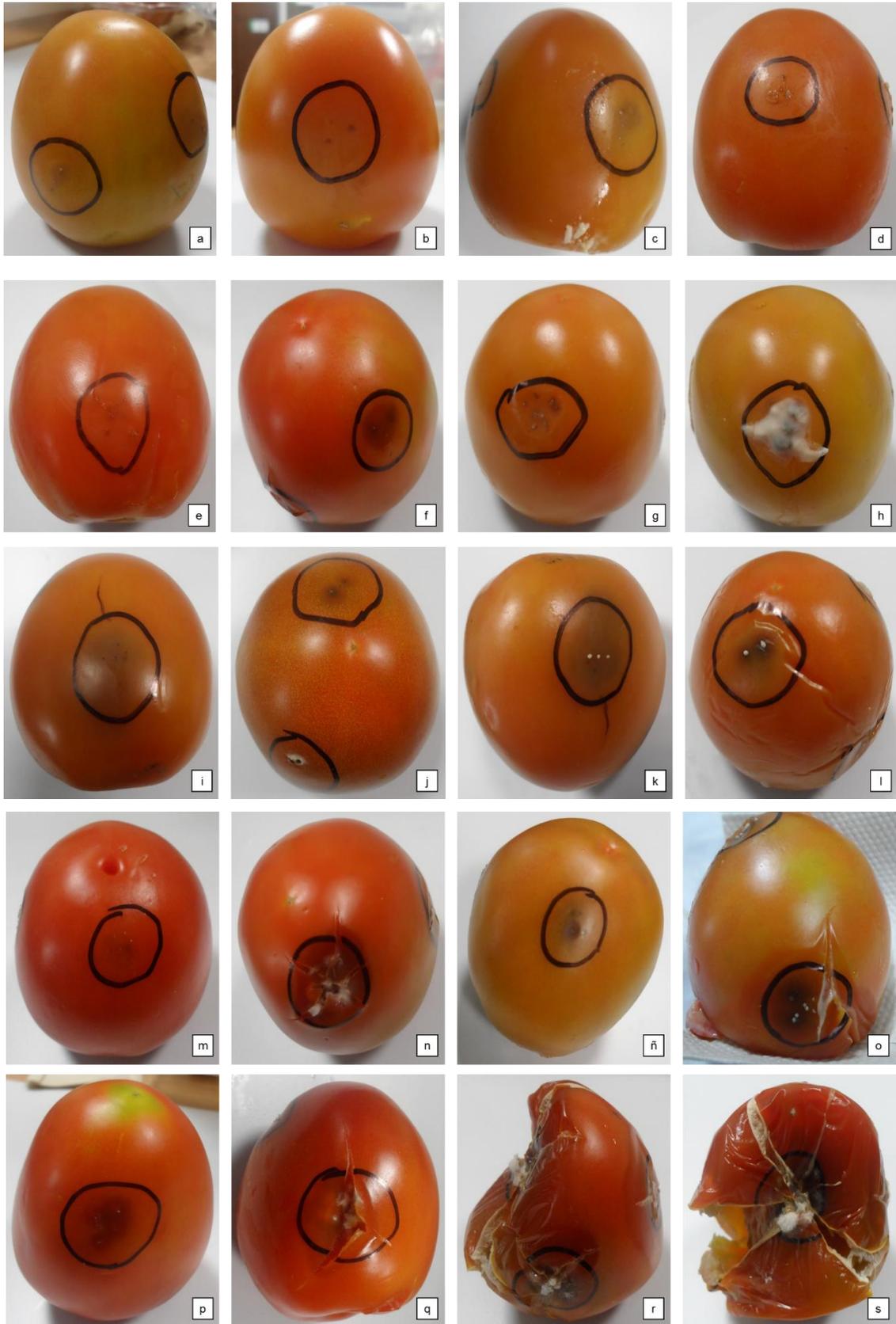
El aislamiento de La Cumbre (1H) presentó una calificación de severidad 1-Sintomas Leve visibles; Los aislamientos de Candelaria (6H) y Vijos (3H) mostraron una severidad de 2-Sintomas Leves más visibles. El aislamiento de Palmira (4H) expresó en la escala de

severidad 3-Sintomas moderados y El aislamiento de Restrepo (5H) fue el que presentó mayor severidad en las pruebas de patogenicidad evidenciando una necrosis severa, con rompimiento de tejido y presencia de micelio.

En la Figura 4-7 se ilustra la severidad que presentaron los aislamientos de *Alternaria alternata* en tomates de mesa.

Tabla 4-4. Resultados Incidencia de la enfermedad frutos de tomate de mesa.

<i>Alternaria alternata</i>	Incidencia (4 día)	Incidencia (8 días)	Severidad (Calificación)
Candelaria	81%	81%	2 Leve más visibles
La Cumbre	100%	100%	1 Leve visibles
Palmira	94%	100%	3 Moderados
Restrepo	100%	100%	4 Severos
Vijes	94%	94%	2 Leves más visibles



Continuación (Figura 4-6)

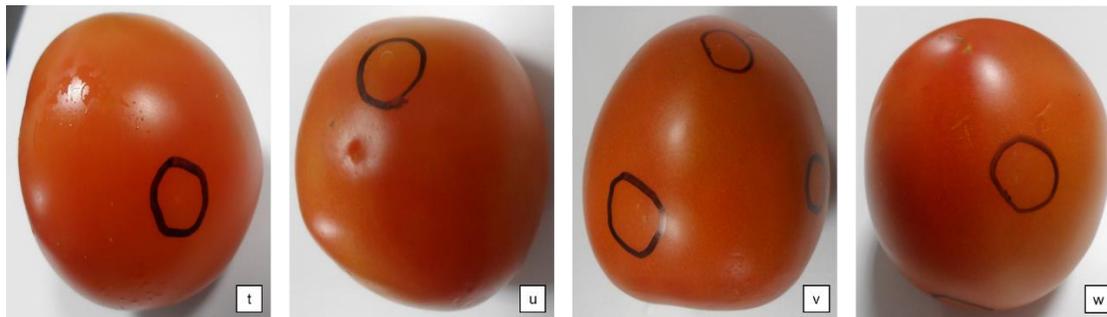


Figura 4-6: Severidad de *Alternaria alternata* en pruebas de patogenicidad. a- y b-Sintomas 4 días después de la inoculación de los frutos de tomate, c- y d- Sintomas 8 días de inoculados, (a, b, c y d Aislamiento 1H-La Cumbre); e- y f-Sintomas 4 días de inoculados los tomates, g- y h- Sintomas 8 días de inoculados, (e, f, g y h Aislamiento 3H-Vijes); i- y j- Sintomas 4 días de inoculados los tomates, k- y l- Sintomas 8 días de inoculados, (i, j, k y l Aislamiento 6H-Candelaria); m- y n-Sintomas 4 días de inoculados los tomates, ñ- y o-Sintomas 8 días de inoculados, (m, n, ñ y o Aislamiento 4H-Palmira); p- y q-Sintomas 4 días de inoculados los tomates, r- y s- Sintomas 8 días de inoculados, (p, q, r y s Aislamiento 5H-Restrepo); t, u, v y w Controles negativos.

4.2 Determinación del efecto antagónico *in vitro*

Se obtuvieron 244 aislamientos bacterianos, de los cuales 147 provenían de muestras de suelo rizosférico y 97 de tejido de raíces sanas de plantas de tomate de mesa. Estos aislamientos fueron clasificados de acuerdo con su lugar de procedencia, Código asignado a las bacterias aisladas y su capacidad antagónica (Anexo D y E).

Las bacterias con mejor antagonismo a *Alternaria alternata* fueron seleccionadas de acuerdo al potencial antagónico clasificado según Benítez (2007) como positivo, donde se evidenció presencia de zona de inhibición definida o en un porcentaje de inhibición entre el 80–100% en cuatro de los cinco aislamientos evaluados.

4.2.1 Suelo rizosferico

De los 147 aislamientos bacterianos del suelo rizosferico de plantas de tomate de mesa, 34 produjeron antagonismo en por lo menos tres de los cinco aislamientos de *Alternaria alternata* evaluados. Del municipio de Restrepo, ninguno de los 45 aislamientos evaluados produjo antagonismo a los aislamientos de *Alternaria* evaluados. Figura 4-7.

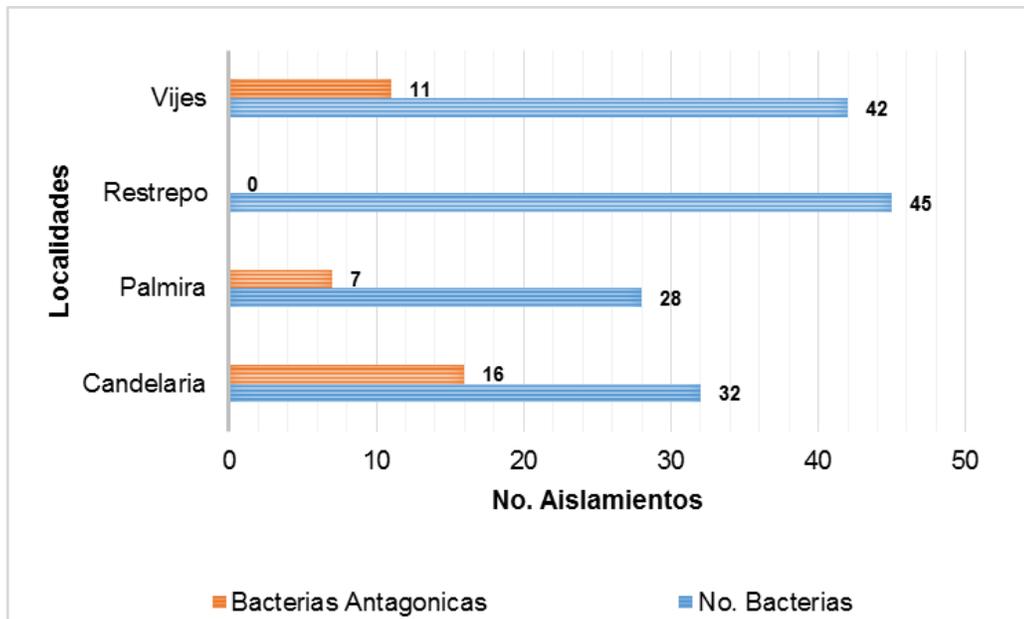


Figura 4-7: Número de aislamientos antagonísticos obtenidos del suelo de la rizosfera de Tomate de mesa (*Solanum lycopersicum* L.) en cada municipio evaluado.

Se destacan los aislamientos obtenidos de los municipios de Candelaria, Palmira y Vijes con un potencial antagónico clasificado según Benítez (2007) como Positivo, debido a que se evidenció presencia de zona de inhibición definida o en un porcentaje entre el 80–100%. Entre los aislamientos mencionados tenemos: CTBF1, CTBF2, CTBS5, CTBS6, CTBS7, CTBS10, CTBS12, CTBS17, CTBS18, CTBS19, CTBS22, CTBS24, CTB25, CTBS26, CTBS29, CTBS30, BTBS2, STBS1, STBS3, STBS7, STBS9, STBS14, STBS17, STBS18, STBS19, STBS21, STBS22, GTBF1, GTBF2, GTBS1, GTBS2, GTBS3, GTBS4, GTBS10 (Anexo D).

A continuación se ilustran algunas de las inhibiciones *in vitro* encontradas en este estudio: 4-8, 4-9, 4-10, 4-11 y 4-12.

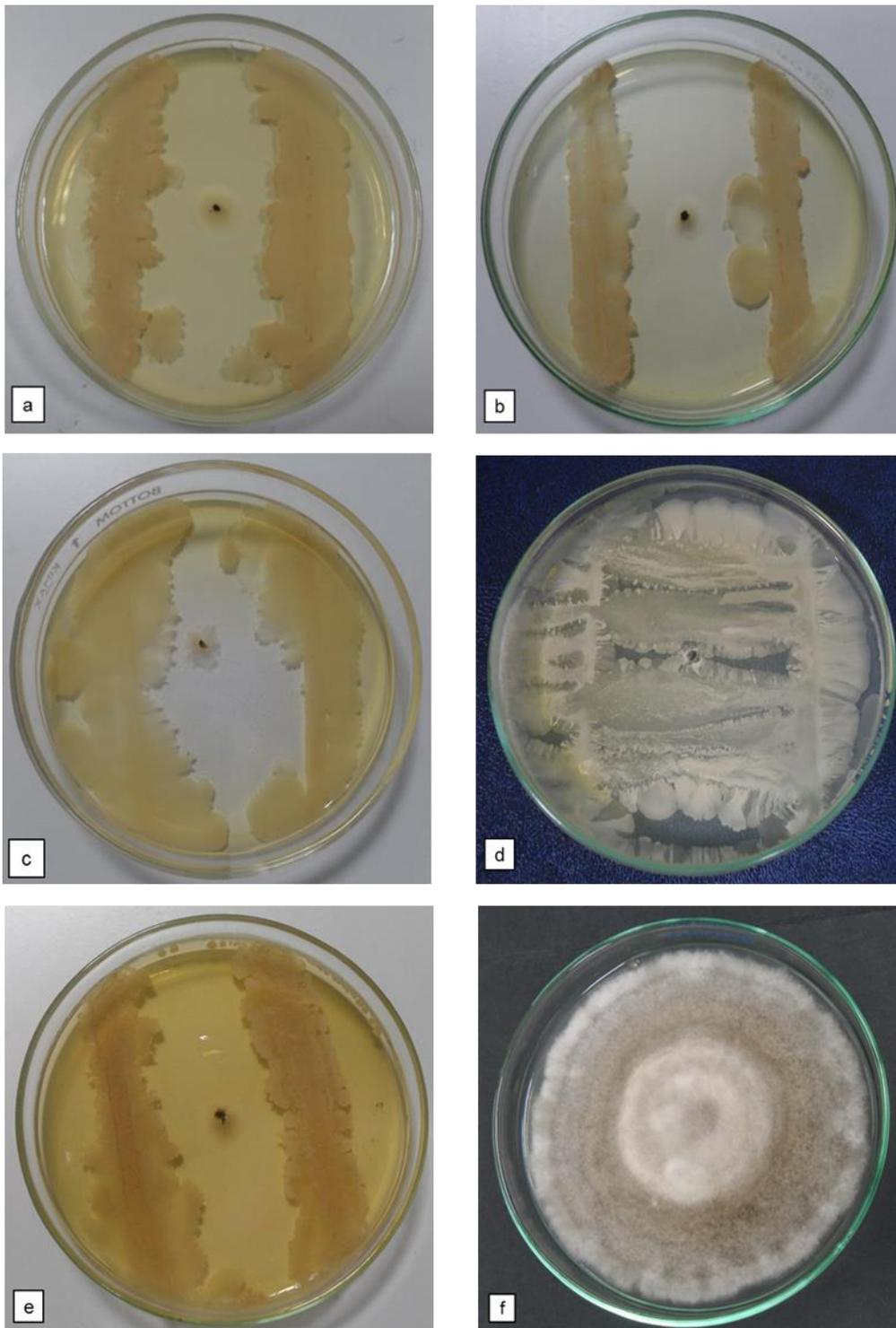


Figura 4-8: Prueba de antagonismo de bacterias rizosfericas frente al hongo de *Alternaria alternata* (1H - La Cumbre): a- GTBS3; b- GTBS4; c- GTBF2; d- STBS14; e- CTBS12; f- Control.

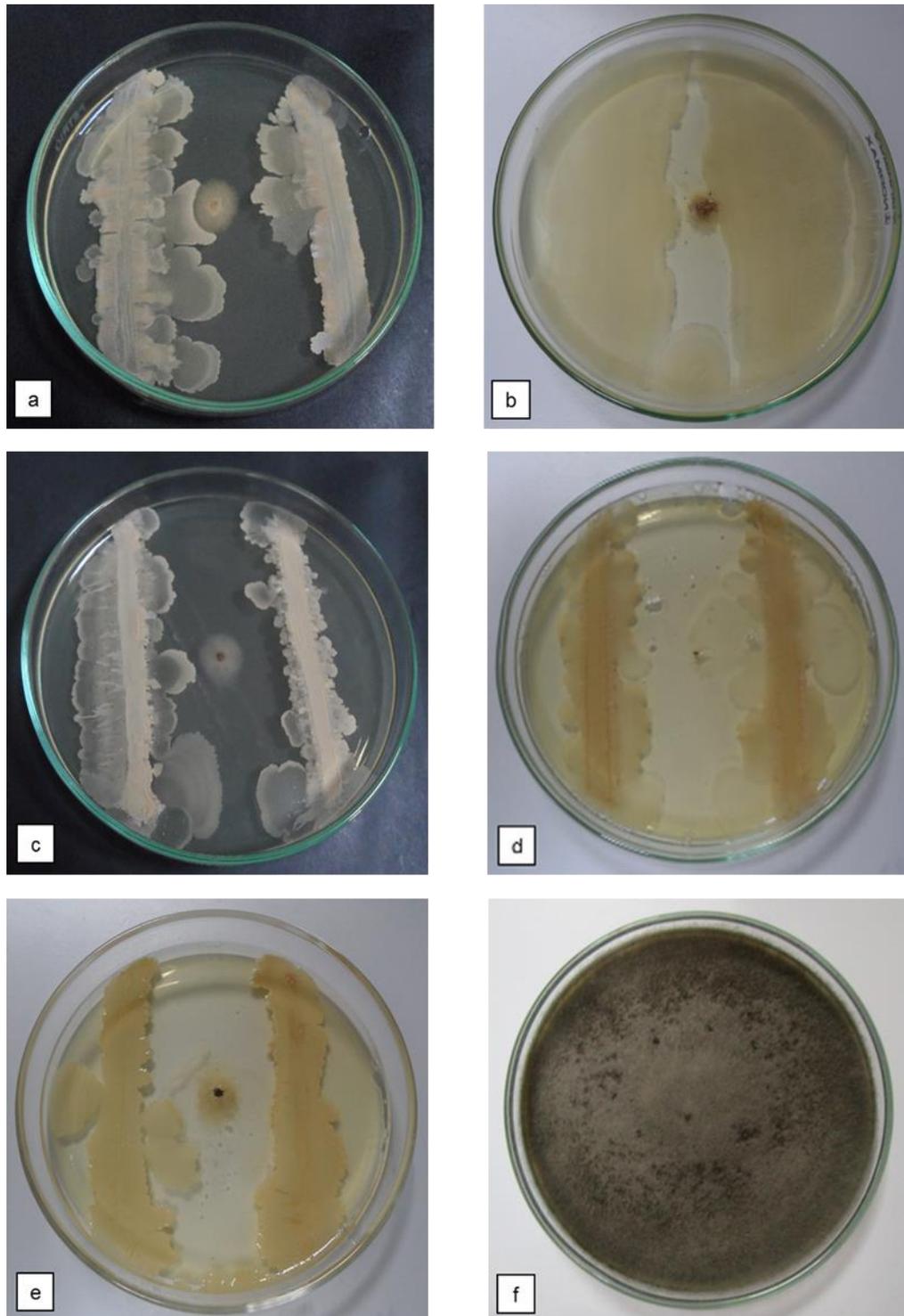


Figura 4-9: Prueba de antagonismo de bacterias rizosfericas frente al hongo de *Alternaria alternata* (3H – Viješ): a- GTBS2; b- CTBS5; c- CTBS10; d- CTBS12; e- GTBF1; f- Control.

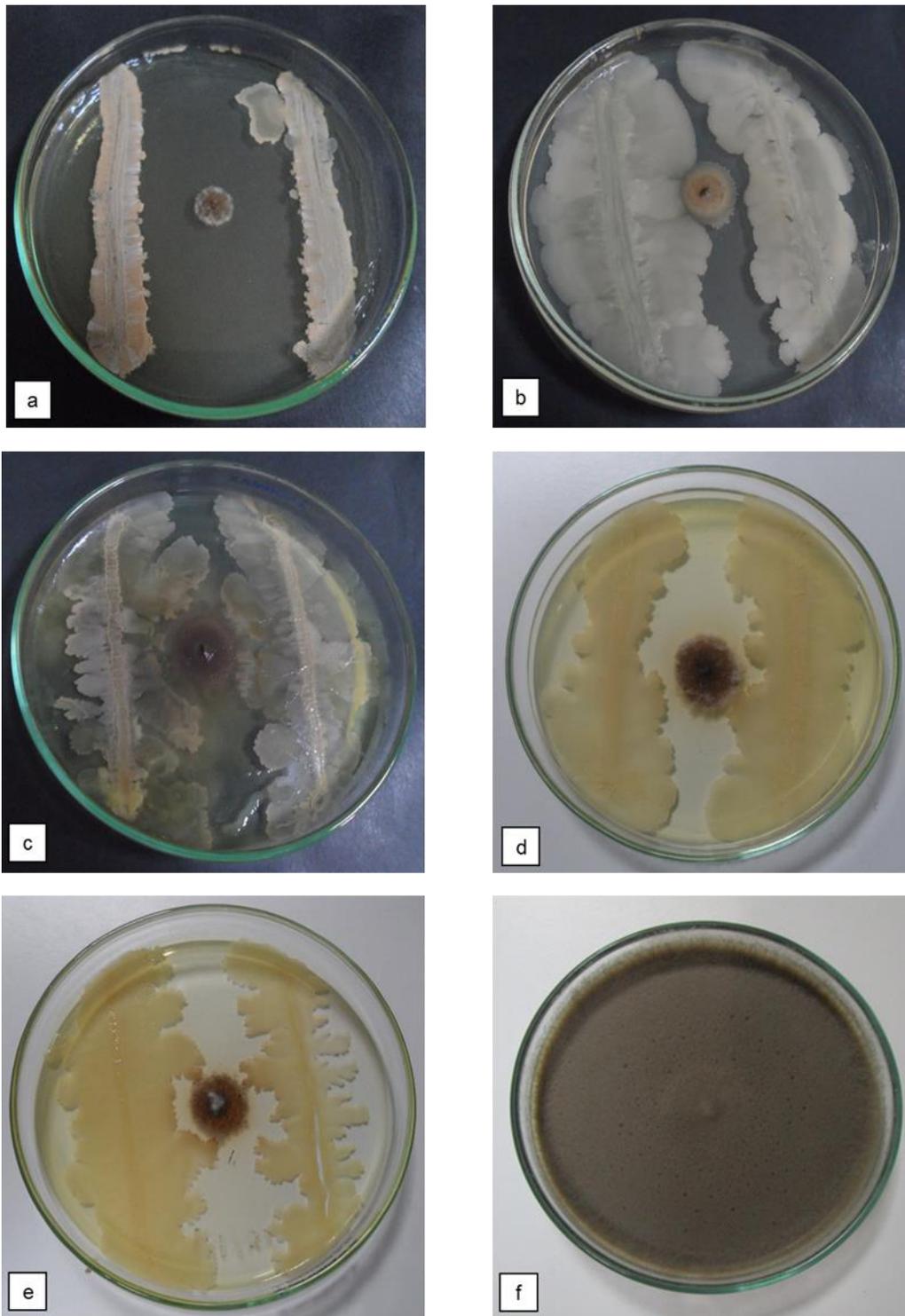


Figura 4-10: Prueba de antagonismo de bacterias rizosfericas frente al hongo de *Alternaria alternata* (4H – Palmira): a- GTBS2; b- CTBS7; c- CTBS6; d- STBS21; e- CTBF2; f- Control.

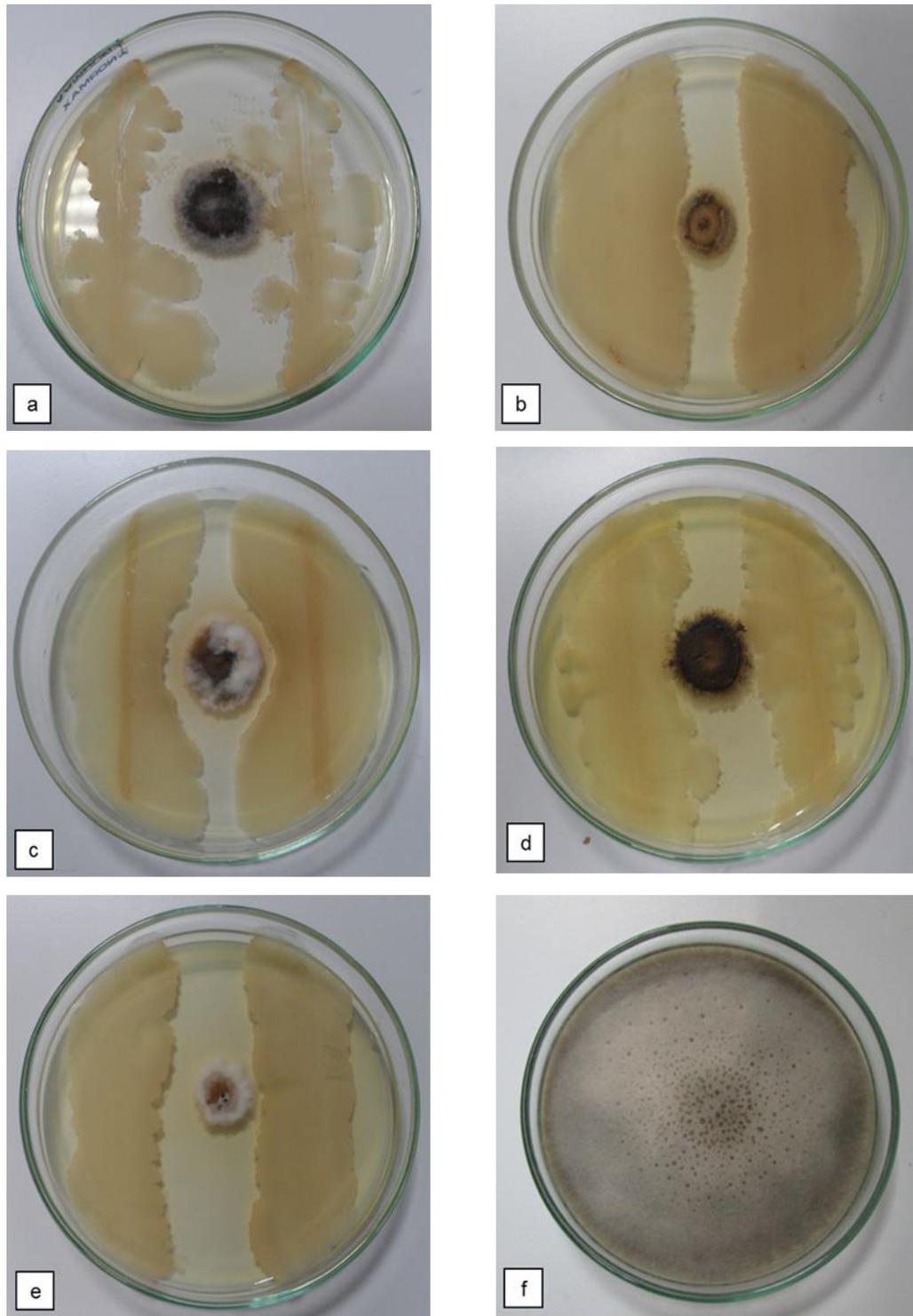


Figura 4-11: Prueba de antagonismo de bacterias rizosfericas frente al hongo de *Alternaria alternata* (5H – Restrepo): a- GTBS3; b- STBS18; c- STBS17; d- GTBF2; e- CTBS25; f- Control.

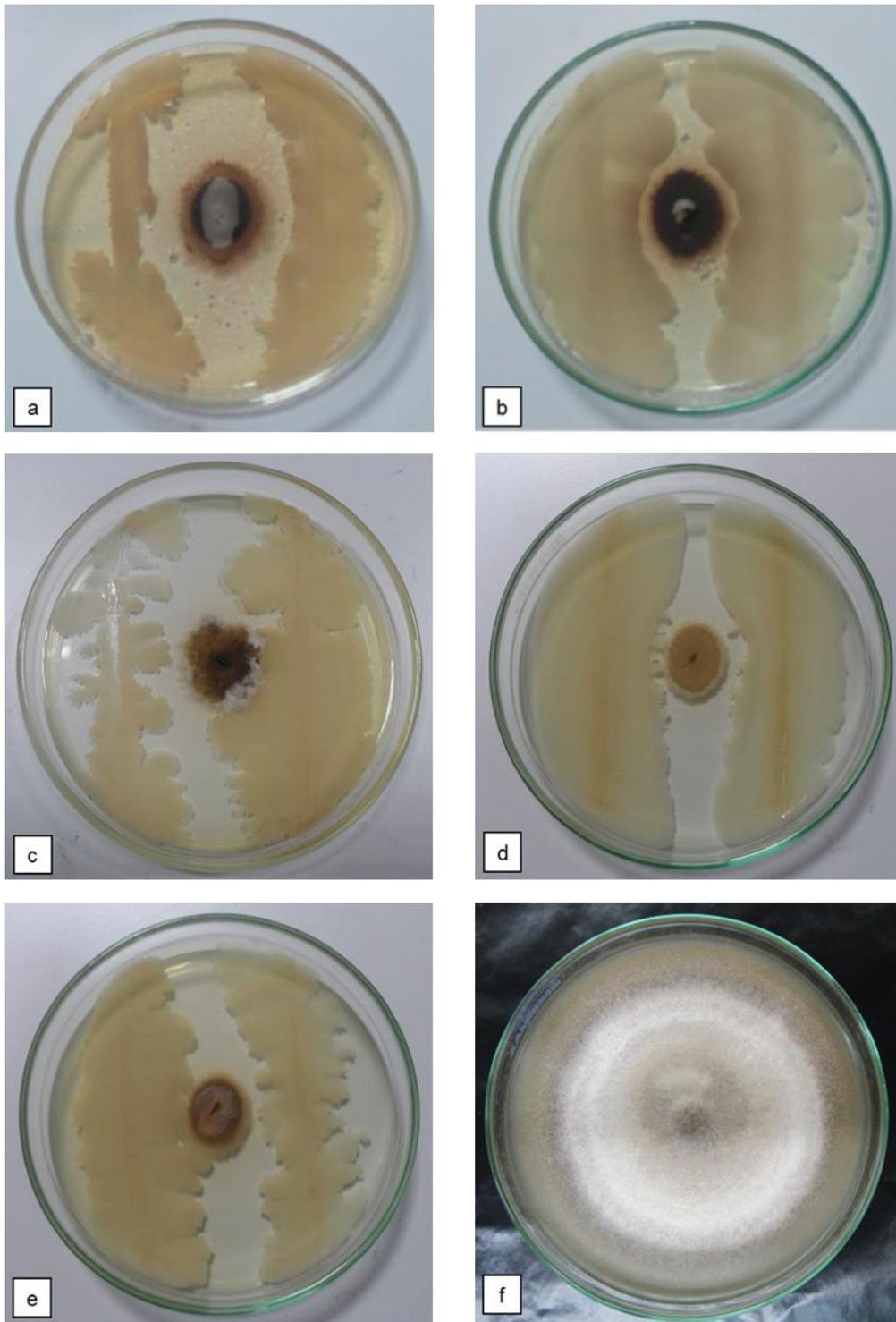


Figura 4-12: Prueba de antagonismo de bacterias rizosfericas frente al hongo de *Alternaria alternata* (6H - Candelaria): a) CTBS17; b) GTBS4; c) GTBS1; d) STBS17; e) STBS21; f) Control.

Dimkic´ *et al.*, (2013) reportaron dos cepas de *Bacillus* sp. con una capacidad antagónica contra *Alternaria alternata* de un 90,4% de inhibición. Por otra parte, Mohamedy *et al.*, (2013) evaluaron un aislamiento de *Bacillus subtilis* con porcentajes de inhibición entre el 77,7% al 83,3% frente a patógenos como: *Fusarium oxysporum radicis-ycopersici*, *F. oxysporum lycopersici*, *F. solani*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii*, *Macrophomina phaseolinae*, *Pythium* sp., *Phytophthora* sp., esto coincide con los resultados obtenidos ya que los aislamientos bacterianos con mayor capacidad antagonica fente a *A. alternata* fueron identificados como del género *Bacillus* y sus porcentajes de inhición estuvieron entre un 85,6% y un 97,8%.

4.2.2 Raíces

De los 97 aislamientos bacterianos de las raíces de plantas de tomate de mesa, 3 produjeron antagonismo en por lo menos tres de los cinco aislamientos de *Alternaria alternata* evaluados, con porcentajes de inhibición del 82,2% hasta un 96,7%. En los municipios de Candelaria y Palmira no se obtuvo aislamientos antagónicos. Figura 4-13.

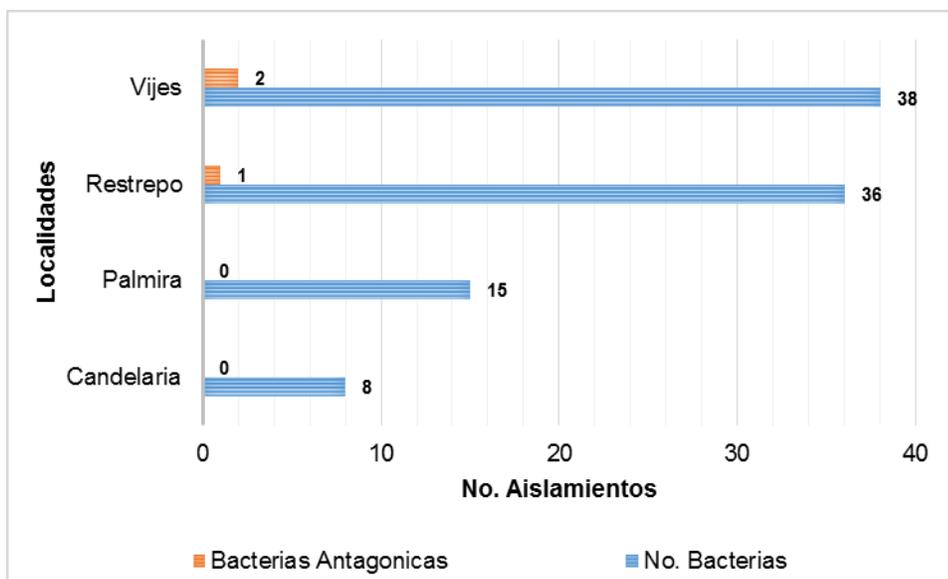


Figura 4-13: Número de aislamientos antagónicos obtenidos de las raíces sans de Tomate de mesa (*Solanum lycopersicum* L.) en cada municipio evaluado.

Se encontró solo dos bacterias en el municipio de Vijos (STPR4 y BTPR7) con un potencial antagonico clasificado como Positivo (80–100% de zona de inhibición definida) según Benítez (2007); Por otra parte, se obtuvo 1 bacteria del municipio de Restrepo (ATPR11), con una capacidad antagonica media a los diferentes aislamientos de *Alternaria alternata*. Cabe mencionar que los municipios de Candelaria y Palmira no se encontraron bacterias con capacidad antagonica de biocontrol (Anexo D). Posteriormente se ilustran algunas de las excelentes inhibiciones en las figuras 4-14, 4-15, 4-16, 4-17 y 4-18.

Hammami *et al.*, (2013) evaluaron 12 bacterias de *Pseudomonas fluorescens* (cinco aislamientos), *P. putida* (cinco aislamientos) y *P. aeruginosa* (dos aislamientos) frente a los hongos de *Sclerotinia sclerotiorum*, *Fusarium solani* y *Alternaria alternata* en el cual, encontraron que la inhibición *in vitro* del crecimiento micelial varió con el medio de cultivo empleado y el patógeno evaluado. El efecto inhibidor sobre el crecimiento micelial de *A. alternata* fue mayor en TSA al 25%, correspondiente a una inhibición entre un 60,65% a un 82,11%; para el medio KB el porcentaje de inhibición para *A. alternata* estuvo entre un 41,43% a un 57,71%; y para el caso del medio PDA el porcentaje de inhibición para *A. alternata* estuvo en un 7,81% a un 20,31%. Este último resultado coincide con lo encontrado en los 94 aislamientos bacterianos obtenidos de las raíces sanas de tomate, puesto que, solo tres aislamientos bacterianos se encontraban en un rango de inhibición del 70% al 96,7%, teniendo en cuenta que estos tres aislamientos no corresponden a bacterias del Género *Pseudomonas*.

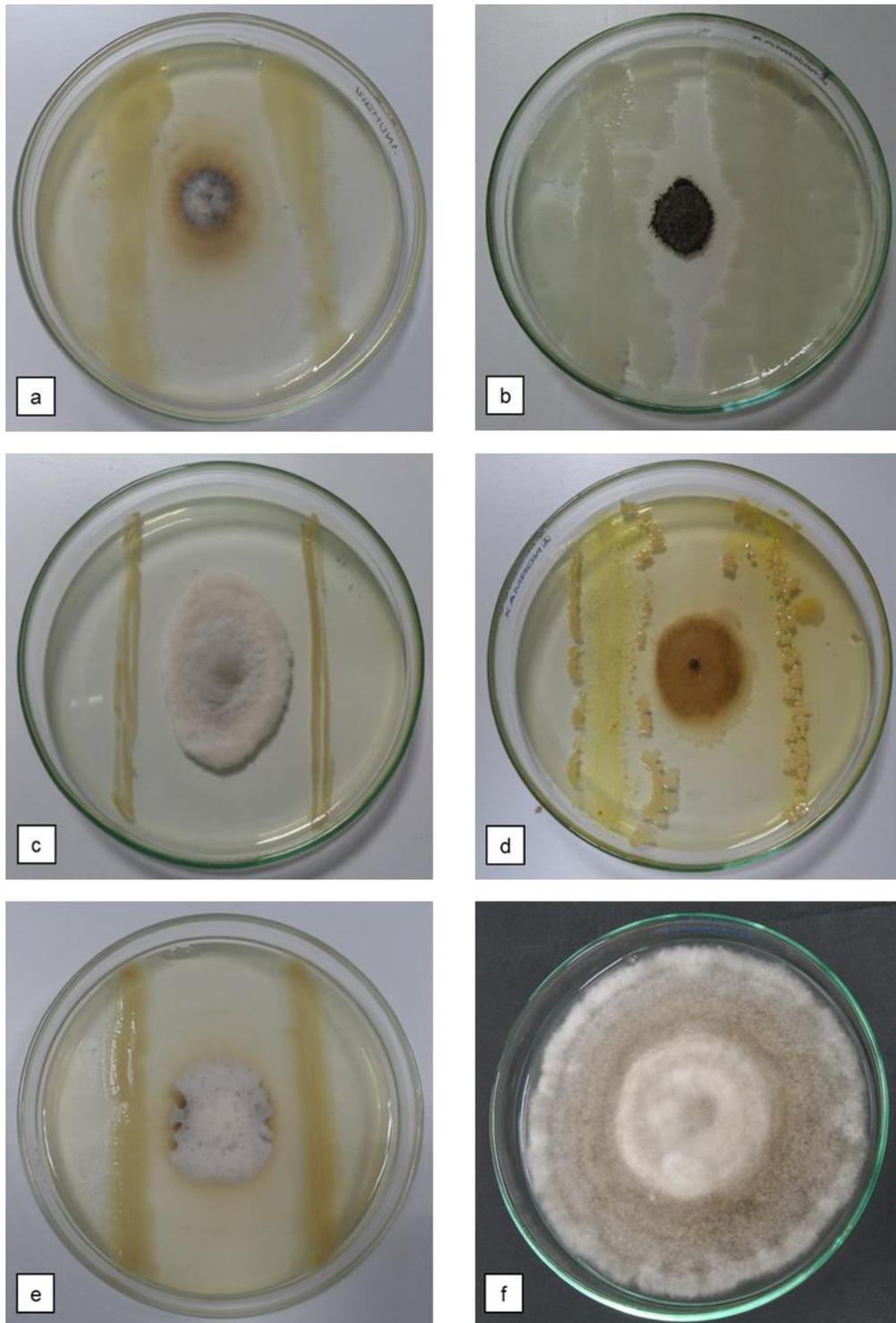


Figura 4-14: Prueba de antagonismo de bacterias de raíces sanas de tomate frente al hongo de *Alternaria alternata* (1H – La Cumbre): a) ATPR11; b) BTPR7; c) STPR6; d) STPR4; e) ATPR14; f) Control.

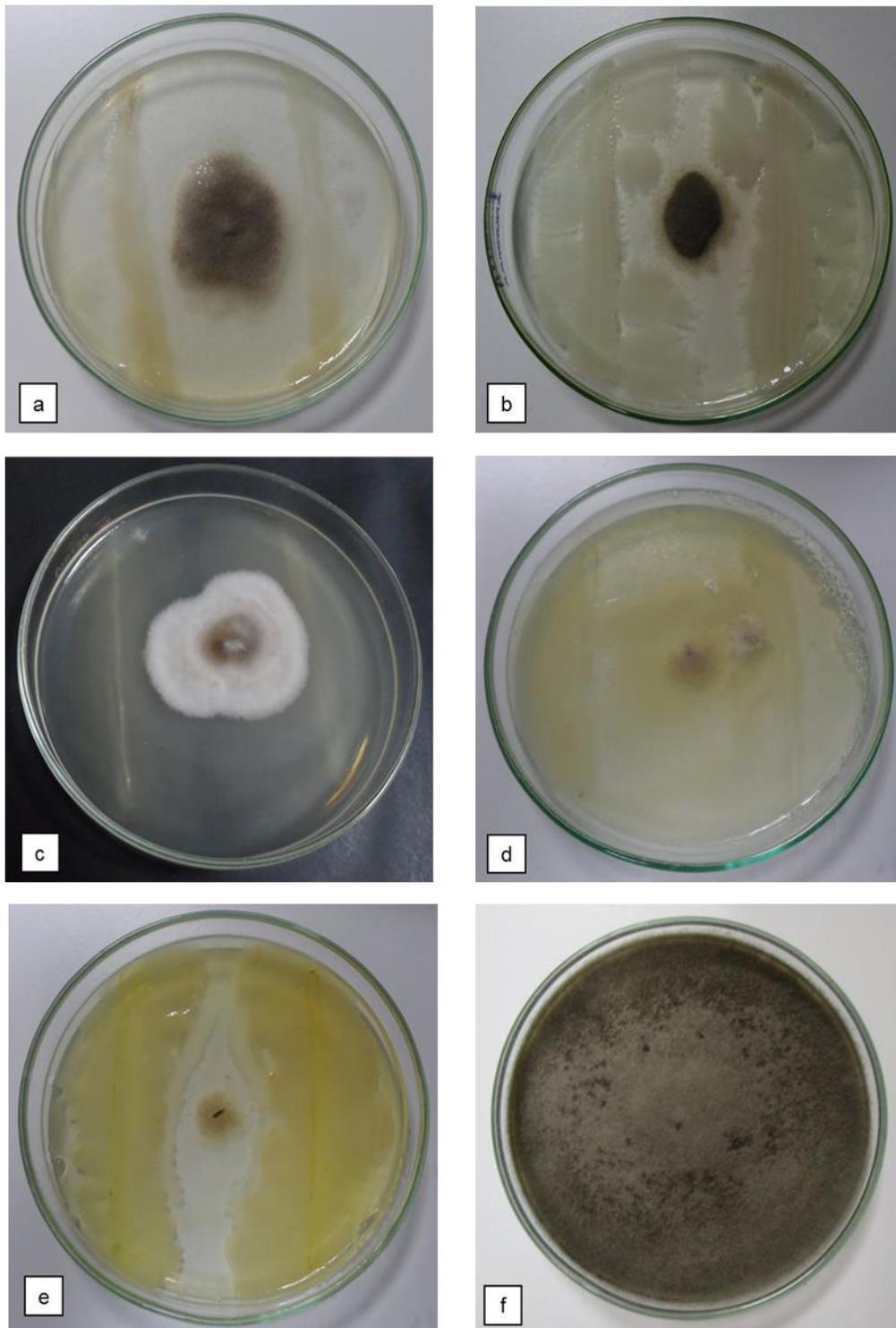


Figura 4-15: Prueba de antagonismo de bacterias de raíces sanas de tomate frente al hongo de *Alternaria alternata* (3H – Vijos): a) ATPR11; b) BTPR7; c) STPR1; d) STPR18; e) STPR4; f) Control.

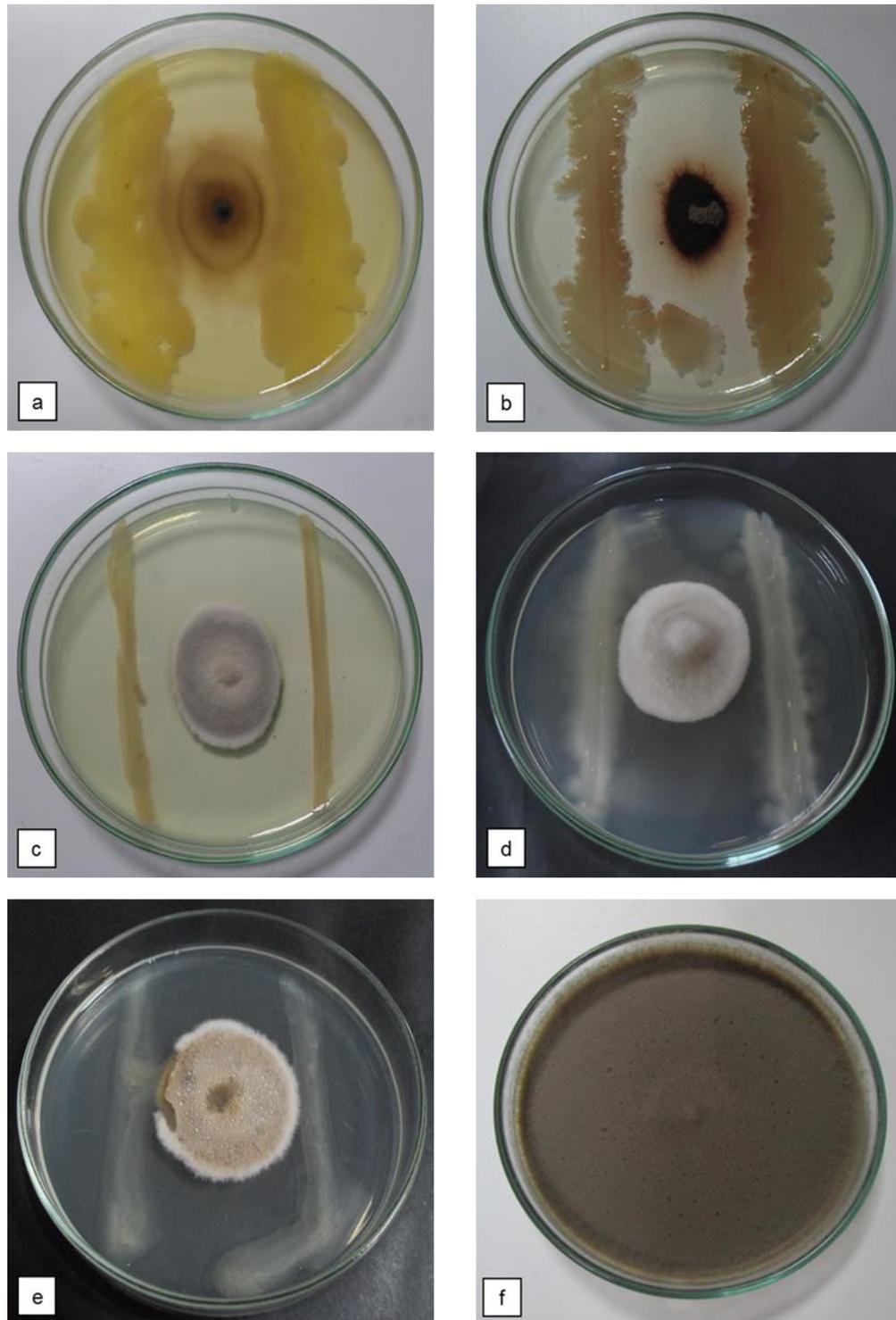


Figura 4-16: Prueba de antagonismo de bacterias de raíces sanas de tomate frente al hongo de *Alternaria alternata* (4H – Palmira): a) STPR4; b) BTPR7; c) STPR5; d) ATPR14; e) STPR15; f) Control.

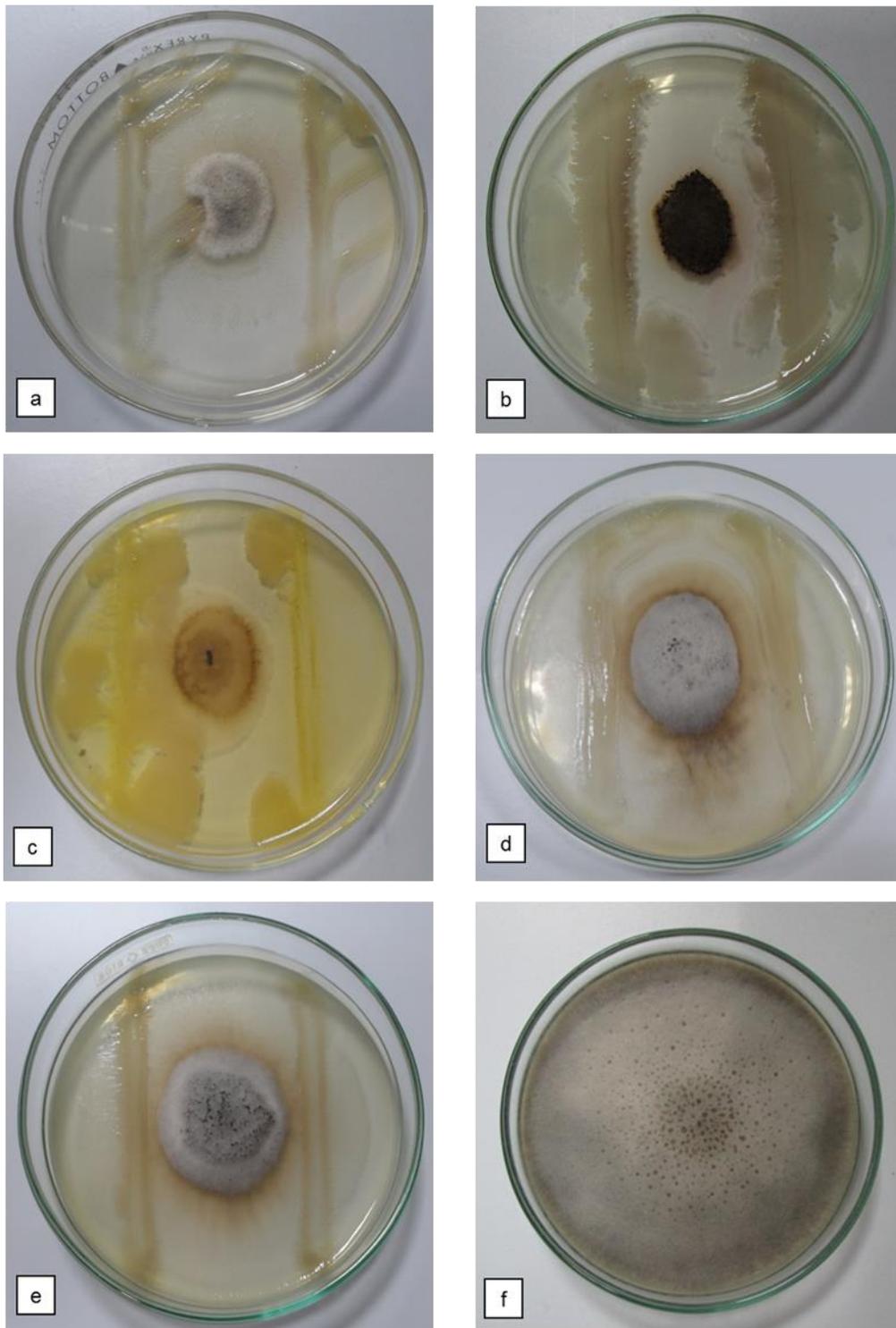


Figura 4-17: Prueba de antagonismo de bacterias de raíces sanas de tomate frente al hongo de *Alternaria alternata* (5H – Restrepo): a) ATPR11; b) BTPR7; c) STPR4; d) STPR18; e) STPR22; f) Control.

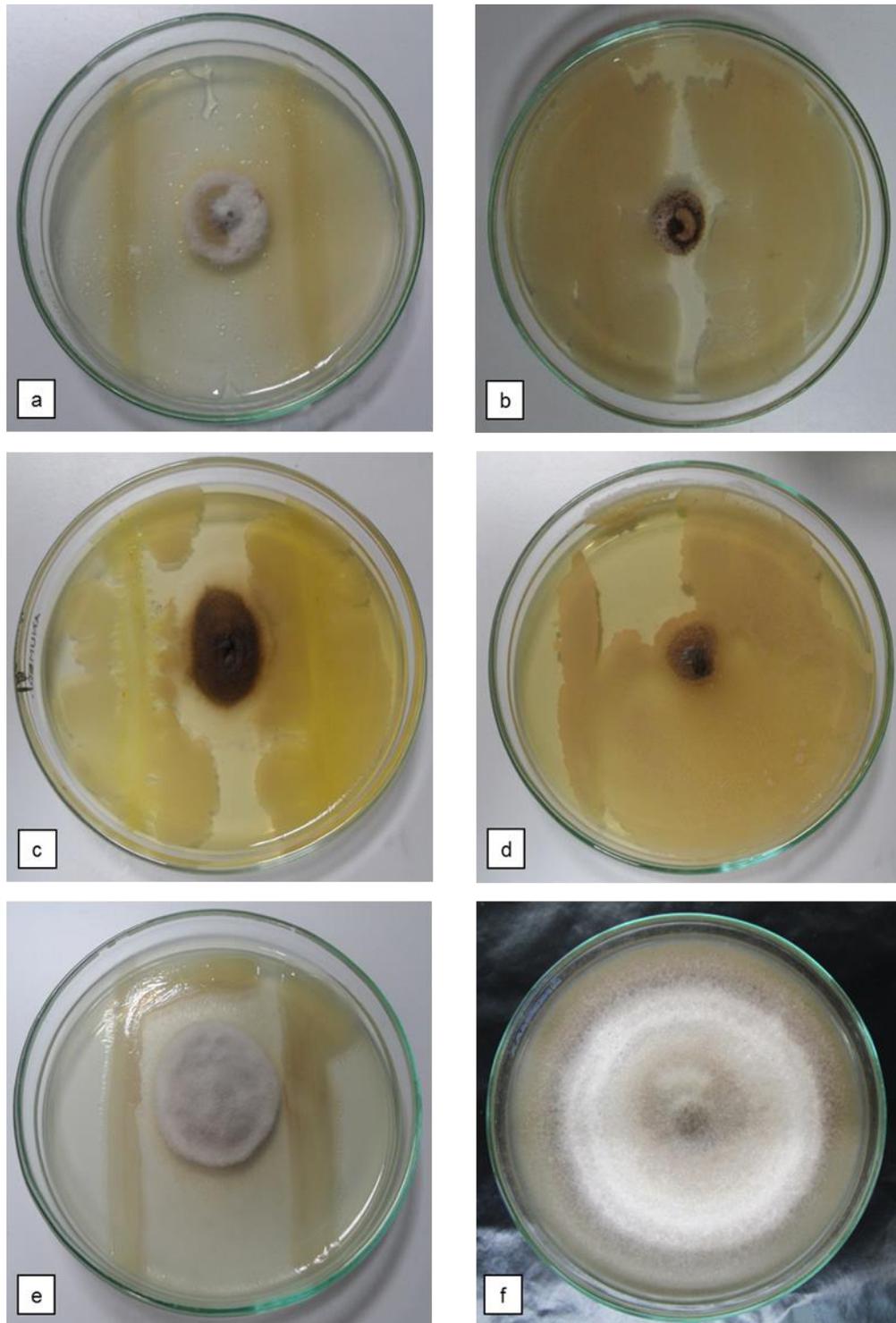


Figura 4-18: Prueba de antagonismo de bacterias de raíces sanas de tomate frente al hongo de *Alternaria alternata* (6H – Candelaria): a) STPR1; b) BTPR7; c) STPR4; d) STPR10; e) STPR18; f) Control.

4.2.3 Caracterización morfológica y Bioquímica

Los resultados obtenidos de las bacterias con mejor antagonismo frente al hongo *Alternaria* sp. tanto del suelo y la raíz de plántulas de tomate de mesa correspondieron en un 97% a la forma bacilar y un 3% a la forma de coco.

Seguidamente, en la figura 4-19 se ilustra algunas formas de crecimiento de las bacterias antagonicas en agar nutriente (AN). Donde se puede observar el predominio de colonias que varían de irregulares (a) a circulares (b), con bordes ondulados (c) y enteros (d), de apariencia opaca a brillante y blanquecinas.

Figura 4-19: Características macroscópicas de algunos aislamientos bacterianos con mejor antagonismo al hongo *Alternaria* sp.



En la figura 4-20 se ilustra las características morfológicas de las bacterias antagónicas a *Alternaria* sp. (Anexo E) y en tabla 4-5 se refieren a su especie aproximada siguiendo la descripción de las colonias por el Manual de Bergey 2009.

Tabla 4-5. Resultados de la Caracterización morfológica de las bacterias antagónicas

Identificación	Especie	Descripción
Foto		
c - GTBS2		
e - GTBS4		Colonias arrugadas e
n - STBS9	<i>Bacillus pumilus</i>	irregulares, con márgenes
x - CTBS17		ondulados
y - CTBS18		
f - GTBS10		Colonias brillantes,
o - STBS3	<i>Bacillus megaterium</i>	redondas a irregulares, con bordes enteros a irregulares.
g - STBS22		
h - STBS21		
i - STBS19		
j - STBS18		
k - STBS17		
l - STBS15		
ñ - STBS7		colonias lisas, brillantes, redondas a irregulares, con bordes enteros a ondulados
p - STBS1	<i>Bacillus sphaericus</i>	
q - BTBS2		
s - STPR4		
R - BTPR7		
v - CTBS7		
ab - CTBS24		
af - CTBS30		
ai - CTBS10		

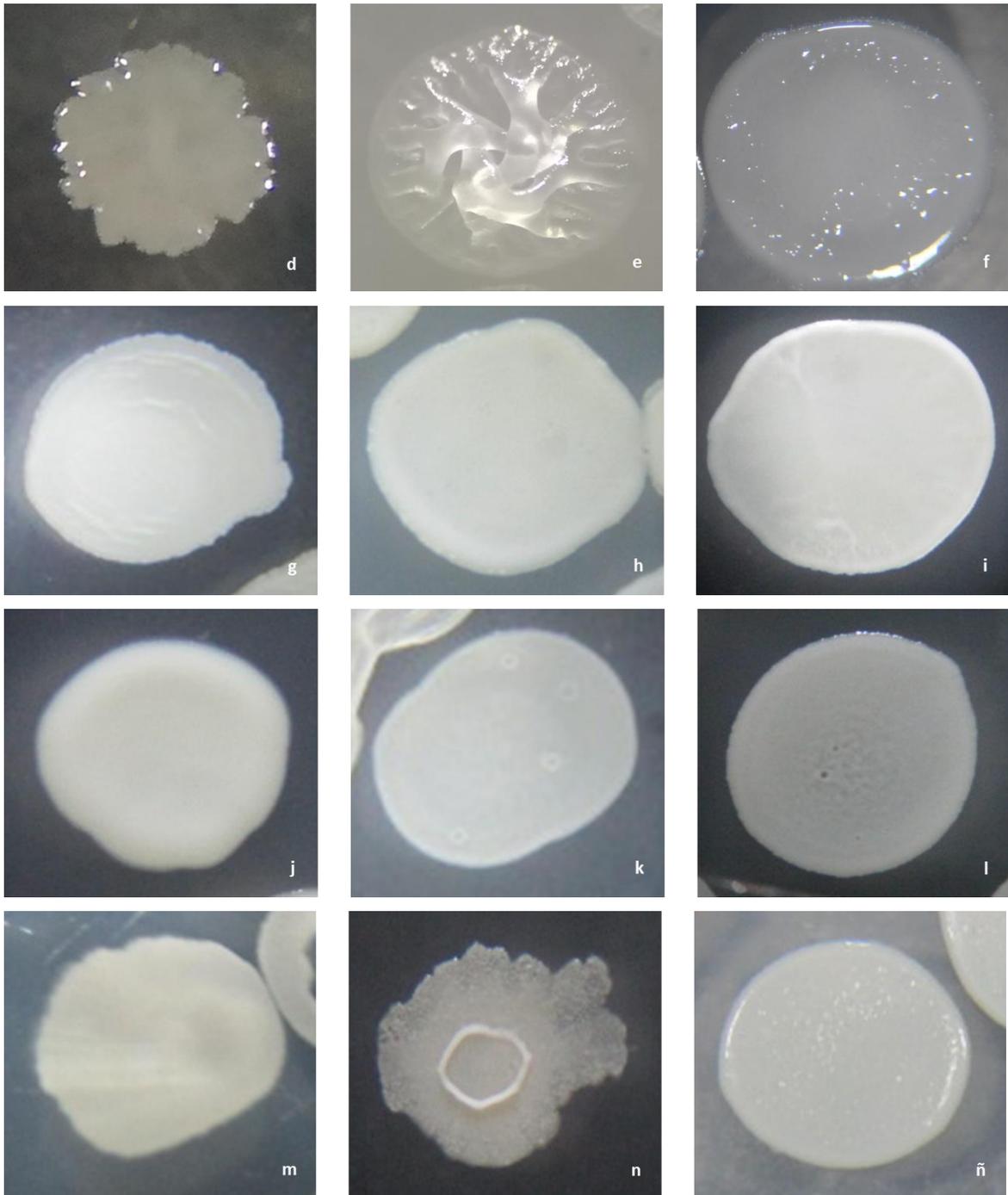
Tabla 4-5 (Continuación)

Identificación Foto	Especie	Descripción
a – CTBF1 b – CTBF2 t – CTBS5 w – CTBS12 ad – CTBS26 ae – CTBS29 aj – GTBF1 ak – GTBF2	<i>Bacillus subtilis</i>	Colonias irregulares que pueden dar la apariencia de un cultivo mixto. Se extienden en consistencia de húmedo a través de una mucosa membranosa, con una matriz mucoide subyacente (Con o sin malla mucosa en la superficie), y se vuelven ásperos y aspecto crujiente a medida que se secan. Márgenes varían de ondulan a fimbriado.
u – CTBS6 ac – CTBS25	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Colonias circulares a irregulares con bordes enteros o ondulados y texturas superficiales mate a granular

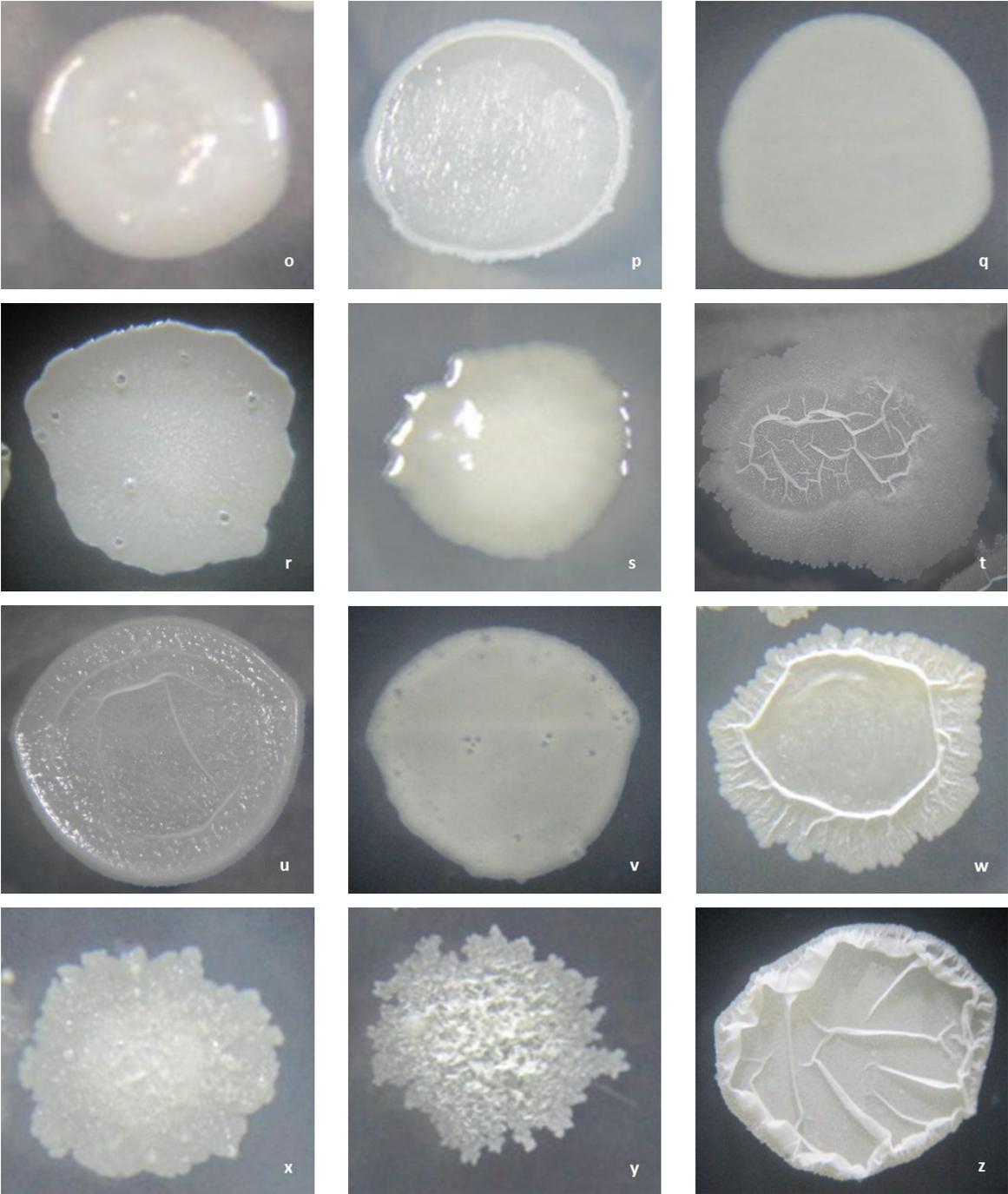
Figura 4-20: Características morfológicas de las colonias bacterianas que alcanzaron mayor antagonismo frente al hongo *Alternaria alternata*.



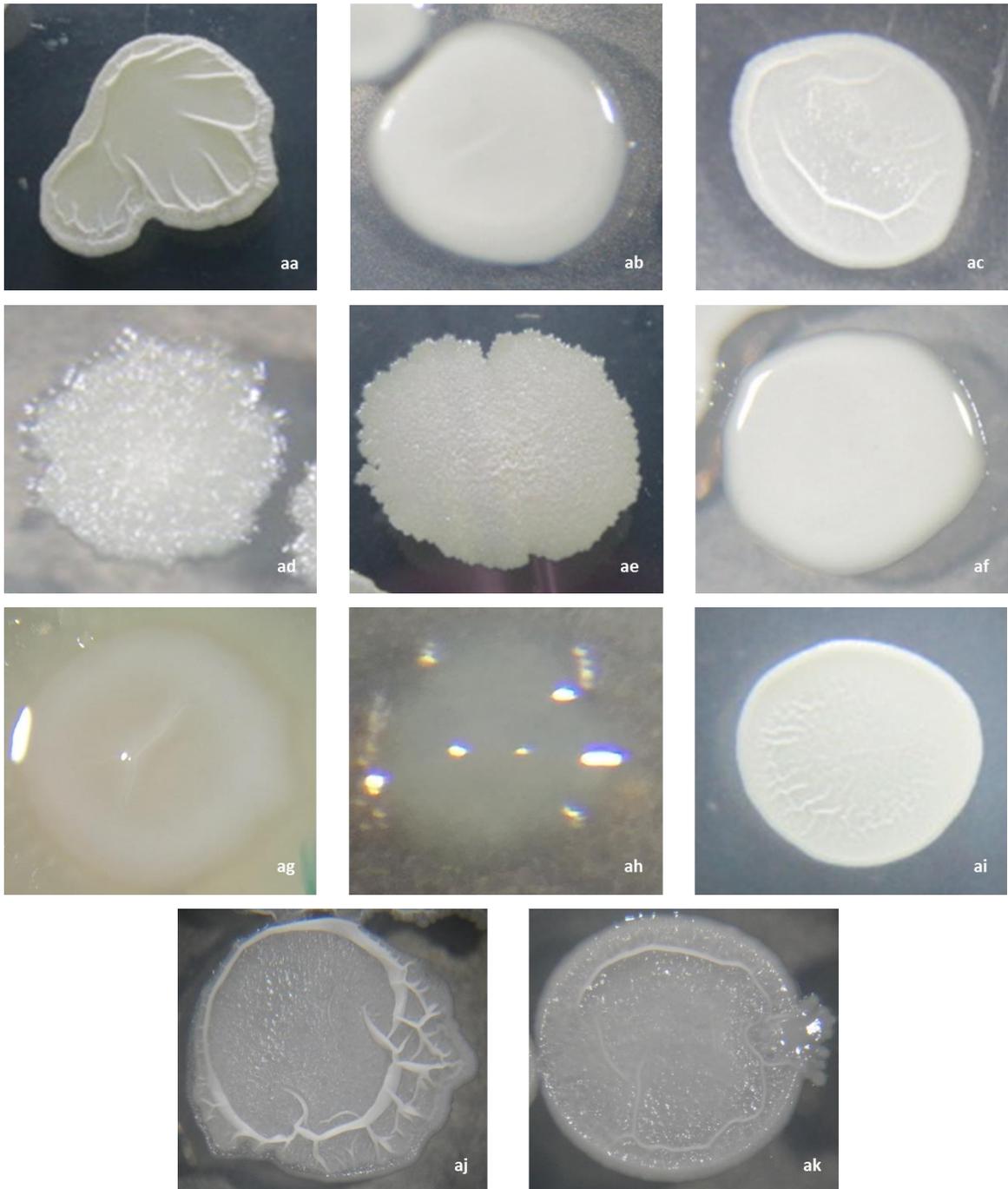
Continuación (Figura 4-20)



Continuación (Figura 4-20)



Continuación (Figura 4-20)



Con las pruebas bioquímicas realizadas a las bacterias con mejor antagonismo a *Alternaria alternata* se llegó a la conclusión que pertenecían al género *Bacillus* en su gran mayoría (Ver Anexo F); puesto que como lo reporta Tejera *et al.*, (2011):

En una etapa temprana de la clasificación de las especies del género *Bacillus* se tienen en cuenta varias características fundamentales que se evidenciaron en los aislamientos obtenidos: el crecimiento aerobio, la respuesta positiva a la tinción de Gram, la forma bacilar y la formación de endospora” (p 132).

Sin embargo al comparar los resultados obtenidos de la caracterización morfológica, bioquímica y molecular estas solo coincidieron en el género *Bacillus*, debido probablemente “a que las primeras caracterizaciones no son unas herramientas lo suficientemente específicas para este fin; mientras que las técnicas moleculares permiten la caracterización de los microorganismos para lograr su determinación a nivel interespecífico o intraespecífico” (Moreno y Galvis, 2013, p 36).

4.2.4 Caracterización Molecular

Se secuenciaron 37 bacterias con mejor antagonismo a *Alternaria alternata*, obtenidas tanto de suelo rizosférico como de raíces sanas de plantas de tomate de mesa (*Solanum lycopersicum* L.). Las secuencias se sometieron al programa BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) obtenida a través del NCBI (Nacional center for biotechnology Information, 2017).

Los resultados se muestran en la tabla 4-6 y figura 4-21, de los cuales 33 aislamientos correspondieron a *Bacillus amyloliquefaciens*, un aislamiento a *Bacillus subtilis*, *Bacillus methylotrophicus*, *Stenotrophomonas maltophilia* y *Achromobacter mucicolens*.

Cabe resaltar que el género con mayor proliferación en suelo rizosférico y raíces sanas de tomate de mesa fue *Bacillus* y su especie más representativa *B. amyloliquefaciens*.

Según lo anterior mencionado y como lo concluye Tejera *et al.*, (2011) las especies de *Bacillus* encontradas en ambos trabajos presentan:

Ventajas para su utilización en la Biotecnología Agrícola como son la presencia de endosporas, la motilidad que le facilita la colonización de la planta, la capacidad de producir sustancias promotoras del crecimiento vegetal, sideróforos, solubilización de fosfatos y de sustancias responsables de su actividad antagonista e inhibidora,

todo lo cual abre las perspectivas de su utilización en la agricultura sostenible con la consecuente preservación del medio ambiente (p 136).



Figura 4-21: Árbol filogenético de las secuencias de bacterias de suelo rizosférico y raíces de tomate de mesa obtenidas mediante la amplificación de la región de ADNr 16S mediante el cebador universal D1, usando el coeficiente de similitud del vecino más cercano (Neighbor joining bootstrap de 1000 réplicas). Raíz: *Bacillus amyloliquefaciens*

(ACX55038), *Bacillus subtilis* (EF423591), *Bacillus methylotrophicus* (LN999829), *Achromobacter mucicolens* (KP056322), *Stenotrophomonas maltophilia* (LC106036).

Tabla 4-6. Resultados de la caracterización molecular de los aislamientos de suelo rizosférico y raíces sanas de tomate de mesa.

Código	Especie	Accesión GENBANK	Porcentaje Similitud (PTC)
CTBF1	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	ACX55016.1	99%
CTBF2	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	ACX55016.1	99%
GTBS2	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	ACX55038.1	99%
GTBS3	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	ACX55016.1	99%
GTBS4	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	ACX55038.1	100%
GTBS10	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	ACX55038.1	100%
STBS22	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	ACX55038.1	97%
STBS21	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	ACX55038.1	100%
STBS19	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	ACX55038.1	100%
STBS18	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	ACX55038.1	99%
STBS17	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	ACX55038.1	100%
STBS15	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	ACX55038.1	100%
STBS14	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	ACX55038.1	100%
STBS9	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	ACX55038.1	100%
STBS7	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	ACX55038.1	100%
STBS3	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	ACX55038.1	100%
STBS1	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	ACX55038.1	99%
BTBS2	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	ACX55038.1	100%
CTBS5	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	ACX55038.1	100%
CTBS7	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	ACX55038.1	96%
CTBS12	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	ACX55038.1	100%
CTBS17	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	ACX55038.1	100%
CTBS18	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	ACX55038.1	100%
CTBS19	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	ACX55038.1	100%
CTBS22	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	ACX55038.1	99%
CTBS24	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	ACX55038.1	99%
CTBS25	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	ACX55038.1	100%
CTBS26	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	ACX55038.1	99%
CTBS29	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	ACX55038.1	99%
CTBS30	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	ACX55038.1	99%
CTBS6	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	LC106036.1	84%

Continuación (Tabla 4-6)

Código	Especie	Accesión GENBANK	Porcentaje Similitud (PTC)
CTBS10	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	ACX55038.1	100%
GTBF1	<i>Bacillus subtilis</i>	EF423591.1	99%
GTBF2	<i>Bacillus methylotrophicus</i>	LN999829.1	99%
ATPR11	<i>Achromobacter mucicolens</i>	KP056322.1	98%
BTPR7	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	ACX55038.1	99%
STPR4	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	ACX55038.1	100%

Los resultados obtenidos con las bacterias con mayor porcentaje de inhibición sobre *Alternaria alternata* se encuentran especies de *Bacillus*, estas son bien conocidas por su capacidad para controlar las enfermedades de las plantas a través de diversos mecanismos, incluyendo la producción de metabolitos secundarios. *Bacillus* spp., especialmente *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus* y *Bacillus amyloliquefaciens*, son eficaces para el control de enfermedades de las plantas causadas por patógenos fúngicos en el suelo, foliares y poscosecha.

Tejera *et al.*, (2011, p 136) reportan que “especies *Bacillus subtilis*, *B. amyloliquefaciens* y *B. licheniformis*, se utilizan industrialmente en la producción de enzimas, antibióticos, disolventes y otras moléculas que podrían ser empleadas en la agricultura”.

Bacillus subtilis es la especie más estudiada y ha sido reportado como promotor del crecimiento y antagonista a una variedad de patógenos, tales como *Phytophthora cactorum*, *Sclerotium cepivorum*, *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, *Alternaria carthami*, *Phytophthora capsici* y *Fusarium solani*, entre otros. Es un habitante prevalente de suelo y es ampliamente reconocido como un poderoso agente de control biológico. Además, tiene una amplia gama de huéspedes y producir diferentes compuestos biológicamente activos con un amplio espectro de actividad (Parvatha, 2014)

Asimismo, como lo reporta Layton *et al.*, (2011), especies del género *Bacillus*:

Poseen un alto poder de adaptación a diversos ambientes mediante la formación de endosporas; estructuras de resistencia frente a la falta de nutrientes y situaciones adversas, las esporas poseen la capacidad de diseminarse en el aire, por tanto pueden migrar grandes distancias y ser ubicuas en el medio ambiente hasta encontrar las condiciones óptimas para su crecimiento. En general la

actividad biocontroladora la ejerce mediante la producción de lipopéptidos cíclicos antibióticos (CLPS) entre los cuales se destacan el surfactin y el Iturin A (p 179).

“Entre los estudios sobre la actividad de *Bacillus* sobre hongos que afectan follaje se encuentran los de Fravel y Spurr (1977), quienes informaron que el uso de *Bacillus cereus* inhibió la germinación y desarrollo del tubo germinativo de *Alternaria alternata*” (Sosa-Pech *et al.*, 2012, p 280). Además, Sosa-Pech *et al.*, (2012) reporta cepas de la clase bacilli que indujeron porcentajes de inhibición entre 71% y 80% sobre *Alternaria* sp.

Adicionalmente, Jankiewicz *et al.*, (2012) reportan una cepa de *Stenotrophomonas maltophilia* con actividad quitinolítica que inhibieron el crecimiento de algunos fitopatógenos estudiados en grados variables, la mayor inhibición se observó para *Alternaria alternata*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium solani* y *F. oxysporum*. Las quitinasas de *S. maltophilia* no mostraron actividad antifúngica contra *Botrytis cinerea*. Esto concuerda con lo encontrado con la cepa CTBS6 identificada molecularmente como *Stenotrophomonas maltophilia* que mostró buena inhibición a los aislamientos de *A. alternata*.

4.2.5 Producción de Sideróforos

Después de incubar a 8°C durante 15 días se evaluaron y se obtuvieron 14 bacterias (37,8%) que produjeron sideróforos, las cuales se identificaron por la formación de un halo naranja alrededor de la bacteria sobre el fondo azul del medio. Y 23 (62,2%) bacterias que no originaron sideróforos, ni pigmento naranja alrededor de la colonia (Figura 4-22).

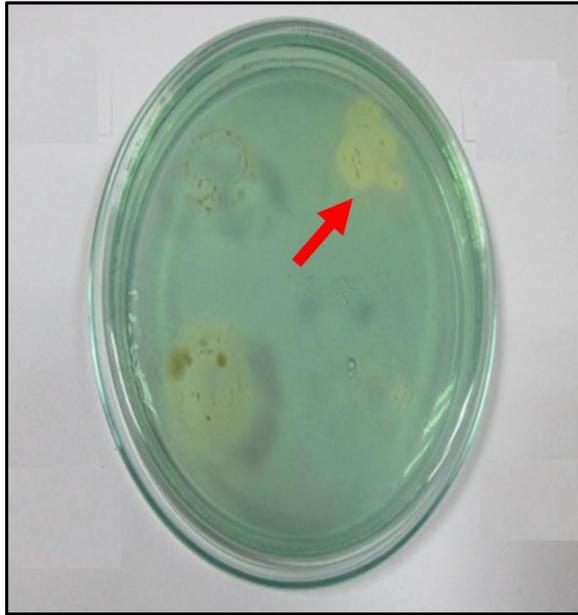


Figura 4-22: Bacterias productoras de Sideróforos. Se observa el halo naranja claro sobre el fondo azul del medio.

Síes aislamientos del municipio de Candelaria tuvieron la capacidad de producir sideróforos, los códigos son: CTBS7, CTBS10, CTBS18, CTBS19, CTBS29 y CTBS30; seguido del municipio de Vijos con los códigos: STBS3, STBS14, STBS18, STBS21 y STPR4; y por último el municipio de Palmira con los códigos GTBS3, GTBS4 Y GTBS10 (Figura 4-23).

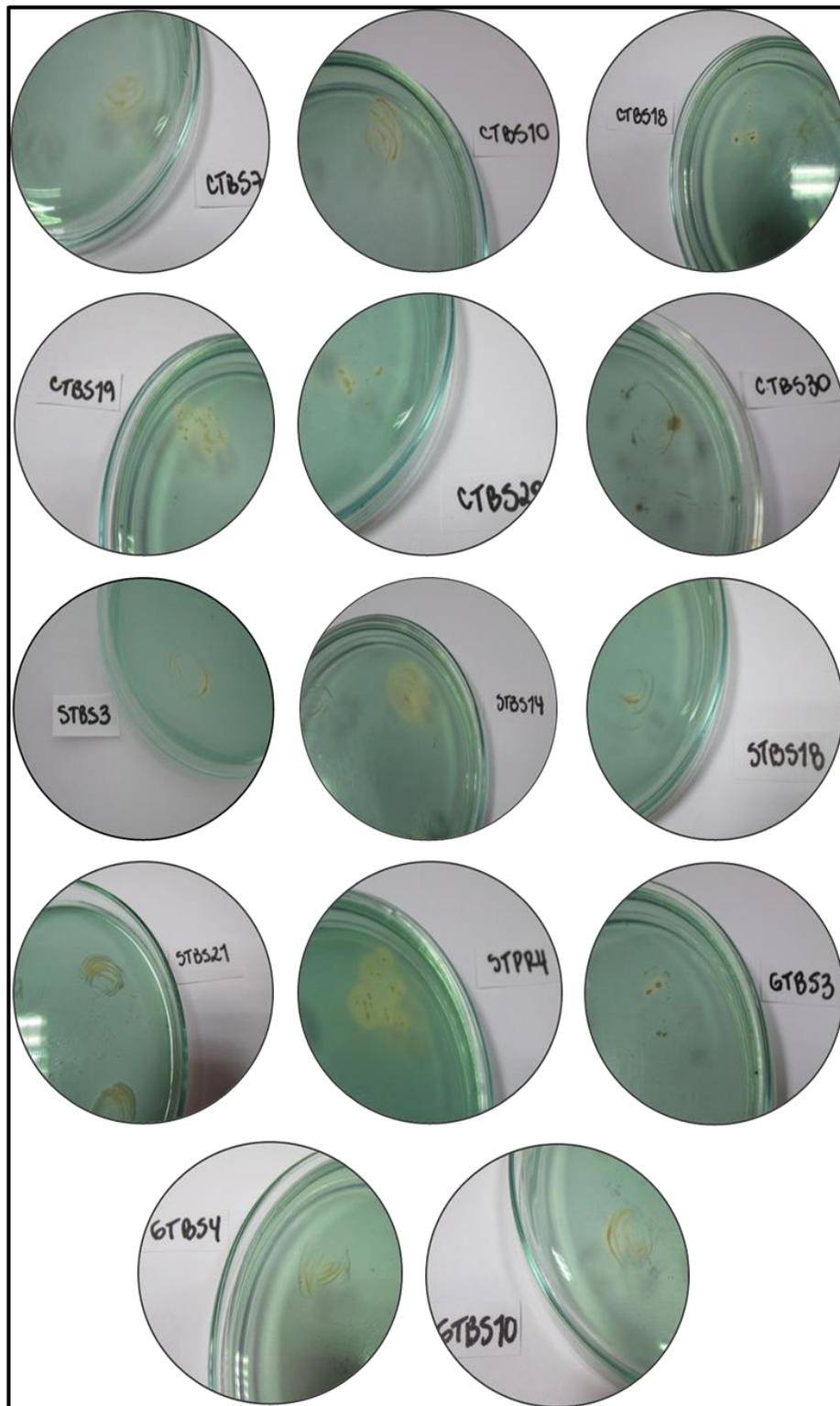


Figura 4-23: Bacterias antagónicas productoras de Sideróforos, Municipio de Candelaria, Vijes y Palmira.

En las muestras analizadas tanto de suelo rizosférico como de raíces de tomate, el 100% de las cepas bacterianas que produjeron sideróforos correspondieron a *Bacillus amyloliquefaciens*; esto coincide con lo reportado por Scagliola *et al.*, (2016), quienes indican que la mayoría de los aislamientos productores de sideróforos pertenecen a los géneros *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Bacillus* y *Rhodococcus*.

Tejera *et al.*, (2011) reporta que:

La producción de este tipo de metabolito está mejor caracterizada en el género *Pseudomonas* aunque también, se ha visto que las especies del género *Bacillus* produce sideróforos, tal es el caso de la especie *Bacillus megaterium* en la que se ha descrito el sideróforo esquizokinen. También se determinó la producción de los sideróforos bacilibactina, ácido itoico y ácido 2,3-dihidroxibenzoico por parte de la especie *B. subtilis* (p 135).

Adicionalmente Tejera *et al.*, (2011) añade que:

La presencia de este tipo de metabolito representaría una ventaja para estos microorganismos, ya que podrían adquirir el hierro proveniente del medio ambiente de una forma más fácil que el resto de los microorganismos. De esta forma, se podría aprovechar esta competencia para combatir las enfermedades en los cultivos de importancia económica producidas por microorganismos patógenos (p 135).

Cabe resaltar lo mencionado por Medina *et al.*, (2014) quienes indican que:

En condiciones de escasa disponibilidad de Fe^{+3} , las bacterias benéficas que producen sideróforos compiten ventajosamente con los microorganismos fitopatógenos por este elemento, reduciendo de este modo la disponibilidad de Fe^{+3} para los microorganismos patógenos y en consecuencia, la incidencia de enfermedades (p 274).

5. Conclusiones y recomendaciones

5.1 Conclusiones

- De los cinco municipios del Valle del Cauca muestreados (Candelaria, La Cumbre, Palmira, Restrepo y Vijes) se identificó morfológica y molecularmente la especie, *Alternaria alternata*; la cual presenta una alta variabilidad intra-especies, evidenciándose tres morfotipos con incidencias que oscilan entre el 81% y 100%, así como una severidad clasificada entre síntomas leves visibles a severos, siendo el aislamiento de Restrepo (5H) el que presentó mayor severidad.
- Con la técnica *in vitro* empleada para seleccionar bacterias antagónicas para *Alternaria alternata* se obtuvieron 37 bacterias de la rizosfera y raíces sanas de plantas de tomate de mesa; con porcentajes de inhibición entre un 80% y un 97,8% para aislamientos bacterianos de la rizosfera y un porcentaje de inhibición del 71,1% hasta un 90% para aislamientos bacterianos de raíces sanas.
- De los aislamientos bacterianos seleccionados con mayor capacidad antagonica contra *Alternaria alternata* a nivel *in vitro* se identificaron tres géneros asociadas a la rizosfera y raíces de plantas de tomate de mesa, *Bacillus*, *Stenotrophomonas* y *Achromobacter*. Cabe resaltar que el género *Pseudomonas* del grupo *fluorescens* no mostró antagonismo con los diferentes aislamientos de *A. alternata*.
- Por otra parte, cabe resaltar que en el municipio de Candelaria se obtuvo la mayor abundancia de rizobacterias biocontroladoras de *A. alternata* con predominio del género *Bacillus*, seguido de los municipios de Vijes, Palmira y Restrepo respectivamente.

- Se identificaron 14 aislamientos de los municipios de Candelaria, Palmira y Vijes (CTBS7, CTBS10, CTBS18, CTBS19, CTBS29, CTBS30, GTBS3, GTBS4, GTBS10, STBS3, STBS14, STBS18, STBS21 y STPR4) con capacidad de producir sideróforos, indicándonos su posible característica de ser bacterias promotoras de crecimiento vegetal, además de ser antagónicas a *A. alternata*, cabe anotar que todas ellas pertenecen al género *Bacillus*.

5.2 Recomendaciones

- Teniendo en cuenta que *Alternaria alternata* se encuentra dentro de un complejo llamado *sección alternata*, se requiere identificar a que especies de la sección pertenecen los cinco aislamientos obtenidos de los municipios productores de tomate de mesa en el Valle del Cauca.
- Se plantea realizar ensayos *in vivo* (invernaderos y campo) de las bacterias con mejor antagonismo contra a *A. alternata* en plántulas de tomate de mesa a diferentes edades fisiológicas y corroborar su capacidad de promotoras de crecimiento vegetal.
- Se debe tener en cuenta las condiciones edafoclimáticas del suelo para relacionar el número de *Bacillus* antagónicos a *A. alternata*.
- Identificar qué tipo de sideróforos están produciendo las 14 bacterias que salieron positivas en el ensayo, ya que esto les permite a los microorganismos colonizar diferentes ambientes.

A. Anexo: Protocolo de Extracción y purificación de ADN de hongos

1. Pesar 100 mg de micelio macerado de cada muestra y depositar en tubos eppendorf.
2. Agregar 500 μ L de Buffer de extracción (Tris-HCl 100 mM; EDTA 10 mM; SDS 10%).
3. Incubar a 65°C por una hora.
4. Adicionar 500 μ L de Fenol/Cloroformo/Alcohol isoamilico (25:24:1) mezclar por inversión por 5 min.
5. Centrifugar a 13.000 r.p.m. por 12 min, rescatar el sobrenadante y transferir a un tubo eppendorf limpio.
6. Agregar 500 μ L de Cloroformo/Alcohol isoamilico (24:1) Mezclar por inversión durante 5 min. Centrifugar a 13.000 r.p.m. por 12 min y rescatar la fase superior y transferirla a tubo eppendorf limpio.
7. Agregar 50 μ L de acetato de sodio al 3M pH 5,2.
8. Agregar 800 μ L de etanol absoluto frio y dejar a -20°C por 90 min o toda la noche.
9. Centrifugar a 13.000 r.p.m. por 15 min; eliminar el sobrenadante y el pellet contenido en la fase inferior del tubo se deja secar a temperatura ambiente por 2 horas. No dejar nada de etanol.
10. Resuspender el pellet en 50 μ L de TE 1X o agua HPLC.
11. Agregar RNasas si es necesario.

B. Anexo: Protocolo de extracción y purificación de ADN de bacterias

1. Se cultivó la bacteria en medio líquido LB durante 24-48 h. Se centrifugó 4,5 ml del cultivo bacteriano a 13000 r.p.m. por 5 min en frío para la obtención de la masa bacteriana.
2. Se descartó el sobrenadante y se suspendió la masa bacteriana en 500 μ L de Buffer de lisis (Tris 50 mM, pH 8; EDTA 1 mM, pH 8; 25% de sacarosa), 50 μ L de lisozima (10 mg/ ml), 250 μ L de S.D.S. al 20% y 5 μ L de Proteinasa K. Se incubó a 65°C por 40 min. Se mezcló muy bien el pellet bacteriano.
3. Se adicionaron 500 μ L de NaCl 5 M para la desnaturalización de las proteínas. Y se dejó en reposo durante 10 min.
4. Se centrifugó la muestra a 13000 r.p.m. por 5 min en frío. Se pasó la fase líquida a un tubo eppendorf limpio.
5. Se agregaron 800 μ L de cloroformo – Alcohol isoamílico (24:1) y se mezcló invirtiendo las muestras durante cinco min.
6. Se centrifugó la muestra a 13000 r.p.m. por 10 min en frío
7. Una vez obtenidas las tres fases, se rescató la fase acuosa de la superficie y se transfirió a un tubo eppendorf limpio.
8. Se agregaron 500 μ L de cloroformo – Alcohol isoamílico (24:1)
9. Se centrifugó la muestra a 13000 r.p.m. por 10 min en frío
10. Se pasó la fase acuosa a un tubo eppendorf limpio y se agregaron 600 μ L de isopropanol frío más 50 μ L de acetato de sodio para después mezclar durante 5 min por inversión.
11. Centrifugar la muestra a 13000 r.p.m. por 10 min en frío
12. Se lavó el ADN con 300 μ L de etanol al 70% y se centrifugó a 13000 r.p.m. por 5 min
13. Se secó el ADN en baño de agua a 35°C o durante durante 24 h en una cámara de flujo laminar.

14. Finalmente se suspendió la muestra en 50 μ L de TE o Agua ultrapura esteril con 3 μ L RNasa y se conservó a -20°C .

C. Anexo: Composición del Medio CAS

Medio Solido CAS			
Componente		Cantidad	
Pipes		7,56 g	
CaCl ₂ 0,1M		250 µl	
MgCl ₂ 1M		250 µl	
Solución Salina (KH ₂ PO ₄ 0.3 g, NaCl 0.5 g, NH ₄ Cl 1 g, Agua destilada c.s.p. 100 mL)		25 ml	
Extracto de Levadura desferrada 5%		5 ml	
Agar		3,75 g	
Agua destilada		187 ml	
Llevar a pH = 6,8 con NaOH 50%			
Finalmente autoclavar			
A parte preparar dos soluciones:			
Solución 1		Solución 2	
Componente	Cantidad	Componente	Cantidad
CAS	15,12 mg	HDTMA	18,22 mg
Agua	12,5 ml	Agua destilada estéril	10 ml
Fe (13,5 mg/50 ml)	2,5 ml		

La solución 2 se prepara en recipiente esteril y se calienta durante 4 segundos a 50% de potencia en microondas. Una vez pronta se mezcla con la solución 1. Finalmente se autoclava la mezcla y se agrega al medio conteniendo agar.

D. Anexo: Promedio del % de inhibición de los aislamientos bacterianos de la rizosfera frente a los aislamientos de *Alternaria alternata* evaluados

No.	Municipio	Finca	Código Bacteria	Patógeno	% Inhibición
1	Palmira	Guanabanazo	GTBS1	1HV	77,8
	Palmira	Guanabanazo	GTBS1	3HV	81,1
	Palmira	Guanabanazo	GTBS1	4HV	74,4
	Palmira	Guanabanazo	GTBS1	5HV	77,8
	Palmira	Guanabanazo	GTBS1	6HV	78,9
2	Palmira	Guanabanazo	GTBS2	1HV	80,0
	Palmira	Guanabanazo	GTBS2	3HV	97,8
	Palmira	Guanabanazo	GTBS2	4HV	83,3
	Palmira	Guanabanazo	GTBS2	5HV	84,4
	Palmira	Guanabanazo	GTBS2	6HV	87,8
3	Palmira	Guanabanazo	GTBS3	1HV	92,2
	Palmira	Guanabanazo	GTBS3	3HV	83,3
	Palmira	Guanabanazo	GTBS3	4HV	83,3
	Palmira	Guanabanazo	GTBS3	5HV	81,1
	Palmira	Guanabanazo	GTBS3	6HV	83,3
4	Palmira	Guanabanazo	GTBS4	1HV	90,0
	Palmira	Guanabanazo	GTBS4	3HV	83,3
	Palmira	Guanabanazo	GTBS4	4HV	85,6
	Palmira	Guanabanazo	GTBS4	5HV	83,3
	Palmira	Guanabanazo	GTBS4	6HV	85,6
5	Palmira	Guanabanazo	GTBS5	1HV	54,4
	Palmira	Guanabanazo	GTBS5	3HV	64,4
	Palmira	Guanabanazo	GTBS5	4HV	45,6
	Palmira	Guanabanazo	GTBS5	5HV	52,2
	Palmira	Guanabanazo	GTBS5	6HV	46,7
6	Palmira	Guanabanazo	GTBS6	1HV	0,0
	Palmira	Guanabanazo	GTBS6	3HV	0,0
	Palmira	Guanabanazo	GTBS6	4HV	0,0
	Palmira	Guanabanazo	GTBS6	5HV	0,0
	Palmira	Guanabanazo	GTBS6	6HV	0,0
	Palmira	Guanabanazo	GTBS12	6HV	0,0

Anexo D: (Continuación)

No.	Municipio	Finca	Código Bacteria	Patógeno	% Inhibición
7	Palmira	Guanabanazo	GTBS7	1HV	12,2
	Palmira	Guanabanazo	GTBS7	3HV	0,0
	Palmira	Guanabanazo	GTBS7	4HV	0,0
	Palmira	Guanabanazo	GTBS7	5HV	0,0
	Palmira	Guanabanazo	GTBS7	6HV	0,0
8	Palmira	Guanabanazo	GTBS8	1HV	11,1
	Palmira	Guanabanazo	GTBS8	3HV	0,0
	Palmira	Guanabanazo	GTBS8	4HV	0,0
	Palmira	Guanabanazo	GTBS8	5HV	22,2
	Palmira	Guanabanazo	GTBS8	6HV	0,0
9	Palmira	Guanabanazo	GTBS9	1HV	11,1
	Palmira	Guanabanazo	GTBS9	3HV	0,0
	Palmira	Guanabanazo	GTBS9	4HV	0,0
	Palmira	Guanabanazo	GTBS9	5HV	0,0
	Palmira	Guanabanazo	GTBS9	6HV	0,0
10	Palmira	Guanabanazo	GTBS10	1HV	90,0
	Palmira	Guanabanazo	GTBS10	3HV	83,3
	Palmira	Guanabanazo	GTBS10	4HV	65,6
	Palmira	Guanabanazo	GTBS10	5HV	82,2
	Palmira	Guanabanazo	GTBS10	6HV	74,4
11	Palmira	Guanabanazo	GTBS11	1HV	23,3
	Palmira	Guanabanazo	GTBS11	3HV	0,0
	Palmira	Guanabanazo	GTBS11	4HV	0,0
	Palmira	Guanabanazo	GTBS11	5HV	0,0
	Palmira	Guanabanazo	GTBS11	6HV	0,0
12	Palmira	Guanabanazo	GTBS12	1HV	0,0
	Palmira	Guanabanazo	GTBS12	3HV	10,0
	Palmira	Guanabanazo	GTBS12	4HV	0,0
	Palmira	Guanabanazo	GTBS12	5HV	0,0
	Palmira	Guanabanazo	GTBS12	6HV	0,0
13	Palmira	Guanabanazo	GTBS13	1HV	8,9
	Palmira	Guanabanazo	GTBS13	3HV	0,0
	Palmira	Guanabanazo	GTBS13	4HV	0,0
	Palmira	Guanabanazo	GTBS13	5HV	0,0
	Palmira	Guanabanazo	GTBS13	6HV	0,0
	Palmira	Guanabanazo	GTBF1	6HV	71,1

Anexo D: (Continuación)

No.	Municipio	Finca	Código Bacteria	Patógeno	% Inhibición
14	Palmira	Guanabanazo	GTBF1	1HV	90,0
	Palmira	Guanabanazo	GTBF1	3HV	88,9
	Palmira	Guanabanazo	GTBF1	4HV	67,8
	Palmira	Guanabanazo	GTBF1	5HV	71,1
	Palmira	Guanabanazo	GTBF1	6HV	71,1
15	Palmira	Guanabanazo	GTBF2	1HV	97,8
	Palmira	Guanabanazo	GTBF2	3HV	90,0
	Palmira	Guanabanazo	GTBF2	4HV	71,1
	Palmira	Guanabanazo	GTBF2	5HV	75,6
	Palmira	Guanabanazo	GTBF2	6HV	78,9
16	Palmira	Guanabanazo	GTBR1	1HV	55,6
	Palmira	Guanabanazo	GTBR1	3HV	43,3
	Palmira	Guanabanazo	GTBR1	4HV	0,0
	Palmira	Guanabanazo	GTBR1	5HV	46,7
	Palmira	Guanabanazo	GTBR1	6HV	33,3
17	Palmira	Guanabanazo	GTBR2	1HV	0,0
	Palmira	Guanabanazo	GTBR2	3HV	17,8
	Palmira	Guanabanazo	GTBR2	4HV	0,0
	Palmira	Guanabanazo	GTBR2	5HV	23,3
	Palmira	Guanabanazo	GTBR2	6HV	0,0
18	Palmira	Papayalito	PTBS1	1HV	50,0
	Palmira	Papayalito	PTBS1	3HV	23,3
	Palmira	Papayalito	PTBS1	4HV	16,7
	Palmira	Papayalito	PTBS1	5HV	0,0
	Palmira	Papayalito	PTBS1	6HV	30,0
19	Palmira	Papayalito	PTBS2	1HV	70,0
	Palmira	Papayalito	PTBS2	3HV	68,9
	Palmira	Papayalito	PTBS2	4HV	46,7
	Palmira	Papayalito	PTBS2	5HV	42,2
	Palmira	Papayalito	PTBS2	6HV	42,2
20	Palmira	Papayalito	PTBS3	1HV	56,7
	Palmira	Papayalito	PTBS3	3HV	43,3
	Palmira	Papayalito	PTBS3	4HV	0,0
	Palmira	Papayalito	PTBS3	5HV	0,0
	Palmira	Papayalito	PTBS3	6HV	20,0

Anexo D: (Continuación)

No.	Municipio	Finca	Código Bacteria	Patógeno	% Inhibición
21	Palmira	Papayalito	PTBS4	1HV	0,0
	Palmira	Papayalito	PTBS4	3HV	56,7
	Palmira	Papayalito	PTBS4	4HV	14,4
	Palmira	Papayalito	PTBS4	5HV	22,2
	Palmira	Papayalito	PTBS4	6HV	95,6
22	Palmira	Papayalito	PTBS5	1HV	0,0
	Palmira	Papayalito	PTBS5	3HV	0,0
	Palmira	Papayalito	PTBS5	4HV	0,0
	Palmira	Papayalito	PTBS5	5HV	0,0
	Palmira	Papayalito	PTBS5	6HV	0,0
23	Palmira	Papayalito	PTBS6	1HV	77,8
	Palmira	Papayalito	PTBS6	3HV	67,8
	Palmira	Papayalito	PTBS6	4HV	57,8
	Palmira	Papayalito	PTBS6	5HV	46,7
	Palmira	Papayalito	PTBS6	6HV	97,8
24	Palmira	Papayalito	PTBS7	1HV	0,0
	Palmira	Papayalito	PTBS7	3HV	0,0
	Palmira	Papayalito	PTBS7	4HV	0,0
	Palmira	Papayalito	PTBS7	5HV	0,0
	Palmira	Papayalito	PTBS7	6HV	0,0
25	Palmira	Papayalito	PTBS8	1HV	16,7
	Palmira	Papayalito	PTBS8	3HV	47,8
	Palmira	Papayalito	PTBS8	4HV	0,0
	Palmira	Papayalito	PTBS8	5HV	0,0
	Palmira	Papayalito	PTBS8	6HV	0,0
26	Palmira	Papayalito	PTBS9	1HV	82,2
	Palmira	Papayalito	PTBS9	3HV	66,7
	Palmira	Papayalito	PTBS9	4HV	61,1
	Palmira	Papayalito	PTBS9	5HV	51,1
	Palmira	Papayalito	PTBS9	6HV	74,4
27	Palmira	Papayalito	PTBS10	1HV	0,0
	Palmira	Papayalito	PTBS10	3HV	0,0
	Palmira	Papayalito	PTBS10	4HV	0,0
	Palmira	Papayalito	PTBS10	5HV	0,0
	Palmira	Papayalito	PTBS10	6HV	95,6

Anexo D: (Continuación)

No.	Municipio	Finca	Código Bacteria	Patógeno	% Inhibición
28	Palmira	Papayalito	PTBS11	1HV	0,0
	Palmira	Papayalito	PTBS11	3HV	0,0
	Palmira	Papayalito	PTBS11	4HV	0,0
	Palmira	Papayalito	PTBS11	5HV	0,0
	Palmira	Papayalito	PTBS11	6HV	95,6
29	Candelaria	CEUNP	CTBF1	1HV	97,8
	Candelaria	CEUNP	CTBF1	3HV	95,6
	Candelaria	CEUNP	CTBF1	4HV	88,9
	Candelaria	CEUNP	CTBF1	5HV	88,9
	Candelaria	CEUNP	CTBF1	6HV	87,8
30	Candelaria	CEUNP	CTBF2	1HV	97,8
	Candelaria	CEUNP	CTBF2	3HV	97,8
	Candelaria	CEUNP	CTBF2	4HV	85,6
	Candelaria	CEUNP	CTBF2	5HV	87,8
	Candelaria	CEUNP	CTBF2	6HV	82,2
31	Candelaria	CEUNP	CTBS1	1HV	26,7
	Candelaria	CEUNP	CTBS1	3HV	24,4
	Candelaria	CEUNP	CTBS1	4HV	52,2
	Candelaria	CEUNP	CTBS1	5HV	22,2
	Candelaria	CEUNP	CTBS1	6HV	0,0
32	Candelaria	CEUNP	CTBS2	1HV	23,3
	Candelaria	CEUNP	CTBS2	3HV	17,8
	Candelaria	CEUNP	CTBS2	4HV	45,6
	Candelaria	CEUNP	CTBS2	5HV	33,3
	Candelaria	CEUNP	CTBS2	6HV	56,7
33	Candelaria	CEUNP	CTBS3	1HV	58,9
	Candelaria	CEUNP	CTBS3	3HV	53,3
	Candelaria	CEUNP	CTBS3	4HV	53,3
	Candelaria	CEUNP	CTBS3	5HV	58,9
	Candelaria	CEUNP	CTBS3	6HV	36,7
34	Candelaria	CEUNP	CTBS4	1HV	60,0
	Candelaria	CEUNP	CTBS4	3HV	88,9
	Candelaria	CEUNP	CTBS4	4HV	78,9
	Candelaria	CEUNP	CTBS4	5HV	80,0
	Candelaria	CEUNP	CTBS4	6HV	0,0

Anexo D: (Continuación)

No.	Municipio	Finca	Código Bacteria	Patógeno	% Inhibición
35	Candelaria	CEUNP	CTBS5	1HV	78,9
	Candelaria	CEUNP	CTBS5	3HV	91,1
	Candelaria	CEUNP	CTBS5	4HV	86,7
	Candelaria	CEUNP	CTBS5	5HV	87,8
	Candelaria	CEUNP	CTBS5	6HV	84,4
36	Candelaria	CEUNP	CTBS6	1HV	90,0
	Candelaria	CEUNP	CTBS6	3HV	88,9
	Candelaria	CEUNP	CTBS6	4HV	84,4
	Candelaria	CEUNP	CTBS6	5HV	83,3
	Candelaria	CEUNP	CTBS6	6HV	86,7
37	Candelaria	CEUNP	CTBS7	1HV	76,7
	Candelaria	CEUNP	CTBS7	3HV	92,2
	Candelaria	CEUNP	CTBS7	4HV	82,2
	Candelaria	CEUNP	CTBS7	5HV	85,6
	Candelaria	CEUNP	CTBS7	6HV	85,6
38	Candelaria	CEUNP	CTBS8	1HV	82,2
	Candelaria	CEUNP	CTBS8	3HV	88,9
	Candelaria	CEUNP	CTBS8	4HV	65,6
	Candelaria	CEUNP	CTBS8	5HV	63,3
	Candelaria	CEUNP	CTBS8	6HV	60,0
39	Candelaria	CEUNP	CTBS9	1HV	85,6
	Candelaria	CEUNP	CTBS9	3HV	87,8
	Candelaria	CEUNP	CTBS9	4HV	58,9
	Candelaria	CEUNP	CTBS9	5HV	73,3
	Candelaria	CEUNP	CTBS9	6HV	50,0
40	Candelaria	CEUNP	CTBS10	1HV	90,0
	Candelaria	CEUNP	CTBS10	3HV	88,9
	Candelaria	CEUNP	CTBS10	4HV	70,0
	Candelaria	CEUNP	CTBS10	5HV	76,7
	Candelaria	CEUNP	CTBS10	6HV	63,3
41	Candelaria	CEUNP	CTBS11	1HV	51,1
	Candelaria	CEUNP	CTBS11	3HV	41,1
	Candelaria	CEUNP	CTBS11	4HV	63,3
	Candelaria	CEUNP	CTBS11	5HV	12,2
	Candelaria	CEUNP	CTBS11	6HV	61,1

Anexo D: (Continuación)

No.	Municipio	Finca	Código Bacteria	Patógeno	% Inhibición
42	Candelaria	CEUNP	CTBS12	1HV	93,3
	Candelaria	CEUNP	CTBS12	3HV	95,6
	Candelaria	CEUNP	CTBS12	4HV	88,9
	Candelaria	CEUNP	CTBS12	5HV	88,9
	Candelaria	CEUNP	CTBS12	6HV	85,6
43	Candelaria	CEUNP	CTBS13	1HV	77,8
	Candelaria	CEUNP	CTBS13	3HV	68,9
	Candelaria	CEUNP	CTBS13	4HV	82,2
	Candelaria	CEUNP	CTBS13	5HV	80,0
	Candelaria	CEUNP	CTBS13	6HV	74,4
44	Candelaria	CEUNP	CTBS14	1HV	27,8
	Candelaria	CEUNP	CTBS14	3HV	55,6
	Candelaria	CEUNP	CTBS14	4HV	61,1
	Candelaria	CEUNP	CTBS14	5HV	43,3
	Candelaria	CEUNP	CTBS14	6HV	22,2
45	Candelaria	CEUNP	CTBS15	1HV	18,9
	Candelaria	CEUNP	CTBS15	3HV	53,3
	Candelaria	CEUNP	CTBS15	4HV	0,0
	Candelaria	CEUNP	CTBS15	5HV	10,0
	Candelaria	CEUNP	CTBS15	6HV	0,0
46	Candelaria	CEUNP	CTBS16	1HV	34,4
	Candelaria	CEUNP	CTBS16	3HV	51,1
	Candelaria	CEUNP	CTBS16	4HV	0,0
	Candelaria	CEUNP	CTBS16	5HV	42,2
	Candelaria	CEUNP	CTBS16	6HV	20,0
47	Candelaria	CEUNP	CTBS17	1HV	83,3
	Candelaria	CEUNP	CTBS17	3HV	83,3
	Candelaria	CEUNP	CTBS17	4HV	81,1
	Candelaria	CEUNP	CTBS17	5HV	82,2
	Candelaria	CEUNP	CTBS17	6HV	76,7
48	Candelaria	CEUNP	CTBS18	1HV	93,3
	Candelaria	CEUNP	CTBS18	3HV	88,9
	Candelaria	CEUNP	CTBS18	4HV	85,6
	Candelaria	CEUNP	CTBS18	5HV	87,8
	Candelaria	CEUNP	CTBS18	6HV	85,6

Anexo D: (Continuación)

No.	Municipio	Finca	Código Bacteria	Patógeno	% Inhibición
49	Candelaria	CEUNP	CTBS19	1HV	87,8
	Candelaria	CEUNP	CTBS19	3HV	95,6
	Candelaria	CEUNP	CTBS19	4HV	91,1
	Candelaria	CEUNP	CTBS19	5HV	90,0
	Candelaria	CEUNP	CTBS19	6HV	97,8
50	Candelaria	CEUNP	CTBS20	1HV	20,0
	Candelaria	CEUNP	CTBS20	3HV	43,3
	Candelaria	CEUNP	CTBS20	4HV	0,0
	Candelaria	CEUNP	CTBS20	5HV	0,0
	Candelaria	CEUNP	CTBS20	6HV	0,0
51	Candelaria	CEUNP	CTBS21	1HV	25,6
	Candelaria	CEUNP	CTBS21	3HV	0,0
	Candelaria	CEUNP	CTBS21	4HV	15,6
	Candelaria	CEUNP	CTBS21	5HV	21,1
	Candelaria	CEUNP	CTBS21	6HV	27,8
52	Candelaria	CEUNP	CTBS22	1HV	90,0
	Candelaria	CEUNP	CTBS22	3HV	88,9
	Candelaria	CEUNP	CTBS22	4HV	88,9
	Candelaria	CEUNP	CTBS22	5HV	87,8
	Candelaria	CEUNP	CTBS22	6HV	87,8
53	Candelaria	CEUNP	CTBS23	1HV	16,7
	Candelaria	CEUNP	CTBS23	3HV	97,8
	Candelaria	CEUNP	CTBS23	4HV	16,7
	Candelaria	CEUNP	CTBS23	5HV	0,0
	Candelaria	CEUNP	CTBS23	6HV	0,0
54	Candelaria	CEUNP	CTBS24	1HV	84,4
	Candelaria	CEUNP	CTBS24	3HV	94,4
	Candelaria	CEUNP	CTBS24	4HV	97,8
	Candelaria	CEUNP	CTBS24	5HV	97,8
	Candelaria	CEUNP	CTBS24	6HV	80,0
55	Candelaria	CEUNP	CTBS25	1HV	85,6
	Candelaria	CEUNP	CTBS25	3HV	95,6
	Candelaria	CEUNP	CTBS25	4HV	91,1
	Candelaria	CEUNP	CTBS25	5HV	85,6
	Candelaria	CEUNP	CTBS25	6HV	81,1

Anexo D: (Continuación)

No.	Municipio	Finca	Código Bacteria	Patógeno	% Inhibición
56	Candelaria	CEUNP	CTBS26	1HV	80,0
	Candelaria	CEUNP	CTBS26	3HV	85,6
	Candelaria	CEUNP	CTBS26	4HV	81,1
	Candelaria	CEUNP	CTBS26	5HV	84,4
	Candelaria	CEUNP	CTBS26	6HV	76,7
57	Candelaria	CEUNP	CTBS27	1HV	23,3
	Candelaria	CEUNP	CTBS27	3HV	17,8
	Candelaria	CEUNP	CTBS27	4HV	0,0
	Candelaria	CEUNP	CTBS27	5HV	0,0
	Candelaria	CEUNP	CTBS27	6HV	0,0
58	Candelaria	CEUNP	CTBS28	1HV	13,3
	Candelaria	CEUNP	CTBS28	3HV	61,1
	Candelaria	CEUNP	CTBS28	4HV	0,0
	Candelaria	CEUNP	CTBS28	5HV	0,0
	Candelaria	CEUNP	CTBS28	6HV	0,0
59	Candelaria	CEUNP	CTBS29	1HV	87,8
	Candelaria	CEUNP	CTBS29	3HV	90,0
	Candelaria	CEUNP	CTBS29	4HV	86,7
	Candelaria	CEUNP	CTBS29	5HV	82,2
	Candelaria	CEUNP	CTBS29	6HV	85,6
60	Candelaria	CEUNP	CTBS30	1HV	85,6
	Candelaria	CEUNP	CTBS30	3HV	94,4
	Candelaria	CEUNP	CTBS30	4HV	87,8
	Candelaria	CEUNP	CTBS30	5HV	91,1
	Candelaria	CEUNP	CTBS30	6HV	83,3
61	Restrepo	Aguacate	ATBS1	1HV	51,1
	Restrepo	Aguacate	ATBS1	3HV	57,8
	Restrepo	Aguacate	ATBS1	4HV	63,3
	Restrepo	Aguacate	ATBS1	5HV	16,7
	Restrepo	Aguacate	ATBS1	6HV	0,0
62	Restrepo	Aguacate	ATBS2	1HV	48,9
	Restrepo	Aguacate	ATBS2	3HV	60,0
	Restrepo	Aguacate	ATBS2	4HV	54,4
	Restrepo	Aguacate	ATBS2	5HV	33,3
	Restrepo	Aguacate	ATBS2	6HV	0,0

Anexo D: (Continuación)

No.	Municipio	Finca	Código Bacteria	Patógeno	% Inhibición
63	Restrepo	Aguacate	ATBS3	1HV	55,6
	Restrepo	Aguacate	ATBS3	3HV	67,8
	Restrepo	Aguacate	ATBS3	4HV	51,1
	Restrepo	Aguacate	ATBS3	5HV	25,6
	Restrepo	Aguacate	ATBS3	6HV	0,0
64	Restrepo	Aguacate	ATBS4	1HV	24,4
	Restrepo	Aguacate	ATBS4	3HV	47,8
	Restrepo	Aguacate	ATBS4	4HV	63,3
	Restrepo	Aguacate	ATBS4	5HV	0,0
	Restrepo	Aguacate	ATBS4	6HV	47,8
65	Restrepo	Aguacate	ATBS5	1HV	24,4
	Restrepo	Aguacate	ATBS5	3HV	47,8
	Restrepo	Aguacate	ATBS5	4HV	58,9
	Restrepo	Aguacate	ATBS5	5HV	17,8
	Restrepo	Aguacate	ATBS5	6HV	31,1
66	Restrepo	Aguacate	ATBS6	1HV	46,7
	Restrepo	Aguacate	ATBS6	3HV	97,8
	Restrepo	Aguacate	ATBS6	4HV	25,6
	Restrepo	Aguacate	ATBS6	5HV	0,0
	Restrepo	Aguacate	ATBS6	6HV	55,6
67	Restrepo	Aguacate	ATBS7	1HV	48,9
	Restrepo	Aguacate	ATBS7	3HV	97,8
	Restrepo	Aguacate	ATBS7	4HV	50,0
	Restrepo	Aguacate	ATBS7	5HV	16,7
	Restrepo	Aguacate	ATBS7	6HV	52,2
68	Restrepo	Aguacate	ATBS8	1HV	47,8
	Restrepo	Aguacate	ATBS8	3HV	71,1
	Restrepo	Aguacate	ATBS8	4HV	24,4
	Restrepo	Aguacate	ATBS8	5HV	27,8
	Restrepo	Aguacate	ATBS8	6HV	51,1
69	Restrepo	Aguacate	ATBS9	1HV	50,0
	Restrepo	Aguacate	ATBS9	3HV	50,0
	Restrepo	Aguacate	ATBS9	4HV	53,3
	Restrepo	Aguacate	ATBS9	5HV	17,8
	Restrepo	Aguacate	ATBS9	6HV	44,4

Anexo D: (Continuación)

No.	Municipio	Finca	Código Bacteria	Patógeno	% Inhibición
70	Restrepo	Aguacate	ATBS10	1HV	32,2
	Restrepo	Aguacate	ATBS10	3HV	50,0
	Restrepo	Aguacate	ATBS10	4HV	57,8
	Restrepo	Aguacate	ATBS10	5HV	20,0
	Restrepo	Aguacate	ATBS10	6HV	21,1
71	Restrepo	Siria	SITBS1	1HV	17,8
	Restrepo	Siria	SITBS1	3HV	56,7
	Restrepo	Siria	SITBS1	4HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITBS1	5HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITBS1	6HV	0,0
72	Restrepo	Siria	SITBS2	1HV	23,3
	Restrepo	Siria	SITBS2	3HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITBS2	4HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITBS2	5HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITBS2	6HV	0,0
73	Restrepo	Siria	SITBS3	1HV	72,2
	Restrepo	Siria	SITBS3	3HV	73,3
	Restrepo	Siria	SITBS3	4HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITBS3	5HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITBS3	6HV	43,3
74	Restrepo	Siria	SITBS4	1HV	70,0
	Restrepo	Siria	SITBS4	3HV	70,0
	Restrepo	Siria	SITBS4	4HV	27,8
	Restrepo	Siria	SITBS4	5HV	37,8
	Restrepo	Siria	SITBS4	6HV	65,6
75	Restrepo	Siria	SITBS5	1HV	20,0
	Restrepo	Siria	SITBS5	3HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITBS5	4HV	13,3
	Restrepo	Siria	SITBS5	5HV	6,7
	Restrepo	Siria	SITBS5	6HV	0,0
76	Restrepo	Siria	SITBS6	1HV	51,1
	Restrepo	Siria	SITBS6	3HV	60,0
	Restrepo	Siria	SITBS6	4HV	62,2
	Restrepo	Siria	SITBS6	5HV	51,1
	Restrepo	Siria	SITBS6	6HV	73,3

Anexo D: (Continuación)

No.	Municipio	Finca	Código Bacteria	Patógeno	% Inhibición
77	Restrepo	Siria	SITBS7	1HV	31,1
	Restrepo	Siria	SITBS7	3HV	16,7
	Restrepo	Siria	SITBS7	4HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITBS7	5HV	11,1
	Restrepo	Siria	SITBS7	6HV	0,0
78	Restrepo	Siria	SITBS8	1HV	65,6
	Restrepo	Siria	SITBS8	3HV	58,9
	Restrepo	Siria	SITBS8	4HV	54,4
	Restrepo	Siria	SITBS8	5HV	43,3
	Restrepo	Siria	SITBS8	6HV	0,0
79	Restrepo	Siria	SITBS9	1HV	68,9
	Restrepo	Siria	SITBS9	3HV	70,0
	Restrepo	Siria	SITBS9	4HV	58,9
	Restrepo	Siria	SITBS9	5HV	58,9
	Restrepo	Siria	SITBS9	6HV	57,8
80	Restrepo	Siria	SITBS10	1HV	24,4
	Restrepo	Siria	SITBS10	3HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITBS10	4HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITBS10	5HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITBS10	6HV	0,0
81	Restrepo	Siria	SITBS11	1HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITBS11	3HV	64,4
	Restrepo	Siria	SITBS11	4HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITBS11	5HV	50,0
	Restrepo	Siria	SITBS11	6HV	0,0
82	Restrepo	Siria	SITBS12	1HV	24,4
	Restrepo	Siria	SITBS12	3HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITBS12	4HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITBS12	5HV	16,7
	Restrepo	Siria	SITBS12	6HV	0,0
83	Restrepo	Siria	SITBS13	1HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITBS13	3HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITBS13	4HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITBS13	5HV	15,6
	Restrepo	Siria	SITBS13	6HV	0,0

Anexo D: (Continuación)

No.	Municipio	Finca	Código Bacteria	Patógeno	% Inhibición
84	Restrepo	Siria	SITBS14	1HV	17,8
	Restrepo	Siria	SITBS14	3HV	63,3
	Restrepo	Siria	SITBS14	4HV	67,8
	Restrepo	Siria	SITBS14	5HV	12,2
	Restrepo	Siria	SITBS14	6HV	0,0
85	Restrepo	Siria	SITBS15	1HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITBS15	3HV	30,0
	Restrepo	Siria	SITBS15	4HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITBS15	5HV	17,8
	Restrepo	Siria	SITBS15	6HV	0,0
86	Restrepo	Siria	SITBS16	1HV	63,3
	Restrepo	Siria	SITBS16	3HV	53,3
	Restrepo	Siria	SITBS16	4HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITBS16	5HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITBS16	6HV	0,0
87	Restrepo	Siria	SITBS17	1HV	70,0
	Restrepo	Siria	SITBS17	3HV	62,2
	Restrepo	Siria	SITBS17	4HV	47,8
	Restrepo	Siria	SITBS17	5HV	61,1
	Restrepo	Siria	SITBS17	6HV	31,1
88	Restrepo	Siria	SITBS18	1HV	46,7
	Restrepo	Siria	SITBS18	3HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITBS18	4HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITBS18	5HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITBS18	6HV	0,0
89	Restrepo	Siria	SITBS19	1HV	36,7
	Restrepo	Siria	SITBS19	3HV	34,4
	Restrepo	Siria	SITBS19	4HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITBS19	5HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITBS19	6HV	0,0
90	Restrepo	Siria	SITBS20	1HV	27,8
	Restrepo	Siria	SITBS20	3HV	48,9
	Restrepo	Siria	SITBS20	4HV	24,4
	Restrepo	Siria	SITBS20	5HV	44,4
	Restrepo	Siria	SITBS20	6HV	0,0

Anexo D: (Continuación)

No.	Municipio	Finca	Código Bacteria	Patógeno	% Inhibición
91	Restrepo	Siria	SITBS21	1HV	57,8
	Restrepo	Siria	SITBS21	3HV	66,7
	Restrepo	Siria	SITBS21	4HV	24,4
	Restrepo	Siria	SITBS21	5HV	42,2
	Restrepo	Siria	SITBS21	6HV	43,3
92	Restrepo	Siria	SITBS22	1HV	60,0
	Restrepo	Siria	SITBS22	3HV	62,2
	Restrepo	Siria	SITBS22	4HV	35,6
	Restrepo	Siria	SITBS22	5HV	35,6
	Restrepo	Siria	SITBS22	6HV	22,2
93	Restrepo	Siria	SITBS23	1HV	37,8
	Restrepo	Siria	SITBS23	3HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITBS23	4HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITBS23	5HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITBS23	6HV	0,0
94	Restrepo	Siria	SITBS24	1HV	70,0
	Restrepo	Siria	SITBS24	3HV	77,8
	Restrepo	Siria	SITBS24	4HV	65,6
	Restrepo	Siria	SITBS24	5HV	67,8
	Restrepo	Siria	SITBS24	6HV	35,6
95	Restrepo	Siria	SITBS25	1HV	20,0
	Restrepo	Siria	SITBS25	3HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITBS25	4HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITBS25	5HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITBS25	6HV	15,6
96	Restrepo	Valencia	VTBS1	1HV	48,9
	Restrepo	Valencia	VTBS1	3HV	51,1
	Restrepo	Valencia	VTBS1	4HV	23,3
	Restrepo	Valencia	VTBS1	5HV	44,4
	Restrepo	Valencia	VTBS1	6HV	18,9
97	Restrepo	Valencia	VTBS2	1HV	25,6
	Restrepo	Valencia	VTBS2	3HV	55,6
	Restrepo	Valencia	VTBS2	4HV	12,2
	Restrepo	Valencia	VTBS2	5HV	14,4
	Restrepo	Valencia	VTBS2	6HV	0,0

Anexo D: (Continuación)

No.	Municipio	Finca	Código Bacteria	Patógeno	% Inhibición
98	Restrepo	Valencia	VTBS3	1HV	0,0
	Restrepo	Valencia	VTBS3	3HV	0,0
	Restrepo	Valencia	VTBS3	4HV	0,0
	Restrepo	Valencia	VTBS3	5HV	0,0
	Restrepo	Valencia	VTBS3	6HV	0,0
99	Restrepo	Valencia	VTBS4	1HV	27,8
	Restrepo	Valencia	VTBS4	3HV	44,4
	Restrepo	Valencia	VTBS4	4HV	47,8
	Restrepo	Valencia	VTBS4	5HV	50,0
	Restrepo	Valencia	VTBS4	6HV	56,7
100	Restrepo	Valencia	VTBS5	1HV	0,0
	Restrepo	Valencia	VTBS5	3HV	61,1
	Restrepo	Valencia	VTBS5	4HV	0,0
	Restrepo	Valencia	VTBS5	5HV	15,6
	Restrepo	Valencia	VTBS5	6HV	51,1
101	Restrepo	Valencia	VTBS6	1HV	0,0
	Restrepo	Valencia	VTBS6	3HV	0,0
	Restrepo	Valencia	VTBS6	4HV	0,0
	Restrepo	Valencia	VTBS6	5HV	14,4
	Restrepo	Valencia	VTBS6	6HV	38,9
102	Restrepo	Valencia	VTBS7	1HV	0,0
	Restrepo	Valencia	VTBS7	3HV	0,0
	Restrepo	Valencia	VTBS7	4HV	0,0
	Restrepo	Valencia	VTBS7	5HV	16,7
	Restrepo	Valencia	VTBS7	6HV	11,1
103	Restrepo	Valencia	VTBS8	1HV	42,2
	Restrepo	Valencia	VTBS8	3HV	48,9
	Restrepo	Valencia	VTBS8	4HV	0,0
	Restrepo	Valencia	VTBS8	5HV	0,0
	Restrepo	Valencia	VTBS8	6HV	95,6
104	Restrepo	Valencia	VTBS9	1HV	57,8
	Restrepo	Valencia	VTBS9	3HV	47,8
	Restrepo	Valencia	VTBS9	4HV	40,0
	Restrepo	Valencia	VTBS9	5HV	47,8
	Restrepo	Valencia	VTBS9	6HV	36,7

Anexo D: (Continuación)

No.	Municipio	Finca	Código Bacteria	Patógeno	% Inhibición
105	Restrepo	Valencia	VTBS10	1HV	0,0
	Restrepo	Valencia	VTBS10	3HV	0,0
	Restrepo	Valencia	VTBS10	4HV	0,0
	Restrepo	Valencia	VTBS10	5HV	0,0
	Restrepo	Valencia	VTBS10	6HV	0,0
106	Vijes	Samán	STBS1	1HV	57,8
	Vijes	Samán	STBS1	3HV	95,6
	Vijes	Samán	STBS1	4HV	83,3
	Vijes	Samán	STBS1	5HV	77,8
	Vijes	Samán	STBS1	6HV	82,2
107	Vijes	Samán	STBS2	1HV	41,1
	Vijes	Samán	STBS2	3HV	57,8
	Vijes	Samán	STBS2	4HV	30,0
	Vijes	Samán	STBS2	5HV	0,0
	Vijes	Samán	STBS2	6HV	43,3
108	Vijes	Samán	STBS3	1HV	83,3
	Vijes	Samán	STBS3	3HV	95,6
	Vijes	Samán	STBS3	4HV	83,3
	Vijes	Samán	STBS3	5HV	84,4
	Vijes	Samán	STBS3	6HV	84,4
109	Vijes	Samán	STBS4	1HV	22,2
	Vijes	Samán	STBS4	3HV	53,3
	Vijes	Samán	STBS4	4HV	1,1
	Vijes	Samán	STBS4	5HV	54,4
	Vijes	Samán	STBS4	6HV	58,9
110	Vijes	Samán	STBS5	1HV	33,3
	Vijes	Samán	STBS5	3HV	61,1
	Vijes	Samán	STBS5	4HV	6,7
	Vijes	Samán	STBS5	5HV	43,3
	Vijes	Samán	STBS5	6HV	0,0
111	Vijes	Samán	STBS6	1HV	35,6
	Vijes	Samán	STBS6	3HV	66,7
	Vijes	Samán	STBS6	4HV	53,3
	Vijes	Samán	STBS6	5HV	45,6
	Vijes	Samán	STBS6	6HV	34,4

Anexo D: (Continuación)

No.	Municipio	Finca	Código Bacteria	Patógeno	% Inhibición
112	Vijes	Samán	STBS7	1HV	81,1
	Vijes	Samán	STBS7	3HV	95,6
	Vijes	Samán	STBS7	4HV	86,7
	Vijes	Samán	STBS7	5HV	87,8
	Vijes	Samán	STBS7	6HV	86,7
113	Vijes	Samán	STBS8	1HV	57,8
	Vijes	Samán	STBS8	3HV	57,8
	Vijes	Samán	STBS8	4HV	57,8
	Vijes	Samán	STBS8	5HV	34,4
	Vijes	Samán	STBS8	6HV	63,3
114	Vijes	Samán	STBS9	1HV	83,3
	Vijes	Samán	STBS9	3HV	95,6
	Vijes	Samán	STBS9	4HV	84,4
	Vijes	Samán	STBS9	5HV	83,3
	Vijes	Samán	STBS9	6HV	85,6
115	Vijes	Samán	STBS10	1HV	31,1
	Vijes	Samán	STBS10	3HV	15,6
	Vijes	Samán	STBS10	4HV	0,0
	Vijes	Samán	STBS10	5HV	8,9
	Vijes	Samán	STBS10	6HV	61,1
116	Vijes	Samán	STBS11	1HV	30,0
	Vijes	Samán	STBS11	3HV	55,6
	Vijes	Samán	STBS11	4HV	0,0
	Vijes	Samán	STBS11	5HV	31,1
	Vijes	Samán	STBS11	6HV	85,6
117	Vijes	Samán	STBS12	1HV	64,4
	Vijes	Samán	STBS12	3HV	44,4
	Vijes	Samán	STBS12	4HV	52,2
	Vijes	Samán	STBS12	5HV	47,8
	Vijes	Samán	STBS12	6HV	86,7
118	Vijes	Samán	STBS13	1HV	70,0
	Vijes	Samán	STBS13	3HV	60,0
	Vijes	Samán	STBS13	4HV	61,1
	Vijes	Samán	STBS13	5HV	57,8
	Vijes	Samán	STBS13	6HV	34,4

Anexo D: (Continuación)

No.	Municipio	Finca	Código Bacteria	Patógeno	% Inhibición
119	Vijes	Samán	STBS14	1HV	95,6
	Vijes	Samán	STBS14	3HV	88,9
	Vijes	Samán	STBS14	4HV	86,7
	Vijes	Samán	STBS14	5HV	86,7
	Vijes	Samán	STBS14	6HV	56,7
120	Vijes	Samán	STBS15	1HV	93,3
	Vijes	Samán	STBS15	3HV	95,6
	Vijes	Samán	STBS15	4HV	84,4
	Vijes	Samán	STBS15	5HV	86,7
	Vijes	Samán	STBS15	6HV	0,0
121	Vijes	Samán	STBS16	1HV	18,9
	Vijes	Samán	STBS16	3HV	0,0
	Vijes	Samán	STBS16	4HV	51,1
	Vijes	Samán	STBS16	5HV	0,0
	Vijes	Samán	STBS16	6HV	57,8
122	Vijes	Samán	STBS17	1HV	83,3
	Vijes	Samán	STBS17	3HV	95,6
	Vijes	Samán	STBS17	4HV	85,6
	Vijes	Samán	STBS17	5HV	78,9
	Vijes	Samán	STBS17	6HV	86,7
123	Vijes	Samán	STBS18	1HV	78,9
	Vijes	Samán	STBS18	3HV	91,1
	Vijes	Samán	STBS18	4HV	83,3
	Vijes	Samán	STBS18	5HV	85,6
	Vijes	Samán	STBS18	6HV	86,7
124	Vijes	Samán	STBS19	1HV	81,1
	Vijes	Samán	STBS19	3HV	95,6
	Vijes	Samán	STBS19	4HV	84,4
	Vijes	Samán	STBS19	5HV	88,9
	Vijes	Samán	STBS19	6HV	87,8
125	Vijes	Samán	STBS20	1HV	27,8
	Vijes	Samán	STBS20	3HV	0,0
	Vijes	Samán	STBS20	4HV	47,8
	Vijes	Samán	STBS20	5HV	33,3
	Vijes	Samán	STBS20	6HV	6,7

Anexo D: (Continuación)

No.	Municipio	Finca	Código Bacteria	Patógeno	% Inhibición
126	Vijes	Samán	STBS21	1HV	85,6
	Vijes	Samán	STBS21	3HV	95,6
	Vijes	Samán	STBS21	4HV	86,7
	Vijes	Samán	STBS21	5HV	81,1
	Vijes	Samán	STBS21	6HV	84,4
127	Vijes	Samán	STBS22	1HV	75,6
	Vijes	Samán	STBS22	3HV	95,6
	Vijes	Samán	STBS22	4HV	81,1
	Vijes	Samán	STBS22	5HV	78,9
	Vijes	Samán	STBS22	6HV	83,3
128	Vijes	Quintero	QTBS1	1HV	0,0
	Vijes	Quintero	QTBS1	3HV	0,0
	Vijes	Quintero	QTBS1	4HV	0,0
	Vijes	Quintero	QTBS1	5HV	0,0
	Vijes	Quintero	QTBS1	6HV	0,0
129	Vijes	Quintero	QTBS2	1HV	0,0
	Vijes	Quintero	QTBS2	3HV	0,0
	Vijes	Quintero	QTBS2	4HV	0,0
	Vijes	Quintero	QTBS2	5HV	0,0
	Vijes	Quintero	QTBS2	6HV	0,0
130	Vijes	Quintero	QTBS3	1HV	34,4
	Vijes	Quintero	QTBS3	3HV	0,0
	Vijes	Quintero	QTBS3	4HV	0,0
	Vijes	Quintero	QTBS3	5HV	0,0
	Vijes	Quintero	QTBS3	6HV	0,0
131	Vijes	Quintero	QTBS4	1HV	0,0
	Vijes	Quintero	QTBS4	3HV	0,0
	Vijes	Quintero	QTBS4	4HV	0,0
	Vijes	Quintero	QTBS4	5HV	0,0
	Vijes	Quintero	QTBS4	6HV	0,0
132	Vijes	Quintero	QTBS5	1HV	54,4
	Vijes	Quintero	QTBS5	3HV	48,9
	Vijes	Quintero	QTBS5	4HV	0,0
	Vijes	Quintero	QTBS5	5HV	0,0
	Vijes	Quintero	QTBS5	6HV	0,0

Anexo D: (Continuación)

No.	Municipio	Finca	Código Bacteria	Patógeno	% Inhibición
133	Vijes	Quintero	QTBS6	1HV	0,0
	Vijes	Quintero	QTBS6	3HV	0,0
	Vijes	Quintero	QTBS6	4HV	0,0
	Vijes	Quintero	QTBS6	5HV	0,0
	Vijes	Quintero	QTBS6	6HV	0,0
134	Vijes	Quintero	QTBS7	1HV	37,8
	Vijes	Quintero	QTBS7	3HV	0,0
	Vijes	Quintero	QTBS7	4HV	0,0
	Vijes	Quintero	QTBS7	5HV	20,0
	Vijes	Quintero	QTBS7	6HV	41,1
135	Vijes	Quintero	QTBS8	1HV	56,7
	Vijes	Quintero	QTBS8	3HV	0,0
	Vijes	Quintero	QTBS8	4HV	0,0
	Vijes	Quintero	QTBS8	5HV	60,0
	Vijes	Quintero	QTBS8	6HV	0,0
136	Vijes	Quintero	QTBS9	1HV	25,6
	Vijes	Quintero	QTBS9	3HV	0,0
	Vijes	Quintero	QTBS9	4HV	0,0
	Vijes	Quintero	QTBS9	5HV	0,0
	Vijes	Quintero	QTBS9	6HV	0,0
137	Vijes	Quintero	QTBS10	1HV	0,0
	Vijes	Quintero	QTBS10	3HV	0,0
	Vijes	Quintero	QTBS10	4HV	0,0
	Vijes	Quintero	QTBS10	5HV	0,0
	Vijes	Quintero	QTBS10	6HV	0,0
138	Vijes	Bizcocho	BTBS1	1HV	0,0
	Vijes	Bizcocho	BTBS1	3HV	0,0
	Vijes	Bizcocho	BTBS1	4HV	0,0
	Vijes	Bizcocho	BTBS1	5HV	0,0
	Vijes	Bizcocho	BTBS1	6HV	0,0
139	Vijes	Bizcocho	BTBS2	1HV	85,6
	Vijes	Bizcocho	BTBS2	3HV	80,0
	Vijes	Bizcocho	BTBS2	4HV	70,0
	Vijes	Bizcocho	BTBS2	5HV	81,1
	Vijes	Bizcocho	BTBS2	6HV	80,0

Anexo D: (Continuación)

No.	Municipio	Finca	Código Bacteria	Patógeno	% Inhibición
140	Vijes	Bizcocho	BTBS3	1HV	0,0
	Vijes	Bizcocho	BTBS3	3HV	0,0
	Vijes	Bizcocho	BTBS3	4HV	0,0
	Vijes	Bizcocho	BTBS3	5HV	0,0
	Vijes	Bizcocho	BTBS3	6HV	0,0
141	Vijes	Bizcocho	BTBS4	1HV	53,3
	Vijes	Bizcocho	BTBS4	3HV	43,3
	Vijes	Bizcocho	BTBS4	4HV	0,0
	Vijes	Bizcocho	BTBS4	5HV	26,7
	Vijes	Bizcocho	BTBS4	6HV	95,6
142	Vijes	Bizcocho	BTBS5	1HV	0,0
	Vijes	Bizcocho	BTBS5	3HV	42,2
	Vijes	Bizcocho	BTBS5	4HV	0,0
	Vijes	Bizcocho	BTBS5	5HV	0,0
	Vijes	Bizcocho	BTBS5	6HV	27,8
143	Vijes	Bizcocho	BTBS6	1HV	0,0
	Vijes	Bizcocho	BTBS6	3HV	0,0
	Vijes	Bizcocho	BTBS6	4HV	0,0
	Vijes	Bizcocho	BTBS6	5HV	0,0
	Vijes	Bizcocho	BTBS6	6HV	0,0
144	Vijes	Bizcocho	BTBS7	1HV	0,0
	Vijes	Bizcocho	BTBS7	3HV	0,0
	Vijes	Bizcocho	BTBS7	4HV	0,0
	Vijes	Bizcocho	BTBS7	5HV	0,0
	Vijes	Bizcocho	BTBS7	6HV	95,6
145	Vijes	Bizcocho	BTBS8	1HV	0,0
	Vijes	Bizcocho	BTBS8	3HV	0,0
	Vijes	Bizcocho	BTBS8	4HV	0,0
	Vijes	Bizcocho	BTBS8	5HV	0,0
	Vijes	Bizcocho	BTBS8	6HV	0,0
146	Vijes	Bizcocho	BTBS9	1HV	0,0
	Vijes	Bizcocho	BTBS9	3HV	10,0
	Vijes	Bizcocho	BTBS9	4HV	0,0
	Vijes	Bizcocho	BTBS9	5HV	0,0
	Vijes	Bizcocho	BTBS9	6HV	0,0

Anexo D: (Continuación)

No.	Municipio	Finca	Código Bacteria	Patógeno	% Inhibición
147	Vijes	Bizcocho	BTBS10	1HV	0,0
	Vijes	Bizcocho	BTBS10	3HV	16,7
	Vijes	Bizcocho	BTBS10	4HV	0,0
	Vijes	Bizcocho	BTBS10	5HV	0,0
	Vijes	Bizcocho	BTBS10	6HV	17,8

E. Anexo: Promedio del % de inhibición de los aislamientos bacterianos de la raíz de Tomate de mesa frente a los aislamientos de *Alternaria alternata* evaluados

No.	Municipio	Finca	Código Bacteria	Patógeno	% Inhibición
1	Palmira	Guanabanazo	GTPR1	1HV	0,0
	Palmira	Guanabanazo	GTPR1	3HV	46,7
	Palmira	Guanabanazo	GTPR1	4HV	0,0
	Palmira	Guanabanazo	GTPR1	5HV	0,0
	Palmira	Guanabanazo	GTPR1	6HV	0,0
2	Palmira	Guanabanazo	GTPR2	1HV	0,0
	Palmira	Guanabanazo	GTPR2	3HV	38,9
	Palmira	Guanabanazo	GTPR2	4HV	0,0
	Palmira	Guanabanazo	GTPR2	5HV	25,6
	Palmira	Guanabanazo	GTPR2	6HV	0,0
3	Palmira	Guanabanazo	GTPR3	1HV	0,0
	Palmira	Guanabanazo	GTPR3	3HV	14,4
	Palmira	Guanabanazo	GTPR3	4HV	0,0
	Palmira	Guanabanazo	GTPR3	5HV	0,0
	Palmira	Guanabanazo	GTPR3	6HV	0,0
4	Palmira	Guanabanazo	GTPR4	1HV	50,0
	Palmira	Guanabanazo	GTPR4	3HV	53,3
	Palmira	Guanabanazo	GTPR4	4HV	0,0
	Palmira	Guanabanazo	GTPR4	5HV	0,0
	Palmira	Guanabanazo	GTPR4	6HV	0,0
5	Palmira	Guanabanazo	GTPR5	1HV	0,0
	Palmira	Guanabanazo	GTPR5	3HV	11,1
	Palmira	Guanabanazo	GTPR5	4HV	0,0
	Palmira	Guanabanazo	GTPR5	5HV	0,0
	Palmira	Guanabanazo	GTPR5	6HV	0,0
6	Palmira	Guanabanazo	GTPR6	1HV	0,0
	Palmira	Guanabanazo	GTPR6	3HV	0,0
	Palmira	Guanabanazo	GTPR6	4HV	0,0
	Palmira	Guanabanazo	GTPR6	5HV	53,3
	Palmira	Guanabanazo	GTPR6	6HV	0,0

Anexo E: (Continuación)

No.	Municipio	Finca	Código Bacteria	Patógeno	% Inhibición
7	Palmira	Papayalito	PTPR1	1HV	0,0
	Palmira	Papayalito	PTPR1	3HV	0,0
	Palmira	Papayalito	PTPR1	4HV	27,8
	Palmira	Papayalito	PTPR1	5HV	0,0
	Palmira	Papayalito	PTPR1	6HV	0,0
8	Palmira	Papayalito	PTPR2	1HV	0,0
	Palmira	Papayalito	PTPR2	3HV	0,0
	Palmira	Papayalito	PTPR2	4HV	0,0
	Palmira	Papayalito	PTPR2	5HV	0,0
	Palmira	Papayalito	PTPR2	6HV	27,8
9	Palmira	Papayalito	PTPR3	1HV	0,0
	Palmira	Papayalito	PTPR3	3HV	0,0
	Palmira	Papayalito	PTPR3	4HV	0,0
	Palmira	Papayalito	PTPR3	5HV	0,0
	Palmira	Papayalito	PTPR3	6HV	0,0
10	Palmira	Papayalito	PTPR4	1HV	0,0
	Palmira	Papayalito	PTPR4	3HV	0,0
	Palmira	Papayalito	PTPR4	4HV	0,0
	Palmira	Papayalito	PTPR4	5HV	0,0
	Palmira	Papayalito	PTPR4	6HV	0,0
11	Palmira	Papayalito	PTPR5	1HV	0,0
	Palmira	Papayalito	PTPR5	3HV	0,0
	Palmira	Papayalito	PTPR5	4HV	0,0
	Palmira	Papayalito	PTPR5	5HV	0,0
	Palmira	Papayalito	PTPR5	6HV	0,0
12	Palmira	Papayalito	PTPR6	1HV	0,0
	Palmira	Papayalito	PTPR6	3HV	0,0
	Palmira	Papayalito	PTPR6	4HV	0,0
	Palmira	Papayalito	PTPR6	5HV	38,9
	Palmira	Papayalito	PTPR6	6HV	0,0
13	Palmira	Papayalito	PTPR7	1HV	44,4
	Palmira	Papayalito	PTPR7	3HV	45,6
	Palmira	Papayalito	PTPR7	4HV	0,0
	Palmira	Papayalito	PTPR7	5HV	36,7
	Palmira	Papayalito	PTPR7	6HV	58,9

Anexo E: (Continuación)

No.	Municipio	Finca	Código Bacteria	Patógeno	% Inhibición
14	Palmira	Papayalito	PTPR8	1HV	0,0
	Palmira	Papayalito	PTPR8	3HV	0,0
	Palmira	Papayalito	PTPR8	4HV	0,0
	Palmira	Papayalito	PTPR8	5HV	0,0
	Palmira	Papayalito	PTPR8	6HV	0,0
15	Palmira	Papayalito	PTPR9	1HV	53,3
	Palmira	Papayalito	PTPR9	3HV	0,0
	Palmira	Papayalito	PTPR9	4HV	0,0
	Palmira	Papayalito	PTPR9	5HV	55,6
	Palmira	Papayalito	PTPR9	6HV	52,2
16	Candelaria	CEUNP	CTPR1	1HV	16,7
	Candelaria	CEUNP	CTPR1	3HV	11,1
	Candelaria	CEUNP	CTPR1	4HV	8,9
	Candelaria	CEUNP	CTPR1	5HV	0,0
	Candelaria	CEUNP	CTPR1	6HV	0,0
17	Candelaria	CEUNP	CTPR2	1HV	0,0
	Candelaria	CEUNP	CTPR2	3HV	22,2
	Candelaria	CEUNP	CTPR2	4HV	0,0
	Candelaria	CEUNP	CTPR2	5HV	0,0
	Candelaria	CEUNP	CTPR2	6HV	0,0
18	Candelaria	CEUNP	CTPR3	1HV	4,4
	Candelaria	CEUNP	CTPR3	3HV	18,9
	Candelaria	CEUNP	CTPR3	4HV	15,6
	Candelaria	CEUNP	CTPR3	5HV	0,0
	Candelaria	CEUNP	CTPR3	6HV	0,0
19	Candelaria	CEUNP	CTPR4	1HV	0,0
	Candelaria	CEUNP	CTPR4	3HV	22,2
	Candelaria	CEUNP	CTPR4	4HV	0,0
	Candelaria	CEUNP	CTPR4	5HV	0,0
	Candelaria	CEUNP	CTPR4	6HV	0,0
20	Candelaria	CEUNP	CTPR5	1HV	21,1
	Candelaria	CEUNP	CTPR5	3HV	27,8
	Candelaria	CEUNP	CTPR5	4HV	23,3
	Candelaria	CEUNP	CTPR5	5HV	0,0
	Candelaria	CEUNP	CTPR5	6HV	0,0

Anexo E: (Continuación)

No.	Municipio	Finca	Código Bacteria	Patógeno	% Inhibición
21	Candelaria	CEUNP	CTPR6	1HV	38,9
	Candelaria	CEUNP	CTPR6	3HV	34,4
	Candelaria	CEUNP	CTPR6	4HV	23,3
	Candelaria	CEUNP	CTPR6	5HV	0,0
	Candelaria	CEUNP	CTPR6	6HV	0,0
22	Candelaria	CEUNP	CTPR7	1HV	24,4
	Candelaria	CEUNP	CTPR7	3HV	31,1
	Candelaria	CEUNP	CTPR7	4HV	23,3
	Candelaria	CEUNP	CTPR7	5HV	0,0
	Candelaria	CEUNP	CTPR7	6HV	0,0
23	Candelaria	CEUNP	CTPR8	1HV	54,4
	Candelaria	CEUNP	CTPR8	3HV	0,0
	Candelaria	CEUNP	CTPR8	4HV	52,2
	Candelaria	CEUNP	CTPR8	5HV	54,4
	Candelaria	CEUNP	CTPR8	6HV	16,7
24	Restrepo	Aguacate	ATPR1	1HV	2,2
	Restrepo	Aguacate	ATPR1	3HV	46,7
	Restrepo	Aguacate	ATPR1	4HV	11,1
	Restrepo	Aguacate	ATPR1	5HV	0,0
	Restrepo	Aguacate	ATPR1	6HV	45,6
25	Restrepo	Aguacate	ATPR2	1HV	27,8
	Restrepo	Aguacate	ATPR2	3HV	47,8
	Restrepo	Aguacate	ATPR2	4HV	0,0
	Restrepo	Aguacate	ATPR2	5HV	53,3
	Restrepo	Aguacate	ATPR2	6HV	52,2
26	Restrepo	Aguacate	ATPR3	1HV	27,8
	Restrepo	Aguacate	ATPR3	3HV	53,3
	Restrepo	Aguacate	ATPR3	4HV	43,3
	Restrepo	Aguacate	ATPR3	5HV	55,6
	Restrepo	Aguacate	ATPR3	6HV	48,9
27	Restrepo	Aguacate	ATPR4	1HV	48,9
	Restrepo	Aguacate	ATPR4	3HV	64,4
	Restrepo	Aguacate	ATPR4	4HV	43,3
	Restrepo	Aguacate	ATPR4	5HV	55,6
	Restrepo	Aguacate	ATPR4	6HV	62,2

Anexo E: (Continuación)

No.	Municipio	Finca	Código Bacteria	Patógeno	% Inhibición
28	Restrepo	Aguacate	ATPR5	1HV	12,2
	Restrepo	Aguacate	ATPR5	3HV	11,1
	Restrepo	Aguacate	ATPR5	4HV	22,2
	Restrepo	Aguacate	ATPR5	5HV	18,9
	Restrepo	Aguacate	ATPR5	6HV	10,0
29	Restrepo	Aguacate	ATPR6	1HV	47,8
	Restrepo	Aguacate	ATPR6	3HV	6,7
	Restrepo	Aguacate	ATPR6	4HV	46,7
	Restrepo	Aguacate	ATPR6	5HV	33,3
	Restrepo	Aguacate	ATPR6	6HV	46,7
30	Restrepo	Aguacate	ATPR7	1HV	41,1
	Restrepo	Aguacate	ATPR7	3HV	73,3
	Restrepo	Aguacate	ATPR7	4HV	43,3
	Restrepo	Aguacate	ATPR7	5HV	0,0
	Restrepo	Aguacate	ATPR7	6HV	48,9
31	Restrepo	Aguacate	ATPR8	1HV	52,2
	Restrepo	Aguacate	ATPR8	3HV	62,2
	Restrepo	Aguacate	ATPR8	4HV	42,2
	Restrepo	Aguacate	ATPR8	5HV	16,7
	Restrepo	Aguacate	ATPR8	6HV	48,9
32	Restrepo	Aguacate	ATPR9	1HV	36,7
	Restrepo	Aguacate	ATPR9	3HV	55,6
	Restrepo	Aguacate	ATPR9	4HV	47,8
	Restrepo	Aguacate	ATPR9	5HV	68,9
	Restrepo	Aguacate	ATPR9	6HV	66,7
33	Restrepo	Aguacate	ATPR10	1HV	10,0
	Restrepo	Aguacate	ATPR10	3HV	11,1
	Restrepo	Aguacate	ATPR10	4HV	1,1
	Restrepo	Aguacate	ATPR10	5HV	0,0
	Restrepo	Aguacate	ATPR10	6HV	0,0
34	Restrepo	Aguacate	ATPR11	1HV	74,4
	Restrepo	Aguacate	ATPR11	3HV	71,1
	Restrepo	Aguacate	ATPR11	4HV	54,4
	Restrepo	Aguacate	ATPR11	5HV	78,9
	Restrepo	Aguacate	ATPR11	6HV	58,9

Anexo E: (Continuación)

No.	Municipio	Finca	Código Bacteria	Patógeno	% Inhibición
35	Restrepo	Aguacate	ATPR12	1HV	65,6
	Restrepo	Aguacate	ATPR12	3HV	70,0
	Restrepo	Aguacate	ATPR12	4HV	52,2
	Restrepo	Aguacate	ATPR12	5HV	61,1
	Restrepo	Aguacate	ATPR12	6HV	62,2
36	Restrepo	Aguacate	ATPR13	1HV	37,8
	Restrepo	Aguacate	ATPR13	3HV	62,2
	Restrepo	Aguacate	ATPR13	4HV	0,0
	Restrepo	Aguacate	ATPR13	5HV	28,9
	Restrepo	Aguacate	ATPR13	6HV	0,0
37	Restrepo	Aguacate	ATPR14	1HV	70,0
	Restrepo	Aguacate	ATPR14	3HV	65,6
	Restrepo	Aguacate	ATPR14	4HV	46,7
	Restrepo	Aguacate	ATPR14	5HV	16,7
	Restrepo	Aguacate	ATPR14	6HV	55,6
38	Restrepo	Siria	SITPR1	1HV	57,8
	Restrepo	Siria	SITPR1	3HV	63,3
	Restrepo	Siria	SITPR1	4HV	43,3
	Restrepo	Siria	SITPR1	5HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITPR1	6HV	57,8
39	Restrepo	Siria	SITPR2	1HV	56,7
	Restrepo	Siria	SITPR2	3HV	58,9
	Restrepo	Siria	SITPR2	4HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITPR2	5HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITPR2	6HV	0,0
40	Restrepo	Siria	SITPR3	1HV	55,6
	Restrepo	Siria	SITPR3	3HV	57,8
	Restrepo	Siria	SITPR3	4HV	61,1
	Restrepo	Siria	SITPR3	5HV	60,0
	Restrepo	Siria	SITPR3	6HV	47,8
41	Restrepo	Siria	SITPR4	1HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITPR4	3HV	52,2
	Restrepo	Siria	SITPR4	4HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITPR4	5HV	23,3
	Restrepo	Siria	SITPR4	6HV	0,0

Anexo E: (Continuación)

No.	Municipio	Finca	Código Bacteria	Patógeno	% Inhibición
42	Restrepo	Siria	SITPR5	1HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITPR5	3HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITPR5	4HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITPR5	5HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITPR5	6HV	0,0
43	Restrepo	Siria	SITPR6	1HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITPR6	3HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITPR6	4HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITPR6	5HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITPR6	6HV	0,0
44	Restrepo	Siria	SITPR7	1HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITPR7	3HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITPR7	4HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITPR7	5HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITPR7	6HV	0,0
45	Restrepo	Siria	SITPR8	1HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITPR8	3HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITPR8	4HV	52,2
	Restrepo	Siria	SITPR8	5HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITPR8	6HV	0,0
46	Restrepo	Siria	SITPR9	1HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITPR9	3HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITPR9	4HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITPR9	5HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITPR9	6HV	0,0
47	Restrepo	Siria	SITPR10	1HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITPR10	3HV	42,2
	Restrepo	Siria	SITPR10	4HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITPR10	5HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITPR10	6HV	0,0
48	Restrepo	Siria	SITPR11	1HV	32,2
	Restrepo	Siria	SITPR11	3HV	52,2
	Restrepo	Siria	SITPR11	4HV	24,4
	Restrepo	Siria	SITPR11	5HV	50,0
	Restrepo	Siria	SITPR11	6HV	26,7

Anexo E: (Continuación)

No.	Municipio	Finca	Código Bacteria	Patógeno	% Inhibición
49	Restrepo	Siria	SITPR12	1HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITPR12	3HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITPR12	4HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITPR12	5HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITPR12	6HV	0,0
50	Restrepo	Siria	SITPR13	1HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITPR13	3HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITPR13	4HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITPR13	5HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITPR13	6HV	0,0
51	Restrepo	Siria	SITPR14	1HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITPR14	3HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITPR14	4HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITPR14	5HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITPR14	6HV	0,0
52	Restrepo	Siria	SITPR15	1HV	53,3
	Restrepo	Siria	SITPR15	3HV	0,0
	Restrepo	Siria	SITPR15	4HV	56,7
	Restrepo	Siria	SITPR15	5HV	56,7
	Restrepo	Siria	SITPR15	6HV	96,7
53	Restrepo	Valencia	VTPR1	1HV	0,0
	Restrepo	Valencia	VTPR1	3HV	0,0
	Restrepo	Valencia	VTPR1	4HV	0,0
	Restrepo	Valencia	VTPR1	5HV	0,0
	Restrepo	Valencia	VTPR1	6HV	14,4
54	Restrepo	Valencia	VTPR2	1HV	56,7
	Restrepo	Valencia	VTPR2	3HV	50,0
	Restrepo	Valencia	VTPR2	4HV	0,0
	Restrepo	Valencia	VTPR2	5HV	53,3
	Restrepo	Valencia	VTPR2	6HV	0,0
55	Restrepo	Valencia	VTPR3	1HV	0,0
	Restrepo	Valencia	VTPR3	3HV	0,0
	Restrepo	Valencia	VTPR3	4HV	0,0
	Restrepo	Valencia	VTPR3	5HV	0,0
	Restrepo	Valencia	VTPR3	6HV	0,0

Anexo E: (Continuación)

No.	Municipio	Finca	Código Bacteria	Patógeno	% Inhibición
56	Restrepo	Valencia	VTPR4	1HV	0,0
	Restrepo	Valencia	VTPR4	3HV	0,0
	Restrepo	Valencia	VTPR4	4HV	0,0
	Restrepo	Valencia	VTPR4	5HV	0,0
	Restrepo	Valencia	VTPR4	6HV	0,0
57	Restrepo	Valencia	VTPR5	1HV	0,0
	Restrepo	Valencia	VTPR5	3HV	0,0
	Restrepo	Valencia	VTPR5	4HV	0,0
	Restrepo	Valencia	VTPR5	5HV	0,0
	Restrepo	Valencia	VTPR5	6HV	0,0
58	Restrepo	Valencia	VTPR6	1HV	0,0
	Restrepo	Valencia	VTPR6	3HV	0,0
	Restrepo	Valencia	VTPR6	4HV	0,0
	Restrepo	Valencia	VTPR6	5HV	43,3
	Restrepo	Valencia	VTPR6	6HV	0,0
59	Restrepo	Valencia	VTPR7	1HV	38,9
	Restrepo	Valencia	VTPR7	3HV	0,0
	Restrepo	Valencia	VTPR7	4HV	32,2
	Restrepo	Valencia	VTPR7	5HV	25,6
	Restrepo	Valencia	VTPR7	6HV	0,0
60	Vijes	Samán	STPR1	1HV	67,8
	Vijes	Samán	STPR1	3HV	81,1
	Vijes	Samán	STPR1	4HV	42,2
	Vijes	Samán	STPR1	5HV	55,6
	Vijes	Samán	STPR1	6HV	76,7
61	Vijes	Samán	STPR2	1HV	38,9
	Vijes	Samán	STPR2	3HV	24,4
	Vijes	Samán	STPR2	4HV	64,4
	Vijes	Samán	STPR2	5HV	58,9
	Vijes	Samán	STPR2	6HV	0,0
62	Vijes	Samán	STPR3	1HV	62,2
	Vijes	Samán	STPR3	3HV	54,4
	Vijes	Samán	STPR3	4HV	61,1
	Vijes	Samán	STPR3	5HV	52,2
	Vijes	Samán	STPR3	6HV	57,8

Anexo E: (Continuación)

No.	Municipio	Finca	Código Bacteria	Patógeno	% Inhibición
63	Vijes	Samán	STPR4	1HV	73,3
	Vijes	Samán	STPR4	3HV	90,0
	Vijes	Samán	STPR4	4HV	65,6
	Vijes	Samán	STPR4	5HV	74,4
	Vijes	Samán	STPR4	6HV	74,4
64	Vijes	Samán	STPR5	1HV	61,1
	Vijes	Samán	STPR5	3HV	71,1
	Vijes	Samán	STPR5	4HV	65,6
	Vijes	Samán	STPR5	5HV	65,6
	Vijes	Samán	STPR5	6HV	57,8
65	Vijes	Samán	STPR6	1HV	65,6
	Vijes	Samán	STPR6	3HV	27,8
	Vijes	Samán	STPR6	4HV	50,0
	Vijes	Samán	STPR6	5HV	50,0
	Vijes	Samán	STPR6	6HV	37,8
66	Vijes	Samán	STPR7	1HV	42,2
	Vijes	Samán	STPR7	3HV	21,1
	Vijes	Samán	STPR7	4HV	14,4
	Vijes	Samán	STPR7	5HV	34,4
	Vijes	Samán	STPR7	6HV	60,0
67	Vijes	Samán	STPR8	1HV	30,0
	Vijes	Samán	STPR8	3HV	40,0
	Vijes	Samán	STPR8	4HV	54,4
	Vijes	Samán	STPR8	5HV	0,0
	Vijes	Samán	STPR8	6HV	55,6
68	Vijes	Samán	STPR9	1HV	24,4
	Vijes	Samán	STPR9	3HV	11,1
	Vijes	Samán	STPR9	4HV	37,8
	Vijes	Samán	STPR9	5HV	24,4
	Vijes	Samán	STPR9	6HV	18,9
69	Vijes	Samán	STPR10	1HV	16,7
	Vijes	Samán	STPR10	3HV	14,4
	Vijes	Samán	STPR10	4HV	16,7
	Vijes	Samán	STPR10	5HV	40,0
	Vijes	Samán	STPR10	6HV	78,9

Anexo E: (Continuación)

No.	Municipio	Finca	Código Bacteria	Patógeno	% Inhibición
70	Vijes	Samán	STPR11	1HV	67,8
	Vijes	Samán	STPR11	3HV	68,9
	Vijes	Samán	STPR11	4HV	38,9
	Vijes	Samán	STPR11	5HV	67,8
	Vijes	Samán	STPR11	6HV	65,6
71	Vijes	Samán	STPR12	1HV	43,3
	Vijes	Samán	STPR12	3HV	0,0
	Vijes	Samán	STPR12	4HV	22,2
	Vijes	Samán	STPR12	5HV	25,6
	Vijes	Samán	STPR12	6HV	52,2
72	Vijes	Samán	STPR13	1HV	0,0
	Vijes	Samán	STPR13	3HV	0,0
	Vijes	Samán	STPR13	4HV	0,0
	Vijes	Samán	STPR13	5HV	0,0
	Vijes	Samán	STPR13	6HV	0,0
73	Vijes	Samán	STPR14	1HV	30,0
	Vijes	Samán	STPR14	3HV	16,7
	Vijes	Samán	STPR14	4HV	32,2
	Vijes	Samán	STPR14	5HV	41,1
	Vijes	Samán	STPR14	6HV	61,1
74	Vijes	Samán	STPR15	1HV	47,8
	Vijes	Samán	STPR15	3HV	52,2
	Vijes	Samán	STPR15	4HV	57,8
	Vijes	Samán	STPR15	5HV	60,0
	Vijes	Samán	STPR15	6HV	57,8
75	Vijes	Samán	STPR16	1HV	20,0
	Vijes	Samán	STPR16	3HV	25,6
	Vijes	Samán	STPR16	4HV	0,0
	Vijes	Samán	STPR16	5HV	0,0
	Vijes	Samán	STPR16	6HV	0,0
76	Vijes	Samán	STPR17	1HV	44,4
	Vijes	Samán	STPR17	3HV	27,8
	Vijes	Samán	STPR17	4HV	0,0
	Vijes	Samán	STPR17	5HV	0,0
	Vijes	Samán	STPR17	6HV	0,0

Anexo E: (Continuación)

No.	Municipio	Finca	Código Bacteria	Patógeno	% Inhibición
77	Vijes	Samán	STPR18	1HV	71,1
	Vijes	Samán	STPR18	3HV	84,4
	Vijes	Samán	STPR18	4HV	56,7
	Vijes	Samán	STPR18	5HV	67,8
	Vijes	Samán	STPR18	6HV	71,1
78	Vijes	Samán	STPR20	1HV	14,4
	Vijes	Samán	STPR20	3HV	0,0
	Vijes	Samán	STPR20	4HV	0,0
	Vijes	Samán	STPR20	5HV	0,0
	Vijes	Samán	STPR20	6HV	0,0
79	Vijes	Samán	STPR21	1HV	18,9
	Vijes	Samán	STPR21	3HV	0,0
	Vijes	Samán	STPR21	4HV	0,0
	Vijes	Samán	STPR21	5HV	0,0
	Vijes	Samán	STPR21	6HV	0,0
80	Vijes	Samán	STPR22	1HV	61,1
	Vijes	Samán	STPR22	3HV	58,9
	Vijes	Samán	STPR22	4HV	41,1
	Vijes	Samán	STPR22	5HV	67,8
	Vijes	Samán	STPR22	6HV	66,7
81	Vijes	Samán	STPR23	1HV	0,0
	Vijes	Samán	STPR23	3HV	43,3
	Vijes	Samán	STPR23	4HV	0,0
	Vijes	Samán	STPR23	5HV	43,3
	Vijes	Samán	STPR23	6HV	46,7
82	Vijes	Quintero	QTPR1	1HV	73,3
	Vijes	Quintero	QTPR1	3HV	66,7
	Vijes	Quintero	QTPR1	4HV	71,1
	Vijes	Quintero	QTPR1	5HV	68,9
	Vijes	Quintero	QTPR1	6HV	66,7
83	Vijes	Quintero	QTPR2	1HV	66,7
	Vijes	Quintero	QTPR2	3HV	62,2
	Vijes	Quintero	QTPR2	4HV	0,0
	Vijes	Quintero	QTPR2	5HV	62,2
	Vijes	Quintero	QTPR2	6HV	0,0

Anexo E: (Continuación)

No.	Municipio	Finca	Código Bacteria	Patógeno	% Inhibición
84	Vijes	Quintero	QTPR3	1HV	0,0
	Vijes	Quintero	QTPR3	3HV	0,0
	Vijes	Quintero	QTPR3	4HV	0,0
	Vijes	Quintero	QTPR3	5HV	0,0
	Vijes	Quintero	QTPR3	6HV	0,0
85	Vijes	Quintero	QTPR4	1HV	0,0
	Vijes	Quintero	QTPR4	3HV	0,0
	Vijes	Quintero	QTPR4	4HV	0,0
	Vijes	Quintero	QTPR4	5HV	0,0
	Vijes	Quintero	QTPR4	6HV	0,0
86	Vijes	Quintero	QTPR5	1HV	0,0
	Vijes	Quintero	QTPR5	3HV	0,0
	Vijes	Quintero	QTPR5	4HV	0,0
	Vijes	Quintero	QTPR5	5HV	0,0
	Vijes	Quintero	QTPR5	6HV	0,0
87	Vijes	Quintero	QTPR6	1HV	0,0
	Vijes	Quintero	QTPR6	3HV	0,0
	Vijes	Quintero	QTPR6	4HV	0,0
	Vijes	Quintero	QTPR6	5HV	0,0
	Vijes	Quintero	QTPR6	6HV	0,0
88	Vijes	Bizcocho	BTPR1	1HV	53,3
	Vijes	Bizcocho	BTPR1	3HV	66,7
	Vijes	Bizcocho	BTPR1	4HV	42,2
	Vijes	Bizcocho	BTPR1	5HV	46,7
	Vijes	Bizcocho	BTPR1	6HV	48,9
89	Vijes	Bizcocho	BTPR2	1HV	55,6
	Vijes	Bizcocho	BTPR2	3HV	48,9
	Vijes	Bizcocho	BTPR2	4HV	51,1
	Vijes	Bizcocho	BTPR2	5HV	55,6
	Vijes	Bizcocho	BTPR2	6HV	48,9
90	Vijes	Bizcocho	BTPR3	1HV	42,2
	Vijes	Bizcocho	BTPR3	3HV	0,0
	Vijes	Bizcocho	BTPR3	4HV	0,0
	Vijes	Bizcocho	BTPR3	5HV	22,2
	Vijes	Bizcocho	BTPR3	6HV	0,0

Anexo E: (Continuación)

No.	Municipio	Finca	Código Bacteria	Patógeno	% Inhibición
91	Vijes	Bizcocho	BTPR4	1HV	53,3
	Vijes	Bizcocho	BTPR4	3HV	55,6
	Vijes	Bizcocho	BTPR4	4HV	0,0
	Vijes	Bizcocho	BTPR4	5HV	44,4
	Vijes	Bizcocho	BTPR4	6HV	48,9
92	Vijes	Bizcocho	BTPR5	1HV	60,0
	Vijes	Bizcocho	BTPR5	3HV	53,3
	Vijes	Bizcocho	BTPR5	4HV	57,8
	Vijes	Bizcocho	BTPR5	5HV	53,3
	Vijes	Bizcocho	BTPR5	6HV	53,3
93	Vijes	Bizcocho	BTPR6	1HV	53,3
	Vijes	Bizcocho	BTPR6	3HV	60,0
	Vijes	Bizcocho	BTPR6	4HV	46,7
	Vijes	Bizcocho	BTPR6	5HV	17,8
	Vijes	Bizcocho	BTPR6	6HV	0,0
94	Vijes	Bizcocho	BTPR7	1HV	86,7
	Vijes	Bizcocho	BTPR7	3HV	84,4
	Vijes	Bizcocho	BTPR7	4HV	86,7
	Vijes	Bizcocho	BTPR7	5HV	82,2
	Vijes	Bizcocho	BTPR7	6HV	82,2
95	Vijes	Bizcocho	BTPR8	1HV	60,0
	Vijes	Bizcocho	BTPR8	3HV	42,2
	Vijes	Bizcocho	BTPR8	4HV	46,7
	Vijes	Bizcocho	BTPR8	5HV	55,6
	Vijes	Bizcocho	BTPR8	6HV	55,6
96	Vijes	Bizcocho	BTPR9	1HV	60,0
	Vijes	Bizcocho	BTPR9	3HV	62,2
	Vijes	Bizcocho	BTPR9	4HV	51,1
	Vijes	Bizcocho	BTPR9	5HV	51,1
	Vijes	Bizcocho	BTPR9	6HV	48,9
97	Vijes	Bizcocho	BTPR10	1HV	77,8
	Vijes	Bizcocho	BTPR10	3HV	62,2
	Vijes	Bizcocho	BTPR10	4HV	48,9
	Vijes	Bizcocho	BTPR10	5HV	42,2
	Vijes	Bizcocho	BTPR10	6HV	44,4

F. Anexo: Caracterización Morfológica de las Bacterias antagónicas a los aislamientos de *Alternaria alternata*

Ident. Foto	Aislamiento Bacteriano	Coloración de Gram	Morfología	Características de la Colonia				
				Color	Forma	Borde	Superficie	Densidad
A	CTBF1	Gram (+)	Bailo Corto	Blanca	Irregular	Lobulado	Elevada	Opaca
B	CTBF2	Gram (+)	Bailo Corto	Blanca	Irregular	Ondulado	Acuminada	Opaca
C	GTBS2	Gram (+)	Bacilo	Blanca	Irregular	Erosionado	Umbonada	Opaca
D	GTBS3	Gram (+)	Bacilo corto	Crema	Irregular	Ondulado	Plana	Brillante
E	GTBS4	Gram (+)	Bacilo	Blanca	Irregular	Ondulado	Umbonada	Opaca
F	GTBS10	Gram (+)	Bailo Corto	Blanca	Circular	Enetro	Elevada	Opaca
G	STBS22	Gram (+)	Bailo Corto	Blanca	Circular	Ondulado	Plana	Opaca
H	STBS21	Gram (+)	Bacilo	Blanca	Circular	Entero	Elevada	Opaca
I	STBS19	Gram (+)	Bailo Corto	Blanca	Circular	Entero	Plana	Opaca

Anexo F: (Continuación)

Ident. Foto	Aislamiento Bacteriano	Coloración de Gram	Morfología	Características de la Colonia				
				Color	Forma	Borde	Superficie	Densidad
J	STBS18	Gram (+)	Bacilo Largo	Blanca	Circular	Entero	Elevada	Opaca
K	STBS17	Gram (+)	Bacilo Corto	Blanca	Circular	Entero	Plana	Opaca
L	STBS15	Gram (+)	Bacilo Corto	Blanca	Circular	Entero	Elevada	Brillante
M	STBS14	Gram (+)	Bacilo Largo	Blanca	Irregular	Ondulado	Plana	Opaca
N	STBS9	Gram (+)	Bacilo	Crema	Irregular	Lobulado	Umbonada	Opaca
Ñ	STBS7	Gram (+)	Bacilo	Blanca	Circular	Entero	Elevada	Brillante
O	STBS3	Gram (+)	Bacilo	Blanca	Circular	Entero	Papilada	Brillante
P	STBS1	Gram (+)	Bacilo	Blanca	Circular	Entero	Elevada	Brillante
Q	BTBS2	Gram (+)	Bacilo	Blanca	Circular	Entero	Plana	Opaca
R	BTPR7	Gram (+)	Bacilo	Blanca	Irregular	Ondulado	Plana	Opaca
S	STPR4	Gram (+)	Bacilo	Amarilla	Irregular	Ondulado	Pulvinada	Brillante
T	CTBS5	Gram (+)	Bacilo	Blanca	Irregular	Erosionado	Acuminada	Opaca
U	CTBS6	Gram (+)	Bacilo Largo	Blanca	Circular	Entero	Acuminada	Opaca
V	CTBS7	Gram (+)	Bacilo	Blanca	Circular	Erosionado	Plana	Opaca

Anexo F: (Continuación)

Ident. Foto	Aislamiento Bacteriano	Coloración de Gram	Morfología	Características de la Colonia				
				Color	Forma	Borde	Superficie	Densidad
W	CTBS12	Gram (+)	Bailo Corto	Blanca	Irregular	Lobulado	Acuminada	Opaca
X	CTBS17	Gram (+)	Bacilo	Blanca	Irregular	Lobulado	Elevada	Opaca
Y	CTBS18	Gram (+)	Bacilo	Blanca	Irregular	Lobulado	Plana	Opaca
Z	CTBS19	Gram (+)	Bacilo	Blanca	Irregular	Erosionado	Acuminada	Opaca
AA	CTBS22	Gram (+)	Bacilo	Blanca	Irregular	Ondulado	Acuminada	Opaca
AB	CTBS24	Gram (+)	Bailo Corto	Blanca	Circular	Entero	Elevada	Opaca
AC	CTBS25	Gram (+)	Bacilo	Blanca	Circular	Entero	Acuminada	Opaca
AD	CTBS26	Gram (+)	Bailo Corto	Blanca	Irregular	Erosionado	Elevada	Brillante
AE	CTBS29	Gram (+)	Bacilo	Blanca	Irregular	Ondulado	Elevada	Opaca
AF	CTBS30	Gram (+)	Bacilo	Blanca	Circular	Entero	Planaconvexa	Brillante
AG	PTPR7	Gram (+)	Bacilo	Crema	Circular	Entero	Elevada	Brillante
AH	ATPR11	Gram (-)	Coco	Amarilla	Irregular	Ondulado	Convexa	Brillante
AI	CTBS10	Gram (+)	Bacilo	Blanca	Circular	Entero	Plana	Opaca
AJ	GTBF1	Gram (+)	Bacilo	Blanca	Irregular	Ondulado	Acuminada	Opaca

Anexo F: (Continuación)

Ident. Foto	Aislamiento Bacteriano	Coloración de Gram	Morfología	Características de la Colonia				
				Color	Forma	Borde	Superficie	Densidad
AK	GTBF2	Gram (+)	Bacilo	Blanca	Circular	Entero	Acuminada	Opaca

Anexo G: (Continuación)

Bacteria Antagónica	Endos	OX	Ca	API 20E																				
				ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H ₂ S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	NO ₂
BTBS2	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
BTPR7	.	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
STPR4	.	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+
CTBS5	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-
CTBS6	-	+	+L	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
CTBS7	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
CTBS12	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-
CTBS17	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	-
CTBS18	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-
CTBS19	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+
CTBS22	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-
CTBS24	-	+	+L	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+
CTBS25	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
CTBS26	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+
CTBS29	+	+	+L	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
CTBS30	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+
PTPR7	.	+	+																					
ATPR11	.	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
CTBS10	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GTBF1	+		+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+
GTBF2	-			+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+

Bibliografía

Acosta E.F. y León D.A. (2015). Prototipo de control para un cultivo de tomate cherry en un invernadero. Trabajo de Grado, Universidad Católica de Colombia, Ingeniería Electrónica y Telecomunicaciones. Pág. 1.

Álvarez J.C. (2012). Comportamiento agronómico e incidencia de enfermedades en plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) injertadas. Pág. 117 – 125.

Agronet. 2012. Área cosechada, producción y rendimiento de tomate. En: <http://www.agronet.gov.co/www/htm3b/ReportesAjax/VerReporte.aspx>; consulta: octubre de 2012.

Agronet. Encuesta Nacional Agropecuaria ENA 2014, Área cosechada, producción y rendimiento de tomate En: http://207.239.251.112/www/htm3b/public/ENA/ENA_2014.pdf.

Agrios G.N. (2005). Plant pathology, fifth Edition. Department of Plant Pathology University of Florida.

Aguado G.A., Moreno B., Jiménez B. García E. y Preciado R. (2012). Impacto de los sideróforos microbianos y fitosideróforos en la asimilación de hierro por las plantas: una síntesis. Rev. Fitotec. Mex. Vol. 35 (1). Pág. 9 – 21.

Angel D.I. (2006). Evaluación de técnicas de conservación para hongos filamentosos levaduriformes en el cepario de la Pontificia Universidad Javeriana. Tesis de grado. Pág. 4.

- Ardela G., Fischer G y Balaguera H.E. (2011). Caracterización del crecimiento del fruto y producción de tres híbridos de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) en tiempo fisiológico bajo invernadero. Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas - Vol. 5 - No.1. Pág. 44 – 56.
- Arguelles A., Ongena M., Halimi B., Lara Y., Brans A., Joris B. y Fickers P. (2009). *Bacillus amyloliquefaciens* GA1 as a source of potent antibiotics and other secondary metabolites for biocontrol of plant pathogens. Microbial Cell Factories, 8:63. Pág. 1 – 12.
- Armitage A., Barbara D.J., Harrison R.J., Lane C.R., Sreenivasaprasad S., Woodhall J. y clarkson J.P. (2015). Discrete lineages within *Alternaria alternata* species group: identification using new highly variable loci and support from morphological characters. Fungal Biology 119. Pág. 994 – 1006.
- Babalola O.O. (2010). Beneficial bacteria of agricultura importance. Biotechnol Lett. Biotechnol Lett 32. Pág. 1559 – 1570.
- Badía M., Hernández B., Murrel J., Mahillon J. y Pérez M. (2011). Aislamiento y caracterización de cepas de *Bacillus* asociadas al cultivo del arroz (*Oryza sativa* L.). Rev. Bras. de Agroecología. 6(1). Pág. 90 – 99.
- Beltrán M.C. y García D.J. (2006). *Colletotrichum gloesporioides* Fitopatógeno Asociado a la Nutrición Humana. Investigaciones Andinas, Vol. 8, Núm. 13. Pág. 73 – 80.
- Benavidez M.E., Patriarca A., Cabrera G. y Fernández V.E. (2014). Determinación de perfiles de producción de metabolitos secundarios característicos de especies del género *Alternaria* aisladas de tomate. Revista Iberoamericana de Micología, 31(2). Pág. 119 – 124.
- Benítez S. Bentley J. y Bustamante P. (2007). Aislamiento de los microorganismos cultivables de la rizosfera de *Ornithogalum umbellatum* y evaluación del posible

efecto biocontrolador en dos patógenos del suelo. Ciencias Biomédicas Vol.5 No. 8. Pág. 147 – 153.

Bergey's Manual of Systematic, Bacteriology. (2009). Second Edition, Volume Three, The Firmicutes. Pág. 21 – 128.

Bernal R. (2010). Enfermedades de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) en invernadero en las zonas de Salto y Bella Unión. Serie Técnica N° 181. Pág. 16.

Carreño N., Vargas A., Bernal A.J. Restrepo S. (2007). Problemas fitopatológicos en especies de la familia *Solanaceae* causados por los géneros *Phytophthora*, *Alternaria* y *Ralstonia* en Colombia. Una revisión. Agronomía Colombiana 25(2). Pág. 320 – 329.

Castell M.T. y Escallón M.L. (2009). Evaluación *in vitro* del efecto biocontrolador de levaduras aisladas de filoplano de *Physalis peruviana* Linneaus, 1783, (Uchuva) sobre el hongo fitopatógeno *Alternaria* sp. Universidad Militar Nueva Granada, Facultad de Ciencias Básicas, Biología Aplicada. Pág. 1 – 63.

Castillo A.M., Martínez A., Lara J. (2012). Rizobacterias Aisladas del Trópico Húmedo con Actividad Antagónica sobre *Colletotrichum gloeosporioides*, Evaluación Cuantitativa e Identificación Molecular. Revista Mexicana de Fitopatología, Volumen 30, Número 1. Pág. 11 – 30.

Castillo G., Altuna B., Michelena G., Sánchez J. y Acosta M. (2005). Cuantificación del contenido de ácido indolacético (AIA) en un caldo de fermentación microbiana. Anales de Biología 27. Pág. 137 – 142.

Catello P. y Zaccardelli M. (2015). Evaluation of *Bacillus* strains isolated from solanaceous phylloplane for biocontrol of *Alternaria* early blight of tomato. Biological Control 84. Pág. 11 – 18.

- Clavijo C.; Chipana V., Centeno J.; Zúñiga D. y Guillén C. (2012). Aislamiento, caracterización e identificación de bacterias diazotróficas de la rizósfera del cultivo de *Olea europea* "olivo" en Tacna Perú. *Ecología Aplicada*, Vol. 11, Núm. 2. Pág. 89 – 102.
- Córdova Y., Rivera M.C., Ferrera R., Obrador J.J., Córdova V. (2009). Detección de bacterias benéficas en suelo con Banano (*Musa AAA Simmonds*) cultivar 'Gran enano' y su potencial para integrar un biofertilizante. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, vol. 25, núm. 3 Pág. 253 - 265.
- Dang H., Pryor B., Peever T. y Lawrence C. (2015). The *Alternaria* genomes database: a comprehensive resource for a fungal genus comprised of saprophytes, plant pathogens, and allergenic species. Licensee BioMed Central; This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly credited. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated.
- Dimkić I., Živković S., Berić T., Ivanović Z., Gavrilović V., Stanković S., Fira D. (2013). Characterization and evaluation of two *Bacillus* strains, SS-12.6 and SS-13.1, as potential agents for the control of phytopathogenic bacteria and fungi. *Biological Control* 65. Pág. 312 – 321.
- El-Mohamedy R., Abdel-Kader M.M., El-Kareem F. y El-Mougy N.S. (2013). Inhibitory effect of antagonistic bio-agents and chitosan on the growth of tomato root rot pathogens *In vitro*. *Journal of Agricultural Technology* Vol. 9 (6). Pág. 1521 – 1533.
- Escalona V., Alvarado P., Monardes H., Urbina C. y Martin A. (2009). Manual de cultivo de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Nodo hortícola, VI Región. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas. Pág. 1 – 60.

- Escobar *et al.* 2004. Análisis exploratorio para la optimización de un medio de cultivo para la fermentación de *Bacillus thuringiensis*. Revista Colombiana de Biotecnología Vol. 6, No. 2. Pág. 43 - 53.
- Falero E. (2013). Identificación y caracterización de enzimas bacterianas de origen Antártico, con potencial actividad biotecnológica. Tesis de Grado de la Licenciatura en Bioquímica. Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable. Pág. 22.
- FAOSTAT (2017): <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC>
- Fokkema, J. (1978). Fungal antagonism in the phyllosphere. Ann. Appl. Biol. 89 (1). Pág. 115 – 142.
- Flores M.A., Martínez M.T., Nieto D., Rodríguez J.E., Colinas M.T., Martínez J. (2013). Reducción en la Germinación in vitro de Conidios de *Alternaria alternata* aislada de Eruca sativa con Jugo de Brócoli. Revista Mexicana de Fitopatología, Volumen 31 Número 2. Pág. 180 – 190.
- Fornes R. (2012). Caracterización de 15 variedades locales de tomate de l’Horta de Lleida. Escola Tècnica Superior d’Enginyeria Agrària. Pág. 30.
- FAO.2012. Estadísticas cultivo de tomate. En: www.fao.org/faostat3.fao.org/home/index_es.html; consulta, octubre de 2012.
- González A., Mateos R.A., López M., Hernández M. y González A. (2013). Alternativas para el manejo de Damping off en plántulas de tomate *Lycopersicon esculentum* Mill (L, 1753) (Solanales: Solanaceae). Revista Científica Biológico Agropecuaria Tuxpan 1(1). Pág. 1 – 10.
- Hammamia I., Hsouna A.B., Hamdi N., Gdoura R. y Triki M.A. (2013). Isolation and characterization of rhizosphere bacteria for the biocontrol of the damping-off disease of tomatoes in Tunisia. C. R. Biologies 336. Pág. 557 – 564.

- Hernández A., Velázquez M.G. y A.N. Hernández. (2006). Perspectivas del Empleo de Rizobacterias Como Agentes de Control Biológico en Cultivos de Importancia Económica. Volumen 24, Número 1. Pág. 42 – 49.
- Hernández A.N., Bautista S., Velázquez M.G. y Hernández A. (2007). Uso de Microorganismos Antagonistas en el Control de Enfermedades Postcosecha en Frutos. Revista Mexicana de Fitopatología, Volumen 25, Número 1. Pág. 66 – 74.
- Hernández C.A. (2016). Especies de *Fusarium* y *Penicillium* asociadas a frutales en los departamentos del Cauca y Valle de Cauca, Colombia. Tesis de Maestría, Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira.
- Hou Y., Ma X., Wan W., Long N., Zhang J., Tan Y., Duan S., Zeng Y. y Dong Y. (2016). Comparative Genomics of Pathogens Causing Brown Spot Disease of Tobacco: *Alternaria longipes* and *Alternaria alternata*. PLoS ONE 11(5):e0155258. doi:10.1371/journal.pone.0155258. Pág. 1 – 21.
- Jankiewicz U., Swiontek M. y Saks E. (2012). Identification and characterization of a chitinase of *Stenotrophomonas maltophilia*, a bacterium that is antagonistic towards fungal phytopathogens. Journal of Bioscience and Bioengineering, Vol. 113 No. 1. Pág. 30 – 35.
- Jaramillo J., Rodríguez V. P., Guzmán M., Zapata. M. y Rengifo T. (2007). Manual técnico buenas prácticas agrícolas (BPA) en la producción de tomate bajo condiciones protegidas. FAO, Gobernación de Antioquia, MANA, CORPOICA, Centro de Investigación “La Selva”. Pág. 1 – 314.
- Jaramillo D.F. (2002). Introducción a la Ciencia del Suelo. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias, Medellín. Pág. 391 – 395.

- Jaramillo F.A. Acta Agronomica. Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira. http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/acta_agronomica/article/viewFile/15549/16307
- Jankiewicz U., Swiontek M. y Saks E. (2012). Identification and characterization of a chitinase of *Stenotrophomonas maltophilia*, a bacterium that is antagonistic towards fungal phytopathogens. Journal of Bioscience and Bioengineering, Vol. 113 No. 1. Pág. 30 – 35.
- Jayaraj T., Parthasarathi, N.V. Radhakrishnan. (2007). Characterization of a *Pseudomonas fluorescens* strain from tomato rhizosphere and its use for integrated management of tomato damping-off. BioControl 52. Pág. 683 – 702.
- Kaur P.K., Kaur J. y Saini H.S. (2015). Antifungal potential of *Bacillus vallismortis* R2 against different phytopathogenic fungi. Spanish Journal of Agricultural Research 13 (2). Pág. e1004 – e1111.
- Kesanakurtia D., Kolattukudy P. y Bhardwaja P. (2012). Fruit-specific overexpression of wound-induced tap1 under E8 promoter in tomato confers resistance to fungal pathogens at ripening stage. Physiologia Plantarum 146. Pág. 136 – 148.
- Kumar S., Singh R., Kashyap P., Kumar A. (2013). Rapid detection and quantification of *Alternaria solani* in tomato. Scientia Horticulturae 151. Pág 184 – 189.
- Laiton G.A., Almanza P.J., Balaguera H.E. (2012). Producción y calidad poscosecha de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) larga vida sometido a la aplicación de ácido giberélico. Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas - Vol. 6 - No. 2. Pág. 183 – 195.
- Layton C., Maldonado E., Monroy L., Corrales L.C. y Sánchez L.C. (2011). *Bacillus* spp.; perspectiva de su efecto biocontrolador mediante antibiosis en cultivos afectados por fitopatógenos. NOVA - Publicación Científica en Ciencias Biomédicas Vol.9 No. 15. Pág. 177 – 187.

- Lawrence D., Gannibal P., Peever T. y Pryor B. (2013). The sections of *Alternaria*: formalizing species-group concepts. *Mycologia*, 105(3). Pág. 530 – 546.
- Lugo M.G. (2011). Aplicación de *Bacillus* spp. para el control biológico de *Fusarium oxysporum* schlechtend. f. sp. *radicis-lycopersici* en tomate (*Solanum lycopersicum* L.). Instituto Politécnico Nacional, Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Sinaloa. Pág. 1 – 72.
- Luna L., Martínez R.A., Hernández M., Arvizu S.M. y Pacheco J.R. (2013). Caracterización de rizobacterias aisladas de tomate y su efecto en el crecimiento de tomate y pimiento. *Rev. Fitotec. Mex.* Vol. 36 (1). Pág. 63 – 69.
- MADR - Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, (2017). <http://www.agronet.gov.co/Documents/Tomate.pdf#search=TOMATE>
- Medina J.N., Chimal C.Y., Borges L., Zúñiga J.J., Godoy G. (2014). Aislados bacterianos con potencial biofertilizante para plántulas de tomate. *Terra Latinoamericana* Volumen 32 Número 4. Pág. 273 – 281.
- Mesa, L., Mena. J., Jiménez, G., Ramírez, Y., Smith, E., León, L. (2010). Evaluación en campo de cuatro cepas de *Bacillus* como antagonistas de enfermedades en el cultivo del tomate. Resúmenes del II Taller Latinoamericano de Biocontrol de Fitopatógenos. *Fitosanidad* Vol. 14, No. 1. Pág 65.
- Molina M.R. (2011). Identificación y evaluación de antagonistas del tizón temprano (*Alternaria solani*) en tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill). Tesis de Maestría. Universidad de Guayaquil, Facultad de Ciencias Agrarias. Pág. 1 – 43.
- Moreno L.Y. y Galvis F. (2013). Potencial biofertilizante de bacterias diazótrofes aisladas de muestras de suelo rizosférico. *Pastos y Forrajes*, Vol. 36, No. 1. Pág. 33 – 37.

Pantone Solid Coated. Carta de colores.
http://austinflag.com/uploads/3/4/3/5/34359730/pms_colors.pdf.

Pastor N., Carlier E., Andrés J., Rosas S.B. y Rovera M. (2012). Characterization of rhizosphere bacteria for control of phytopathogenic fungi of tomato. *Journal of Environmental Management* 95. Pág. S332 - S337.

Parvatha V. (2014). Plant Growth Promoting Rhizobacteria for Horticultural Crop Protection. Indian Institute of Horticultural Research, Bangalore, Karnataka, India. © Springer India. Pág. 4 – 11.

Perez, C. y Chamorro, L. (2013). Bacterias endofitas: un nuevo campo de investigación para el desarrollo del sector agropecuario. *Revista Colombiana cienc. Anim.* 5 (2). Pág. 439 – 462.

Peña M.D. y Torres A.M. (2010). Evaluación de actividades promotoras de crecimiento vegetal de rizobacterias de cultivos de Uchuva (*Physalis peruviana* L.) y determinación de su capacidad antagónica frente a *Fusarium oxysporum*. Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias, Carrera de Microbiología Industrial. Pág. 1 – 38.

Pernasetti S. y Di Barbaro G. (2012). Rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal como biofertilizantes. *Biología en Agronomía* 2 (2). Pág. 119 - 128.

Perilla A., Rodríguez L.F. y Bermúdez L.T. (2011). Estudio técnico-económico del sistema de producción de tomate bajo invernadero en Guateque, Sutatenza y Tenza (Boyacá). *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas* - Vol. 5 - No. 2. Pág. 220 – 232.

Prapagdee B., Kuekulvong C. y Mongkolsuk S. (2008). Antifungal Potential of Extracellular Metabolites Produced by *Streptomyces hygrosopicus* against Phytopathogenic Fungi. *International Journal of Biological Sciences*, 4. Pág. 330 – 337.

- Pryor B.M. y Michailides T.J. (2002). Morphological, Pathogenic, and Molecular Characterization of *Alternaria* Isolates Associated with Alternaria Late Blight of Pistachio. The American Phytopathological Society, Vol. 92, No. 4. Pág. 406 – 416.
- Pose G., Patriarca A., Kyanko V., Pardo A. y Fernández V. (2009). Effect of water activity and temperature on growth of *Alternaria alternata* on a synthetic tomato médium. International Journal of Food Microbiology 135. Pág. 60 – 63.
- Quiroga R., Rosales M., Rincón P., Hernández E. y Garrido E. (2007). Enfermedades Causadas por Hongos y Nematodos en el Cultivo de Tomate (*Lycopersicon esculentum* Mili.) en el Municipio de Viláflores, Chiapas, México. Revista Mexicana de Fitopatología, Volumen 25, Número 2. Pág. 114 – 119.
- Reinoso Y., Casadesús R., Luis; García A., Gutiérrez J. y Álvarez V. (2006). Aislamiento, selección e identificación de bacterias del género *Bacillus* antagonistas de *Pectobacterium carotovorum*. Fitosanidad Vol. 10, No. 3. Pág. 187 – 191.
- Robles A.R. (2011). Evaluación de microorganismos antagonistas y sustancias naturales en el control de enfermedades foliares en tomate. Tesis en Opción a la Título Académico de Maestro en Ciencias en Agricultura Sostenible: Mención “Sanidad Vegetal”. 12na Edición. Pág. 1 – 77.
- Rodriguez C.A. (2013). Evaluación de microorganismos promotores de crecimiento vegetal en tomate (*Solanum lycopersicum*) variedad Santa Clara, aislados de residuos lignocelulósicos de Higuera (*Ricinus communis*). Universidad Católica de Manizales, Centro de Investigación Proyección y Desarrollo, Instituto de Investigación en Microbiología y Biotecnología Agroindustrial, Especialización en Microbiología Industrial. Pág. 1 – 61.
- Rodriguez J.H. (2014). Evaluación de marcadores moleculares en la identificación de especies de *Alternaria*. Tesis de Maestría, Maestría en Biología Aplicada, Facultad de Ciencias, Universidad Militar Nueva Granada. Pág. 1 – 93.

- Rodríguez C. y Martín M.J. (2009). Aislamiento y selección de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal en cultivos de Uchuva (*Physalis peruviana* L.) con capacidad antagónica frente a *Fusarium* sp. Trabajo de Grado, Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias, Carrera de Microbiología Agrícola y Veterinaria, Carrera de Microbiología Industrial. Pág. 16.
- Rojas J. y Castillo M. (2007). Planeamiento de la Agro-Cadena del tomate en la región Central Sur de Costa Rica. Ministerio de Agricultura y Ganadería. Dirección Región Central Sur. Programa Regional de Hortalizas. Pág. 23 – 24.
- Sánchez de Prager M. (2007). Las Endomicorrizas: Expresión bioedáfica de importancia en el trópico. Universidad Nacional de Colombia, Sede Palmira. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Capítulo 3. Pág. 84 – 114.
- Sánchez D.B. (2011). Efecto de la inoculación con bacterias promotoras de crecimiento vegetal sobre el cultivo de tomate (*Solanum Lycopersicum* var. Sofía) bajo invernadero. Trabajo de grado. Presentado como requisito para optar el título de Master en Ciencias Biológicas. Pág. 1 – 77.
- Sánchez D.B., Gómez R.M., Garrido M.F., y Bonilla R.R. (2012). Inoculación con bacterias promotoras de crecimiento vegetal en tomate bajo condiciones de invernadero. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas Vol.3 Núm.7. Pág. 1401-1415.
- Sánchez J.L. y Trigos A.R. (2013). Las bacterias y sus interacciones con las plantas. Revista de Divulgación Científica y Tecnológica de la Universidad Veracruzana. Volumen XXVI, Número 3. <https://www.uv.mx/cienciahombre/revistae/vol26num3/articulos/bacterias-interacciones.html>.
- Sañudo R.R. (2013). El cultivo de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) y el potencial endofítico de diferentes aislados de *Beauveria bassiana*. Universidad Autónoma Indígena de México, Institución Intercultural del Estado de Sinaloa, Coordinación

General de Investigación y Postgrado: Maestría en Ciencias en Desarrollo Sustentable de Recursos Naturales. Pág. 1 – 59.

Scagliola M., Pii Y., Mimmo T., Cesco S., Ricciuti P. y Crecchio C. (2016). Characterization of plant growth promoting traits of bacterial isolates from the rhizosphere of barley (*Hordeum vulgare* L.) and tomato (*Solanum lycopersicon* L.) grown under Fe sufficiency and deficiency. *Plant Physiology and Biochemistry* 107. Pág. 187 – 196.

Schwyn, B. and Neilands, J. 1987. Universal chemical assays for the detection and determination of siderophores. *Analy. Biochem.* 160:47-56.

Sepúlveda F., Sepúlveda P. y Morales A. (2012). Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Centro de Investigación Especializado en Agricultura del Desierto y Altiplano (CIE), INIA URURI, Región de Arica y Parinacota. Ministerio de Agricultura. Informativo N°70. Pág. 1 – 4.

Simmons, E. (2007). *Alternaria*. An Identification Manual. CBS Fungal Biodiversity Centre, Utrecht, The Netherlands. Pág. 582-585.

Sosa-Pech M., Ruiz E., Mejía M., Reyes A., Cristóbal J., Valencia A., Gutiérrez O. (2012). Actividad antagonista in vitro de aislados de la clase *Bacilli* de la península de Yucatán contra cuatro hongos fitopatógenos. *Universidad y Ciencia. Trópico Húmedo*. 28(3). Pág. 279-284.

Suarez F.J. (2012). Desarrollo Agropecuario Colombiano. Tomate Milano. <http://dagrocol.blogspot.com/2012/08/tomate-milano.html>.

Tejera B., Rojas M., Heydrich M. (2011). Potencialidades del género *Bacillus* en la promoción del crecimiento vegetal y el control biológico de hongos fitopatógenos. *Revista CENIC Ciencias Biológicas*, Vol. 42, No. 3. Pág. 131 – 138.

- Toledo E. (2013). Identificación, caracterización y evaluación de rizobacterias para el control de hongos fitopatógenos de semillas de *Jatropha curcas* L. Tesis de grado para obtener el grado de maestría en ciencias en Manejo Agroecológico de plagas y enfermedades. Instituto Politécnico Nacional. Pág. 1 – 87.
- Vallabhaneni S. (2012). Soil Microbiology – A Laboratory Manual, Protocols and techniques. LAP Lambert Academic Publishing GmbH & Co.KG.
- Velasco M.L. (2016). Caracterización de bacterias antagónicas a *Fusarium* sp., causante de la marchitez vascular de *Capsicum frutescens* en Guacarí y Bolívar, Valle del Cauca. Tesis de Maestría en Ciencias Agrarias. Univeridad Nacional de Colombia, sede Palmira. Pág. 27.
- Venner C. y Martin M.J. (2009). Aislamiento y selección de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal en cultivos de Uchuva (*Physalis peruviana* L.) con capacidad antagónica frente a *Fusarium* sp. Trabajo de grado. Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias, Carrera de Microbiología Agrícola y Veterinaria, Carrera de Microbiología Industrial. Pág. 1 – 61.
- Woudenberg J.H.C., Groenewald J.Z., Binder M., y Crous P.W. (2013). *Alternaria* redefined. Studies in Mycology 75. Pág. 171 – 212.
- Woudenberg J.H.C., Seidl M.F., Groenewald J.Z., Vries M. de, Stielow J.B, Thomma B.P.H.J., y Crous P.W. (2015). *Alternaria* section *Alternaria*: Species, formae speciales or pathotypes?. Studies in Mycology 82. Pág. 1 – 21.
- Živković S., Stojanović S., Ivanović Z., Gavrilović V., Popović T. y Balaž J. (2010). Screening of antagonistic activity of microorganisms against *Colletotrichum acutatum* and *Colletotrichum gloeosporioides*. Arch. Biol. Sci., Belgrade, 62 (3). Pág. 611 – 623.