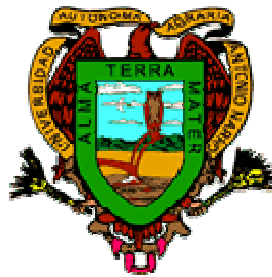


**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO**

**DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA**



Biocontrol de *Rhizoctonia solani* en papa con *Trichoderma harzianum* y
Bacillus subtilis.

Por:

ABIMAE PLASCENCIA RODRIGUEZ

TESIS

Presentada como requisito parcial para
Obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México
Junio de 2008

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA

Biocontrol de *Rhizoctonia solani* en papa con *Trichoderma harzianum* y
Bacillus subtilis.

POR:

ABIMAE PLASCENCIA RODRIGUEZ

Que se somete a consideración del H. Jurado Examinador como requisito parcial para obtener
el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Aprobada por:

Dr. ABIEL SANCHEZ ARIZPE
(PRESIDENTE DEL JURADO)

M.C Ma. ELIZABETH GALINDO CEPEDA.
(ASESOR)

Dr. ISMAEL HERNÁNDEZ B.
(ASESOR)

M.C VIDAL HERNÁNDEZ GARCÍA.
(ASESOR)

COORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DR. MARIO E. VÁZQUEZ BADILLO.

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México Junio de 2008.

AGRADECIMIENTOS

A los profesores investigadores que gracias a ellos pudo ser posible estos trabajos de investigación en especial al Dr. Abiel Sánchez Arizpe, M.C. MA. Elizabeth Galindo Cepeda, M.C. Vidal Hernández García y Dr. Ismael Hernández B. por su participación en esta investigación para tesis.

DEDICATORIAS

A Dios por haber permitido vivir esta época de estudiante que es en la que te llevas bonitos recuerdos de tu juventud.

A mis padres: Zacarías Plascencia Arieta y Rita Rodríguez Andrade., que además de ser mis padres han sabido ser unos buenos amigos con los que convivo desde la infancia y gracias por la inmerecida confianza e incondicional apoyo, ya que lograron que yo me formara académicamente y me hiciera un profesionista.

A mis hermanos: Adrián, Javier, Gonzalo, Ismael y chema (†).

A mis abuelitas: Lucina y Gabina por su cariño.

A mis sobrinos Javier Plascencia Castillo y Pedro Alonso Plascencia Palacios.

A todos mis primos.

A mis padrinos: Alberto y Patricia por sus consejos y aprecio brindado.

A todos mis tíos.

A mis cuñadas: Patricia, Corazón, Azucena.

A la familia Arias en especial a Caritita Arias Anaya y Francisco Azael Aragón Arias por el apoyo brindado.

A la familia Rosas por su amistad brindada durante todo este tiempo de conocernos.

A todos mis amigos y amigas.

ÍNDICE DE CONTENIDO

	Página
ÍNDICE DE CUADROS.....	vii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	viii
INTRODUCCIÓN.....	1
REVISIÓN DE LITERATURA.....	2
Costra negra de la Papa <i>Rhizoctonia solani</i>	2
Importancia.....	2
Ubicación taxonómica.....	2
Características morfológicas.....	3
Grupo de anastomosis de <i>R. solani</i>	3
Condiciones favorables a la enfermedad.....	4
Infección.....	5
Sintomatología.....	5
Ciclo de la enfermedad.....	6
Manejo de la costra negra de la papa.....	7
Control cultural.....	7
Control químico.....	8
Control biológico.....	8
Agentes de control biológicos.....	8
Mecanismos de control biológico.....	10
Competencia.....	10
Antibiosis.....	10
El género <i>Bacillus</i> como rizobacteria promotora del crecimiento de plantas.....	11
Características del género <i>Bacillus</i>	12
<i>Bacillus subtilis</i> como promotora de crecimiento.....	12
Características de <i>Bacillus subtilis</i>	12
Taxonomía de <i>Bacillus subtilis</i>	13
Importancia del uso de bacterias promotoras de crecimiento.....	13
Las virtudes del hongo <i>Trichoderma</i>	14
El poder del <i>Trichoderma harzianum</i>	14

La competencia por nutrientes.....	14
La antibiosis.....	15
El micoparasitismo.....	15
La estimulación de defensas de la planta.....	15
La estimulación del crecimiento de raíz.....	16
MATERIALES Y METODOS.....	17
Ubicación del experimento.....	17
Aislamiento de <i>R. solani</i>	17
Obtención de los productos a evaluar.....	17
Diseño del experimento.....	17
Tratamientos.....	18
Preparación de los tratamientos.....	18
Evaluación de los parámetros.....	18
Incidencia de la enfermedad.....	19
Severidad de la enfermedad en tallos.....	20
Análisis estadístico.....	20
RESULTDOS Y DISCUCIONES.....	21
CONCLUSIONES.....	24
LITERATURA CITADA.....	25
APÈNDICE.....	29

INDICE DE CUADROS

Cuadro1.	Tabla para medir la severidad. (Carlin, y Leiner 1989.).....	20
Cuadro2.	Datos originales de los tratamientos. Departamento de Parasitología UAAAN. 2008.....	30
Cuadro3.	Comparación de medias de la incidencia en el análisis obtenido para el parámetro mejor tratamiento de los productos. Departamento de Parasitología UAAAN. 2008.....	31
Cuadro4.	Comparación de medias en la severidad en el análisis obtenido para el parámetro mejor tratamiento de los productos. Departamento de Parasitología UAAAN. 2008.....	32
Cuadro5.	Comparación de medias entre los productos de los análisis obtenidos para el parámetro mejor dosis de los productos. Departamento de Parasitología UAAAN. 2008.....	32

INDICE DE FIGURAS

Figura1.	Comparación de medias entre los tratamientos para sacar incidencia de los tratamientos. Departamento de Parasitología UAAAN. 2008.....	21
Figura2.	Comparación de medias entre los tratamientos para sacar severidad de los tratamientos. Departamento de Parasitología UAAAN. 2008.....	22
Figura3.	Comparación de medias entre todos los parámetros evaluados con los diferentes tratamientos utilizados. Departamento de Parasitología UAAAN. 2008.....	23
Figura4.	Unidades experimentales usadas. Departamento de Parasitología UAAAN. 2008.....	33
Figura5.	Testigo inoculado. Departamento de Parasitología UAAAN. 2008.....	33
Figura6.	Planta del Tratamiento 4 Repetición 3. Departamento de Parasitología UAAAN. 2008.....	33
Figura7.	Antagonismo de BT32 (<i>Bacillus subtilis</i> + <i>Trichoderma</i>) Departamento de Parasitología UAAAN. 2008.....	33

INTRODUCCIÓN

La papa presenta un gran número de problemas fitosanitarios destacando las enfermedades causadas por hongos como: *Phytophthora infestans*, *Fusarium* spp., *Alternaria solani*, y *Rhizoctonia solani* (Randall, 1993). Esta última tiene una distribución mundial, ocasiona pérdidas en plantas anuales, hortalizas, ornamentales y plantas perennes. En México ha ocasionado pérdidas que van de un 20-50% en la producción de papa (Valadez, 1993). El método más común para disminuir el daño ocasionado por *R. solani* es el químico; con la desventaja de su alta residualidad en el suelo, la que además afecta la microflora benéfica pudiéndose acumular en algunos casos en las partes comestibles de las plantas (Ristaino y Papavizas, 1985). Los resultados de la aplicación de fungicidas en algunos cultivos han sido variables, debido a diferentes niveles de susceptibilidad a los fungicidas que presentan los diversos grupos de anastomosis de *R. solani*. El control biológico se considera como una alternativa seria, tanto hongos como bacterias se han estudiado por su capacidad para controlar enfermedades en un gran número de cultivos (Baker 1987; Dupler y Baker, 1984; Yuen *et al.*, 1992). Una herramienta para el manejo de *R. solani*, es el control con actinomicetos, ya que es más barato que otros métodos de control, más duradero y no causa contaminación ni disturbios ecológicos (Kluepfel, 1993). De los 10,000 compuestos que tienen actividad como antibióticos conocidos hasta los 80's, 67% son producidos por microorganismos; de este 100%, el 67% los producen actinomicetos, 9% otras bacterias, 15% hongos y 9% otros microorganismos (Crueger y Annelise, 1985).

Asociado a este problema en esta investigación se planteo la evaluación de *Trichoderma* y *Bacillus subtilis*. Para el control Biológico de la costra negra de la papa *Rhizoctonia solani*.

REVISIÓN DE LITERATURA

Costra Negra de la Papa *Rhizoctonia solani*.

Importancia.

Rhizoctonia solani es un hongo que daña un amplio rango de hospederos que incluye a frutales, hortalizas, ornamentales, forestales, cultivos básicos y otros; ocasionando cuantiosas pérdidas (Valadez, 1993).

En el cultivo de la papa, *R. solani* ataca a tallos, raíces, estolones y tubérculos; teóricamente se puede decir que por cada estolón atacado (una planta produce varios estolones) se pierde un tubérculo que a la madurez puede llegar a pesar 100 a 150 gr. y se considera una población de unas 45,000 plantas por hectárea, se perderían de 4,000 a 6,000 Kg. de papa (Talavera, 1981).

Ubicación taxonómica.

Alexopoulos y Mims (1979) clasifican a *R. solani* Kühn de la siguiente manera;

Super reino..... Eukaryota

Reino..... Mycetae

División.....Amastigomycota.

Subdivisión..... Deuteromycota.

Clase..... Deuteromycetes

Subclase.....Hiphomycetidae

Orden..... Aganomycetales = Mycelia esterilia.

Género.....*Rhizoctonia*

Especie..... *solani*

Características morfológicas.

Hooker (1990) señala que las características más típicas de *R. solani* son sus ramificaciones en ángulo recto (90 grados), con ligeras constricciones en el punto de origen de la ramificación, formación de un septo en la rama cercana a su origen.

El micelio es casi siempre de color café o castaño oscuro. Las hifas son algo gruesas, y cuando jóvenes tienen sus células multinucleadas y se ramifican cerca de la septa distal de la célula.

Agrios (2005) señala que *R. solani* rara vez produce un estado perfecto del basidiomiceto conocido como *Thanetophorus cucumeris*. Esta etapa perfecta se forma cuando hay suficiente humedad, tiene el aspecto de un mildiu fino que se desarrolla sobre el suelo u hojas y tallos infectados que se encuentran inmediatamente por arriba de la superficie del suelo.

Cepeda y Hernández (1987) describen este estado, mencionando que las fructificaciones son blancuzcas y se forman sobre un himenio discontinuo de basidios oblongos o en forma de barril, en racimos terminales o erectos. Los basidios frecuentemente están conectados y cada basidio produce cuatro esterigmas erectos levemente divergentes. En cada esterigma se produce una basidiospora hialina, de pared delgada, lisa, elipsoide con un lado aplanado o ampliamente ovalado y ápice truncado, citan a la vez que las basidiosporas germinan por repetición.

Grupos de anastomosis de *R. solani*.

Rhizoctonia solani está dividido en grupos basados en la anastomosis hifal. Esta es una manifestación somática mostrando incompatibilidad entre aislamientos. La hifa de un aislamiento representando el mismo grupo de anastomosis (AG por sus siglas en inglés) puede anastomosarse con alguna otra del mismo grupo, pero no con hifas de grupos diferentes; actualmente hay 12 grupos de anastomosis conocidos (Carling y Leiner, 1990).

Adams y Butler (1979) mencionan que la primera subdivisión natural de *R. solani* fue hecha en 1936 por Schultz, quien dividió las especies según la anastomosis hifal. Parmeter *et al.*, (1969) reconocieron cuatro grupos de anastomosis: AG-1, AG-2, AG-3 y AG-4. Los aislamientos del AG-3 son identificados como la principal causa de la enfermedad ocasionada por *Rhizoctonia solani* en papa, aunque en recientes investigaciones ha llamado la atención la patogenicidad de aislamientos de AG-4 y AG-5. Además, AG-2-1, AG-2-2, y AG-9 han sido asociados con plantas enfermas de papa (Carling y Leiner, 1990). Los grupos de anastomosis restantes incluyendo AG-8, no han sido reportados en asociación con papa (Carling y Leiner, 1986).

Condiciones favorables a la enfermedad.

Brenchley y Wilcox (1979) mencionan que la luz, la temperatura y la humedad del suelo tiene un efecto considerable sobre la actividad parasítica de *R. solani*, pero en la práctica probablemente actúan conjuntamente. Los mismos autores citan que antes de la plantación, los brotes expuestos a la luz son menos atacados que aquellos mantenidos en la oscuridad, pero después de la plantación, los brotes que han emergido bajo condiciones de luz parecen ser más resistentes al ataque que aquellos que emergen antes.

Carling y Leiner (1990) señalan que *R. solani* comúnmente se presenta donde prevalecen condiciones ambientales frescas y húmedas, es menos común o puede no ocurrir donde las condiciones ambientales son normalmente cálidas y secas. En investigaciones realizadas por los mismos autores para determinar el efecto de la temperatura sobre la virulencia de *R. solani* en papa determinaron que a temperaturas frescas (10°C) los aislamientos de AG-3 son más virulentos. A temperaturas más cálidas (21.1°C) los aislamientos de AG-5, y AG-8 pueden ser más importantes en la etiología de la enfermedad. No se tienen reportes previos de que AG-8 este en asociación con papa, pero se cree que este patógeno es potencialmente muy dañino.

Infección.

Campos (1987) menciona que el patógeno penetra a través de la cutícula y epidermis en forma mecánica, inicialmente produce un cojinete de infección a partir del cual emite clavijas de infección o mediante hifas individuales; además, puede penetrar por aberturas naturales o por heridas.

Sintomatología.

Hooker (1990) menciona que en la superficie de los tubérculos maduros se forman esclerocios de color negro o castaño oscuro. Los esclerocios pueden ser chatos y superficiales, grandes e irregulares en forma de terrones, de ahí el nombre común de "costra negra". Generalmente la epidermis del tubérculo por debajo de los esclerocios no presenta ninguna anomalía. Otros síntomas en los tubérculos incluyen agrietaduras, malformaciones, concavidades y necrosis en el extremo de unión con el estolón.

Mendoza y Pinto (1983) señalan que en condiciones favorables a *R. solani* ataca plántulas antes de que hayan emergido o poco después de la emergencia del suelo; las lesiones son hundidas, de tamaño variable, con coloraciones de café canela a café rojizo. Si las condiciones son favorables, las lesiones se extienden y adquieren un aspecto hundido y pueden llegar a cubrir todo el tallo y destruir las raíces debilitando a la planta o causando un acentuado amarillamiento.

Los daños más severos a la planta se producen en primavera poco después de la siembra; el hongo mata los brotes subterráneos retardando o anulando su emergencia, especialmente en suelos fríos y húmedos, lo que da como resultado campos con plantas desiguales en el crecimiento, plantas débiles y reducción en el rendimiento. Los brotes que llegan a emerger también se infectan, formándose cánceres en los tallos en desarrollo, los que a menudo llegan a estrangularlos ocasionando su colapso. El estrangulamiento parcial de los tallos puede suscitar diversidad de síntomas como retardo en el desarrollo de la planta, arrosamiento del ápice, necrosis cortical del tejido leñoso, pigmentación púrpura de las

hojas, aparición de tubérculos aéreos y a menudo clorosis y amarillamiento (Hooker, 1990; Walker, 1975).

Las lesiones que se forman en los estolones son de color castaño rojizo y provocan la muerte de los mismos. En suelos húmedos y ricos en humus *R solani* produce en la base del tallo de la papa y de algunas malezas un fieltro micelial de color blanco sucio, sobre las que se originan las basidiosporas y le dan a la superficie una apariencia polvorienta, considerándose a esta como la fase perfecta del hongo (Romero, 1988).

Ciclo de la enfermedad.

La siembra de tubérculos infestados con esclerocios favorece el desarrollo de la enfermedad, siendo el inoculo del tubérculo más importante en los estados tempranos del desarrollo de la enfermedad (Frank, y Leach, 1980), dado que los esclerocios del tubérculo, son más virulentos que los presentes en el suelo (Hill y Anderson, 1989), Bajo condiciones favorables para el hongo se considera que tan sólo el 5 por ciento de esclerocios sobre la superficie del tubérculo puede causar serios daños en la brotación de la papa (Powelson *et al.*, 1993). En estudios realizados en León, Gto. Se encontró que el inoculo de semilla puede reducir el rendimiento hasta en un 25 por ciento (Virgen, 2001).

Hooker (1990) menciona que en la primavera cuando las condiciones son generalmente favorables, los esclerocios germinan e invaden los tallos de papa o los brotes emergentes, especialmente a través de heridas. Durante la etapa de crecimiento de las plantas, tanto las raíces como los estolones son invadidos a medida que se van desarrollando. La formación de esclerocios sobre los tubérculos nuevos se realiza en cualquier momento, dependiendo de las condiciones ambientales, sin embargo, el desarrollo máximo ocurre después de que ha matado la planta, cuando los tubérculos permanecen aún enterrados.

Mendoza y Pinto (1983) señalan que los esclerocios se producen al inicio de las lluvias y que estos germinan entre los 8 y 30 °C, con óptimo de 21 a 25 °C.

Manejo de la Costra Negra de la Papa.

Control cultural.

Paredes (1989) recomienda que para evitar la presencia del hongo en un terreno es conveniente realizar rotación de cultivos durante dos o cuatro años consecutivos, usar semilla sana y no utilizar como abono el estiércol proveniente de animales que se hayan alimentado con papa o plantas enfermas.

Por su parte López (1989) determinó el efecto de extractos de crucíferas (col, coliflor y brócoli) *in vitro* y residuos de las mismas a nivel de invernadero, sobre el desarrollo de *R. solani*. En el laboratorio utilizó concentraciones de extractos (0, 500, 1000, 1500 y 2000 ppm), mientras que en invernadero utilizó diferentes partes de plantas (hoja, tallo y raíz); y encontró que las dosis de 1000 y 1500 ppm afectaron más el desarrollo del hongo, el extracto del tallo inhibió más el desarrollo micelial de *R. solani*, seguido de la hoja, planta completa y raíz. En invernadero concluye que los extractos y residuos de coliflor fueron más eficientes, sobre el desarrollo de *R. solani*, posteriormente los de col y por último los de brócoli.

Por su parte Agrios (2005) recomienda sembrar tubérculos libres de la enfermedad, evitar sembrar en tierras húmedas y poco drenadas, debe haber espacios amplios entre plantas para que se permita una buena aireación de la superficie del suelo y de las plantas.

Martinson y Rehiyani (1991) determinaron que el uso de estiércol animal (pollo y cerdo) agregado a suelo infestado con esclerocios de *R. solani* puede reducir el potencial de la enfermedad. Ambos autores determinaron que el potencial de la enfermedad es mucho menor en suelos abonados con estiércol que en suelos no abonados, por lo que ellos consideran el estiércol como un recurso para una estrategia de control de este patógeno.

Control químico.

Escamilla (1996) evaluó los funguicidas Pencycuron a dosis de 1, 2, y 2.5 kg/ton, Tolcoflos-metil a 5.0, 6.5 y 8 Kg. /ha y PCNB a 12, 16 y 20 litros/ha; determinó que el Pencycuron a las diferentes dosis controla mejor la severidad de la enfermedad, así mismo menciona que los productos químicos Pencycuron (2 kg/ton) y Tolcoflos-metil (5 Kg. /ha) presentaron mayor número de tubérculos. Resultados similares encontró Davies *et al.*, 1996 comparando los funguicidas Azoxystrobin 500 g i.a. /Kg., Fludioxonil 100 g i.a./litro y Pencycuron 250 gr. i.a./litro; encontrando que Fludioxonil fue el que presentó menor incidencia y severidad de *R. solani*, seguido de Pencycuron y por último Azoxystrobin a la dosis de 224 g/ha.

Control biológico.

Liu y Baker (1980) determinaron que existe antagonismo de *Trichoderma harzianum* contra *R. solani*. En laboratorio observaron que las ramificaciones de *Trichoderma* son capaces de atacar y enrollarse alrededor de las hifas de *R. solani*. Posteriormente observaron lisis y separación de las hifas de *R. solani* atacadas. No se observó penetración de las hifas de *Trichoderma* sobre *R. solani*. Además generaron la supresión de *R. solani* del suelo a partir de monocultivos sucesivos con rábano en intervalos semanales en suelos infectados con el patógeno. Sucesivas plantaciones de pepino también generaron supresión la cual fue asociada con poblaciones de *Trichoderma sp.*

Agentes de Control Biológico.

Los agentes factibles para usarse en control biológico de patógenos en la rizósfera lo constituyen principalmente las rizobacterias y las micorrizas. Entre las rizobacterias que se han probado por sus efectos de control biológico se encuentran: *Actinoplanes*, *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Amorphosporangium*, *Arthrobacter*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Cellulomonas*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Micromonospora*, *Pseudomonas*, *Pasteuria*, *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Setratia*, *Streptomyces* y *Xanthomonas* (Weller, 1988).

Mew y Rosales (1986) reportaron que bacterias fluorescentes y no fluorescentes inhiben el desarrollo micelial de *R. solani*, afectaron la viabilidad del esclerocio y promueven ligeramente la germinación de semillas de arroz. También se encontró que una raza designada como M51 de la bacteria *Bacillus subtilis* es particularmente activa hacia *F. oxysporum* f sp. *dianthi* *in vitro* e *in vivo* y fue inhibidora hacia otras tres especies de *Fusarium*, *F. oxysporum* se previno por un periodo de dos meses después del tratamiento de las plantas con *B. subtilis* M-51, y se sugirió que la protección de las plantas depende de la presencia física de la bacteria sobre las células de las raíces (Filippi et al., 1984 y Filippi et al., 1987).

Dentro de los hongos más estudiados por su efecto de control biológico se encuentran *Penicillium*, *Trichoderma* y *Aspergillus*. (Virgen, 1990) encontró una asociación entre la alta incidencia de *Trichoderma viridae* en el rizoplasma y la resistencia al marchitamiento del tomate causada por *Verticillium*, sugiriendo que la resistencia está ligada con la predominancia de este hongo en el rizoplasma. Se han encontrado hongos micorrízicos que protegen infecciones por patógenos de la rizósfera. Entre los principales hongos micorrízicos se encuentran: *Boletus bovinus*, *B. subtumentosus*, *Lactarius deliciosus* (micorrizas ectotróficas), *Psilotum*, *Pysolitus* (micorrizas endotróficas) de gran interés son las micorrizas vesículo-arbusculares que están ampliamente distribuidas en el reino vegetal, y existe gran interés en ellas por su posible significado biológico (Harley, 1965).

Las bacterias promotoras del crecimiento han sido utilizadas como agentes de control biológico, además de incrementar el rendimiento. Klepper, 1999, sumergió tubérculos de papa en una suspensión de cepas bacterianas individuales y luego las sembró en macetas con suelo de campo, las bacterias promotoras del crecimiento estimularon el desarrollo temprano de los estolones y la producción entre el 5 y 25 por ciento con un promedio de aumento entre 10 a 12 por ciento, además las bacterias se encontraron también en la superficie de los tubérculos al final de la cosecha, aunque murieron rápidamente después de la cosecha debido a la intolerancia a la luz.

Mecanismos de Control Biológico.

En 1960 se suscribió el uso del término antagonismo para todas aquellas interacciones en la cual al menos una de las especies interactuantes es dañada. Los mecanismos de supresión del patógeno por un agente de control biológico son; competencia por sustrato, exclusión, antibiosis y explotación (que incluye parasitismo y predación), sideróforos y resistencia inducida (Baker, 1987).

Competencia.

En la competencia por nutrientes proporcionados por los exudados de raíces y semillas probablemente ocurren muchas interacciones entre microorganismos patógenos y no patógenos (Weller, 1988); en concreto, competencia es cualquier interacción entre dos o más poblaciones de especies de las cuales afectan su desarrollo y sobrevivencia. Los microorganismos benéficos especialmente actinomicetos se incrementan principalmente con el uso de aditamentos orgánicos y compiten por la raíz (Sun y Huang, 1985).

Antibiosis.

Se considera como antagonismo mediado por metabolitos específicos y no específicos de origen microbiano, por agentes Utricos, enzimas, compuestos volátiles u otras sustancias tóxicas (Fravel, 1988); puede considerarse como la relación en la cual una especie A produce una sustancia enemiga a la especie B, sin que la especie A derive cualquier beneficio directo. La palabra antagonismo fue introducida a la microbiología por primera vez en 1874 por Roberts al demostrar una acción antagónica entre *Penicilium glaucum* y una bacteria (Baker, 1987).

En un trabajo realizado por Tschen y Kuo (1985) para determinar el efecto antagónico *in vitro* de *Bacillus subtilis* sobre *Rhizoctonia solani*, observaron claramente las zonas de inhibición además de observar en los puntos de las hifas un crecimiento anormal cuatro días

después de la exposición al antibiótico producido por *B. subtilis*. Además determinaron que la bacteria produce sustancias antibióticas que pertenecen a un complejo formado por bacilycin y fergymycin.

Weller (1988) reporta que la raza A13 de *Bacillus subtilis* es inhibidora de varios patógenos de plantas tanto *in vitro* como en campo. El tratamiento a semilla con esta bacteria como es el caso de zanahoria, aumentó su rendimiento en un 48 por ciento, en trigo en un 33 por ciento y en cacahuete arriba de un 37 por ciento, siendo desde 1983 *B. subtilis* A13 un tratamiento comercial para cacahuete.

Un aislamiento de *B. subtilis* inhibió *in vitro* al agente causal de la muerte de la vid *Eutypa lata*. En PDA, *B. subtilis* causó el 91 por ciento de inhibición del crecimiento micelial y un 100 por ciento de inhibición en la germinación de ascosporas (Ferreira *et al.*, 1991).

López y Virgen (1994) reportaron el antagonismo de la bacteria *B. subtilis* a *Fusarium oxysporum*, *Alternaria sp* y *Botrytis sp*, y observaron un desarrollo anormal de hifas y conidias.

El género *Bacillus* como rizobacteria promotora del crecimiento de plantas.

Gran número de bacterias de vida libre pueden ser consideradas como cepas PGPR; ha sido reportado que especies de los géneros *Azotobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *mafi*, entre otros, promueven el crecimiento de plantas en diferentes cultivos.

Dentro de este grupo, el género *Bacillus* es de gran interés y ha sido objeto de estudio en la promoción del crecimiento de plantas por varios años debido a las ventajas que éste ofrece sobre otros géneros bacterianos (Glick, 1995).

Características del género *Bacillus*

Los bacilos en general están clasificados dentro de los microorganismos aeróbicos o facultativos y productores de catalasa. Tienen un ADN (mol% G+C) de 32 -8. Pueden ser Gram positivos o Gram variables, en general producen endosporas o sea esporas que se forman dentro de la célula.

Las características generales del género *Bacillus* son:

- Producen endosporas, las que son termoresistentes y también resisten a agentes perjudiciales como la desecación, la radiación, los ácidos y los desinfectantes químicos.
- Muchos bacilos producen enzimas hidrofílicas extracelulares que descomponen polisacáridos, ácidos nucleicos y lípidos, permitiendo que el organismo emplee estos productos como fuentes de carbono y donadores de electrones. Muchos bacilos producen antibióticos y son ejemplos de estos la bacitracina, polimixina, tirocidina, gramicidina y circulina.
- Los bacilos en general crecen bien en medios sintéticos que contienen azúcares ácidos orgánicos, alcoholes, etc. como las únicas fuentes de carbono y el amonio como única fuente de nitrógeno.
- Viven dentro los límites de temperatura de 55 a 70°C. El límite inferior de pH para *Bacillus* es de 2 a 3 (Glick, 1995).

***Bacillus subtilis* como promotora de crecimiento.**

Características de *Bacillus subtilis*

Bacillus subtilis es una bacteria gram positiva, masófila, no patógena, que posee la capacidad de formar esporas ovales o cilíndricas, estructuras altamente resistentes y viables por períodos de tiempo inconmensurables. *B. subtilis* está emparentado filogenéticamente con

patógenos de importancia, tal el caso de *B. anthracis* y *Clostridium* sp., por lo cual es interesante utilizar esta bacteria como modelo de investigación. Dado que el hábitat natural de *B. subtilis* es el suelo, el cual está sometido a grandes fluctuaciones de temperatura, y dada la importancia que tienen los factores de transcripción Spo0A para la formación de esporas y de Sigma B en la adaptación a otros tipos de estrés, se decidió estudiar la posible relevancia de estos reguladores de la transcripción en la respuesta y adaptación de *B. subtilis* ante un descenso súbito de la temperatura de crecimiento (Méndez, 2004).

Taxonomía de *Bacillus subtilis* (Bergey, 2001).

Reino.....Procariote
 Fylum.....Bacterioidetes
 Clase.....Sphingobacteria
 Orden.....Sphingobacteriales
 Familia..... Flexibacteriaceae
 Género..... *Bacillus*
 Especie.....*subtilis*

Importancia del uso de bacterias promotoras de crecimiento.

El uso de bacterias como promotoras de crecimiento ha despertado gran interés en muchos investigadores, y en la actualidad se está tratando de llevar este interés hasta los agricultores considerando los beneficios que se pueden obtener en caso de que estas bacterias logren adaptarse a las condiciones de un cultivo.

Algunas de las ventajas de utilizar esta bacteria son; no dañan el ecosistema, no se modifica el microhábitat del suelo conservando su microfauna original; para el productor puede resultar bastante rentable considerando que el costo de esta bacteria es muy bajo comparado con el costo de productos químicos convencionales, además de que es de fácil aplicación.

Las virtudes del hongo *Trichoderma*

Los hongos del género *Trichoderma* están presentes en casi todos los suelos agrícolas. El interés actual en este género proviene esencialmente de sus propiedades enzimáticas y antibióticas; las facultades de antagonismo de *Trichoderma* han sido descritas desde el siglo pasado por Vuillemin en 1887 (2000Agro, 2003) y actualmente este hongo es, entre los microorganismos utilizados en el control biológico, uno de los casos raros de resultados consistentes e el combate de hongos patógenos. Las especies de *Trichoderma* que recuentemente se utilizan para el biocontrol, son las especies *harzianum* y *viride*, de las cuales la primera es la que ha sido más estudiada.

El poder del *Trichoderma harzianum*

Trichoderma harzianum es un fungicida con un amplio espectro de acción. Es eficaz contra diversos organismos; tanto en el suelo contra pudriciones de raíces como Armillaria, *Rhizoctonia*, *Pythium*, *Phytophthora*, *Fusarium*, enfermedades que se presentan en numerosas especies tanto anuales como perennes; o bien, contra enfermedades de órganos aéreos como Botritis o Stereum.

Se han estudiado cuatro modos de acción de esta especie de hongo: la competencia por nutrimentos, la antibiosis, el micoparasitismo y la estimulación de defensas de la planta (Ciencia y tecnología, 2003).

La competencia por nutrimentos

Algunos hongos tienen un comportamiento saprofítico. Al colonizar desechos vegetales producen una infección primaria y gracias a los elementos nutritivos de esos desechos, el patógeno logra contaminar los órganos sanos. *Trichoderma harzianum* compete y coloniza más rápidamente los desechos vegetales y retarda la instalación de otros hongos.

La antibiosis

Los antibióticos volátiles tienen un efecto esencialmente fungistático debilitando al agente patógeno y haciéndolo más sensible a los antibióticos solubles. *Trichoderma harzianum* produce numerosos antibióticos como son: la trichodermina, la suzukacilina, la alameticina, la dermadina, la penicilina, los trichotecenos, las trichorzianinas, entre otros (Ciencia y tecnología, 2003).

El micoparasitismo

El *Trichoderma harzianum* manifiesta propiedades parasitarias contra diversos hongos, produciendo alteraciones en las hifas del parásito. Inicialmente *Trichoderma* realiza un reconocimiento y adherencia sobre la pared del patógeno (Ciencia y tecnología, 2003). En segundo término, *Trichoderma* promueve la hidrólisis de las hifas y esclerocios del patógeno por medio de las enzimas producidas (xilinasas, quitinasas, pectinasas, glucanasas y glucosidasas, entre otras).

La estimulación de defensas de la planta

Trichoderma harzianum induce a la planta, por medio de sustancias secretadas por el microorganismo a producir fitoalexinas, a las cuales son sensibles algunos hongos patógenos.

Las fitoalexinas son producidas en forma natural por la planta como respuesta a heridas. La cumarina actúa como una defensa de la planta contra animales; otros productos sólo son formados cuando se produce la invasión de las raíces u otros órganos por hongos como el orquinol, la trifolirizina o la isocumarina, las que hipotéticamente actúan en forma comparable a los anticuerpos en los animales (Ciencia y tecnología, 2003). En el caso de *Trichoderma harzianum*, éste induce altos niveles de fitoalexinas de tal forma que el nivel tóxico alcanzado evita que otros hongos patógenos se puedan establecer.

La estimulación del crecimiento de la raíz

Se ha observado que en experimentos utilizando plantas de bajo vigor provenientes de semillas sometidas a estrés oxidativo, al ser sometidas a tratamiento con *Trichoderma*, recuperaron su vigor al ser colonizadas por el hongo, revertiendo los daños por oxidación de los componentes de las membranas celulares de la raíz (Ciencia y tecnología, 2003).

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del experimento.

El trabajo se realizó en el laboratorio de Fitopatología del departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro; localizado en Buenavista Saltillo, Coahuila México.

Aislamiento de *R solani*.

El aislamiento se realizó a partir de siembras de tejido dañado por el hongo, en tubérculos de papa. Estos se lavaron con agua corriente, se cortaron pequeños trozos y se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 3% por 3 min., se lavaron 3 veces con agua destilada estéril para eliminar el exceso de cloro y se secaron con papel estroza estéril. Los trozos se colocaron en cajas Petri con medio Papa Dextrosa y Agar (PDA), las cajas se incubaron a una temperatura de 25°C por 4-5 días, para su desarrollo.

Obtención de los productos evaluados.

Los productos a evaluar existen en el mercado por lo que se compraron en presentación de polvo

Diseño del experimento.

Para este experimento se utilizó el cultivo papa (variedad papita gallo) donde se le aplicaron diez tratamientos con cinco repeticiones por tratamiento a continuación se mencionan.

Tratamientos.

T1 = Bacillus subtilis A dosis de 343.33 mg. x Planta

T2 = Bacillus subtilis A dosis de 1370 mg. x Planta

T3 = Bacillus subtilis A dosis de 1720 mg. x Planta

T4 = Trichoderma. A dosis de .206 mg. x Planta

T5 = Trichoderma. A dosis de .822 mg. x Planta

T6 = Trichoderma. A dosis de .1.032 mg. x Planta

T7= Mezcla de Bacillus subtilis A dosis de 1370 mg. + Trichoderma. A dosis de .822 mg. x Planta

T8 = Tiabendazol. A dosis de 1370 mg. x Planta

T9 = Testigo inoculo

T10 = Testigo sin inocular

Preparación de los tratamientos.

Previo a la siembra de la papa se etiquetaron los vasos de hielos secos, agregando sustrato a la mitad y posteriormente depositando la papa en el vaso, aplicamos los productos y inoculamos el hongo; tapamos la papa con sustrato y colocamos en una mesa.

Evaluación de los parámetros.

Los parámetros que se evaluaron para cada uno de los tratamientos fueron los siguientes: número de tallos, incidencia, severidad, peso fresco de la planta completa, peso fresco de la papa, peso fresco del tallo, peso fresco de la raíz, peso seco de la planta completa, peso seco de la papa, peso seco del tallo, peso seco de la raíz, longitud de la raíz, longitud del tallo y grosor del tallo.

La medición de éstos se realizó a los 30 días de establecido el cultivo. Para la medición de las longitudes se utilizó una regla graduada en centímetros y milímetros; para la medición del peso fresco se utilizó una balanza granataria, y para la medición del

peso seco se utilizó una balanza analítica dado que en algunos datos se obtuvieron datos meros a un gramo.

Para la medición de peso fresco el procedimiento fue el siguiente: para esto fue necesario sacar la planta completa con todo y cepellón de las macetas. Enseguida se retiró la vermiculita de la raíz posteriormente lavamos la raíz para quitar el sustrato utilizado que quedó adherido a la raíz; una vez retirado todo el sustrato proseguimos a secar la raíz dejándola escurrir y poniéndola al viento de un ventilador para poder tomar el peso exclusivamente de la raíz. De igual forma se tomó el peso del tallo (entendiendo por tallo toda la planta con follaje pero sin la raíz) y finalmente el peso de la planta completa.

De igual forma, la medición de las longitudes (raíz y tallo) se realizó una vez escurrida la planta. Para la medición de la raíz se tomó en cuenta la raíz completa hasta la base del tallo que es donde cambia la coloración de café a verde.

Para la medición de peso seco fue necesario dejar secar al ambiente las plantas medidas anteriormente durante un periodo de una semana. Para la medición de este parámetro se utilizó una balanza analítica considerando que los datos fueron cantidades inferiores a un gramo.

Incidencia de la enfermedad

La evaluación de este parámetro se realizó al momento de la cosecha, clasificando los tallos de los tratamientos en sano (sin esclerocios) y en enfermo (con esclerocios). Posteriormente se colocó el número de tallos tanto sanos como enfermos y se pasaron. Los datos referentes a número de tallos se transformaron a datos porcentuales.

Para realizar los análisis de varianza de estos parámetros se transformaron los datos con la fórmula arco seno $\sqrt{x/100}$. Estas transformaciones fueron realizadas para estabilizar las varianzas (Snedecor y Cochran, 1979).

Severidad de la enfermedad en tallos

La severidad de este parámetro se realizó de acuerdo a tres clases según el nivel de daño observado (cuadro 1). Posteriormente se contaron el número de tallos presentes en cada clase y los datos obtenidos fueron transformados a porcentaje.

Para realizar el análisis de varianza se transformaron los datos porcentuales con la fórmula arco seno $\sqrt{x/100}$.

Cuadro1. Tabla para medir la severidad. (Carlin, y Leiner 1989.)

0	Sin lesiones	Sano
1	Lesiones con longitud	2.5mm.
2	Lesiones con longitud	2.6 – 5.0mm.
3	Lesiones con longitud	5.1 – 7.5mm.
4	Lesiones con longitud	7.6 mm.

Análisis estadístico.

Los datos obtenidos fueron analizados por el método estadístico bloques al azar usando el paquete de diseño experimental del programa estadístico SAS (Statistical Analysis System) La comparación de medias se realizó utilizando un nivel de significancia de 0.05.

RESULTADOS Y DISCUSION.

Se tomaron por separado únicamente los parámetros de incidencia y severidad, posteriormente tomando todos los datos para ser analizados en conjunto metiéndolos al programa (SAS).

Incidencia.

En general la incidencia de las pudriciones de tallos subterráneos es alta en los tratamientos que fueron inoculados con la *Rhizoctonia solani* en comparación con el testigo que no fue inoculado, los tratamientos mostraron que la que tubo mayor incidencia fue BT32 (*Bacillus subtilis* + *Trichoderma*) ya que se muestra un antagonismo entre los dos productos, ya que se observo mal formación en la planta (Figura 1, Figura 7 y Cuadro 3). Donde se muestra los daños.

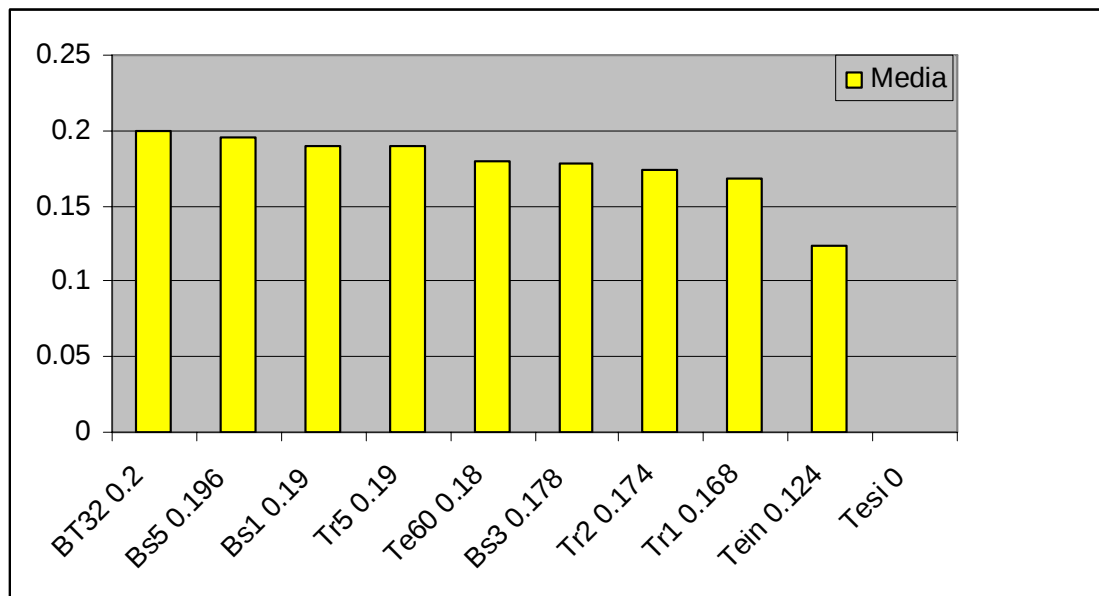


Figura 1. Comparación de medias entre los tratamientos para sacar incidencia de los tratamientos. Departamento de Parasitología UAAAN. 2008.

La severidad medida en los diferentes tratamientos; mostró T3 (*Bacillus subtilis* A dosis de 1720 mg. x Planta). Fue una de las que obtuvo mayor severidad, en comparación con los tratamientos; T1 (*Bacillus subtilis*) y T5 (*Trichoderma*.) mostrando menor daño en cuanto a severidad obteniendo un resultado aceptable en cuanto a severidad, (Figura 2,) en donde se muestra la grafica de severidad, (Figura 5) Mostrando la severidad en el testigo inoculado y el (Cuadro 4) en donde se observa como se comportaron los tratamientos estadística mente.

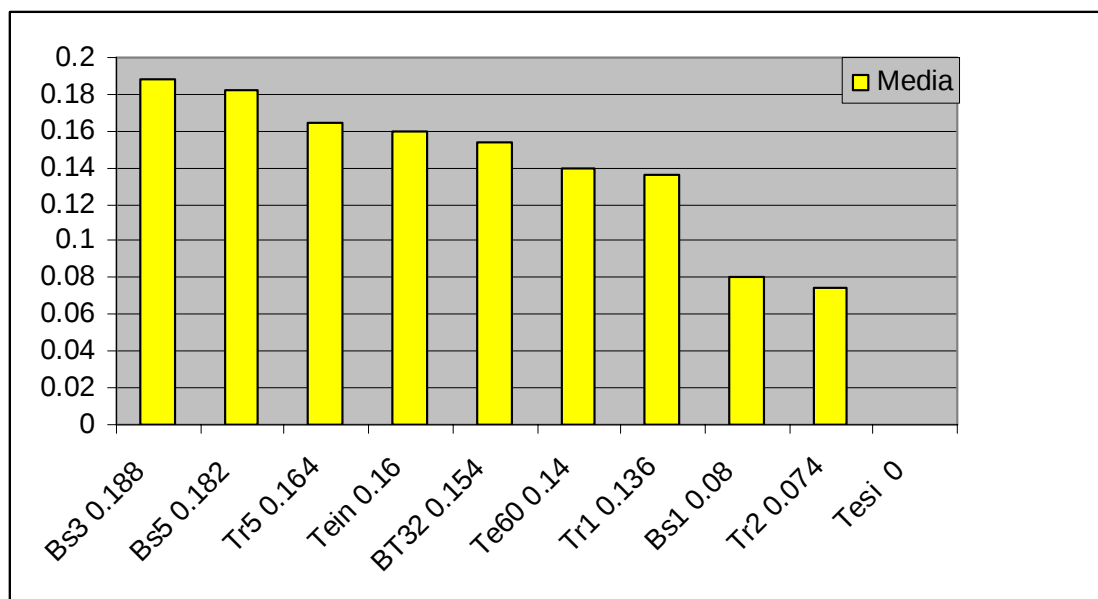


Figura 2. Comparación de medias entre los tratamientos para sacar severidad de los tratamientos. Departamento de Parasitología UAAAN. 2008.

Tomando en cuenta todos los datos medidos (trat: tratamientos, rep: repeticiones, ta: tallos, in: incidencia, se: severidad, ph: peso húmedo de la planta completa, ah: peso húmedo del la papa, pr: peso húmedo de raíz, pt: peso húmedo del tallo, ps: peso seco de la planta completa: as: peso seco de la papa, rs: peso seco de la raíz, ts: peso seco del tallo, lr: longitud de raíz, lt: longitud del tallo, gt: grosor del tallo) los resultados obtenidos en el programa de SAS, se obtuvo que la mejor dosis obtenida fue Bs5 () mostrando un buen desarrollo en la planta, seguida de Tr5 (), en comparación con los demás tratamientos restantes siendo el mas bajo Bs1() seguido de Testigo inoculado obteniendo las mejores dosis ya mencionadas ver en la (Figura 4 y 5) En donde se muestran los tratamientos, y el (Cuadro 5.) en donde se muestran los resultados de los parámetros evaluados en conjunto.

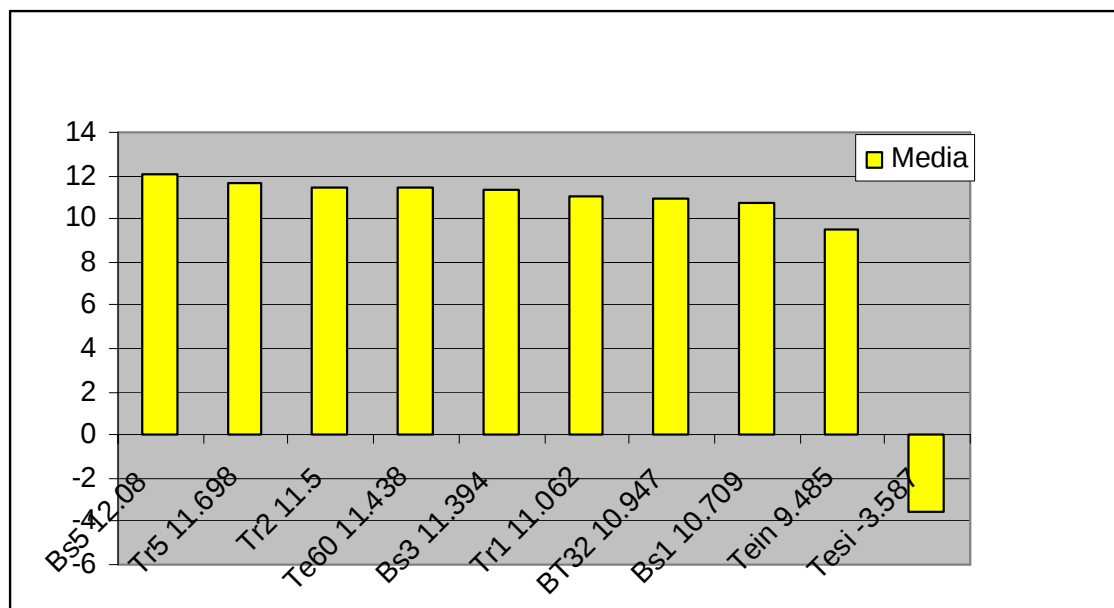


Figura 3. Comparación de medias entre todos los parámetros evaluados con los diferentes tratamientos utilizados. Departamento de Parasitología UAAAN. 2008.

CONCLUSIONES.

- En los resultados obtenidos nos muestra que los productos orgánicos controlan al igual que los químicos pero con una menor contaminación ya que son microorganismos, facilitando el manejo de estos productos.
- Las evaluaciones realizadas con estos productos se muestra que las dosis Bacillus subtilis A dosis de 1720 mg. x Planta y (Bs5) mostrando un buen desarrollo en la planta y control de la enfermedad, seguida de Trichoderma. A dosis de .822 mg. x Planta (Tr5).

LITERATURA CITADA.

- Adams, C. G. and Butler, E. E. 1979. Serological relationships among anastomosis groups of *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology* 69: 629-633.
- Agrios, N. G. 2005. *Plant Pathology* 5^a Edition. Elsevier- Academia Press. San Diego. CA. pp 922.
- Alexopoulos, C.J. y Mims, C.W. 1979. *Introducción a la micología*. Editorial Omega. Barcelona. 638 p.
- Baker, K. F. 1987. Evolving concepts of biological control of plant Pathogens. *Ann. Rev. Phytopathol.* 25:67-85.
- Bergey's, 2001. *Manual of Systematic Bacteriology*. 2nd. Edición. Vol. 1. 836 p. Springer, New York.
- Brenchley, H. G. and Wilcox, H. J. 1979. *Potato diseases*. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food. London: Her Majesty's Stationery Office. London, England.
- Carling, D. E. and Leiner, R. H. 1986. Isolation and characterization of *Rhizoctonia solani* and *Rhizoctonia* like fungi from aerial stems and subterranean organs of potato plants *phytopathology* 76 (7): 725-729.
- Carling, D. E, R. H Leiner and P. C. Westphale. 1989. Symptoms, signs and yield reduction associated with *Rhizoctonia* Disease of potato induced by tuber inoculum of *Rhizoctonia solani* AG-3. *AMER. Pot.s.* 66:693-701.
- Campos, A. J. 1987. *Enfermedades del frijol*. Ed. Trillas. Mexico, D.F. 132 p.
- Carling, D. E. and Leiner, R. H. 1990. Effect of temperature on virulence of *Rhizoctonia solani* and other *Rhizoctonia* on potato. *Phytopathology* 80 (10): 930-933.
- Ciencia y Tecnología 2003. *Trichoderma* Un hongo combatiente de patógenos. Num.42. *Revista agro* 2000.
- Cepeda, S. M. y Hernández, F. D. 1987. *Enfermedades asociadas al cultivo del frijol*. Boletín No 37. UAAAN: Buenavista, Saltillo, Coahuila. 28 p.
- Crueger, W. and Annelise C. 1985. *Biotechnology: A textbook of industrial microbiology*. Second Edition. Sinauer Associates, Inc. Sunderland, MA 01375. 6-8p.
- Dupler, M. and Baker, R. 1984. Survival of *Pseudomonas putida* a biological control agent, in soil. *Phytopathology* 74:412-417.

- Escamilla, J.C.1996. Controlquímico de la costra negra (*Rhizoctonia solani* Kühn) en el cultivo de la papa en invernadero. Tesis Licenciatura. UAAAN. Buenavista, Saltillo, Coahuila. 93 p.
- Ferreira, J. H. S., Matthee, F. N., and Thomas, A. C. 1991. Biological control of *Eutypa lata* on grapevine by an antagonistic strain of *Bacillus subtilis*. *Phytopathology*. 81:283-287.
- Filippi, C., Bagnoli, G., Treggi, G., and Picci, G.1984. Antagonistic effects of soil bacteria on *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* Snyder and Hens. I. In vitro experiments and preliminary assays on carnation (*Dianthus cariophyllus* L.) Plant and soil. 80: 119-125.
- Filippi, C., Bagnoli, G., Voltterrani, M., and Picci, G. 1987. Antagonistic effects of soil bacteria on *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* Snyder and Hans. III. Relation Between protection against *Fusarium* wilt in carnation and bacterial antagonistic colonization on roots. *Plant and soil*. 98:161-167.
- Frank, J. A. and Leach, S. S.1980. Comparison of tuberborne and soilborne inoculum in the *Rhizoctonia* disease of potato. *Phytopathology*. 70:51- 53.
- Fravel, R. T. 1988. Role of antibiosis in the biocontrol of plant diseases. *Ann. Rev. Phytopatol.* 26:75-91. USA.
- Glick, B. R.1995. The enhancement of plant growth by free-living bacteria. *Can. J. Microbiol.* 41:109-117.
- Harley, J. L. 1965. Mycorrhiza. In: Baker, F. K. and Snyder, W. C. (Eds). *Ecology of soil-borne plant pathogens* p 218-230. Univ. CA. Press. USA.
- Hill, C. B. and Anderson, N. A. 1989. An evaluation of potato disease caused by isolates of *Rhizoctonia solani* AG-3 *American Potato Journal* 66: 709-721.
- Hooker, J.W. 1990. *Compendium of potato diseases*. 4th Edition. American Phytopathological Society, St. Paul Minnesota, USA. 125 p.
- Kluepfel, A. D. 1993. The behavior and tracking of bacteria in the rhizosphere. *Ann. Rev. Phytopathol.* 31:441- 472.
- Liu, S. and Baker, R. 1980. Mechanism of biological control in soil suppressive to *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology* 70 (5): 404-411.

- López, E. R. 1989. Manejo de *Rhizoctonia solani* Kühn con rotación de crucíferas en el cultivo de papa. Tesis Maestría. UAAAN. Buenavista, Saltillo, Coahuila. 58 p.
- López, N. J. y Virgen, C. G. 1994. Antagonismo in vitro de *Bacillus subtilis* a *Fusarium oxysporum*, *Alternaria* sp. y *Botrytis* sp. XXI Congreso Nacional de Fitopatología. Sociedad Mexicana de Fitopatología.
- Martinson, A. C. and Rehiyani, S. M. 1991. Supresión of *Rhizoctonia solani* in soil with animal manures. *Phytopathology* 81(10):1241 (Abstrac).
- Méndez, B. M. 2004. Novel roles of the master transcription factor Spooa and Sigma IFOR survival and sporulation of *Bacillus subtilis* at low growth temperature. *Jornal of Bacteriology*. 186(4) 989-100, 2004.
- Mendoza, Z. C. y Pinto, B. 1983. Principios de fitopatología y enfermedades causadas por hongos. UACH, México. 311 p.
- Mew, W. T. and Rosales, A. M. 1986. Bacterization of rice plant for control sheat blight caused by *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology* 76:1260- 1264.
- Paredes, T. A. 1989. Producción en papa en el Cofre de Perote. *Síntesis Hortícola*. 3 (7); 26-33.
- Parmeter, J. R., Sherwood, Jr. R. T., and Platt, W. D. 1969. Anastomosis grouping among isolates of *Thanatephorus cucumeris*. *Phytopathology* 59: 1270-1278.
- Powelson, M. L. Johnson, K. B. and Rowe, R.C. 1993. Management of diseases caused by soil- borne plant pathogens. In: *Potato health managent*. R. C. Rowe. Ed. APS Press. Pp. 149- 158.
- Randanll C. R. 1993. *Potato health management*. The American Phytopathologicl society, St. Paul, Minnesota, USA. pp,; 149-158.
- Ristaino, J. E. and Papavizas, G. C. 1985 Biological control of *Rhizoctonia* stem Canker and black scurf of potato. *Phytopathology* 75:560-564.
- Romero, C. S. 1988. Hongos fitopatogenos. UACH. Chapingo, México. 347 p.
- Sun, S. K. and Huang, J.W. 1985. Formulated soil amendment for controlling *Fusarium* wilt and others soilborne diseses. *Plant Disease* 68:917- 920.
- Talavera, R. 1981. La papa: enfermedades principales en México y su control. *Milciades*. 1 (1): 33-37.

- Tschen, S. M. and Kuo, W. L. 1985. Antibiotic inhibition and control of *Rhizoctonia solani* by *Bacillus subtilis* Plant Protection Bulletin 27:95-103. Taiwan.
- Valades L. A. 1993. Producción de hortalizas. Editorial UTHEA México, D.F. 287p.
- Virgen, C. G. 1990. Control biológico de *Fusarium oxysporum* f sp. niveum (E.F. Smith) Snyder & Hans con *Bacillus subtilis* en sandía bajo condiciones de campo. Tesis Maestría. UAAAN. Buenavista, Saltillo, Coahuila.
- Virgen, C. G. 2001. Enfermedades del cultivo de papa. En :Curso sobre manejo integrado de plagas y enfermedades en tomate, chile y papa. INCAPA: Memorias. Guadalajara, Jalisco. Pp.83-107.
- Walker, J. C. 1975. Patología Vegetal. 3ª Ed. Omega. Barcelona, España. 818 p.
- Weller, D. R. 1988. Biological control of soilborne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. Ann. Rev. Phytopathol. 26:379-407.
- Yuen, G. Y., and M.C. 1992. Reduction in brown patch severity by binucleate *Rhizoctonia* antagonists Plant Disease 78:118-12.

APENDICE

Cuadro 2. Datos originales de los tratamientos. Departamento de Parasitología UAAAN. 2008.

trat	rep	ta	in	se	ph	ah	pr	pt	Ps	as	rs	ts	lr	lt	gt
Bs1	1	2	0.14	0.00	49.2	40.0	4.3	4.9	5.1	4.5	0.2	0.4	22.0	16.5	4
Bs1	2	2	0.14	0.00	55.0	32.7	6.6	15.8	2.8	1.3	0.4	1.1	15.0	60.0	5
Bs1	3	3	0.17	0.00	47.1	34.7	4.7	7.7	6.4	4.9	0.4	1.0	23.6	18.5	3
Bs1	4	6	0.24	0.20	75.8	57.9	6.9	11.0	6.4	3.0	0.3	3.1	25.0	9.0	3
Bs1	5	7	0.26	0.20	55.8	43.2	5.8	6.8	5.2	4.2	0.4	0.7	56.0	7.2	3
Bs3	1	5	0.22	0.20	45.8	34.4	5.2	6.2	3.8	2.8	0.3	0.7	20.0	9.2	3
Bs3	2	4	0.20	0.14	37.7	26.2	4.5	7.0	3.7	3.0	0.2	0.6	30.0	15.5	4
Bs3	3	3	0.17	0.20	60.4	44.0	5.7	10.7	4.6	3.2	0.3	1.1	20.0	24.3	4
Bs3	4	4	0.20	0.20	67.0	49.0	9.8	7.7	6.9	5.5	0.6	0.9	65.0	9.2	4
Bs3	5	1	0.10	0.20	45.2	33.7	4.9	6.6	3.3	2.4	0.2	0.6	20.0	19.0	5
Bs5	1	4	0.20	0.20	54.5	44.0	4.8	5.7	4.1	3.3	0.3	0.6	20.0	6.5	4
Bs5	2	3	0.17	0.17	46.8	34.7	6.3	5.8	3.9	3.0	0.3	0.6	30.0	9.6	3
Bs5	3	6	0.24	0.20	48.9	37.9	5.0	6.0	4.5	3.6	0.3	0.6	20.0	7.8	3
Bs5	4	3	0.17	0.20	40.0	26.4	5.1	8.5	2.9	1.9	0.3	0.7	25.0	24.3	4
Bs5	5	4	0.20	0.14	45.2	35.0	3.9	6.3	3.9	3.0	0.4	0.5	20.0	10.0	4
Tr1	1	2	0.14	0.14	40.2	29.3	3.9	6.9	5.5	4.5	0.2	0.8	14.8	17.1	3
Tr1	2	4	0.20	0.20	55.3	43.6	4.5	7.2	4.0	3.4	0.1	0.6	15.0	10.0	3
Tr1	3	1	0.10	0.00	11.4	0.0	1.4	10.0	4.9	4.0	0.2	0.7	19.0	55.0	6
Tr1	4	4	0.20	0.20	54.8	40.0	6.3	8.5	5.6	4.4	0.4	0.9	20.0	12.0	4
Tr1	5	4	0.20	0.14	79.8	63.2	7.5	9.1	9.5	7.9	0.4	1.2	20.0	8.7	4
Tr2	1	2	0.14	0.00	51.4	45.6	2.8	3.0	6.8	6.3	0.2	0.3	30.0	13.5	4
Tr2	2	4	0.20	0.00	51.8	34.7	5.2	11.9	4.2	3.0	0.3	0.9	25.0	44.2	3
Tr2	3	3	0.17	0.10	65.0	50.9	6.9	7.2	6.3	4.9	0.5	1.0	30.0	13.0	5
Tr2	4	5	0.22	0.17	66.9	52.0	6.1	8.8	8.1	6.7	0.4	1.0	21.0	8.6	3
Tr2	5	2	0.14	0.10	45.9	35.5	1.3	9.1	3.3	2.9	0.1	0.3	30.0	38.0	3
Tr5	1	5	0.22	0.20	51.7	42.2	4.0	5.5	4.4	3.6	0.2	0.6	15.0	6.6	3
Tr5	2	3	0.17	0.14	40.3	32.1	3.5	4.7	3.6	2.9	0.2	0.5	20.0	9.0	3
Tr5	3	2	0.14	0.14	57.4	43.5	6.3	7.6	6.0	4.6	0.4	1.0	20.0	17.0	4
Tr5	4	5	0.22	0.20	60.3	46.3	6.8	7.2	6.6	5.4	0.5	0.8	20.0	6.2	3
Tr5	5	4	0.20	0.14	55.3	43.8	5.3	6.2	4.5	3.5	0.3	0.7	21.0	10.0	3
BT32	1	4	0.20	0.10	57.0	42.2	7.3	7.5	5.3	4.1	0.4	0.7	20.0	11.5	3
BT32	2	3	0.17	0.20	48.1	37.2	4.2	6.7	5.1	4.2	0.3	0.7	24.0	13.0	4
BT32	3	3	0.17	0.14	67.4	49.0	8.9	9.5	6.1	4.6	0.6	0.9	26.0	16.3	3
BT32	4	4	0.20	0.14	62.5	48.5	6.8	7.2	4.1	2.8	0.5	0.8	20.0	13.7	4
BT32	5	7	0.26	0.20	51.0	39.5	4.5	7.0	3.8	2.9	0.3	0.6	22.0	6.4	3
Te60	1	2	0.14	0.20	54.6	43.5	5.6	5.5	4.3	3.3	0.3	0.6	20.0	12.5	3
Te60	2	3	0.17	0.10	58.8	43.9	6.4	8.5	6.0	4.7	0.4	0.9	20.0	15.3	4
Te60	3	5	0.22	0.00	55.0	42.5	6.0	6.5	6.8	5.7	0.5	0.7	26.0	24.8	3
Te60	4	3	0.17	0.20	53.3	38.7	6.1	8.5	4.9	3.8	0.3	0.7	26.0	24.0	4
Te60	5	4	0.20	0.20	73.6	57.0	7.3	9.3	7.2	5.7	0.5	1.0	22.0	7.0	4
Tein	1	3	0.17	0.20	63.0	48.2	0.6	4.0	7.7	6.5	0.4	0.8	40.5	3.0	4

Tein	2	2	0.14	0.20	62.2	40.9	1.0	1.9	7.2	6.1	0.3	0.8	25.0	6.5	4
Tein	3	2	0.14	0.20	55.2	47.6	5.0	7.2	5.6	5.1	0.2	0.3	30.0	11.5	5
Tein	4	3	0.17	0.20	45.0	39.8	4.7	6.1	6.6	5.6	0.3	0.7	30.0	5.3	4
Tein	5	1	0.00	0.00	43.5	40.8	0.1	4.0	4.6	4.4	0.0	0.2	16.0	50.0	3
Tesi	1	1	0.00	0.00	14.3	11.7	1.0	2.5	3.3	2.5	0.3	0.5	25.0	22.0	4
Tesi	2	2	0.00	0.00	28.1	18.8	6.0	4.1	7.1	5.8	0.5	0.9	26.0	23.0	3
Tesi	3	1	0.00	0.00	22.2	16.0	2.8	3.4	3.7	3.0	0.2	0.6	30.0	14.7	5
Tesi	4	1	0.00	0.00	24.9	16.8	5.2	2.9	4.6	3.9	0.3	0.4	25.0	20.5	4
Tesi	5	2	0.00	0.00	17.8	12.2	1.4	4.2	5.2	4.3	0.2	0.7	19.0	19.7	3

trat: tratamientos, rep: repeticiones, ta: tallos, in: incidencia, se: severidad, ph: peso húmedo de la planta completa, ah: peso húmedo de la papa, pr: peso húmedo de raíz, pt: peso húmedo del tallo, ps: peso seco de la planta completa: as: peso seco de la papa, rs: peso seco de la raíz, ts: peso seco del tallo, lr: longitud de raíz, lt: longitud del tallo, gt: grosor del tallo.

Cuadro 3. Comparación de medias de la incidencia en el análisis obtenido para el parámetro mejor tratamiento de los productos. Departamento de Parasitología UAAAN. 2008.

Tratamientos	N	Media
BT32	5	0.200 A
Bs5	5	0.196 A
Bs1	5	0.190 A
Tr5	5	0.190 A
Te60	5	0.180 A
Bs3	5	0.178 BA
Tr2	5	0.174 BA
Tr1	5	0.168 BA
Tein	5	0.124 B
Tesi	5	0.000 C
C.V		27.175

Los tratamientos de este cuadro son los siguientes: Bs5. *Bacillus subtilis*. A dosis 1720gr x planta, Tr5. Trichoderma 1.032gr x planta, Tr2. Trichoderma .822mg. Te60. (Tiabendazol.) A dosis de 1370 mg. x Planta, Bs3. *Bacillus subtilis*. 1370gr x planta, Tr1. Trichoderma .206mg. x planta, BT32 Mezcla de *Bacillus subtilis* a dosis de 1370 gr. + *Trichoderma*. A dosis de .822 mg. x Planta, Bs1. *Bacillus subtilis*. Tein. Testigo inoculo y Testigo sin inocular.

Cuadro 4. Comparación de medias en la severidad en el análisis obtenido para el parámetro mejor tratamiento de los productos. Departamento de Parasitología UAAAN. 2008.

Tratamientos	N	Media
Bs3	5	0.188 A
Bs5	5	0.182 A
Tr5	5	0.164 A
Tein	5	0.160 A
BT32	5	0.154 A
Te60	5	0.140 BA
Tr1	5	0.136 BA
Bs1	5	0.080 BA
Tr2	5	0.074 B
Tesi	5	0.000 C
C.V		50.149

Los tratamientos de este cuadro son los siguientes: Bs5. Bacillus subtilis. A dosis 1720gr x planta, Tr5. Trichoderma 1.032gr x planta, Tr2. Trichoderma .822mg. Te60. (Tiabendazol.) A dosis de 1370 mg. x Planta, Bs3. Bacillus subtilis. 1370gr x planta, Tr1. Trichoderma .206mg. x planta, BT32 Mezcla de Bacillus subtilis a dosis de 1370 gr. + Trichoderma. A dosis de .822 mg. x Planta, Bs1. Bacillus subtilis . Tein. Testigo inoculo y Testigo sin inocular.

Cuadro 5. Comparación de medias entre los productos de los análisis obtenidos para el parámetro mejor dosis de los productos. Departamento de Parasitología UAAAN. 2008.

Tratamientos	N	Media
Bs5	5	12.080 A
Tr5	5	11.698 A
Tr2	5	11.500 BA
Te60	5	11.438 BA
Bs3	5	11.394 BA
Tr1	5	11.062 BA
BT32	5	10.947 BA

Bs1	5	10.709 BA
Tein	5	9.485 B
Tesi	5	-3.587 C
C.V.		16.819

Los tratamientos de este cuadro son los siguientes: Bs5. *Bacillus subtilis*. A dosis 1720gr x planta, Tr5. Trichoderma 1.032gr x planta, Tr2. Trichoderma .822mg. Te60. (Tiabendazol.) A dosis de 1370 mg. x Planta, Bs3. *Bacillus subtilis*. 1370gr x planta, Tr1. Trichoderma .206mg. x planta, BT32 Mezcla de *Bacillus subtilis* a dosis de 1370 gr. + *Trichoderma*. A dosis de .822 mg. x Planta, Bs1. *Bacillus subtilis* . Tein. Testigo inoculo y Testigo sin inocular.



Figura 4. Unidades experimentales usadas. Departamento de Parasitología UAAAN. 2008.



Figura 5. Testigo inoculado. Departamento de Parasitología UAAAN. 2008.



Figura 6. Planta del Tratamiento 4 Repetición 3. Departamento de Parasitología UAAAN. 2008.



Figura 7. Antagonismo de BT32 (*Bacillus subtilis* + *Trichoderma*) Departamento de Parasitología UAAAN. 2008.