

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
“ANTONIO NARRO”
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA**



**Evaluación *In vitro* de Bacterias Antagónicas Aisladas de la
Rizosfera de Papa contra 13 Grupos de Anastomosis
Multinucleados de *Rhizoctonia solani* Kühn.**

Por:

JUAN GARCÍA FLORES

TESIS

**Presentada como Requisito Parcial para
Obtener el Título de:**

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITOLOGO

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.

Febrero del 2002

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
“ANTONIO NARRO”
DIVISIÓN DE AGRONOMIA**

**Evaluación *In vitro* de Bacterias Antagónicas Aisladas de la Rizosfera de
Papa contra 13 Grupos de Anastomosis Multinucleados de *Rhizoctonia
solani* Kühn.**

**Por:
JUAN GARCÍA FLORES
TESIS**

**QUE SOMETE A CONSIDERACIÓN DEL H. JURADO EXAMINADOR COMO
REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
INGENIERO AGRÓNOMO PARASITOLOGO**

**DR. GABRIEL GALLEGOS MORALES
PRESIDENTE DEL JURADO**

**DR. F. DANIEL HERNÁNDEZ CASTILLO
SINODAL**

**DR. ALBERTO FLORES OLIVAS
SINODAL**

**DR. VICTOR MANUEL ZAMORA VILLA
SINODAL**

**M.C. REYNALDO ALONSO VELAZCO
COORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE AGRONOMÍA**

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. Febrero del 2002

DEDICATORIA

A ti Dios mío, por darme la vida, salud y una familia, por todo lo que me has dado.

Muy especialmente a:

Mi señora madre: **PAULINA FLORES MARTINEZ**, por ser la mamá más linda del mundo, por tu amor, atenciones y oraciones, por todo el sacrificio que realizaste para hacer de mi un hombre de bien.

Mi señor padre: **JUAN GARCÍA BOLAÑOS**, por darme la oportunidad de ser lo que he logrado, por tus atenciones, cuidado y cariño, por enseñarme muchas cosas de la vida, te admiro papá.

Hermanos **ANSELMA, JAIMITO** y **FIDEL**, por su amor y cariño, tal vez no seré un ejemplo a seguir, pero quiero que sean mejores que yo.

AGRADECIMIENTOS

A mi “ALMA MATER” Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro”, por haberme alojado en su seno para enseñarme el arte de la agricultura.

Al Departamento de Parasitología Agrícola: Dr. Abiel, Dr. Oswaldo, Dr. Jerónimo, Dr. Alberto A., Dr. Melchor, M.C. Ma. Elizabeth, M.C. Victor, M.C. Jorge, M.C. Arturo, M.C. José L., M.C. Fidel, por haberme brindado sus experiencias, sus enseñanzas y por darme las herramientas necesarias de la Parasitología Agrícola.

Al Dr. Gabriel Gallegos Morales, por su amistad, confianza, asesoramiento y todo el apoyo brindado para el buen termino del presente trabajo, “GRACIAS”.

Al Dr. Fco. Daniel Hernández Castillo, por su valiosa colaboración y revisión de este trabajo. Al igual que el DR. Alberto Flores Olivas.

Al Dr. Victor M. Zamora, por su valiosa colaboración en el análisis estadístico.

A la Q.F.B. Blanca E. Mares, por todo el apoyo que me brindo, consejos y sugerencias, por su amistad.

A la TQL. Ma. Cristina Sánchez Flores por todo el apoyo brindado. Al igual que Silvia Ovalle.

A mis tías:

Profra. Ma. De Jesús, por todo el apoyo que me brindo, por confiar en mí, por su cariño. Profra. Ma. F. Águeda, por sus consejos y sugerencias por su cariño.

A toda la Familia Flores y Familia García, gracias por todo.

A mis compañeros de la generación XCII, por todas esas experiencias que vivimos juntos, por el compañerismo.

A la gente de maestría en Parasitología, por sus consejos.

INDICE DE CONTENIDO

	Página
DEDICATORIA.....	iii
AGRADECIMIENTOS.....	iv
INDICE DE CONTENIDO.....	vi
INDICE DE CUADROS.....	ix
INDICE DE FIGURAS.....	xi
RESUMEN.....	xiii
INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVOS.....	2
REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
Antecedentes.....	3
Interacciones entre especies.....	6
Antagonismo.....	7
Mecanismos de acción de los Microorganismos Antagónicos.....	8
Antibiosis.....	8
Competencia.....	9
Inhibición.....	9
<i>Rhizoctonia solani</i> Kühn.....	10
Características morfológicas.....	10
Fase teleomorfica.....	11
Grupos de Anastomosis (GA) de <i>Rhizoctonia solani</i> Kühn.....	11

Concepto de Anastomosis	12
Proceso de Anastomosis.....	12
Importancia de los Grupos de Anastomosis.....	13
Patogenicidad y Virulencia de los Grupos de Anastomosis.....	13
Hospederos y Distribución de los Grupos de Anastomosis.....	15
Costra negra de la papa.....	18
Grupos de anastomosis que atacan a la papa en México.....	18
Importancia.....	19
Ubicación Taxonómica.....	19
Síntomas.....	20
Desarrollo de la enfermedad.....	21
Métodos para evaluar el antagonismo <i>in vitro</i>	21
MATERIALES Y MÉTODOS.....	24
Localización del área experimental.....	24
Obtención del material biológico.....	24
Bacterias antagónicas.....	24
Grupos de anastomosis de <i>R. solani</i> Kühn.....	24
Purificación de las bacterias.....	25
Conservación de las bacterias.....	26
Recuperación de las bacterias para su evaluación.....	26
Recuperación de los grupos de anastomosis.....	27
Estudio de Diferentes Medios de Cultivo para Realizar la	
Evaluación del Antagonismo <i>In vitro</i>	27
Evaluación de las Bacterias Antagónicas contra los Diferentes	
Grupos de Anastomosis (GA) de <i>Rhizoctonia solani</i>	28

Método.....	28
Prueba del antagonismo <i>in vitro</i>	28
Radio micelial del grupo de anastomosis (inhibición).....	30
Diseño experimental.....	31
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	32
CONCLUSIONES.....	44
LITERATURA CITADA.....	45
APÉNDICE.....	51

INDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
1 Características de las bacterias aisladas de la rizosfera de papa de la región papera de Coahuila y Nuevo León.....	33
2 Comparación de medias para el radio micelial del grupo de anastomosis AG-1 en diferentes tiempos.....	35
3 Comparación de medias para el radio micelial del grupo de anastomosis AG-6 en diferentes tiempos.....	36
4 Tiempo en el que las cepas antagónicas inhibieron totalmente el desarrollo de los diferentes grupos de anastomosis, después de haberse sembrado.....	39
5 Comparación de medias para el radio micelial de los grupos de anastomosis en función de las cepas antagónicas.....	42
6 Análisis de varianza de las cepas antagónicas contra el grupo de anastomosis GA-1.....	51
7 Análisis de varianza de las cepas antagónicas contra el grupo de anastomosis GA-6.....	51
8 Análisis de varianza de las cepas antagónicas contra el grupo de anastomosis GA-2.....	52
9 Comparación de medias para el radio micelial del grupo de anastomosis AG-2 en diferentes tiempos.....	52
10 Análisis de varianza de las cepas antagónicas contra el grupo de anastomosis GA-3.....	53
11 Comparación de medias para el radio micelial del grupo de anastomosis AG-3 en diferentes tiempos.....	53
12 Análisis de varianza de las cepas antagónicas contra el grupo de anastomosis GA-4.....	54
13 Comparación de medias para el radio micelial del grupo de anastomosis AG-4 en diferentes tiempos.....	54

14	Análisis de varianza de las cepas antagónicas contra el grupo de anastomosis GA-5.....	55
15	Comparación de medias para el radio micelial del grupo de anastomosis AG-5 en diferentes tiempos.....	55
16	Análisis de varianza de las cepas antagónicas contra el grupo de anastomosis GA-7.....	56
17	Comparación de medias para el radio micelial del grupo de anastomosis AG-7 en diferentes tiempos.....	56
18	Análisis de varianza de las cepas antagónicas contra el grupo de anastomosis GA-8.....	57
19	Comparación de medias para el radio micelial del grupo de anastomosis AG-8 en diferentes tiempos.....	57
20	Análisis de varianza de las cepas antagónicas contra el grupo de anastomosis GA-9.....	58
21	Comparación de medias para el radio micelial del grupo de anastomosis AG-9 en diferentes tiempos.....	58
22	Análisis de varianza de las cepas antagónicas contra el grupo de anastomosis GA-10.....	59
23	Comparación de medias para el radio micelial del grupo de anastomosis AG-10 en diferentes tiempos.....	59
24	Análisis de varianza de las cepas antagónicas contra el grupo de anastomosis GA-11.....	60
25	Análisis de varianza de las cepas antagónicas contra el grupo de anastomosis GA-12.....	60
26	Análisis de varianza de las cepas antagónicas contra el grupo de anastomosis GA-13.....	61
27	Comparación de medias para el radio micelial de los grupos de anastomosis AG-11, AG-12 y AG-13 en un tiempo de 48 horas.....	61
28	Análisis de varianza para las cepas antagónicas contra todos los grupos de anastomosis de <i>Rhizoctonia solani</i> Kühn.....	62

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1 Antagonismo <i>In vitro</i> de 29 cepas bacterianas contra los GA-1 y GA-6, en un tiempo de 120 horas y 96 horas respectivamente a temperatura constante de 28°C.....	37
2 Tiempo mínimo en el cual las cepas expresaron el máximo porcentaje de inhibición de acuerdo al grupo de anastomosis.....	41
3 Antagonismo <i>In vitro</i> de 10 cepas bacterianas contra los GA-2 y GA-3 en un tiempo de 96 horas y 120 horas respectivamente a temperatura constante de 28°C.....	63
4 Antagonismo <i>In vitro</i> de 10 cepas bacterianas contra los GA-4 y GA-5 en un tiempo de 120 horas y 96 horas respectivamente a temperatura constante de 28°C.....	63
5 Antagonismo <i>In vitro</i> de 10 cepas bacterianas contra los GA-7 y GA-8 en un tiempo de 120 horas a temperatura constante de 28°C.....	64
6 Antagonismo <i>In vitro</i> de 10 cepas bacterianas contra los GA-9 y GA-10 en un tiempo de 96 horas y 72 horas respectivamente a temperatura constante de 28°C.....	64
7 Antagonismo <i>In vitro</i> de 10 cepas bacterianas contra los GA-11 y GA-12, en un tiempo de 48 horas a temperatura constante de 28°C....	65
8 Antagonismo <i>In vitro</i> de 10 cepas bacterianas contra el GA-13, en un tiempo de 48 horas a temperatura constante de 28°C.....	65

9 Ensayo del crecimiento de <i>R. solani</i> GA-7(A) y la cepa bacteriana B5 (B) aislada de la rizosfera de papa sobre medios de cultivo AN, PDA y SDA.....	66
10 Antagonismo <i>In vitro</i> de la cepa B15 contra los grupos de anastomosis GA-3, GA-4, GA-8 y GA-10 de <i>R. solani</i>	66
11 Antagonismo <i>In vitro</i> de la Cepa B22 (izquierda), testigo (centro) y antagonismo de y el la cepa B5 (derecha), contra el GA-8 de <i>R. solani</i>	67
12 Antagonismo <i>In vitro</i> de la cepa B20 (izquierda), B29 (derecha) contra <i>R. solani</i> GA-8.....	67

RESUMEN

Se purificaron 29 cepas de bacterias antagónicas aisladas de la rizosfera de papa; para estudiar su antagonismo contra *Rhizoctonia solani* GA-1 y GA-6. De los resultados obtenidos se seleccionaron a las 10 mejores cepas antagónicas (B1, B5, B12, B15, B20, B21, B22, B25, B27 y B29) para evaluar su antagonismo contra los grupos de anastomosis GA-2 al GA-13, excepto el GA-6.

Para llevar a cabo la evaluación se utilizó la técnica de Korsten *et al*, 1995. Se sembró al grupo de anastomosis en el centro de la caja y en los cuatro puntos cardinales se colocó una asada bacteriana a una distancia de 3.5 cm del centro de la caja; se tomaron datos del radio micelial cada 24 hr con un Vernier hasta que el testigo llenó la caja Petri. Para transformar el radio micelial en porcentaje de inhibición se utilizó la fórmula propuesta por Skidmore, (1976).

La cepa B15 fue la que inhibió a la mayoría de los grupos de anastomosis hasta en un 85% para el caso del GA-6; el grupo de anastomosis AG-9 no fue susceptible a la cepa B15.

INTRODUCCION

El suelo arable es un sustrato donde se llevan a cabo una serie de interacciones entre sus habitantes, donde cada especie tiene un rol y un nicho a explotar, de tal manera que sus poblaciones están en un balance natural hasta que la actividad del hombre se lo permite.

La rizosfera es la región del suelo inmediata a la raíz; una zona donde la actividad microbiana suele ser intensa. El recuento de bacterias casi siempre es superior en la rizosfera que en las regiones del suelo donde no hay raíces; esto se debe a que las raíces secretan cantidades considerables de azúcares, aminoácidos, hormonas y vitaminas, estimulando un crecimiento tan intenso de bacterias y hongos que estos organismos a menudo forman microcolonias en la superficie de las raíces (Walter *et al.*, 1982). Dentro de éstos microorganismos encontramos a algunos que producen antibióticos o algún otro compuesto que inhibe el crecimiento de patógenos del suelo.

Rhizoctonia solani, patógeno del suelo presenta diferentes grupos de anastomosis (GA) que difieren en su patogenicidad, virulencia y rango de hospederos; en el cultivo de la papa se encuentran: GA-2, GA-3, GA-4, GA-5, y GA-7 (Alonso, 1994; Pérez, 2000 y Virgen, 2000), siendo el más importante el GA-3 que causa la llamada costra negra (Bains y Bisht, 1995). En un intento por combatir a esta enfermedad y otras que incluso pueden ser más devastadoras

como el tizón tardío (*Phytophthora infestans*), se han utilizado varios tipos de fungicidas que en su inicio resultaron ser efectivos, pero que al paso del tiempo, y debido a un mal manejo han ocasionado que los patógenos generen resistencia a estos. Por otra parte, el uso irracional de los pesticidas ha ocasionado que las poblaciones de los organismos benéficos de la rizosfera decline a tal grado que el inóculo de los organismos fitopatógenos presentes en el suelo aumenten su densidad de población y causen cada día mayores pérdidas económicas a los productores. En la actualidad la tendencia en el manejo de enfermedades es hacia el uso de productos biológicos de tal manera que en un periodo a largo plazo se logre restablecer la flora y fauna benéfica de la rizosfera.

Por lo anteriormente expuesto se plantearon los siguientes objetivos:

Evaluar el antagonismo *In vitro* de cepas bacterianas aisladas de la rizosfera de papa contra los diferentes grupos de anastomosis de *R. solani*.

Determinar cual o cuales cepas presentan mayor antagonismo (inhibición) en todos los grupos de anastomosis de *R. solani*.

Determinar el tiempo en el cual los grupos de anastomosis de *R. solani* son inhibidos por el antagonismo de las bacterias.

REVISIÓN DE LITERATURA

Antecedentes

Dentro de los organismos reportados como antagonistas de *R. solani* se incluyen especies de bacterias (*Azotobacter*, *Bacillus*, *Myxobacteria*, *Pseudomonas*, *Streptomyces*), hongos (*Acremonium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Gliocladium*, *Laetisaria*, *Penicillium*, *Pseudocercospora*, *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Trichoderma*, *Verticillium*), entre otros (Ogoshi, 1987).

Una gran variedad de actinomicetos, bacterias y hongos del suelo son capaces de sintetizar antibióticos. De las bacterias que sintetizan antibióticos, las que se encuentran con más frecuencia son especies de *Bacillus* y cepas de *Pseudomonas* que liberan plicocianina y compuestos relacionados (Alexander, 1980).

Mew y Rosales (1986) en un estudio de bacterización de plantas de arroz para el control del tizón de la vaina causado por *R. solani*, reportaron que las bacterias que mostraron antagonismo ante *R. solani* producen fluorescencia y pigmentos no fluorescentes sobre medio KB. Los antagonistas fueron aislados de esclerocios, arroz en campo inundado y de la rizósfera de suelos altos y tierras bajas.

Cartwrith y Benson (1995) estudiaron efectos de la concentración antagonista, condición nutrimental y antagonismo individual de preparaciones de *Paecilomyces lilacinus* (aislado 6.2 F) y *Pseudomonas cepacia* (variedad 5.5 B) sobre la pudrición del cuello causada por *Rhizoctonia*; demostraron que no hubo diferencias significativas en el biocontrol cuando *Paecilomyces lilacinus* y *Pseudomonas cepacia* fueron aplicados con o sin una solución diluida de Papa-dextrosa. Por otra parte Cartwrith y Benson (1995) compararon a *P. cepacia* (variedad 5.5B) con otras variedades de *P. cepacia*, *P. fluorescens*, *P. chlororaphis* y *P. aureofaciens* para el control de la pudrición del tallo causado por *R. solani*; en un período de dos semanas se logró un control de 0% de infección con *P. cepacia* variedad 5.5B, destacando como la mejor cepa.

Una variedad antagónica de *Pseudomonas fluorescens* para *R. solani* fue aislada de la rizosfera de plántulas de algodón, esta bacteria produce un antibiótico que inhibe fuertemente a *R. solani*, definido como Pirrolnitrina (3-cloro-4-(2'nitro-3'-clorofenil)- pirrol). Tratando semillas de algodón con *P. fluorescens* o Pirrolnitrina al momento de la siembra en un suelo infestado con *R. solani*, la supervivencia de las plántulas incrementa de un 30 a 79% y de 13 a 70%, respectivamente (Howell y Stipanovic, 1979).

Tschen (1987) (citado por Díaz, 1990) estudió *in vitro* a *Bacillus subtilis* como antagonista de *R. solani* y reportó que en Papa Dextrosa Agar (PDA) el patógeno forma engrosamiento de las hifas y acumulación de sustancias

quitinosas; además de que filtrado de la bacteria antagónica, estimula la formación de esclerocios de *R. solani*. Sustancias antibióticas aisladas de *B. subtilis*, así como la suspensión de las mismas bacterias, inhibien el desarrollo de la lesión causada por la infección de *Rhizoctonia*; sin embargo, las sustancias fueron más efectivas que la suspensión de bacterias.

Castañeda (2001) utilizó a *B. subtilis* y *Bacillus sp.* para evaluar técnicas de antagonismo *in vitro*, en su resultado determino que *B. subtilis* presenta un efecto antagonista hacia *Phytophthora capsici*, *Fusarium oxysporum* y *R. solani*.

Rosales *et al.*, (1995) aislaron e identificaron metabolitos antifúngicos producidos por algunas especies de *Pseudomonas*; entre los hongos afectados se encuentran *R. solani*, *Fusarium moniliforme*, *Pyricularia oryzae*, y *Sarocladium oryzae*. Los mismos autores reportaron que dos cepas de *P. cepacia* produjeron pyrrolnitrina, cepas de *P. aeruginosa* produjeron ácido carboxílico 1- fenazina y piocianina y una cepa de *P. putida* produjo 2,4-diacetilploroglucinol.

Las especies de *Bacillus* son las más estudiadas por su amplia variedad en la habilidad de controlar enfermedades en plantas. Estas especies son las mejores candidatas para el control biológico de fitopatógenos porque producen endosporas que son tolerantes a la temperatura y desecación. Ejemplo de ello es el producto comercial Quantum - 4000 formulado a base de

B. subtilis A13 (Weller, 1988).

Los antibióticos juegan un papel importante en las enfermedades que son suprimidas por las bacterias. Así pues, tenemos que *P. fluorescens* 2-79 produce fenazina, *P. fluorescens* Pf-5 produce pioluterina y pirrolnitrina que inhiben el crecimiento de *Pythium ultimum* y *R. solani*; por otra parte *Streptomyces hygroscopicus* var. *Geldanus* produce el antibiótico geldanamicina, el cual inhibe a *R. solani in vitro* (Séller, 1988).

Metabolitos volátiles identificados como alquil pyrones son producidos por *Trichoderma harzianum*; cuando son agregados a una mezcla de turba con suelo, este componente suprime a *R. solani*, inhibe fuertemente *In vitro* a varios hongos (Fravel, 1988).

Interacciones entre Especies

Los microorganismos dependen uno de otro para obtener ciertas sustancias de crecimiento, pero al mismo tiempo ejercen influencias dañinas, por lo que se evidencian efectos benéficos y dañinos. Puede ocurrir cierto número de posibles interacciones entre dos especies: a) Neutralismo, en el cual dos microorganismos son totalmente independientes; b) Simbiosis, los dos simbioses dependen uno de otro y ambos se benefician por la relación; c) Protocooperación, beneficio mutuo para las dos especies pero sin ser

obligatoria para su existencia; d) Comensalismo, solamente una especie obtiene beneficio y la otra no se ve afectada; e) Competencia; f) Amensalismo, una especie es suprimida mientras la otra no es afectada y g) Parasitismo y predación, el ataque directo de un organismo hacia otro (Alexander, 1980). Otra interacción más es el Sinergismo; representa el logro que un organismo por si solo no puede realizar (Walter *et al.*, 1982).

Si una caja Petri con medio de cultivo es inoculada con suelo y crecen muchas colonias, en donde algunas de ellas presentan un halo claro que muestra la inhibición del crecimiento de otras colonias vecinas debido a un antibiótico o bien, a la producción de un ácido, a este fenómeno se le conoce como antagonismo (Walter *et al.* 1982).

Antagonismo

Existen agentes de control biológico que influyen sobre la abundancia de las plagas pero que no se alimentan directamente sobre ellas. Estos afectan a las poblaciones de las plagas por exclusión competitiva, misma que puede ser una simple exclusión física o mediante sustancias (antibióticos) que secretan los antagonistas. Estos agentes tienen particular importancia en el control biológico de fitopatógenos (Barrera, 1999).

Todo organismo que se opone de alguna manera a la acción, presencia o supervivencia de otro, se considera que es un organismo antagonista. Esta relación antagónica puede manifestarse por antibiosis, lisis, reacciones inmunológicas, competencia, parasitismo y predación; siendo los más importantes en control biológico de fitopatógenos el hiperparasitismo, la antibiosis y la competencia (De la Garza, 1996).

Mecanismos de Acción de los Microorganismos Antagónicos

Los mecanismos que afectan a las poblaciones de patógenos, no siempre son claros pero en general se atribuyen a uno de cuatro efectos: 1) parasitismo directo y muerte del patógeno, 2) competencia por alimento, 3) efectos tóxicos directos sobre el patógeno por medio de sustancias antibióticas liberadas por el antagonista y 4) efectos tóxicos indirectos sobre el patógeno por sustancias volátiles, como el etileno, liberadas por las actividades metabólicas del organismo antagonista (Agrios, 1996).

Antibiosis

La antibiosis se considera como un antagonismo dado por metabolitos específicos o no específicos de origen microbial, enzimas, compuestos volátiles u otras sustancias tóxicas (Fravel, 1988).

La antibiosis es la inhibición o destrucción de un organismo por el producto metabólico de otro; es extremadamente común entre los microorganismos, las contaminaciones bacterianas, que con frecuencia detienen en los medios de cultivo el desarrollo de los hongos (De la Garza, 1996 y Stakman, 1957).

Competencia

Cuando dos especies ocupan un mismo hábitat y utilizan uno u otro de los mismos recursos, ambas poblaciones crecerán hasta un punto en que la mortalidad se equilibre con la reproducción. Cuando es esencial cualquiera de los recursos comunes, las dos poblaciones serán inevitablemente más pequeñas que si ocupasen solo el hábitat, una de ellas (Nason y Dehaan, 1982).

En algunos casos de competencia microbiana, un microorganismo puede inhibir el crecimiento o metabolismo de otros. Esto puede producirse mediante la excreción de inhibidores específicos, como los antibióticos, o debido a la actividad fisiológica de un organismo que produce un producto tóxico, como el ácido que resulta de la fermentación de los azúcares (Madigan *et. al*, 1998).

Inhibición

Es la reducción del crecimiento microbiano a causa de una disminución del número de organismos presentes, o de alteraciones en el entorno microbiano (Madigan *et al*. 1998).

Rhizoctonia solani Kühn

Características Morfológicas

R. solani presenta micelio estéril con características distintivas como: ramificación en ángulo recto o aproximadamente así, presencia de un septo tipo doliporo y la constricción de la hifa cerca del punto de origen (Alexopoulos *et al*, 1996).

Agrios (1995) reporta que *R. solani* forma micelio estéril que es incoloro cuando pasa por su etapa juvenil pero que se torna amarillo o de color café claro conforme madura. El micelio consta de células largas y produce ramificaciones que crecen casi en ángulo recto con respecto a la hifa principal, se estrecha ligeramente a nivel de la bifurcación y posee un septo cerca de ella. El micelio es uniformemente distribuido sobre la superficie del sustrato y algunas veces agregado en cordones miceliales productores de esclerocios; los esclerocios son aplanados o redondos, cubiertos por un fieltro aterciopelado, grueso, de diámetro variable de algunos mm a varios cm (Romero, 1993).

Sneh *et al.* (1991) reportan que considerando el número de núcleos en las células, *Rhizoctonia* se separa en dos grandes grupos: los binucleados y los multinucleados. Las características de los dos grupos son: algún vestigio de

pigmentación color café en las hifas, ramificación cerca del septo distal en hifas jóvenes, constricción de la hifa y formación del septo a corta distancia del punto de origen de la hifa ramificada. De la misma manera, Ogoshi (1987) divide a *Rhizoctonia* en tres grupos: el primero es *Rhizoctonia* multinucleados, tiene tres o más núcleos por célula, hifas con diámetros de 6 a 10 micras, y el teleomorfo esta en el género *Thanatephorus* Donk. El segundo es *Rhizoctonia* binucleados, tiene únicamente dos núcleos por célula (rara vez uno o tres), hifas de 4 a 7 micras de diámetro, y el teleomorfo esta en el género *Ceratobasidium* Rogers. El tercer grupo incluye a *R. oryzae* y *R. zea*, los cuales son multinucleados y su teleomorfo esta en el género *Waitea* Warcup y Talbot.

Fase Teleomorfica (Fase Sexual)

El teleomorfo de *R. solani* es un basidiomiceto conocido como *Thanatephorus cucumeris* (Frank) Donk (Ogoshi, 1987, Singleton, 1992, Alexopoulos *et al.* 1996), el cual se forma en condiciones de humedad. Los basidios tienen forma de barril, miden de 15 a 18 x 8 a 10 micras, formándose sobre una capa membranosa de micelio y tienen 4 esterigmas, cada uno de ellos lleva una basidiospora ovoide hialina de 7 a 16 x 5 a 15 micras (Sneh *et al.*, 1991).

Grupos de Anastomosis (GA) de *Rhizoctonia solani* Kühn

Mediante el uso de técnicas moleculares Carling (2000) reportó que *R. solani*

presenta 14 grupos de anastomosis, los cuales van del GA-1 hasta el GA-13 y un GA-BI.

Concepto de Anastomosis

El termino se define, como la fusión de hifas con intercambio de núcleos y recombinación genética, donde cada grupo puede ser considerado como una unidad genéticamente evolucionada (Anderson, 1982). Después de la fusión , los núcleos heterocariontes suelen tener una virulencia distinta a la de los progenitores (Webster, 1978).

Proceso de Anastomosis

Cuando dos aislados de *R. solani* son colocados de 2 – 3 cm separados uno del otro sobre medio de cultivo agar agua al 2% en una caja Petri para que el micelio se traslape y si ocurre la fusión de hifas, estos aislados pertenecen al mismo grupo de anastomosis; pero, si la fusión de hifas no ocurre estos aislados pertenecen a diferentes grupos de anastomosis (Ogoshi, 1987).

Yokoyama *et al.* (1985) (citados por Pérez, 2000) sintetizaron el proceso de fusión perfecta de anastomosis en siete etapas: 1) desarrollo hifal, 2) secreción y atracción de una o más sustancias, 3) contacto de hifas, 4) detención en el crecimiento hifal, 5) formación de proyecciones semejantes a ramas, 6) disolución de las paredes celulares y 7) contacto de protoplasmas.

Importancia de los Grupos de Anastomosis

El reconocimiento de la existencia de los grupos de anastomosis y de su mayor o menor especificidad por el hospedante, ha sido importante para determinar el grupo de anastomosis que debe utilizarse para llevar a cabo inoculaciones dirigidas al mejoramiento genético de varios cultivos con el propósito de obtener resistencia a *Rhizoctonia* y de los propágulos estimados para hacer predicciones de la enfermedad que causa el hongo en los diferentes cultivos (Agrios, 1996).

Anderson (1982) reporta que los grupos de anastomosis tienen mucho que ofrecer, ya que la aparición de este concepto puede ser la diferencia entre el proceso o fracaso de un programa de control de *R. solani* y un programa para generar resistencia genética a la enfermedad.

Zarlengo *et al.* (1994) mencionan que la identificación de las especies de *Rhizoctonia* y los grupos de anastomosis (AG) que causan la mancha parda del césped puede ser importante para el manejo de la enfermedad a través del uso de fungicidas, fertilizantes, variedades y modificaciones al ambiente.

Patogenicidad y Virulencia de los Grupos de Anastomosis

Aún cuando los diferentes grupos de anastomosis no sean totalmente específicos de su hospedero, muestran algunas tendencias bastante definidas, estas son:

GA-1, produce pudrición de la semilla e hipocotilo, tizones de tejidos y partes aéreas de muchas especies vegetales. GA-2, ocasiona un cancro de los cultivos que producen raíces comestibles y enfermedades de las raíces de las crucíferas. GA-3, afecta principalmente a plantas de papa y causan en ellas cancrisis del tallo, lesiones en los estolones y forman esclerocios negros en los tubérculos. GA-4, infecta a una amplia gama de especies vegetales y ocasiona pudrición del hipocotilo y semillas en casi todas las angiospermas y lesiones cerca de la superficie del suelo en la mayoría de las leguminosas, algodón y la remolacha azucarera (Agrios, 1996).

Bains y Bisht (1995) en un estudio de la virulencia de los grupos de anastomosis asociados al cultivo de la papa en Alberta, Canadá, determinaron que el GA-3 fue significativamente más virulento que el GA-4 y el GA-5; la virulencia del GA-4 y GA-5 fue similar. Por otra parte Chand y Logan, (1983) citados por Bandy *et. al* (1984) de 182 aislados de *R. solani* obtenidos de tubérculos de papa en el Norte de Irlanda, encontraron al GA-3 y al GA-2 tipo1; de los cuales el aislado del GA-3 fue más virulento que el GA-2 tipo 1.

Windels y Nabem (1989) realizaron pruebas de patogenicidad de seis grupos de Anastomosis (AG-4, AG-5, AG-2-2, AG-2-1, AG-1 y AG-3) asociados a la remolacha azucarera, reportaron que el AG-4 infecto al 44.3% de las plantas en estudio, el AG-5 infecto al 27.1%, el AG-2-2 solamente infecto al 19.7% y el porcentaje restante entre los demás GA. Demostraron que el GA-2-2 es altamente virulento a pesar de su baja patogenicidad; sin embargo, el AG-4 que mostró mayor porcentaje de patogenicidad únicamente produce lesiones superficiales cerca del punto de inoculación.

Hospederos y Distribución de los Grupos de Anastomosis

R. solani ataca a una amplia gama de cultivos, entre ellos judía, remolacha, crucíferas, papa, tomate, así como muchas ornamentales herbáceas y especies consideradas como malezas en los cultivos (Smith *et al.*, 1992). Por otra parte Singleton *et al.*, (1992) mencionan que el rango de hospederos y su distribución son los siguientes:

AG-1. Este grupo es de distribución mundial y está subdividido, basado principalmente en la morfología de la colonia y su patogenicidad; comprende tres subgrupos: AG-1-IA (también llamado tipo 2 o el tipo Sasakii), AG-1-IB (también llamado tipo 1 o tipo de microesclerocios) y GA-1-IC. Una distinción clara entre los tres subgrupos no se puede hacer con la técnica de anastomosis. AG-1-IA es patógeno aéreo causa el tizón de la vaina en arroz,

tizón de la hoja de muchos hospederos y mancha café de los céspedes (Martín y Lucas, 1984). AG-1-IB también es un patógeno aéreo, causa tizones en muchos hospederos. AG-1-IC es patógeno del suelo y causa el *damping off* en muchos hospederos (Mew y Rosales, 1986). Por otro lado Windels y Naben (1989) reportaron a *R. solani* GA-1 sobre remolacha azucarera. De igual manera Zarlengo *et al.*, (1994) en un estudio realizado en Arkansas reportaron que *Festuca arundinacea* Pulaski es hospedero del GA-1 IA

GA-2. Este grupo también está subdividido, en base a su patogenicidad y requerimientos nutricionales, comprende tres subgrupos: GA-2-1 (también llamado tipo cultivos de invierno), GA-2-2 IIIB, y GA-2-2 IV. Para diferenciar al GA-2-1 de los GA-2 (IIIB y IV) son los requerimientos de tiamina, los subgrupos GA-2-2 requiere de la tiamina mientras que GA-2-1 no la requiere. El GA-2-1 es patógeno del suelo y causa *damping off*, pudrición de raíces en muchos hospederos y el tallo de alambre en crucíferas. El GA-2-2 IIIB es patógeno del suelo y aéreo, produce *damping off* en muchos hospederos y la mancha café en césped (Martín y Lucas, 1984). El GA-2-2 IV es patógeno del suelo y aéreo causa tizón y pudrición de la raíz en la remolacha (Windels y Naben, 1989). Por otro lado Zarlengo *et al.*, (1994) en un estudio realizado en Arkansas reportaron al zacate bermuda (*Cynodon dactylon*) Benton como hospedero del GA-2-2. El GA-2 es de distribución mundial.

GA-3. Es un grupo homogéneo que no se le conocen subgrupos. Los aislados del GA-3 crecen muy despacio y generalmente son más tolerantes a las bajas temperaturas que otros grupos de anastomosis de *R. solani*. Es un patógeno del suelo, causa pudrición de tallos y tubérculos en papa (Bains y Bisht, 1995, Bandy *et al.*, 1984,) El GA-3 se encuentra en cualquier parte que se cultive papa. Por otro lado Windels y Naben (1989) reportaron a éste grupo atacando a la remolacha azucarera.

GA-4. Puede ser subdividido en dos subgrupos, HG-I y HG-II, según las diferencias en la homología de su ADN pero no por la reacción de anastomosis. El GA-4 es un patógeno del suelo induce el *damping off* y la pudrición de raíces de un amplio rango de hospederos, principalmente papa (Bains y Bisht, 1995). Por su parte Bell y Summer (1984) en un estudio bajo condiciones de invernadero demostraron que el GA-4 causo la muerte de plántulas de cacahuate y soya. Es de ocurrencia mundial.

GA-5. Es un grupo homogéneo patógeno del suelo, puede producir pudrición de tallos y tubérculos de la papa pero, generalmente es menos virulento que el GA-3 (Bains y Bisht, 1995). El GA-5 se encuentra en Europa, Asia y Norte América. En México se le encuentra en la región papera de Coahuila y Nuevo León (Alonso *et al.*, 1994), en Chihuahua (Carvajal *et al.*, sin fecha) y en Toluca estado de México (Pérez, 2000 y Virgen *et al.*, 2000). Por otro lado Windels y Naben (1989) reportaron a este grupo atacando a la remolacha azucarera.

GA-6. Es un grupo sin importancia, sus aislados no son patogénicos, se le encuentra en Japón. Hay dos subgrupos del GA-6, HG-I y GV. Pueden ser diferenciados uno de otro principalmente por la homología de su ADN.

GA-7. es patógeno del suelo que causa daños sin importancia en algunos cultivos vegetales. Por otra parte Virgen *et al.* (2000) y Pérez (2000) reportaron al GA-7 atacando al cultivo de papa en el estado de México.

GA-8. Es un patógeno del suelo que produce la mancha descubierta en cereales. Algunos estudios en cámaras de crecimiento indican que puede causar la pudrición de tubérculos en papa. El GA-8 se encuentra en Australia, el noroeste de los Estados Unidos y la U.K.

GA-9. Se encuentra en Alaska y Oregon. Es un patógeno débil del suelo que puede infectar al cultivo de la papa y otros vegetales.

GA-10. Se encuentra en el noreste de Pacífico asociado con pequeños cultivos de grano. Es patógeno del suelo y, aunque también puede ser saprofito, su patogenicidad no está bien reportada.

Kautmann y Rothrock (1995) reportaron que el GA-11 ataca a soya y trigo en Arkansas y al altramuza en Australia.

Costra Negra de la Papa

Grupos de Anastomosis que Atacan a la Papa en México

Las principales regiones productoras de papa en México son Guanajuato, Sinaloa, Sonora, Estado de México, Puebla, Coahuila, Chihuahua, Jalisco, Michoacán y Veracruz, donde *R. solani* es una de las principales enfermedades de la papa. En León, Guanajuato se encuentran los GA-3 y GA-4, al igual que en Sinaloa; en Sonora, Jalisco y Veracruz se encuentra el GA-3; en el estado de México se encuentran los grupos GA-2, GA-3 y GA-7 (Virgen *et al.*, 2000, Pérez, 2000); en Puebla se encuentran los grupos GA-3 y GA-4. En Coahuila y Nuevo León se encuentran los grupos GA-2, GA-3, GA-4 y GA-5 (Alonso *et al.* 1994 y Virgen *et al.* 2000). En Chihuahua se encuentran los grupos de anastomosis GA-3 y GA-4 (Carvajal, sin fecha).

Importancia

R. solani causa lesiones en los brotes, cancro de los estolones y tubérculos o comúnmente llamados costra negra, afecta la emergencia y en casos extremos afecta el rendimiento (Randall, 1993). Las lesiones en los tallos subterráneos que alcanzan más del 90%, pueden reducir el rendimiento desde un 7 a un 64% (Carling *et al.*, 1986). En condiciones húmedas y frescas reducen la calidad de la cosecha por la formación de esclerocios, que van de negros a cafés dando la apariencia de costras en la superficie de los tubérculos (Holguin, 1999).

Ubicación Taxonómica

Alexopoulos y Mims (1979) ubican a la costra negra en la siguiente posición taxonómica:

Reino Mycetae
División Amastigomycota
Clase Deuteromycetes
Orden Agonomycetales (Mycelia sterilia)
Genero *Rhizoctonia*
Especie *solani*

En la cuarta edición de Alexopoulos *et al.*, (1996) ubican a *Rhizoctonia* en su forma teleomorfica dentro de la clase Basidiomycetes.

Síntomas

En condiciones favorables el hongo ataca plántulas antes o poco después de que estas emerjan; las lesiones son hundidas de color rojizo, de tamaño variable, si las condiciones son las óptimas para el hongo, puede causar estrangulamiento o bien pudrición de brotes (Mendoza y Pinto, 1983).

Hoocker (1990) (citado por Holguin, 1999) menciona que sobre la superficie de los tubérculos maduros se forman esclerocios de color negro, los que pueden ser poco prominentes y superficiales o grandes e irregulares en forma de

terrones, de donde toma el nombre de costra negra. Generalmente la epidermis del tubérculo por debajo de los esclerocios no presenta ninguna anomalía. Otros síntomas en los tubérculos incluyen zonas agrietadas, malformaciones y necrosis en el extremo de la unión con el estolón.

Desarrollo de la Enfermedad

El hongo sobrevive en el suelo como micelio asociado con la descomposición de residuos vegetales. Los esclerocios sobreviven sobre tubérculos infectados y pueden persistir libremente en el suelo por largos periodos de tiempo (Randall, 1993). Usualmente el inóculo llega al campo de cultivo con el tubérculo-semilla, agua de riego o a través de fuentes externas como campos cercanos y maquinaria (Agrios, 1996). En primavera cuando las condiciones son favorables (21 a 25° C y suelos húmedos), los esclerocios germinan, invaden y penetran directamente en los tallos de la papa o los brotes emergentes (Randall, 1993; y Hooker (1990) citado por Holguin, 1999). Una segunda infección se manifiesta como canchales en los tallos, lesiones sobre estolones y la formación de esclerocios sobre los tubérculos cuando aún permanecen enterrados (Randall, 1993).

Bolkan (1980) (citado por Holguin, 1999) menciona que a 18° C y en suelos húmedos, el patógeno ocasiona más daños en tallos y brotes de papa, encontrándose la temperatura media óptima entre 15 a 20° C. Por otra parte

Carling y Leiner (1990) aseguran que *R. solani* GA-3 daña los brotes a temperaturas de 10 a 20° siendo el daño más severo a 10°C.

Métodos para Evaluar el Antagonismo *In vitro*

Existen varias formas de evaluar el antagonismo *in vitro* de un organismo considerado como antagonista, dentro de las más conocidas tenemos las siguientes:

1. Uno de los métodos consiste en colocar una línea horizontal del microorganismo antagónico a lo largo del diámetro de la caja Petri y otra línea perpendicular interceptándose las dos líneas en el centro de la caja Petri, de tal manera que la caja sea dividida en cuatro cuadrantes; los explantes del hongo se colocan en cada uno de los cuadrantes de tal manera que sean equidistantes del centro de la caja a cada uno de los puntos inoculados con el hongo (Filippi *et al.*, 1987).
2. Otro método ampliamente empleado es sembrando al microorganismo antagónico en línea horizontal a lo largo del diámetro de la caja petri y se coloca un explante del hongo en un extremo de la división, en la otra división de la caja Petri se coloca otro explante del hongo de tal manera que se proyecte una línea imaginaria perpendicular a la línea del antagonista (Filippi *et al.*, 1987).

3. Otra forma de evaluar el antagonismo, consiste en colocar al antagonista en el centro de la caja Petri y los explantes del hongo se colocan en forma equidistante en los cuatro puntos cardinales de la caja Petri (Filippi *et al.*, 1987).

4. En este método, se coloca un punto del inculo bacteriano en un extremo de la caja Petri y en el extremo contrario se coloca el explante del hongo (Olivares, 1993).

5. Otro método más consiste en colocar un explante del hongo en el centro de la caja petri y colocar a una distancia conocida un punto de inculo bacteriano en los cuatro puntos cardinales de la caja petri (Korsten *et al.*, 1995).

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización del Área Experimental

La evaluación de las bacterias antagónicas aisladas de la rizosfera de papa contra los diferentes grupos de anastomosis (*Rhizoctonia solani*) se realizó en el laboratorio de Fitopatología del Departamento de Parasitología Agrícola, Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro” (U.A.A.A.N).

Obtención del Material Biológico

Bacterias Antagónicas

Las bacterias antagónicas fueron producto del proyecto “Aislamiento y caracterización de actinomicetos útiles en el control biológico de *Rhizoctonia solani* Kühn en papa (*Solanum tuberosum* L.) aisladas de la rizósfera de papa de la región papera de Coahuila y Nuevo León” (Cuadro No. 1).

Grupos de Anastomosis (GA) de *R. solani* Kühn.

Los 13 grupos de anastomosis de *R. solani* que se utilizaron para evaluar a las diferentes cepas bacterianas antagónicas, fueron proporcionados por el Laboratorio de Fitopatología del Departamento de Parasitología de la

U.A.A.A.N. Los grupos de anastomosis GA-4, GA-5, GA-6 fueron adquiridos de American Type Culture Collection (ATCC), y los GA-1, GA-2, GA-3, GA-7, GA-8, GA-9, GA10, GA-11, GA-12 y GA-13 de la colección de hongos tipo del Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria (CNRF – SAGARPA).

Purificación de las Bacterias

Para corroborar la pureza de las colonias bacterianas, se realizaron siembras mediante la técnica de la estría cruzada (Rodríguez, 1994). Con un asa microbiológica estéril se tomo una asada bacteriana y se estrío sobre una caja Petrí con agar nutritivo (AN), después de hacer la estría se flameo el asa microbiológica en el mechero de alcohol para su esterilización, una vez esterilizada el asa, se tomo al inóculo bacteriano por un extremo de la estría más fina y se realizó otra estría en el segundo cuadrante de la caja Petrí, para el tercer y cuarto cuadrante se hizo el mismo procedimiento que en el segundo cuadrante. Las estrías se realizaron de tal manera que se fuese diluyendo la concentración del inóculo para que al final de la cuarta estría se formaran colonias aisladas de bacterias. Después de hacer las estrías se sello la caja Petrí con kleen pack y se incubó a una temperatura de 28°C por 48 hr. Transcurrido el periodo de incubación se seleccionaron aquellas colonias aisladas del ultimo cuadrante para transferirlas con una asa microbiológica estéril a otra caja Petrí con medio de cultivo nuevo (AN); posteriormente se

incubaron por 24 horas y al termino de dicho tiempo, se tomo una muestra para realizar una prueba de tinción de Gram, para corroborar la pureza de la colonia. Para identificar a las diferentes cepas bacterianas se les asigno un número antecedido por la letra "B" (B1, B5, ... B29).

Conservación de las Bacterias

Las bacterias se conservaron en tubos de ensaye con agar nutritivo inclinado. Se preparó agar nutritivo como medio de cultivo, se colocarán 12 ml del medio en un tubo de ensaye con rosca con capacidad de 30 ml. Los tubos con el medio de cultivo se esterilizaran a una temperatura de 120°C por un tiempo de 20 minutos; pasando el tiempo de esterilización, se colocaron los tubos por 24 hr en una posición de tal manera que al solidificar el medio quedara inclinado. Se tomó una asada bacteriana del cultivo puro y se hizo una estría sobre el agar inclinado; después de la siembra, se llevaron los tubos a incubar a 28°C por 48 hr. Pasando las 48 hr de incubación, se llevaran los tubos con crecimiento bacteriano a refrigeración (5°C) para preservar y tener disponible a las cepas bacterianas para su evaluación.

Recuperación de las Bacterias para su Evaluación

De los cultivos bacterianos puros en refrigeración se tomó con un asa microbiológica estéril una asada de bacteria y se paso a una caja Petrí con agar

nutritivo, después de la siembra se sello la caja Petrí con kleen pack y se llevó a incubar por 48 hr a una temperatura de 28°C. Para mantener activas a las bacterias antagónicas durante la evaluación de los diferentes grupos de anastomosis se hicieron transferencias en cajas de Petrí con medio de cultivo (AN) nuevo. La manipulación del material se hizo en condiciones de asepsia en una cámara de flujo laminar (marca Alder).

Recuperación de los Grupos de Anastomosis

La recuperación de las cepas se hizo en cajas Petrí con medio de cultivo agar dextrosa papa (Infusión de papa). Con una aguja de disección estéril se tomo un explante del grupo de anastomosis preservado en aceite mineral, se colocó en el centro de la caja Petrí con medio de cultivo y se llevo a incubar por 5 días a una temperatura de 24° C .

Estudio de Diferentes Medios de Cultivo para Realizar la Evaluación del Antagonismo *In vitro*.

En este estudio se probaron los medios de cultivo: Papa Dextrosa Agar (PDA), Agar Nutritivo (AN) y Sabouran Dextrosa Agar (SDA), para observar en cual de los medios se desarrollan sin problemas los dos grupos de organismos involucrados en este estudio.

Para ello se colocaron en el centro de cada una de las cajas Petrí con medio diferente, un disco explante de *R. solani* del cultivo original y a una distancia de 3 cm de éste, en dirección de los cuatro puntos cardinales se colocó con el asa microbiológica un punto de inóculo bacteriano; posteriormente se incubaron a una temperatura de 28° C por 5 días.

Pasado el tiempo de incubación se midió el diámetro micelial del hongo y el crecimiento bacteriano; la comparación de los diferentes medios se hizo en cuanto al crecimiento del hongo y el crecimiento bacteriano.

Evaluación de las Bacterias Antagónicas contra los Diferentes Grupos de Anastomosis (GA) de *Rhizoctonia solani*.

Método

Para realizar la evaluación de los antagonistas *in vitro* se utilizó el método propuesto por (Korsten *et al.* 1995).

En una caja Petrí sin medio de cultivo se marcaron dos ejes uno vertical y otro horizontal, en la intersección de los ejes se marco un punto que representa el centro de la caja Petrí. A partir del centro se midieron 3.5 cm y se marco un punto en cada uno de los cuatro radios marcados por los ejes horizontal y vertical. Esta caja marcada sirvió como molde para posteriormente poner sobre ella una caja petrí con medio de cultivo (AN) para realizar las evaluaciones.

Prueba del Antagonismo *In Vitro*

Con un sacabocados estéril de 5 mm de diámetro se marcaron suficientes discos explante del grupo de anastomosis desarrollado en cajas Petrí con PDA. Se colocó una caja Petrí con medio de cultivo AN sobre la caja Petrí molde. Con una aguja de disección estéril se tomó un disco explante del grupo de anastomosis y se colocó en el centro de la caja Petrí, posteriormente con un asa microbiológica se tomó una asada bacteriana del cultivo puro y se colocó un punto de masa bacteriana en los cuatro puntos marcados a 3.5 cm a partir del centro de la caja Petrí. A la caja Petrí sembrada se le pusieron datos de identificación del grupo de anastomosis y la bacteria antagónica en estudio. Este procedimiento se utilizó para un grupo de anastomosis contra todas las bacterias antagónicas.

En otra caja Petrí con medio de cultivo AN, se colocó en el centro únicamente un disco explante del grupo de anastomosis en estudio. Esta caja Petrí sirvió como el control de la prueba o testigo para medir el antagonismo de cada una de las bacterias antagónicas contra un GA en particular.

Después de la identificación, se sellaron las cajas Petrí con kleen pack y se llevaron a incubar a una temperatura de 28°C hasta que el grupo de anastomosis testigo llenara el área de la caja Petrí.

Durante la evaluación todas las bacterias antagónicas contra cada uno de los 13 grupos de anastomosis se utilizó el procedimiento anterior.

Radio Micelial del Grupo de Anastomosis (Inhibición)

Para medir el antagonismo, se tomaron datos de longitud del crecimiento micelial a partir del punto de inoculación hasta el margen del micelio en dirección del antagonista; para el caso del testigo se marcaron cuatro puntos de referencia simulando al antagonista sobre los cuales se tomaron los datos del crecimiento micelial. La toma de datos se hizo cada 24 hr y se dejó de anotar los datos hasta que el grupo de anastomosis testigo llenó toda el área de la caja Petri.

Para transformar los datos de radio micelial en porcentaje de inhibición se utilizó la fórmula de Skidmore (1976):

$$\text{GI} = (\text{Kr} - \text{r1}/\text{Kr})100$$

Donde:

GI, es el porcentaje de inhibición.

Kr, representa la distancia (mm) del crecimiento del hongo, medida del punto de inoculación al margen de la colonia en la caja petri utilizada como testigo o control.

r1, es la distancia del crecimiento del hongo, a partir del punto de inoculación al margen de la colonia en dirección del antagonismo.

Diseño experimental

Para los grupos de anastomosis GA-11, GA-12 y GA-13 se utilizó un diseño completamente al azar con cuatro repeticiones; los tratamientos fueron cada una de las cepas antagónicas, utilizándose como unidad experimental a una caja petri. Esto se debió a que el experimento solo dio oportunidad de realizar una sola toma de datos (48 hr).

Para los grupos de anastomosis GA-1 al GA-10 se utilizó un bifactorial completamente al azar con cuatro repeticiones; el factor A fue el tiempo de inhibición y el factor B fueron las cepas antagónicas, la unidad experimental fue una caja Petri (Olivares, 1994).

Las variables a evaluar fueron el radio micelial del (GA) y el tiempo de inhibición.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Purificación de los aislados bacterianos

De la purificación de las bacterias antagonicas se obtuvieron 29 cepas, de las cuales 21 fueron Gram (+) y 8 Gram (-), 7 esporuladas y 22 no esporuladas (Cuadro 1).

Crecimiento en Medios de Cultivo para Evaluación del Antagonismo *In vitro*

El crecimiento observado de *R. solani* a 28°C por 48 hr fue similar sobre los medios de cultivo PDA y AN e incluso creció más sobre AN, las bacterias crecieron menos sobre PDA el crecimiento sobre AN y SDA fue similar; sin embargo, el crecimiento de ambos organismos resaltó más sobre el medio de cultivo AN, donde incluso su desarrollo fue más rápido. Para el caso del medio SDA el crecimiento de *R. solani* fue mucho más lento y menos vigoroso (Figura 9 del apéndice).

Cuadro 1. Características de las bacterias aisladas de la rizosfera de papa de la región papera de Coahuila y Nuevo León.

CEPA	TINCIÓN	FORMA	ESPORAS
B1	Gram (+)	Bacilos	Si
B2	Gram (+)	Bacilos	No
B3	Gram (+)	Bacilos	Si
B4	Gram (+)	Bacilos	Si
B5	Gram (+)	Bacilos	No
B6	Gram (+)	Bacilos	No
B7	Gram (+)	Bacilos	Si
B8	Gram (+)	Bacilos	No
B9	Gram (-)	Bacilos	No
B10	Gram (-)	Bacilos	No
B11	Gram (+)	Bacilos	No
B12	Gram (+)	Bacilos	No
B13	Gram (-)	Bacilos	No
B14	Gram (-)	Bacilos	No
B15	Gram (-)	Bacilos	No
B16	Gram (-)	Bacilos	No
B17	Gram (+)	Bacilos	Si
B18	Gram (+)	Bacilos	Si
B19	Gram (+)	Bacilos	no
B20	Gram (+)	Bacilos	No
B21	Gram (+)	Bacilos	No
B22	Gram (+)	Bacilos	No
B23	Gram (-)	Bacilos	no
B24	Gram (+)	Bacilos	Si
B25	Gram (+)	Bacilos	No
B26	Gram (+)	Bacilos	No
B27	Gram (+)	Bacilos	No
B28	Gram (+)	Bacilos	No
B29	Gram (-)	Bacilos	No

Ensayos de Antagonismo *In Vitro*

Comportamiento de las Cepas Antagónicas vs los Grupos de Anastomosis

Los resultados de este apartado serán únicamente los correspondientes a los grupos de anastomosis GA-1 y GA-6, los cuales sirvieron para seleccionar el antagonismo de las 29 cepas aisladas de la rizosfera de papa. De acuerdo a las pruebas de medias (Cuadro 2 y 3) la cepa B15 fue la que expreso el mayor porcentaje de inhibición en ambos grupos de anastomosis, 50% en al GA-1 y 85.71% en el GA-6. En segundo lugar la cepa B20 con un 42.85% en el GA-1 y las cepas B7 y B22 con un porcentaje de 69.62% en el GA-6. De acuerdo con De la Garza, (1996) la cepas B15 y B7 ejercen su poder antagonista mediante competencia, ya que presenta una alta capacidad para desarrollarse y difundirse sobre el medio de cultivo inhibiendo el desarrollo del *Rhizoctonia solani*. En el caso de la cepa B22 la inhibición se atribuye a que se debe a la producción de sustancias toxicas o por el producto metabólico de ésta (Stakman, 1957 y De la Garza, 1996). En la Figura 1 se presenta el antagonismo de las 29 cepas contra los grupos de anastomosis AG-1y AG-6.

En el Cuadro 2 y 3 se observa la comparación de medias (Tukey) del radio de inhibición que presentaron estos grupos de anastomosis GA-1 y GA-6 al enfrentarlos contra las cepas bacterianas aisladas de la rizosfera de papa, se

Cuadro 2. Comparación de medias para el radio micelial del grupo de anastomosis AG-1 en diferentes tiempos.

	96 HORAS	120 HORAS	
Cepa	Radio (cm)	Radio (cm)	Media (4 Rep.)
B1	1.750 ABCDE	2.600 BCD	2.175 BCDE
B2	1.8500 DEF	2.400 B	2.125 BC
B3	1.700 ABCDE	2.650 CDE	2.175 BCDE
B4	1.775 BCDEF	2.875 EFG	2.325 EFGH
B5	1.900 EF	2.900 FGH	2.400 GH
B6	1.825 CDEF	3.325 J	2.575 I
B7	1.850 DEF	2.400 B	2.125 BC
B8	1.725 ABCDE	2.400 B	2.062 B
B9	1.550 AB	2.900 FGH	2.225 BCDEF
B10	1.650 ABCDE	3.150 IJ	2.400 GH
B11	1.700 ABCDE	2.425 BC	2.062 B
B12	1.600 ABC	3.100 GHIJ	2.350 FGH
B13	1.750 ABCDE	3.150 IJ	2.450 HI
B14	1.725 ABCDE	3.125 HIJ	2.425 HI
B15	1.600 ABC	2.100 A	1.850 A
B16	1.650 ABCD	2.600 BCD	2.125 BC
B17	1.525 A	2.600 BCD	2.062 B
B18	1.775 BCDEF	2.500 BCD	2.137 BCD
B19	1.775 BCDEF	2.725 DEF	2.250 CDEFG
B20	1.900 ENF	2.400 B	2.150 BCD
B21	1.850 DEF	2.450 BC	2.150 BCD
B22	1.900 EF	2.600 BCD	2.250 CDEFG
B23	1.825 CDEF	3.025 GHI	2.425 HI
B24	1.800 CDEF	2.600 BCD	2.200 BCDEF
B25	1.825 CDEF	2.450 BC	2.137 BCD
B26	1.900 EF	2.925 FGHI	2.412 GHI
B27	1.875 DEF	2.725 DEF	2.300 DEGH
B28	1.700 ABCDE	2.875 EFG	2.287 CDEFG
B29	1.650 ABCD	2.600 BCD	2.125 BC
TESTIGO	2.000 F	4.200 K	3.100 J

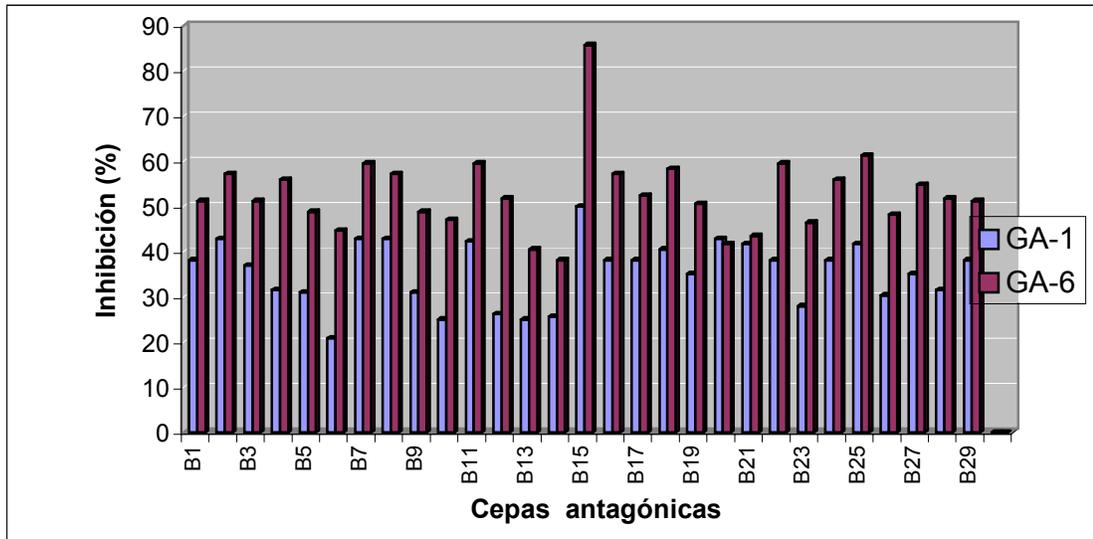
Tratamientos y bloques con las mismas letras son estadísticamente iguales Tukey (0.01).

Cuadro 3. Comparación de medias para el radio micelial del grupo de anastomosis AG-6 en diferentes tiempos.

	96 horas	120 horas	148 horas	172 horas	Media (4 R.)
Cepa	Radio (cm)	Radio (cm)	Radio (cm)	Radio (cm)	Inhibición (%)
B1	2.125 E	1.975 CDEFG	2.050 CDEF	2.050 DEFGH	2.050 HIJKLMN
B2	1.750 BCDE	1.800 BCDEF	1.800 BCD	1.800 BCDE	1.787 BCDE
B3	1.975 CDE	2.050 DEFG	2.050 CDEF	2.050 CDEFG	2.031 GHIJKL
B4	1.675 BCD	1.775 BCDE	1.850 BCDE	1.850 BCDEF	1.787 BCDE
B5	1.975 CDE	2.050 DEFG	2.125 DEF	2.150 DEFGHI	2.075 IJKLMN
B6	2.050 DE	2.200 FG	2.325 FG	2.325 GHIJ	2.225 LMNO
B7	1.600 BC	1.600 BC	1.700 BC	1.700 BC	1.650 BC
B8	1.800 BCDE	1.800 BCDEF	1.800 BCD	1.800 BCDE	1.800 CDEF
B9	2.000 CDE	2.125 EFG	2.125 DEF	2.150 DEFGHI	2.100 IJKLMN
B10	2.050 DE	2.200 FG	2.225 EFG	2.225 FGHIJ	2.175 KLMNO
B11	1.700 BCD	1.700 BCD	1.700 BC	1.700 BC	1.700 BC
B12	1.900 BCDE	2.000 DEFG	2.025 BCDEF	2.025 BCDEF	1.987 EFGHIJK
B13	1.775 BCDE	2.050 DEFG	2.350 FG	2.500 IJ	2.168 JKLMNO
B14	1.900 BCDE	2.300 G	2.550 G	2.600 J	2.337 O
B15	0.600 A	0.600 A	0.600 A	0.600 A	0.600 A
B16	1.750 BCDE	1.800 BCDEF	1.800 BCD	1.800 BCDE	1.787 BCDE
B17	2.00 CDE	2.000 CDEFG	2.000 BCDEF	2.000 BCDEF	2.000 FGHIJK
B18	1.750 BCDE	1.750 BCDE	1.750 BCD	1.750 BCD	1.750 BCDE
B19	1.775 BCDE	1.925 BCDEFG	2.075 CDEF	2.075 CDEFG	1.962 EFGHIJ
B20	1.950 CDE	2.250 G	2.400 FG	2.450 HIJ	2.262 NO
B21	2.050 DE	2.200 FG	2.375 FG	2.375 GHIJ	2.250 MNO
B22	1.725 BCDE	1.700 BCD	1.700 BC	1.700 BC	1.706 BC
B23	1.875 BCDE	2.025 DEFG	2.225 EFG	2.250 FGHIJ	2.093 IJKLMN
B24	1.800 BCDE	1.800 BCDEF	1.850 BCDE	1.850 BCDEF	1.825 CDEFG
B25	1.525 B	1.550 B	1.625 B	1.625 B	1.581 B
B26	1.775 BCDE	2.000 CDEFG	2.125 DEF	2.175 EFGHI	2.018 GHIJKL
B27	1.800 BCDE	1.825 BCDEFG	1.900 BCDE	1.900 BCDEF	1.856 CDEFGH
B28	1.875 BCDE	1.950 BCDEFG	2.000 BCDEF	2.025 BCDEF	1.962 EFGHIJ
B29	1.850 BCDE	1.900 BCDEFG	2.025 BCDEF	2.050 CDEFG	1.956 DEFGHI
Test.	2.125 E	3.200 H	4.000 H	4.200 K	3.381 P

Tratamientos y bloques con las mismas letras son estadísticamente iguales Tukey (0.01).

Figura 1. Antagonismo *In vitro* de 29 cepas bacterianas contra los GA-1y GA-6, en un tiempo de 120 horas y 96 horas respectivamente a temperatura constante de 28°C.



aprecia que estadísticamente ($P = 0.01$) existe diferencia significativa suficiente como para considerar que hay diferencias entre los radios de inhibición de los grupos de anastomosis evidenciándose la cepa B15 como la que mejor inhibió en tiempo y radio micelial a estos grupos de anastomosis.

De éstas evaluaciones por cuestiones de la cantidad de material y de acuerdo a los resultados obtenidos se seleccionaron a 10 cepas que mostraron el mayor antagonismo tomando en cuenta los criterios de antagonismo por competencia B15 y por antibiosis B1, B5, B12, B20, B21, B22, B25, B27 y B29 (Stakman, 1957 y De la Garza, 1996).

Para todos y cada uno de los grupos de anastomosis el análisis de varianza fue altamente significativo (Cuadros 6 al 26 y figuras 3 al 8 del apéndice), esto es que el antagonismo de las cepas expresado en porcentaje de inhibición, tiempo de inhibición y la interacción entre las cepas y el tiempo de inhibición, de acuerdo al resultado de la comparación de medias (cuadros 9 al 27 del apéndice) es diferente entre las cepas antagónicas, entre grupos de anastomosis y su interacción ($P = 0.01$) destacándose el aislado B15 como el que mejor inhibió a todos los grupos de anastomosis, en tiempo y radio de inhibición.

Tiempo de Inhibición

El tiempo de inhibición estuvo en función del desarrollo de cada uno de los grupos de anastomosis, ya que las condiciones fueron las mismas para todos los grupos. Se describen las cepas que inhibieron en el menor tiempo de exposición dentro de cada grupo de anastomosis (Cuadro 4).

A las 48 hr en tiempo de inhibición la mayor cantidad de grupos de anastomosis de *R. solani* fué inhibido por la mayoría de los aislados recuperados de la rizosfera de papa. El grupo de anastomosis más sensible a los aislados bacterianos en el menor tiempo de inhibición fue el GA-7, mientras que los grupos de anastomosis que presentaron mayor resistencia en cuanto al tiempo de inhibición fueron el GA-1, GA-2, GA,6, GA-8 y el GA-9 (Cuadro 4).

Aún y cuando todos los aislados fueron recuperados de rizosfera de papa, estos demuestran que la presencia de distintos tipos bacterianos poseen diversos grados de actividad para una misma especie de *R. solani*. Se demuestra también que particularmente las bacterias aisladas desarrollan su mejor efecto antagónico contra grupos de anastomosis reportados para la zona de Coahuila y Nuevo León tanto en tiempo como en porcentaje de inhibición. A excepción de los grupos de anastomosis(GA-1 y GA-6) que atacan a otros cultivos.

Cuadro 4. Tiempo en el que las cepas antagónicas inhibieron totalmente el desarrollo de los diferentes grupos de anastomosis, después de haberse sembrado.

	T I E M P O				
Cepas	24 horas	48 horas	72 horas	96 horas	120 horas
B1	GA-7	GA-3, GA-4, GA-11, GA-12, GA-13	GA-2		GA-1
B5		GA-4, GA-11, GA-12, GA-13			GA-1
B7				GA-6	GA-1
B12		GA-11, GA-12, GA-13	GA-2		GA-1
B15	GA-7	GA-3,GA-4,GA-5, GA-10, GA- 11al 13.	GA-2 GA-8	GA-6	GA-1
B20		GA-11, GA-12,GA-13	GA-9		GA-1
B21	GA-7	GA-4, GA-5, GA-10, GA-11, GA-12,GA-13	GA-2 GA-9		GA-1
B22		GA-4, GA-10, GA-11 GA-12, GA-13		GA-6	GA-1
B25		GA-11,GA-12, GA-13		GA-6	GA-1
B27	GA-7	GA-11,GA-12, GA-13		GA-6	GA-1
B29	GA-7	GA-11,GA-12, GA-13	GA-2 GA-8 GA-9		GA-1

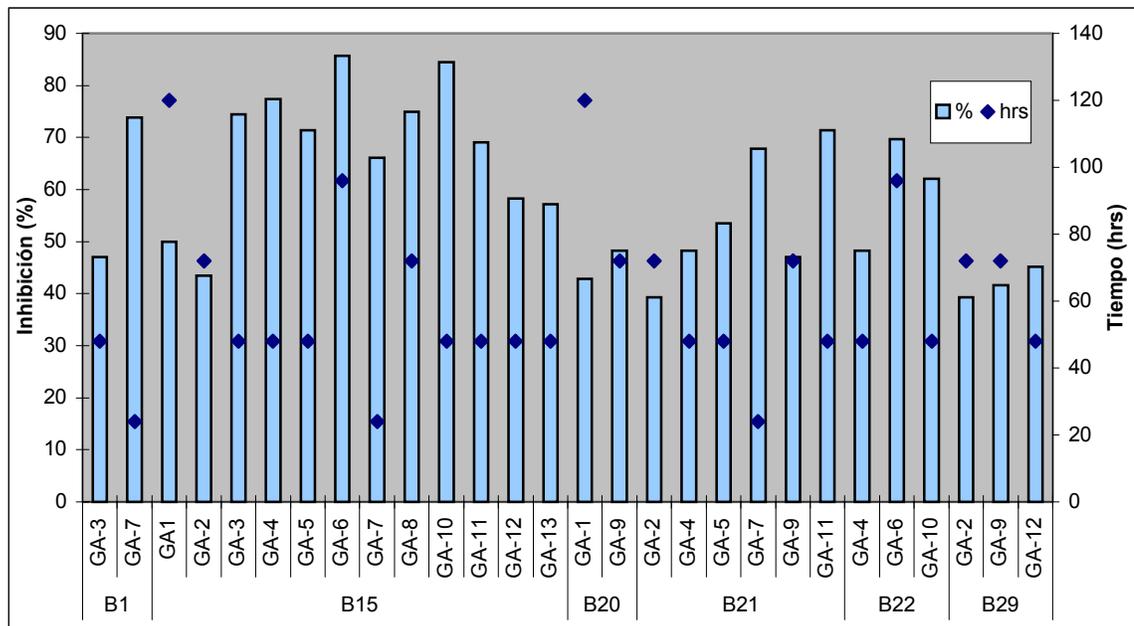
Interacción Entre el Antagonismo de las Cepas y el Tiempo de Inhibición

En la figura 2, se aprecian las seis mejores cepas antagónicas con los más altos porcentajes de inhibición y el tiempo en el que se presentó ésta; destacando nuevamente la cepa B15 como el aislado que en tiempo e inhibición presentó una diferencia bien marcada en comparación con los otros aislados, resaltándose como la mejor. Lo anterior estuvo en función al testigo de cada grupo de anastomosis, en el cual se apreció su crecimiento después de los tiempos en los que las bacterias no permitieron que el grupo de anastomosis en estudio continuara con su desarrollo y, de acuerdo al análisis de la prueba de medias de cada grupo (Cuadros 9 al 27 del apéndice).

Analizando estadísticamente en grupo a las cepas antagónicas contra los grupos de anastomosis y utilizando las medias del radio de inhibición micelial total (radio final de inhibición total obtenido del promedio de todos los grupos de anastomosis en el ensayo para cada cepa antagónica), el análisis de varianza reportó significancia entre las cepas antagónicas, de acuerdo a la comparación de medias la mejor cepa antagónica que redujo el radio micelial de todo los grupos de anastomosis fue la cepa B15 (Cuadro 5). La cual es una bacteria Gram (-), de crecimiento rápido, con altos porcentajes de inhibición y de gran potencial para su empleo como agente de control biológico de *R. solani* en papa y otros cultivos. Nuestros resultados concuerdan con otros reportes donde se menciona a bacterias del tipo de *Pseudomonas* spp. y de *Bacillus* spp. con

de alto potencial para el control de fitopatógenos de suelo como *R. solani* (Howell y Stipanovic, 1979; Yuen *et. al.*, 1985; Ogoshi, 1987; séller, 1988; Cartwrith y Benson, 1995 y Rosales *et al.*, 1995) además de otros como *Fusarium* y *Phytophthora* en otros cultivos.

Figura 2. Tiempo mínimo en el cual las cepas expresaron el máximo porcentaje de inhibición de acuerdo al grupo de anastomosis.



Cuadro 5. Comparación de medias para el radio micelial de los grupos de anastomosis en función de las cepas antagónicas.

Cepa	GRUPOS DE ANASTOMOSIS DE <i>Rhizoctonia solani</i>													MEDIA
	GA-1	GA-2	GA-3	GA-4	GA-5	GA-6	GA-7	GA-8	GA-9	GA10	GA11	GA12	GA13	
B1	1.17	2.76	2.21	2.45	2.55	2.05	1.05	2.11	2.25	2.03	1.7	2.45	2.97	2.1 AB
B5	2.40	3.08	2.43	2.53	2.55	2.07	1.83	2.48	2.63	1.88	1.82	2.7	3.2	2.4 B
B12	2.35	2.85	2.42	2.23	2.46	1.98	2.62	2.01	2.46	1.5	1.65	2.32	3.1	2.3 B
B15	1.85	2.37	1.07	0.95	1.6	0.6	1.42	1.05	2.8	0.75	1.3	1.75	1.8	1.4 A
B20	2.15	2.80	2.65	2.33	2.26	2.26	1.32	2.00	1.87	1.68	1.97	2.52	3.00	2.2 AB
B21	2.15	2.52	2.61	2.16	1.91	2.25	1.35	1.88	1.97	1.31	1.20	2.32	2.87	2.0 AB
B22	2.25	3.70	2.35	2.16	2.15	1.70	2.26	2.14	3.08	1.52	1.80	2.32	2.82	2.3 B
B25	2.20	3.20	2.31	2.38	2.37	1.58	2.46	1.92	2.4	1.75	1.5	2.40	2.95	2.2 B
B27	2.30	3.70	2.30	2.37	2.47	1.85	1.6	2.06	2.75	1.83	1.62	2.55	3.20	2.35 B
B29	2.12	2.55	2.32	2.42	2.28	1.95	2.61	1.80	2.35	1.35	1.52	2.30	2.80	2.1 AB

Grupos estadísticos con las mismas literales son estadísticamente iguales Tukey (0.01)

Los datos obtenidos en este trabajo con bacterias Gram (+) y Gram (-) concuerdan con los encontrados por Castillo (2001) quien reporta la existencia de altos porcentajes de inhibición *In vitro* (73.9% a 87.05%) al usar actinomicetos aislados de la rizosfera de papa de la región de Coahuila y Nuevo León. Lo anterior corrobora los reportes de Alexander (1980) y Vilich y Sikora (1998) quienes citan que la rizosfera de las plantas es una fuente de microorganismos antagónicos que pueden tener alto potencial para usarse como agentes de control de patógenos del suelo.

De acuerdo a los datos obtenidos en este estudio, en el cultivo de la papa el cual es afectado por *R. solani* GA-2, GA-3, GA-4, GA-5 y GA-7 (Alonso, 1994; Pérez 2000 y Virgen *et. al*, 2000), la cepa B15 puede ser un agente potencial

para el control de la costra negra dentro de un programa de manejo integrado del cultivo, ya que *in vitro* reportó altos porcentajes de inhibición (43.4% a 85.7%) para éstos grupos de anastomosis. Este aislado en lo particular, pudiese ser útil como agente de control biológico y alternativa a las dosis cada vez más altas de fungicidas químicos (Pencycuron, Tolcoflos-metil, PCNB, Fludioxonil, Azoxystrobin, Iprodione, Fluazinam) que se emplean en el control de ésta y otras enfermedades de la papa que ejercen una fuerte presión de selección que induce a la resistencia a dichos fungicidas. Al respecto Summer (1987) reportó que el grupo de anastomosis GA-2-1 es resistente al Pencycuron a concentraciones de 10 mg /gramo de suelo; por otra parte en ensayos In vitro Olaya *et al.*, (1994) reportó que los grupos de anastomosis GA-2-1, GA-2-2, GA-4 y GA-5 son insensibles al Benomil y Pencycuron a una concentración de 100 µg i.a./ml.

CONCLUSIONES

Bajo las condiciones experimentales en que se desarrolló esta investigación podemos concluir lo siguiente:

Todas las cepas presentaron inhibición contra los 13 grupos de anastomosis, sin embargo los aislados de clave B1, B15, B20, B21, B22 y B29 fueron los que presentaron los más altos porcentajes de inhibición.

La cepa B15 presentó el mayor porcentaje de antagonismo en todos los grupos de anastomosis, excepto en el GA-9. Su potencial de inhibición varió de acuerdo al grupo de anastomosis y va desde un 40% hasta un 85%.

El tiempo que la cepa B15 necesita para inhibir totalmente a un grupo de anastomosis generalmente es de 48 horas.

El aislado B15 posee potencial para poder emplearse contra los grupos de anastomosis de *R. solani* que atacan a la papa en México.

LITERATURA CITADA

- Agrios, G.N. 1996. Fitopatología. 2ª edición. Editorial Limusa. México. 838 p.
- Alexander, M. 1980. Introducción a la Microbiología del Suelo. AGT Editor, S.A. México. 491 p.
- Alexopoulos, C.J., Mims, C.W. 1979. Introductory Mycology. 3ª edition. Editorial John Wiley and Sons, Inc. New York. 632 p.
- Alexopoulos, C.J., Mims, C.W., and Blackwell, M. 1996. Introductory Mycology. 4ª edition. Editorial John Wiley and Sons, Inc. New York. 869 p.
- Alonso, C.Z., Hernández, C.D. Frías, T. y Sánchez, A.A. 1994. Determinación de grupos de anastomosis de *Rhizoctonia solani* Kühn en papa en Coahuila y Nuevo León, México. Memoria del Congreso Nacional de Fitopatología. Cuernavaca, Morelos. Pag. 99.
- Anderson, N.A. 1982. The genetic and pathology of *Rhizoctonia solani*. Ann. Rev. Phytopathology. 20: 329 – 374.
- Bains, P.S., and Bisht, V.S. 1995 Anastomosis group identity and virulence of *Rhizoctonia solani* isolates collected from potato plants in Alberta, Canada. Plant Dis. 79: 241 – 242.
- Bandy, B.P., Zanzinger, D.H., and Tavantzis, S.M. 1984. Isolation of Anastomosis group 5 of *Rhizoctonia solani* from potato field soils in Maine. Phytopathology 74: 1220 – 1224.
- Barrera, J.F. 1999. Introducción, filosofía y alcance del Control Biológico. X curso nacional de Control Biológico. Montecillo, México. 217p.

- Bell, D.K., and Summer, D.R. 1984. Unharvested peanut pods as a potential source of inoculum of soilborne plant pathogens. *Plant Dis.* 68:1039 – 1042.
- Carvajal *et al.* Sin fecha. Grupos de anastomosis de *Rhizoctonia solani* Kühn en regiones paperas de Chihuahua y Susceptibilidad a fungicidas. Artículo enviado a la Revista Mexicana de Fitopatología.
- Carling, D.E. 2000. Anastomosis groups and subsets of Anastomosis groups of *Rhizoctonia solani*. Congreso Mundial de *Rhizoctonia*, Taiwan. en: http://www.nchu.edu.tw/~isr2000/total%20abstract.htm#_Toc488585791
- Carling, D.E. y Leiner, R.H. 1990. Effect of temperature on virulence of *Rhizoctonia solani* and other *Rhizoctonia* on potato. *Phytopathology.* 80 (10): 930 – 934.
- Carling, D.E., Leiner, R.H., and Kebler, K.M. 1987. Characterization of a new Anastomosis group (AG-9) of *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology* 77: 1609 – 1612.
- Carling, D.E., Leiner, R.H., and Westphale, P.C. 1989. Symptoms, signs and yield reduction associated with *Rhizoctonia* disease of potato induced by tuberborn inoculum of *Rhizoctonia* disease of potato induced by tuberborn inoculum of *R. solani* GA-3. *Amer. Potato J.* 66:693 – 701.
- Cartwright, D.K., and Benson, D.M. 1995. Optimiztion of biological control of *Rhizoctonia* stem rot of poinsettia by *Paecilomyces lilacinus* and *Pseudomonas cepacia*. *Plant Dis.* 79: 301 – 308.
- Cartwright, D.K., and Benson, D.M. 1995. Comparison of *Pseudomonas species* and application techniques for biocontrol of *Rhizoctonia* stem rot poinsettia. *Plant Dis.* 79: 309 – 313.
- Castañeda, P.N. 2001. Métodos in-vitro para determinar el efecto antagónico de *Bacillus subtilis* y *Bacillus sp.* sobre el complejo de la secadera del chile (*Capsicum annum* L.). Tesis de Licenciatura U.A.A.A.N. Buenavista, Saltillo, Coahuila. 80 p.

- Castillo, F.E. 2001. Efectividad in vitro de Actinomicetos aislados de la rizosfera de la papa (*Solanum tuberosum* L) de los estados de Coahuila y Nuevo León sobre *Rhizoctonia solani* Kühn. Tesis de Maestría. U.A.A.A.N. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. 50 p.
- De la Garza, G.J.L. 1996. Fitopatología general. Universidad Autónoma de Nuevo León. Facultad de Agronomía. Marín, N.L. 515 p.
- Díaz, P.A. 1990. Antagonismo de *Bacillus subtilis* contra *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* y su eficiencia en el control del marchitamiento de la sandía en invernadero. Tesis de Licenciatura U.A.A.A.N. Buenavista, Saltillo, Coahuila. 34 p.
- Filippi, C., Bagnoli, G., Volterrani, M., and Picci, G. 1987. Antagonistic effects of soil bacteria on *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*. Plant and Soil 98: 161 – 167.
- Fravel, R.D. 1988. Role of Antibiosis in the Biocontrol of Plant Diseases. Ann. Rev. Phytopathology 26:75-91.
- Holguin, P.R.J. 1999. Niveles de Tolerancia a Fungicidas de Diferente Grupo Toxicológico y Pruebas de Adaptabilidad de *Rhizoctonia solani* y *R. cerealis* de las Regiones Paperas de Coahuila, Nuevo León, Chihuahua, Guanajuato y Toluca. Tesis de Maestría. U.A.A.A.N. Buenavista, Saltillo, Coahuila. 103 p.
- Howell, C.R., and Stipanovic, R.D. 1979. Control of *Rhizoctonia solani* on cotton seedlings with *Pseudomonas fluorescens* and with an antibiotic produced by the bacterium. Phytopathology 69: 480 – 482.
- Kaufmann, P. and Rothrock, S.C. 1995. Evaluation of isolate diversity of *Rhizoctonia solani* AG-11. Department of Plant Pathology, University of Arkansas, Fayetteville, AR 72701. Congreso mundial de *Rhizoctonia* celebrado en Taiwan. en:
http://wwwep.scisoc.org/aps/old_abstracts/sabsb.html

- Korsten, L., De Jager, E.S., De Villiers, E.E., Lourens, A., Kotzé, J.M. and Wehner, F.C. 1995. Evaluation of bacterial epiphytes isolated from avocado leaf and fruit surfaces for biocontrol of avocado postharvest diseases. *Plant Dis.* 79: 1149 – 1156.
- Madigan, M.T., Martinko, J.M., y Parker, J. 1998. Brock *Biología de los Microorganismos*. 8ª edición. Editorial Prentice hall. España. 986 p.
- Martín, S.B., and Lucas, L.T. 1984. Characterization and pathogenicity of *Rhizoctonia* spp. and binucleate *Rhizoctonia* – like fungi from turf – grasses in North Carolina. *Phytopathology* 74:170 – 175.
- Mendoza, Z.C. y Pinto, b. 1983. *Principios de Fitopatología y enfermedades causadas por hongos*. Universidad Autónoma Chapingo. México. 311 p.
- Mew, T.W., and Rosales, A.M. 1986. Bacterization of rice plants for control of sheath blight caused by *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology* 76: 1260 – 1264.
- Nason, A., y Dehann, R.L. 1982. *El mundo Biológico*. 1ª reimpresión. Editorial Limusa. México. 841 p.
- Ogoshi, A. 1987. Ecology and pathogenicity of Anastomosis and intraspecific groups of *Rhizoctonia solani* Kühn. *Ann. Rev. of Phytopathology* 25: 125-143.
- Olaya, G., Abawi, G.S., and Barnard, J. 1994. Response of *Rhizoctonia solani* and binucleate *Rhizoctonia* to five fungicides and control of pocket rot of table beets with foliar sprays. *Plant Dis.* 78: 1033 – 1037.
- Olivares, S.E. 1994. *Paquete de Diseños Experimentales FAUANL Versión 2.5*. Facultad de Agronomía UANL. Marín, N. L.

- Olivares, Z.M.E. 1993. Diagnostico y control de la Marchitez del chile (*Capsicum annum* L.) en Ramos Arizpe Coahuila. Tesis de Licenciatura U.A.A.A.N. Buenavista, Saltillo, Coahuila. 61 p.
- Pérez, C.A. 2000. Grupos de Anastomosis de *Rhizoctonia solani* de la región papera de Toluca, Edo. de México y Susceptibilidad In Vitro a fungicidas de diferente grupo toxicológico. Tesis de Maestría U.A.A.A.N. Buenavista, Saltillo, Coahuila. 57p.
- Randall, C.R. 1993. Potato Health Management. The American Phytopathological Society. U.S.A. 178 P.
- Rodriguez, M.N.L. 1994. Manual de Identificación de Bacterias Fitopatógenas. Universidad Autónoma Chapingo. 114 p.
- Romero, C.S. 1993. Hongos Fitopatógenos. Universidad Autónoma Chapingo. México, D.F. 347 p.
- Rosales, A.M., Thomashow, L., Cook, R.J., and Mew, T.W. 1995. Isolation and identification of antifungal metabolites produced by rice-associated antagonistic *Pseudomonas* spp. *Phytopathology* 85: 1028-1032.
- Singleton, L.L., Jeanne, Mihail,D., and Charles, M.R. 1992. Methods for Research on soilborne Fhytopathogenic Fungi. The America Phytopathological Society. St Paul, Minnesota.
- Skidmore, A.M. 1976. Interactions in relation to control of plant pathogens. In: *Microbiology of Aerial Plant Surfaces*. C.H. Dickinson and T.F. Preece, eds. Academic Pres. London.
- Smith, I.M. et al. 1992. Manual de enfermedades de la las plantas. Ediciones Mundi-prensa. Madrid, España. 671p.
- Sneh, B., Burpee, L. and Ogoshi, A. 1991. Identification of *Rhizoctonia* species. *Am. Phytopathol. Soc. St. Paul, MN: USA*. 133p.

- Stakman, E.C. 1957. Principles of Plant Pathology. Eds. The Ronald Press Company. New York. 581 p.
- Summer, D.R. 1987. Efficacy of Pencycuron against isolates representing different Anastomosis groups of *Rhizoctonia solani* and *Rhizoctonia*-like binucleate fungi. Plant Dis. 71: 515 – 518.
- Vilich, V. and Sikora, A.R. 1998. diversity in soilborne Microbial Communities A tool for Biological system Management of Root Helth. Editado por Boland y Kuykendall en Plant-Microbe Interactions and Biological Control. Marcel Dekker, Inc. New York. 442p.
- Virgen, C.G., Olalde, P.V. Gomez, S.S., Hernandez, M.R., and Carling, D.E. 2000. Distribution of Anastomosis groups of *Rhizoctonia solani* on potato in México. Congreso mundial de *Rhizoctonia* en Taiwan. En: http://www.nchu.edu.tw/~isr2000/total%20abstract.htm#_Toc488585791
- Walter, G.W., McBee, H.R., y Temple, L.K. 1982. Introducción a la Microbiología. Ed. C.E.C.S.A. México. 409 p.
- Webster, I.I.S. 1978. The plant protection Discipline. John Wiley and Sons, Inc. Ny. USA. 190 p.
- Weller, M.D. 1988. Biological Control of Soilborne Plant Pathogens in the Rhizosphere with Bacteria. Ann. Rev. Phytopathology 26: 379-407.
- Windels, C.E., and Nabben, D.J. 1989. Characterization and pathogenicity of Anastomosis groups of *Rhizoctonia solani* isolated from *Beta vulgaris*. Phytopathology 79:83 – 88.
- Yuen, G.Y., Schroth, M.N., and McCain, A.H. 1985. Reduction of *Fusarium* wilt of carnation with suppressive soils and antagonistic bacteria. Plant Dis. 69: 1071 – 1075.
- Zarlengo, P.J., Rothrock, C.S., and King, J. W. 1994. Influence of shading on the response of tall fescue cultivars to *Rhizoctonia solani* AG – 1 IA. Plant Dis. 78: 126 – 129.

APÉNDICE

Cuadro 6. Análisis de varianza de las cepas antagónicas contra el grupo de anastomosis GA-1.

ANALISIS DE VARIANZA

FV	GL	SC	CM	F	P>F
FACTOR A	1	59.50158	59.50158	8483.7227**	0.000
FACTOR B	29	11.23291	0.38734	55.2271**	0.000
INTERAC.	29	8.73242	0.30111	42.9333**	0.000
ERROR	180	1.26245	0.00701		
TOTAL	239	80.72937			

C.V. = 3.70%

** = Altamente significativo (P = 0.01)

Cuadro 7. Análisis de varianza de las cepas antagónicas contra el grupo de anastomosis GA-6.

ANALISIS DE VARIANZA

FV	GL	SC	CM	F	P>F
FACTOR A	3	4.40808	1.46936	65.6474**	0.000
FACTOR B	29	79.62744	2.74577	122.6744**	0.000
INTERAC.	87	11.53381	0.13257	5.9230**	0.000
ERROR	360	8.05773	0.02238		
TOTAL	479	103.62707			

C.V. = 7.62%%

** = Altamente significativo (P = 0.01)

Cuadro 8. Análisis de varianza de las cepas antagónicas contra el grupo de anastomosis GA-2.

ANALISIS DE VARIANZA					
FV	GL	SC	CM	F	P>F
FACTOR A	1	1.690918	1.690918	637.3176**	0.00
FACTOR B	10	19.597107	1.959711	738.6272**	0.00
INTERAC.	10	4.311707	0.431171	162.5109**	0.00
ERROR	66	0.175110	0.002653		
TOTAL	87	25.774841			

C.V. = 1.70%

** = Altamente significativo (P =0.01)

Cuadro 9. Comparación de medias para el radio micelial del grupo de anastomosis AG-2 en diferentes tiempos.

Cepa	T I E M P O		Media (4 rep.)
	72 horas	96 horas	
B1	2.750 C	2.775 C	2.762 C
B5	3.075 D	3.100 D	3.087 D
B12	2.850 C	2.850 C	2.850 C
B15	2.375 A	2.375 A	2.375 A
B20	2.800 C	2.800 C	2.800 C
B21	2.525 B	2.525 B	2.525 B
B22	3.200 D	4.200 E	3.700 F
B25	3.200 D	3.200 D	3.200 E
B27	3.200 D	4.200 E	3.700 F
B29	2.550 B	2.550 B	2.550 B
Testigo	3.200 D	4.200 E	3.700 F

Tratamientos y bloques con las mismas letras son estadísticamente iguales Tukey (0.01).

Cuadro 10. Análisis de varianza de las cepas antagónicas contra el grupo de anastomosis GA-3.

ANÁLISIS DE VARIANZA

FV	GL	SC	CM	F	P>F
FACTOR A	2	7.824036	3.912018	417.6224**	0.00
FACTOR B	10	31.432434	3.143243	335.5529**	0.00
INTERAC.	20	7.069153	0.353458	37.7329**	0.00
ERROR	99	0.927368	0.009367		
TOTAL	131	47.252991			

C.V. = 4.10%

** = Altamente significativo (P = 0.01)

Cuadro 11. Comparación de medias para el radio micelial del grupo de anastomosis AG-3 en diferentes tiempos.

Cepa	T I E M P O			Media (4 rep.)
	48 horas	72 horas	96 horas	
B1	2.175 CDE	2.250 B	2.225 B	2.216 B
B5	2.200 CDE	2.550 C	2.550 CDE	2.433 C
B12	2.150 CDE	2.500 BC	2.625 DE	2.425 C
B15	1.075 A	1.075 A	1.075 A	1.075 A
B20	2.025 BCD	2.850 D	3.100 G	2.658 D
B21	2.000 BC	2.850 D	3.000 FG	2.616 D
B22	1.850 B	2.475 BC	2.750 EF	2.358 BC
B25	2.175 CDE	2.375 BC	2.400 BCD	2.316 BC
B27	2.075 BCDE	2.425 BC	2.425 BCD	2.308 BC
B29	2.275 DE	2.375 BC	2.325 BC	2.325 BC
Testigo	2.325 E	3.200 E	4.200 H	3.241 E

Tratamientos y bloques con las mismas letras son estadísticamente iguales Tukey (0.01).

Cuadro 12. Análisis de varianza de las cepas antagónicas contra el grupo de anastomosis GA-4.

ANALISIS DE VARIANZA

FV	GL	SC	CM	F	P>F
FACTOR A	3	1.119141	0.373047	36.2632**	0.000
FACTOR B	10	61.276123	6.127612	595.6541**	0.000
INTERAC.	30	2.406311	0.080210	7.7971**	0.000
ERROR	132	1.357910	0.010287		
TOTAL	175	66.159485			

C.V. = 4.34%

** = Altamente significativo (P = 0.01)

Cuadro 13. Comparación de medias para el radio micelial del grupo de anastomosis AG-4 en diferentes tiempos.

Cepa	T I E M P O				Media (4 rep.)
	48 horas	72 horas	96 horas	120 horas	
B1	2.300 BC	2.500 C	2.500 CD	2.500 CD	2.450 ED
B5	2.400 C	2.525 C	2.600 D	2.600 D	2.531 E
B12	2.200 BC	2.200 B	2.275 BC	2.275 BC	2.237 CB
B15	0.950 A	0.950 A	0.950 A	0.950 A	0.950 A
B20	2.225 BC	2.375 BC	2.375 BCD	2.375 BCD	2.337 DC
B21	2.125 B	2.175 B	2.175 B	2.175 B	2.162 B
B22	2.125 B	2.175 B	2.175 B	2.175 B	2.162 B
B25	2.325 BC	2.350 BC	2.350 BCD	2.500 CD	2.381 D
B27	2.350 BC	2.350 BC	2.350 BCD	2.450 CD	2.375 D
B29	2.275 BC	2.475 C	2.475 CD	2.475 CD	2.425 ED
Testigo	3.000 D	3.700 D	3.775 E	4.200 E	3.668 F

Tratamientos y bloques con las mismas letras son estadísticamente iguales Tukey (0.01).

Cuadro 14. Análisis de varianza de las cepas antagónicas contra el grupo de anastomosis GA-5.

ANALISIS DE VARIANZA

FV	GL	SC	CM	F	P>F
FACTOR A	2	1.896179	0.948090	237.4273**	0.000
FACTOR B	10	25.043518	2.504352	627.1575**	0.000
INTERAC.	20	4.755432	0.237772	59.5444**	0.000
ERROR	99	0.395325	0.003993		
TOTAL	131	32.090454			

C.V. = 2.66%

** = Altamente significativo (P = 0.01)

Cuadro 15. Comparación de medias para el radio micelial del grupo de anastomosis AG-5 en diferentes tiempos.

Cepa	T I E M P O			Media (4 rep.)
	48 horas	72 horas	96 horas	
B1	2.450 FGH	2.575 F	2.650 G	2.558 G
B5	2.475 GH	2.600 F	2.600 FG	2.558 G
B12	2.300 DEF	2.550 EF	2.550 EFG	2.466 FG
B15	1.600 A	1.600 A	1.600 A	1.600 A
B20	2.150 CD	2.250 CD	2.400 DE	2.266 D
B21	1.900 B	1.900 B	1.950 B	1.916 B
B22	2.100 C	2.150 C	2.200 C	2.150 C
B25	2.250 CDE	2.400 DE	2.475 EF	2.375 EF
B27	2.325 EFG	2.500 EF	2.600 FG	2.475 G
B29	2.275 DE	2.300 CD	2.275 CD	2.283 DE
Testigo	2.500 H	3.600 G	4.200 H	3.433 H

Tratamientos y bloques con las mismas letras son estadísticamente iguales Tukey (0.01).

Cuadro 16. Análisis de varianza de las cepas antagónicas contra el grupo de anastomosis GA-7.

ANALISIS DE VARIANZA

FV	GL	SC	CM	F	P>F
FACTOR A	1	1.205688	1.205688	120.1128**	0.000
FACTOR B	10	52.027252	5.202725	518.3044**	0.000
INTERAC.	10	1.995605	0.199561	19.8806**	0.000
ERROR	66	0.662506	0.010038		
TOTAL	87	55.891052			

C.V. = 4.74%

** = Altamente significativo (P = 0.01)

Cuadro 17. Comparación de medias para el radio micelial del grupo de anastomosis AG-7 en diferentes tiempos.

Cepa	T I E M P O		Media (4 rep.)
	24 horas	48 horas	
B1	1.000 A	1.100 A	1.050 A
B5	2.725 F	2.950 F	2.837 F
B12	2.575 EF	2.675 EF	2.625 E
B15	1.425 BC	1.425 B	1.425 B
B20	1.500 AB	1.500 BC	1.325 B
B21	1.350 BC	1.350 AB	1.350 B
B22	2.150 D	2.375 D	2.262 N
B25	2.325 DE	2.600 DE	2.462 E
B27	1.625 C	1.725 N	1.675 C
B29	2.575 EF	2.650 DE	2.612 E
Testigo	3.075 G	4.200 G	3.637 G

Tratamientos y bloques con las mismas letras son estadísticamente iguales Tukey (0.01).

Cuadro 18. Análisis de varianza de las cepas antagónicas contra el grupo de anastomosis GA-8.

ANALISIS DE VARIANZA

FV	GL	SC	CM	F	P>F
FACTOR A	2	1.089294	0.544647	156.4140**	0.000
FACTOR B	10	34.415344	3.441535	988.3541**	0.000
INTERAC.	20	5.980774	0.299039	85.8792**	0.000
ERROR	99	0.344727	0.003482		
TOTAL	131	41.830139			

C.V. = 2.85%

** = Altamente significativo (P = 0.01)

Cuadro 19. Comparación de medias para el radio micelial del grupo de anastomosis AG-8 en diferentes tiempos.

Cepa	T I E M P O			Media (4 rep.)
	72 horas	96 horas	120 horas	
B1	2.050 CD	2.150 E	2.150 EF	2.116 F
B5	2.350 E	2.550 F	2.550 G	2.483 G
B12	1.950 BCD	2.050 DE	2.050 DEF	2.016 DE
B15	1.050 A	1.050 A	1.050 A	1.050 A
B20	2.000 CD	2.000 CDE	2.000 CDE	2.000 DE
B21	1.900 BC	1.875 BC	1.875 BC	1.883 BC
B22	2.100 D	2.125 E	2.200 F	2.141 F
B25	1.925 BC	1.925 BCD	1.925 BCD	1.925 CD
B27	2.000 CD	2.100 E	2.100 EF	2.066 EF
B29	1.800 B	1.800 B	1.800 B	1.800 B
Testigo	2.350 E	3.350 G	4.200 H	3.300 H

Tratamientos y bloques con las mismas letras son estadísticamente iguales Tukey (0.01).

Cuadro 20. Análisis de varianza de las cepas antagónicas contra el grupo de anastomosis GA-9.

ANALISIS DE VARIANZA

FV	GL	SC	CM	F	P>F
FACTOR A	2	19.064392	9.532196	728.8632**	0.000
FACTOR B	10	21.443665	2.144367	163.9653**	0.000
INTERAC.	20	5.507324	0.275366	21.0554**	0.000
ERROR	99	1.294739	0.013078		
TOTAL	131	47.310120			

C.V. = 4.52%

** = Altamente significativo (P = 0.01)

Cuadro 21. Comparación de medias para el radio micelial del grupo de anastomosis AG-9 en diferentes tiempos.

Cepa	T I E M P O			Media (4 rep.)
	48 horas	72 horas	96 horas	
B1	1.750 BC	2.200 AB	2.800 CDE	2.250 B
B5	2.075 DE	2.850 DE	2.975 DE	2.633 DE
B12	2.150 DE	2.625 CD	2.625 BC	2.466 CD
B15	2.325 E	3.000 E	3.075 E	2.800 E
B20	1.400 A	2.050 A	2.175 A	1.875 A
B21	1.575 AB	2.125 A	2.225 A	1.975 A
B22	2.225 DE	3.025 E	4.000 F	3.083 F
B25	1.950 CD	2.550 CD	2.700 BCD	2.400 BC
B27	2.250 DE	2.950 E	3.050 E	2.750 E
B29	2.150 DE	2.475 BC	2.450 AB	2.358 B
Testigo	2.375 E	3.100 E	4.200 F	3.225 F

Tratamientos y bloques con las mismas letras son estadísticamente iguales Tukey (0.01).

Cuadro 22. Análisis de varianza de las cepas antagonicas contra el grupo de anastomosis GA-10.

ANALISIS DE VARIANZA DEL					
FV	GL	SC	CM	F	P>F
FACTOR A	1	3.093658	3.093658	121.7140**	0.000
FACTOR B	10	25.911072	2.591107	101.9421**	0.000
INTERAC.	10	9.007599	0.900760	35.4386**	0.000
ERROR	66	1.677551	0.025417		
TOTAL	87	39.689880			

C.V. = 9.38%

** = Altamente significativo (P = 0.01)

Cuadro 23. Comparación de medias para el radio micelial del grupo de anastomosis AG-10 en diferentes tiempos.

Cepa	T I E M P O		Media (4 rep.)
	48 horas	72 horas	
B1	1.900 E	2.175 E	2.037 E
B5	1.725 DE	2.050 DE	1.887 DE
B12	1.275 ABC	1.725 BCD	1.500 BC
B15	0.850 A	0.650 A	0.750 A
B20	1.550 CDE	1.825 CDE	1.687 CD
B21	1.300 BCD	1.325 B	1.312 B
B22	1.500 BCDE	1.550 BC	1.525 BC
B25	1.725 DE	1.775 CDE	1.750 CDE
B27	1.800 E	1.875 CDE	1.837 DE
B29	1.100 AB	1.600 BC	1.350 B
Testigo	1.900 E	4.200 F	3.050 F

Tratamientos y bloques con las mismas letras son estadísticamente iguales Tukey (0.01).

Cuadro 24. Análisis de varianza de las cepas antagónicas contra el grupo de anastomosis GA-11.

ANALISIS DE VARIANZA

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRAT.	10	27.087296	2.708730	638.5586**	0.000
ERROR	33	0.139984	0.004242		
TOTAL	43	27.227280			

C.V. = 3.56 %

** = Altamente significativo (P = 0.01)

Cuadro 25. Análisis de varianza de las cepas antagónicas contra el grupo de anastomosis GA-12.

ANALISIS DE VARIANZA

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRAT.	10	14.515472	1.451547	800.0112**	0.000
ERROR	33	0.059875	0.001814		
TOTAL	43	14.575348			

C.V. = 1.68 %

** = Altamente significativo (P = 0.01)

Cuadro 26. Análisis de varianza de las cepas antagónicas contra el grupo de anastomosis GA-13.

ANALISIS DE VARIANZA DEL GA-13

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRAT.	10	12.140076	1.214008	9.4045**	0.000
ERROR	33	4.259888	0.129088		
TOTAL	43	16.399963			

C.V. = 11.98 %

** = Altamente significativo (P = 0.01)

Cuadro 27. Comparación de medias para el radio micelial de los grupos de anastomosis AG-11, AG-12 y AG-13 en un tiempo de 48 horas.

Cepa	GRUPO DE ANASTOMOSIS		
	AG-11	AG-12	AG-13
B1	1.700 DE	2.450 CD	2.975 B
B5	1.825 EF	2.700 E	3.200 BC
B12	1.650 CDE	2.325 B	3.100 B
B15	1.300 A	1.750 A	1.800 A
B20	1.975 F	2.525 D	3.000 B
B21	1.200 A	2.325 B	2.875 B
B22	1.800 DEF	2.325 B	2.825 AB
B25	1.500 BC	2.400 BC	2.950 B
B27	1.625 CD	2.550 D	3.200 CB
B29	1.325 AB	2.300 B	2.875 B
Testigo	4.200 G	4.200 F	4.200 C

Tratamientos con las mismas letras son estadísticamente iguales Tukey (0.01).

Cuadro 28. Análisis de varianza para las cepas antagónicas contra todos los grupos de anastomosis de *Rhizoctonia solani* Kühn.

ANALISIS DE VARIANZA

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRAT.	9	8.376282	0.930698	3.3961*	0.001
ERROR	120	32.885925	0.274049		
TOTAL	129	41.262207			

C.V. = 24.10 %

* = Significativo (P = 0.05)

Figura 3. Antagonismo *In vitro* de 10 cepas bacterianas contra los GA-2 y GA-3 en un tiempo de 96 horas y 120 horas respectivamente a temperatura constante de 28°C.

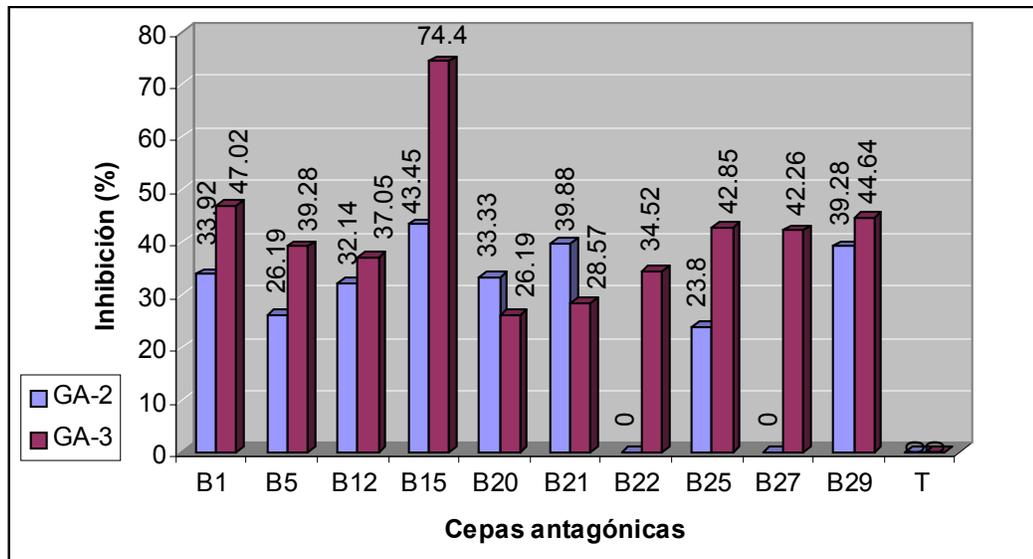


Figura 4. Antagonismo *In vitro* de 10 cepas bacterianas contra los GA-4 y GA-5 en un tiempo de 120 horas y 96 horas respectivamente a temperatura constante de 28°C.

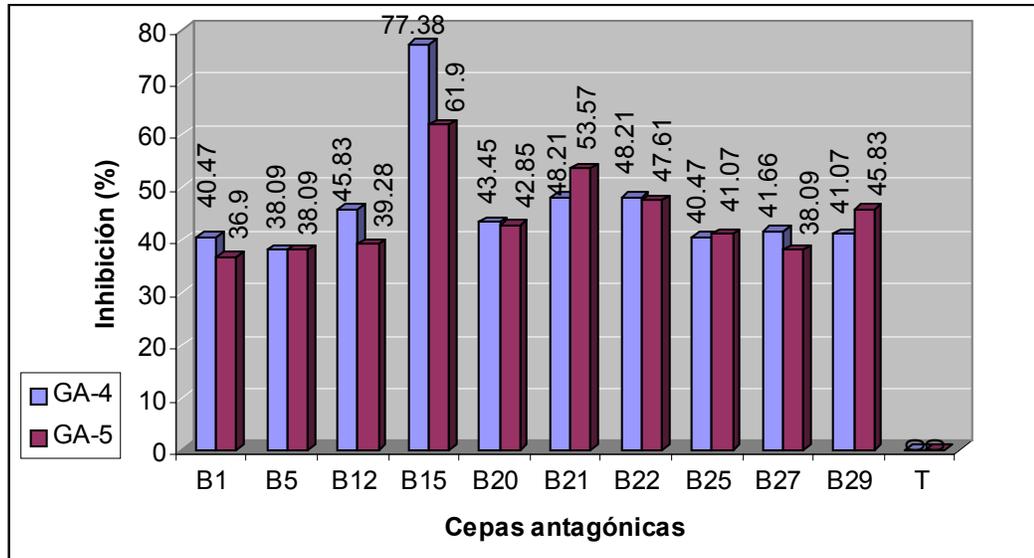


Figura 5. Antagonismo *In vitro* de 10 cepas bacterianas contra los GA-7 y GA-8 en un tiempo de 120 horas a temperatura constante de 28°C.

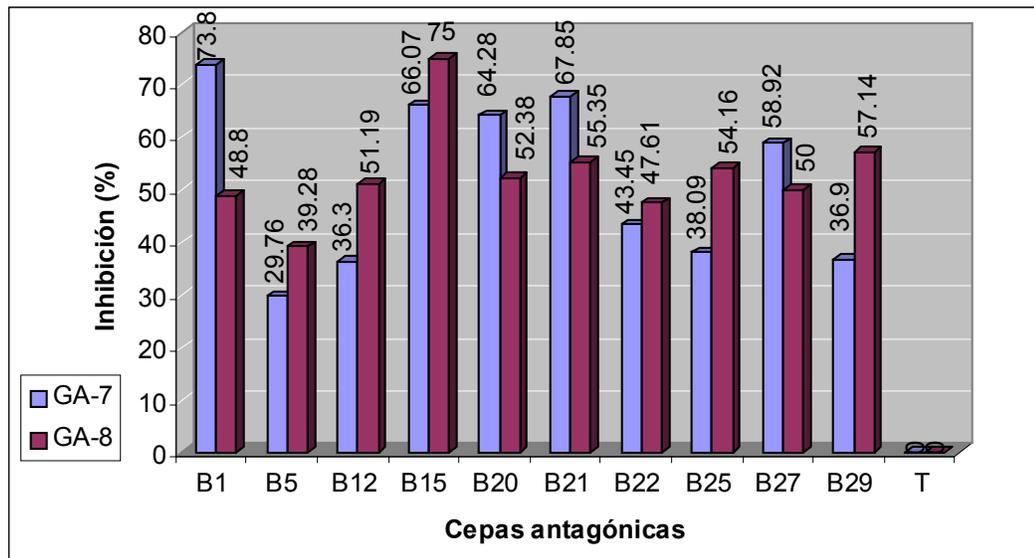


Figura 6. Antagonismo *In vitro* de 10 cepas bacterianas contra los GA-9 y GA-10 en un tiempo de 96 horas y 72 horas respectivamente a temperatura constante de 28°C.

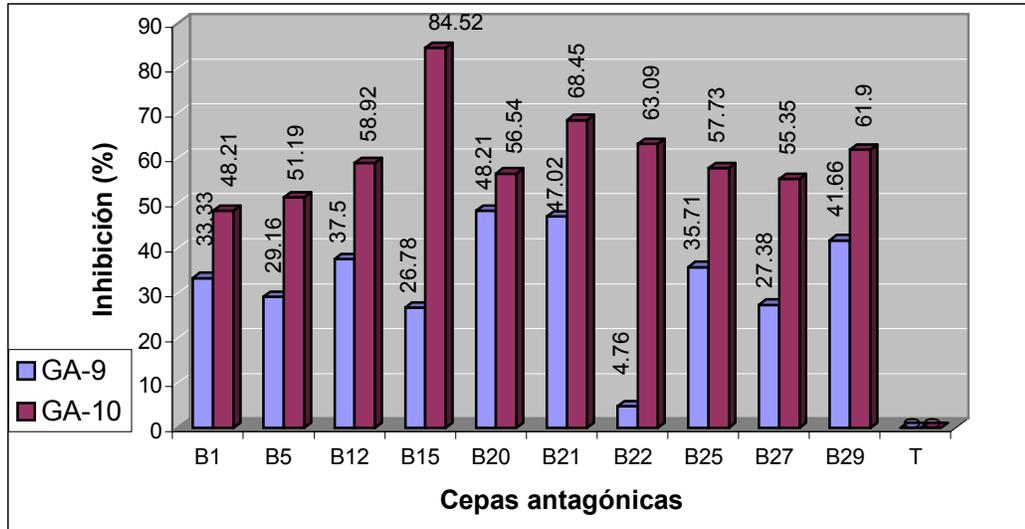


Figura 7. Antagonismo *In vitro* de 10 cepas bacterianas contra los GA-11 y GA-12, en un tiempo de 48 horas a temperatura constante de 28°C.

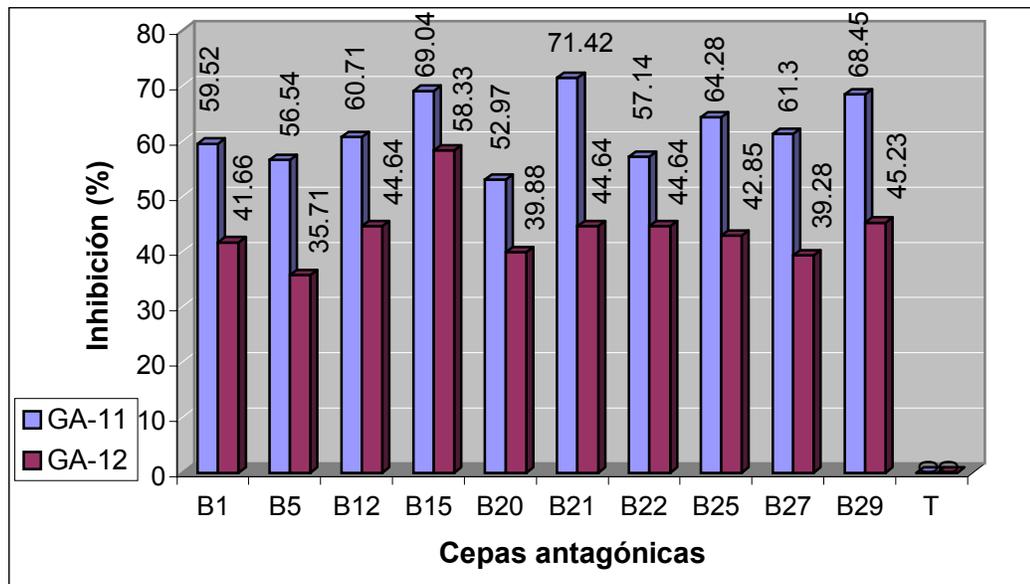


Figura 8. Antagonismo *In vitro* de 10 cepas bacterianas contra el GA-13, en un tiempo de 48 horas a temperatura constante de 28°C.

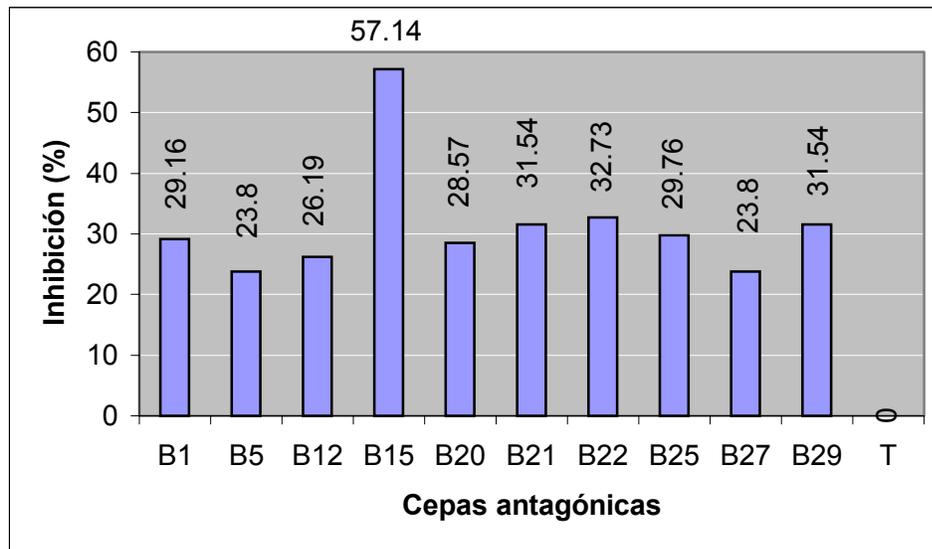


Figura 9. Ensayo del crecimiento de *R. solani* GA-7(A) y la cepa bacteriana B5 (B) aislada de la rizosfera de papa sobre medios de cultivo AN, PDA y SDA.

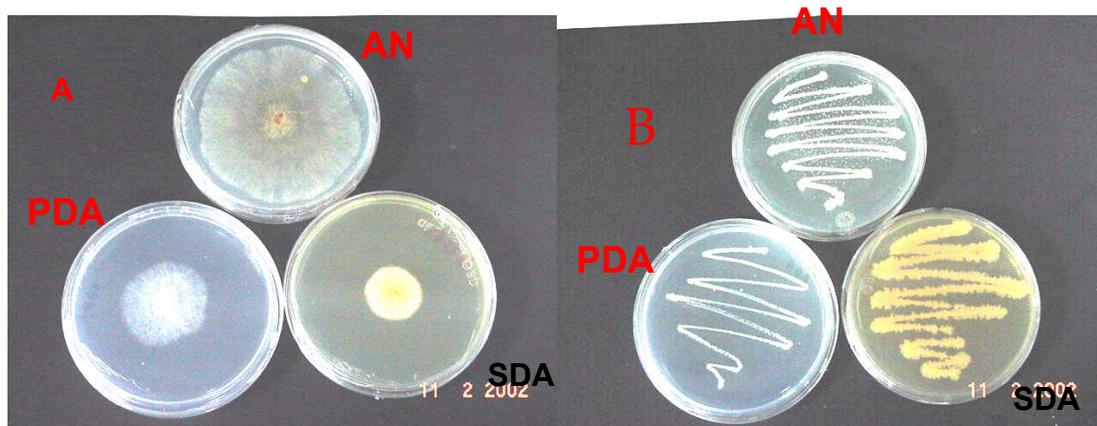


Figura 10. Antagonismo *In vitro* de la cepa B15 contra los grupos de anastomosis GA-3, GA-4, GA-8 y GA-10 de *R. solani*.

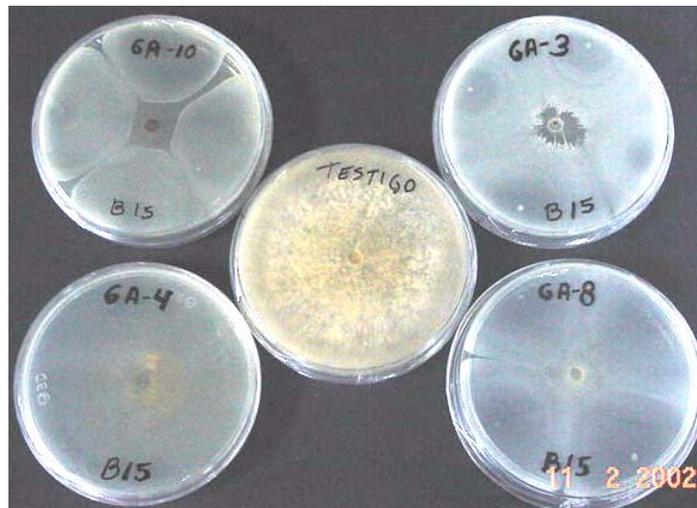


Figura 11. Antagonismo *In vitro* de la Cepa B22 (izquierda), testigo (centro) y el antagonismo de la cepa B5 (derecha), contra el GA-8 de *Rhizoctonia solani*.

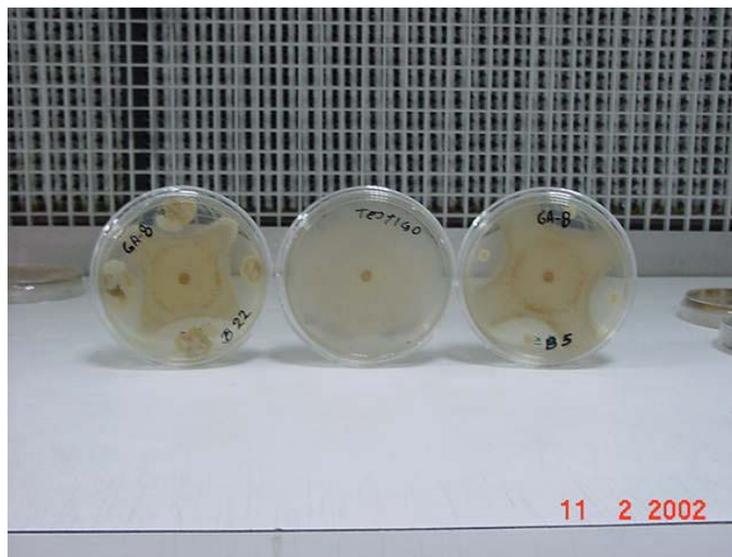


Figura 12. Antagonismo *In vitro* de la cepa B20 (izquierda), B29 (derecha) contra *R. solani* GA-8.

