

## Potencial antifúngico de cepas de *Bacillus* spp. y extracto de *Larrea tridentata* contra *Rhizoctonia solani* en el cultivo de la papa (*Solanum tuberosum* L.)

(Con 5 Tablas)

*Antifungal potential of Bacillus spp. strains and Larrea tridentata extract against Rhizoctonia solani on potato (Solanum tuberosum L.) crop*

(With 5 Tables)

Hernández-Castillo<sup>1</sup> FD, RH Lira-Saldivar<sup>2</sup>, L Cruz-Chávez<sup>1</sup>,  
G Gallegos-Morales<sup>1</sup>, ME Galindo-Cepeda<sup>1</sup>, E Padrón-Corral<sup>1</sup>,  
M Hernández-Suárez<sup>2</sup>

**Resumen.** El cultivo de papa en México es el que más funguicidas requiere para prevenir y controlar diversas enfermedades, estimándose que en este cultivo se aplican el 21,3% del total de los funguicidas disponibles. Los pesticidas sintéticos se destinan principalmente para combatir los hongos *Phytophthora infestans* y *Rhizoctonia solani*. Esto trae como consecuencia severos daños a la salud y a los ecosistemas; es por eso que existe la necesidad de encontrar nuevas opciones para el manejo sustentable de los patógenos que atacan a este cultivo. Se realizaron investigaciones en condiciones de laboratorio, invernadero y campo con los siguientes objetivos (1) analizar el efecto antifúngico de tres cepas de bacterias del género *Bacillus* (B3, B9 y B15) contra *R. solani*, así como su efecto promotor del crecimiento en plantas de papa, (2) determinar el efecto de un extracto resinoso obtenido de hojas de *Larrea tridentata* contra el hongo *R. solani*, y (3) establecer si existe un efecto sinérgico al mezclar las cepas de *Bacillus* con el extracto de *L. tridentata*. Los resultados indicaron que las cepas bacterianas tuvieron una clara actividad antifúngica, al igual que el extracto de *L. tridentata*. Las cepas de *Bacillus* sobresalieron además por su efecto estimulador del creci-

<sup>1</sup> Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Buenavista, Saltillo, Coah., México. CP 25315.

<sup>2</sup> Centro de investigación en Química Aplicada. Saltillo, Coah., México. CP 25253.

Address Correspondence to: R.H. Lira-Saldivar, e-mail: rhlira@ciqa.mx; fax 844-4399830; Tel 844-4125691.

Recibido/Received 11.VIII.2007. Aceptado/Accepted 28.III.2008.

miento de las plantas y del rendimiento de papa, así como por el efecto sinérgico al mezclar las bacterias con el extracto de *Larrea*; un efecto potenciador similar se observó al aplicar la mezcla de las cepas. Los resultados obtenidos con las cepas de *Bacillus*, así como su mezcla con el extracto de *L. tridentata* son alentadores. Los mismos sugieren que podrían ser utilizados para apoyar programas de control biológico contra *R. solani*. Sin embargo, es necesario continuar con más trabajos *in vivo* para validar estos resultados.

**Palabras clave:** Bacterias antagonicas; control biológico; extractos vegetales.

**Abstract.** Potato crop requires more fungicides than any other crop in Mexico to prevent and control several diseases. More than 21,3% of the total available fungicides are required for cropping potato. High quantities of synthetic pesticides are intended to control *Phytophthora infestans* and *Rhizoctonia solani* fungi. As a result, this produces severe health problems and ecosystem disturbances. There is then an urgent need for finding new options for sustainable management of potato crop diseases. Several experiments were conducted under laboratory, greenhouse, and field conditions, to: (1) analyze the antifungal effect of bacteria strains of the genus *Bacillus*, and their effect on potato plant growth; (2) determine the effect of a resinous extract from *Larrea tridentata* leaves against the fungus *R. solani*, and (3) establish if there is a synergic effect when *Bacillus* spp. are mixed with *L. tridentata* extract. Results indicate an antifungal effect of bacterial strains and *Larrea* extract. *Bacillus* strains also stimulated plant growth and yield increase. A synergic effect was detected when *Bacillus* spp. were mixed with *Larrea* extract; a similar outcome occurred with the mixture of B3, B9 and B15 strains. Results obtained with *Bacillus* and *Larrea*, as well as with their mixture are encouraging since they could be used as an organic option for biological control programs against the fungus *R. solani*. However, more *in vivo* research is necessary to validate these results.

**Key words:** Antagonistic bacteria; biological control; botanical extracts.

## INTRODUCCIÓN

Un factor que limita la producción del cultivo de la papa en México son las enfermedades de raíz ocasionadas por hongos de los géneros *Verticillium*, *Fusarium*, *Colletotrichum* y *Rhizoctonia*. *R. solana* puede ocasionar pérdidas en el rendimiento que varían del 7 al 64%, ya que este hongo ataca tallos subterráneos, raíces, estolones y tubérculos de papa (Carling et al., 1989). Debido al daño que ocasionan las frecuentes y excesivas aplicaciones de funguicidas sintéticos a los ecosistemas y a los humanos, el control biológico se considera como una buena alternativa para el manejo de enfermedades de plantas (Tschen et al., 1985). La eficacia de organismos antagonistas contra hongos fitopatógenos ha sido demostrada en condiciones de campo para el biocontrol de enfermedades fungosas en cultivos de frijol (Baker et al., 1983, Baker et al., 1985), vid (Ferreira et al.,

1991) y otros. Las bacterias esporuladas del tipo *Bacillus* spp. son efectivas para inhibir el desarrollo de hongos como *Fusarium oxysporum*, *F. roseum*, *R. solani*, *Phytophthora capsici*, *P. cactorum*, *Alternaria solani*, *A. alternata*, *Sclerotium cepivorum* y *Uromyces appendiculatus*, entre muchos otros (Baker et al., 1985; Pusey, 1989; Jiménez et al., 2001). Además, algunos autores indican que ciertas especies de *Bacillus* spp. promueven el desarrollo de las plantas debido a la síntesis de auxinas, citoquininas, vitaminas y etileno (Shipper et al., 1987; Glick, 1995; Van Veen et al., 1997). Otra opción al uso de funguicidas sintéticos para el manejo de enfermedades fungosas es el uso de extractos vegetales con propiedades antifúngicas (Ujváry, 2002).

En México se han evaluado 206 especies de plantas por su actividad contra muchas especies de hongos fitopatógenos, incluyendo pruebas de germinación de esporas, desarrollo micelial y esporulación, así como en pruebas de invernadero y campo (Montes et al., 2000). Entre estas plantas sobresale un arbusto endémico (*L. tridentata*) de las zonas áridas de México. Las plantas de este arbusto producen una espesa resina en sus hojas conteniendo una abundante concentración de metabolitos secundarios bioactivos (Brinker, 1993). Los extractos de *L. tridentata* han reportado actividad funguicida *in vitro* en al menos 17 hongos fitopatógenos de gran importancia económica (Lira-Saldivar, 2003a); de igual manera, extractos y material vegetativo molido e incorporado al suelo han inhibido o controlado *in vivo* seis hongos de cultivos agrícolas. Algunos estudios también han señalado el efecto nematicida o nematostático de *L. tridentata* contra nueve géneros de nemátodos y repelencia en un insecto. Los objetivos de este trabajo realizado bajo condiciones *in vitro* e *in vivo* fueron (1) evaluar el efecto antifúngico de bacterias esporuladas de *Bacillus* spp. contra *R. solani*, así como su potencial para promover el crecimiento y rendimiento de plantas de papa, (2) determinar el efecto de un extracto resinoso obtenido de las hojas de *L. tridentata* contra el hongo *R. solani* y (3) evaluar el potencial sinérgico de ambos bioproductos como antifúngicos y como promotores del crecimiento y rendimiento de papa.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Aislamiento e incremento del material biológico, y obtención del extracto de *L. tridentata*.** La cepa de *R. solani* fue aislada de tallos necróticos de plantas de papa provenientes de lotes comerciales de este cultivo; la especie aislada fue identificada de acuerdo a las claves de Sneh et al. (1991). El material aislado se purificó posteriormente por punta de hifa de

acuerdo a la técnica reportada por Papavizas y Lewis (1997). La cepa de *R. solani* se incrementó en cajas de Petri conteniendo medio de cultivo papa-dextrosa-agar (PDA), depositando un explante de 5 mm de diámetro en el centro de las mismas. Las cajas de Petri fueron incubadas durante cuatro días a  $24 \pm 2$  °C. Los aislados o cepas de *Bacillus* spp., identificados como B3, B9 y B15, se obtuvieron de la rizósfera del suelo de plantas de chile y papa obtenidas en zonas productoras de papa localizadas en el norte de México, en los estados de Coahuila y Nuevo León. El extracto de resina de hojas y tallos pequeños de *L. tridentata* se obtuvo mediante la metodología reportada por Lira-Saldivar et al. (2003b).

**Actividad antifúngica *in vitro* de las cepas de *Bacillus* y del extracto de *L. tridentata*.** Para realizar los bioensayos se colocó un explante de *R. solani* de 5 mm de diámetro en el centro de una placa de Petri con PDA; al mismo tiempo, a una distancia de 3,5 cm en los cuatro puntos cardinales, se ubicó una asada de la bacteria a valorar. Para evaluar la acción antifúngica del plaguicida sintético y del extracto de *L. tridentata* se mezclaron por separado cada material con el medio PDA. La concentración empleada del testigo químico (tiabendazol) fue 1000 ppm, mientras que del extracto de *L. tridentata* se aplicaron dosis de 2000 y 4000 ppm; además, se evaluaron tres cepas de *Bacillus* spp. (B3, B9 y B15). Las cajas de Petri con el medio envenenado se incubaron durante cinco días a  $24 \pm 2$  °C. El bioensayo se estableció mediante un diseño completamente al azar con seis tratamientos y cinco repeticiones. El efecto antagonista se determinó midiendo el crecimiento fungoso del margen del micelio en dirección a la bacteria antagonista, hasta que el tratamiento testigo (sin aplicación de fungicida) llenó por completo la placa. El valor obtenido del crecimiento micelial se transformó en porcentaje de inhibición mediante la ecuación:  $PI = 100 - [(Cr * 100) / Rp]$ , donde: PI = inhibición del crecimiento del hongo; Cr = crecimiento micelial del hongo (mm); Rp = radio de la placa.

**Preparación del inóculo y producción de bacterias.** El inóculo de *R. solani* se preparó en granos de trigo, depositándose 700 ml de grano en un matraz al cual se le agregó agua hasta aforarlo a 1000 ml, y se dejó remojar por 24 h. Posteriormente, se extrajeron los granos de trigo y se colocaron en cajas de Petri de vidrio, agregándoles 10 ml de caldo nutritivo. Las cajas fueron colocadas seguidamente en un autoclave durante una hora a 110 °C, y una presión de 15 lb, dejándose reposar posteriormente por 24 horas. Finalmente, los granos de trigo se inocularon con *R. solani*, depositando dos explantes de 5 mm de diámetro en dichas cajas. Éstas últimas se incubaron a una temperatura de 24 °C por 20 días para permitir la colonización de las bacterias (Lagunas et al., 2001). Las diferentes cepas de bacterias del género *Bacillus* se sembraron en agar nutritivo (AN) y se incuba-

ron a 35 °C por cuatro días. Al término de este tiempo, se tomó una suspensión de las bacterias con la ayuda de un hisopo estéril el cual se pasó en las cajas de Petri que contenían las colonias bacterianas. Posteriormente, se depositaron en un tubo de ensayo con 50 ml de agua destilada estéril y se ajustó para obtener una concentración bacteriana de  $1 \times 10^6$  ufc/ml.

#### **Establecimiento y aplicación de los tratamientos en invernadero.**

Para este ensayo se emplearon tubérculos de papa variedad César, los cuales se desinfectaron previamente con hipoclorito de sodio al 3%. Seguidamente se lavaron con agua destilada estéril y se dejaron secar durante cuatro horas sobre papel de estraza. Posteriormente se realizó la siembra en macetas plásticas de 10 l de capacidad, que contenían 5 kg de suelo esterilizado con bromuro de metilo. En cada maceta se depositó un tubérculo de papa y 50 granos de trigo infestados con el hongo *R. solani* alrededor de éste. Los tratamientos evaluados (Tabla 1) y sus cinco repeticiones se arreglaron en un diseño completamente al azar. Cada tratamiento se aplicó con un atomizador manual, asperjando el volumen de la suspensión de esporas sobre los tubérculos, los que enseguida se cubrieron con 4 kg de suelo estéril. Las

**Tabla 1.** Tratamientos y dosis aplicadas de tres cepas de *Bacillus* spp. y extracto de *Larrea tridentata* contra *Rhizoctonia solani* en el cultivo de papa bajo condiciones de invernadero.

**Tabla 1.** Treatments and applied doses of three *Bacillus* spp. strains and *Larrea tridentata* extract against *Rhizoctonia solani* on potato crop under greenhouse conditions.

Tratamientos	Dosis aplicadas
<i>Bacillus</i> spp. cepa B3	$1 \times 10^6$ ufc/ml
<i>Bacillus</i> spp. cepa B9	$1 \times 10^6$ ufc/ml
<i>Bacillus</i> spp. cepa B15	$1 \times 10^6$ ufc/ml
Extracto hidrosoluble de <i>L. t.</i> *	10 l/ha
<i>Bacillus</i> spp. cepa B3 + <i>L. t.</i>	$1 \times 10^6$ ufc/ml
<i>Bacillus</i> spp. cepa B9 + <i>L. t.</i>	$1 \times 10^6$ ufc/ml
<i>Bacillus</i> spp. cepa B15 + <i>L. t.</i>	$1 \times 10^6$ ufc/ml
Testigo químico (Tiabendazol)	3 kg/ha
Testigo absoluto	Sin agroquímicos
Mezcla de <i>Bacillus</i> **	$1 \times 10^6$ ufc/ml de cada cepa
*Extracto de <i>Larrea tridentata</i> (10 l/ha); **Cepas de las bacterias B3+B9+B15	
* <i>Larrea tridentata</i> extract (10 l/ha); ** <i>Bacteria strains</i> B3+B9+B15	

macetas se mantuvieron en invernadero durante 60 días a una temperatura promedio de 26 °C, con temperaturas máxima y mínima absolutas de 32 y 20 °C, respectivamente. Se aplicaron riegos a intervalos de tres días. Al término de este tiempo se registraron la altura de la planta, el peso fresco del follaje y de los tallos subterráneos, y la incidencia y severidad de la enfermedad causada por *R. solani* en los tubérculos. Este último parámetro se estimó considerando la escala reportada previamente (Carling et al., 1989). La comparación de medias de los tratamientos se efectuó por DMS al 5% de significancia.

**Establecimiento del experimento bajo condiciones de campo.** El experimento se estableció utilizando un diseño en bloques al azar con 10 tratamientos y tres repeticiones. La parcela experimental tuvo 4 surcos de 6 m de largo por 0,92 m de ancho. Los tubérculos-semillas de papa cv. César se depositaron en el fondo de cada surco, dejando una distancia de 20 cm entre tubérculos. La aplicación de los tratamientos se realizó con una aspersora manual, considerando el equivalente a 600 l de solución por hectárea; 45 días después de la siembra se midió la altura de la planta y la incidencia de la enfermedad en los tallos causada por *R. solani*. Durante la cosecha, se determinó la incidencia y severidad de la enfermedad, así como la calidad del tubérculo.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Efecto antifúngico de *Bacillus* spp. y extracto de *L. tridentata* en condiciones *in vitro* e *in vivo*.** Las cepas de *Bacillus* spp. redujeron significativamente ( $p \leq 0,05$ ) el crecimiento *in vitro* de *R. solani*. El rango de inhibición fue de 40,4 a 29,3%, siendo la cepa B9 la más eficaz. Otro estudio similar realizado previamente (Lagunas et al., 2001) reportó que aislamientos de *B. firmus* también redujeron significativamente el crecimiento micelial *in vitro* del hongo *Phytophthora capsici*. Por su parte, el extracto de *L. tridentata* (a 2000 y 4000 ppm) también mostró una clara actividad antifúngica, aunque inferior a la observada con las cepas de *Bacillus* spp. (Tabla 2). Asimismo, Gamboa-Alvarado et al. (2003) reportaron que con 4000 ppm del extracto metanólico de *L. tridentata* se logró la inhibición parcial de este hongo en el rango de 40 a 53%. Por otro lado, el análisis del efecto *in vivo* de los bioproductos sobre plantas de papa inoculadas con *R. solani* reveló que el peso fresco del follaje y tallos se incrementó en los tratamientos que recibieron aplicaciones de las cepas bacterianas y del extracto de *L. tridentata*. La cepa B15 sobresalió por su efecto estimulador del crecimiento de

**Tabla 2.** Inhibición micelial *in vitro* de *Rhizoctonia solani* con cepas de *Bacillus* spp. y extracto de *Larrea tridentata*.**Tabla 2.** *In vitro* inhibition of *Rhizoctonia solani* mycelia with *Bacillus* spp. strains and *Larrea tridentata* extract.

Tratamientos	Inhibición micelial (%)
<i>Bacillus</i> spp. cepa B3*	35,55 a
<i>Bacillus</i> spp. cepa B9	40,44 ab
<i>Bacillus</i> spp. cepa B15	29,33 ab
Extracto de <i>L. tridentata</i> (4000 ppm)	22,22 b
Extracto de <i>L. tridentata</i> (2000 ppm)	11,11 c
Testigo absoluto <sup>1</sup>	0 d

\*Dosis aplicada de las cepas de *Bacillus* fue  $1 \times 10^6$  ufc/ml; <sup>1</sup> Sin agroquímicos.  
 \*Applied dose of *Bacillus* strains was  $1 \times 10^6$  ufc/ml; <sup>1</sup> Without agrochemicals.

las plantas, así como también al mezclarla con el extracto de *L. tridentata*. Este efecto estimulador del crecimiento también se apreció con la mezcla de las tres cepas de *Bacillus* spp. (Tabla 3). Sin embargo, la incidencia de *R. solani* en los tallos de plantas inoculadas de papa no se redujo de manera significativa ( $p \leq 0,05$ ) con la aplicación de cepas de *Bacillus* y el extracto de *L. tridentata*; en todos los tratamientos hubo presencia del patógeno. De todos modos, los datos indican que la severidad de la enfermedad fue menor en los tratamientos que recibieron la aplicación de *Bacillus* spp. más el extracto de *L. tridentata*. Este mismo efecto protector se apreció con la mezcla de las tres cepas de *Bacillus* (Tabla 3). Otros trabajos de investigación también han señalado que ciertas bacterias del género *Bacillus* incrementan el volumen radical, el peso fresco del follaje y promueven la reducción de la severidad de la enfermedad en las plantas, pero no la incidencia del patógeno (Tschen et al., 1985; Yang, 1992).

**Efecto de cepas de *Bacillus* spp. y del extracto de *L. tridentata* en el campo.** La incidencia de *R. solani* en tallos de papa claramente disminuyó por el efecto de las cepas B9 y B15, y el hecho de mezclarlas con el extracto de *L. tridentata*. El mismo efecto inhibitorio de la incidencia de la enfermedad se apreció al mezclar las tres cepas (Tabla 4), lo que indica un efecto potenciador o sinérgico de las mezclas de estos bioproductos. Resultados similares han sido reportados previamente por otros autores (Chan y Kommendhl, 1974; Pusey, 1989) quienes consignaron que con la aplicación de microorganismos antagónicos como *Bacillus subtilis* la inci-

dencia de *R. solani* fue disminuida en más del 50%. Otro estudio (Lagunas et al., 2001) informó que el tratamiento con *Bacillus* a las semillas de tomate (*Lycopersicon esculentum*) cv. Río Grande estimuló la germinación en un 35%; el volumen de raíz y peso seco del follaje también se incrementaron en un 87 y 84%, respectivamente, en comparación con el testigo. En el presente trabajo (con todos los tratamientos aplicados), la severidad de la enfermedad en tubérculos de papa a la cosecha fue catalogada como leve, aunque no se detectaron diferencias estadísticas. El tratamiento en el que se apreció una menor severidad de la enfermedad en tubérculos de papa (causada por *R. solani*) fue cuando se aplicó la cepa B15 sola, o mezclada con extracto de *L. tridentata*. Otros trabajos experimentales han reportado que la severidad de *R. solani* en tubérculos de papa se ha reducido hasta

**Tabla 3.** Efecto de cepas de *Bacillus* spp. y extracto de *Larrea tridentata* en el peso fresco de follaje y tallos de plantas de papa, y en la severidad de la enfermedad causada por *Rhizoctonia solani* en condiciones de invernadero.

**Tabla 3.** Effect of *Bacillus* spp. strains and *Larrea tridentata* extract on fresh weight of foliage and stems of potato plants, and disease severity caused by *Rhizoctonia solani* under greenhouse conditions.

Tratamientos Aplicados	Severidad	Peso tallos (g)	Peso follaje (g)
<i>Bacillus</i> B3*	2,0 b	24,8 cd	91,6 b
<i>Bacillus</i> B9	2,1 b	4,6 g	92,8 b
<i>Bacillus</i> B15	1,5 b	27,2 b	174,8 a
Extracto <i>L. t.</i>	2,2 b	19,4 cd	160,0 a
<i>Bacillus</i> B3 + <i>L. t.</i> **	2,2 b	3,2 g	55,6 bc
<i>Bacillus</i> B9 + <i>L. t.</i>	1,9 b	11,4 ef	89,0 b
<i>Bacillus</i> B15 + <i>L. t.</i>	1,5 b	29,0 b	171,0 a
Testigo químico <sup>1</sup>	3,2 a	17,8 cde	75,4 bc
Testigo absoluto <sup>2</sup>	3,6 a	15,8 de	34,6 c
Mezcla de <i>Bacillus</i> <sup>3</sup>	1,8 b	37,2 a	182,0 a

\* Dosis aplicada de las cepas de *Bacillus* fue  $1 \times 10^6$  ufc/ml; \*\*Dosis aplicada del extracto de *Larrea tridentata* (10 l/ha); <sup>1</sup> tiabendazol (3 kg/ha); <sup>2</sup> Sin agroquímicos; <sup>3</sup> Cepas B3+B9 +B15.

\* Applied dose of *Bacillus* strains was  $1 \times 10^6$  ufc/ml; \*\*Applied dose from *Larrea tridentata* extract (10 l/ha); <sup>1</sup> tiabendazol (3 kg/ha); <sup>2</sup> without agrochemicals; <sup>3</sup> B3+B9 +B15 strains.

**Tabla 4.** Incidencia y severidad de *Rhizoctonia solani* en el cultivo de papa tratados con cepas de *Bacillus* spp., extracto de *Larrea tridentata* y una mezcla de ambos bioproductos.

**Tabla 4.** Incidence and severity of *Rhizoctonia solani* on potato crop treated with *Bacillus* spp. strains, *Larrea tridentata* extract and a mixture of both bioproducts.

Tratamientos	Incidencia (%)*		Severidad**		
	Tallos	Tubérculos	Ligera	Media	Severa
<i>Bacillus</i> cepa B3	56,7 ab	21,0 a	83,3 a	5,6 a	11,1 a
<i>Bacillus</i> cepa B9	40,0 b	30,1 a	83,6 a	16,7 a	0 a
<i>Bacillus</i> cepa B15	36,7 b	18,4 a	100,0 a	0 a	0 a
Extracto <i>L. t.</i> <sup>1</sup>	70,0 a	30,6 a	90,5 a	9,5 a	0 a
<i>Bacillus</i> B3 + <i>L. t.</i>	50,0 ab	39,9 a	92,6 a	3,7 a	3,7 a
<i>Bacillus</i> B9 + <i>L. t.</i>	37,7 b	31,0 a	90,6 a	7,9 a	1,5 a
<i>Bacillus</i> B15 + <i>L. t.</i>	33,3 b	27,9 a	100,0 a	0 a	0 a
Testigo químico <sup>2</sup>	50,0 ab	52,9 a	93,6 a	6,3 a	0 a
Testigo absoluto*	70,0 a	57,0 a	88,9 a	0 a	11,1 a
Mezcla de <i>Bacillus</i> <sup>3</sup>	36,7 b	39,1 a	83,0 a	17,0 a	0 a

DMS  $\leq$  0,05; \* Datos tomados 45 días después de la siembra; \*\* Severidad en función de la cantidad de esclerosios (leve = 15-20, media = 20-30, severa > 30); <sup>1</sup> Extracto de *L. tridentata* (10 l/ha); <sup>2</sup> Fungicida tiabendazol; \* sin agroquímicos; <sup>3</sup> Cepas B3+B9+B15.

LSD  $\leq$  0.05; \* Data taken 45 days after seeding; \*\* Severity as a function of the amount of sclerotia (light = 15-20, medium = 20-30, severe > 30); <sup>1</sup> *L. tridentata* extract (10 l/ha); <sup>2</sup> Tiabendazol fungicide; \* without agrochemicals; <sup>3</sup> B3+B9+B15 strains.

en un 70% con la aplicación de cepas del género *Bacillus* (Carling y Leiner, 1990; Casarrubias y Frías, 1992). El efecto antagonico de cepas de *Bacillus* contra hongos al mezclar las bacterias con otro producto, también ha sido reportado previamente. Korsten et al. (1992) demostraron que la aplicación precosecha de *B. subtilis*, combinado con tratamientos alternados de oxiclورو de cobre, redujeron el daño de hongos fitopatogénos causantes de la antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*) y la cenicilla (*Oidium mangifera*) en mango.

**Rendimiento y calidad de papa.** El rendimiento de los tubérculos de papa se incrementó notablemente en los tratamientos donde se aplica-

ron cepas de *Bacillus* spp. (Tabla 5). La información generada muestra que el mayor volumen de tubérculo se alcanzó con la mezcla de las tres cepas de *Bacillus* alcanzando 22,8 ton/ha; al mismo tiempo, sólo se alcanzaron 10,5 ton/ha en el tratamiento testigo. Esta diferencia en rendimiento representa un aumento del 117% por efecto de las cepas bacterianas aplicadas. Los resultados de esta investigación también mostraron que las cepas B9 y B15, así como la mezcla de B15 con el extracto de *L. tridentata*, tuvieron un efecto sinérgico en la producción de papa. La calidad del tubérculo también se mejoró, ya que se mostró un incremento en la categoría de las papas denominadas de primera y segunda (Tabla 5). En la categoría de papas de primera, sobresale el tratamiento con la mezcla de cepas B3+B9+B15, así como la mezcla *L. tridentata* + B15. En ambos casos, la mezcla de cepas bacterianas fue el mejor tratamiento. Este efecto benéfico en rendimiento y calidad de papa debido a la utilización de *Bacillus* también ha sido documentado por otros autores (Merriman et al., 1974; Platt, 1989; Jiménez et al., 2001). Sin embargo, en dichos estudios el incremento varió de 8 al 47%, mientras que en la presente investigación se alcanzó un incremento notablemente mayor (117%). Además, se mejoró la calidad de los tubérculos (Tabla 4). Platt (1989) informó que *Bacillus* incrementó el rendimiento de papa, pero no mejoró la calidad. Es posible que las bacterias del género *Bacillus* compitan con los organismos fitopatógenos, metabolizando exudados o produciendo sustancias químicas o antibióticos que inhiben o retrasan el desarrollo de éstos últimos (Gustafson, 1993; Jiménez, 2001). La información generada con cepas de *Bacillus* nativas del suelo del noreste de México es alentadora. Los resultados sugieren que se deberán seleccionar y utilizar una mezcla de varios antagonistas con un amplio espectro de actividad de biocontrol para desarrollar un control biológico eficaz. Estos antagonistas deberán tener diferentes estrategias de colonización, mecanismos de supresión y condiciones óptimas de factores abióticos para suprimir a diferentes patógenos. Los resultados *in vivo* sobre la actividad antifúngica del extracto de *L. tridentata* contra *R. solani* robustecen la información previamente obtenida en ensayos *in vitro* sobre este hongo, así como contra otros microorganismos fitopatógenos. Es necesario continuar con otras investigaciones a campo, y en un mayor número de cultivos y regiones agrícolas, para poder comprobar la reproducibilidad de los resultados obtenidos en este estudio. Podrá así ofrecerse una opción de control biológico que contribuya a una producción sustentable de cultivos hortícolas.

**Tabla 5.** Incidencia y severidad de *Rhizoctonia solani* en el cultivo de papa tratados con cepas de *Bacillus* spp., extracto de *Larrea tridentata* y una mezcla de ambos bioproductos.

**Tabla 5.** Incidence and severity of *Rhizoctonia solani* on potato crop treated with *Bacillus* spp. strains, *Larrea tridentata* extract and a mixture of both bioproducts.

Tratamientos	Incidencia (%)*		Severidad**		
	Ton/ha	Gigante	1a	2a	3a
<i>Bacillus</i> cepa B3	11,3 de	2,1 a	2.4 c	0,8 c	0,9 a
<i>Bacillus</i> cepa B9	12,0 cde	1,3 a	3.2 bc	1,1 bc	1,0 a
<i>Bacillus</i> cepa B15	17,5 b	2,6 a	3.8 ab	2,3 ab	1,2 a
Extracto <i>L. t.</i> **	11,2 de	1,4 a	2.0 c	2,1 abc	1,0 a
<i>Bacillus</i> B3 + <i>L. t.</i>	14,1 bcde	1,7 a	2.8 bc	1,9 bc	1,0 a
<i>Bacillus</i> . B9 + <i>L. t.</i>	15,5 bc	1,9 a	3.4 bc	2,0 bc	1,2 a
<i>Bacillus</i> B15 + <i>L. t.</i>	15,9 bcd	2,2 a	4.8 ab	1,7 bc	0,8 a
Testigo químico <sup>1</sup>	14,7 bcd	0,4 b	3.4 bc	1,8 bc	1,1 a
Testigo absoluto <sup>2</sup>	10,5 e	1,3 a	2.5 c	1,4 bc	0,6 a
Mezcla de <i>Bacillus</i> <sup>3</sup>	22,8 a	2,6 a	6.2 a	3,3 a	1,3 a

DMS  $\leq$  0,05; \* Calidad: gigante > de 85mm; 1a: 55-85mm; 2a: 35-55mm; 3a: 20-35mm; \*\* Extracto de *L. tridentata* (10 l/ha); <sup>1</sup> Fungicida tiabendazol; <sup>2</sup> sin agroquímicos; <sup>3</sup> Cepas B3+B9+B15.

LSD  $\leq$  0.05; \* Quality: Giant > de 85mm; 1a: 55-85mm; 2a: 35-55mm; 3a: 20-35mm; \*\* *L. tridentata* extract (10 l/ha); <sup>1</sup> Tiabendazol fungicide; <sup>2</sup> without agrochemicals; <sup>3</sup> B3+B9+B15 strains.

## REFERENCIAS

- Baker, C.J., J.R. Stavely, M.S. Thomas, M. Sasser y J.S. McFall (1983). Inhibitory effect of *Bacillus subtilis* on *Uromyces phaseoli* and development of rust pustules on bean leaves. *Phytopathology* 73: 1148-1152.
- Baker, C.J., J.R. Stavely y N. Mock (1985). Biocontrol of bean rust by *Bacillus subtilis* under field conditions. *Plant Disease* 69: 770-775.
- Brinker, F. (1993). *Larrea tridentata* (D.C.) Coville (Chaparral or Creosote Bush) *British Journal of Phytotherapy* 3: 10-30.
- Carling, D.E., R.H. Leiner y P.C. Westphale (1989). Symptoms, signs and yield reduction associated with *Rhizoctonia* disease of potato induced by tuber borne inoculum of *Rhizoctonia solani* AG-3. *American Potato Journal* 6: 693-697.
- Carling, D.E. y R.H. Leiner (1990). Effect of temperature on virulence of *Rhizoctonia solani* and other *Rhizoctonia* on potato. *Phytopathology* 80: 930-935.

- Casarrubias, U. y A. Frías (1992). Evaluación de la eficiencia de *Bacillus subtilis* para el control de la marchitez del chile en condiciones de invernadero. Memorias del XIX Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología. Buenavista, Saltillo, Coah. México. 165pp.
- Chan, I. y T. Kommendhl (1974). Biological control of seedling blight of corn by coating kernels with antagonist microorganisms. *Phytopathology* 58: 1395-1360.
- Ferreira, J.H.S., N.F. Matthee y C.A. Tomas (1991). Biological control of *Eutypa lata* on grapevine by an antagonistic strain of *Bacillus subtilis*. *Phytopathology* 81: 283-288.
- Gamboa, R., F.D. Hernández, A. Sánchez, E. Guerrero y R.H. Lira-Saldivar (2003). Inhibición del crecimiento micelial de *Rhizoctonia solani* Kuhn y *Phytophthora infestans* (Mont.) De Bary con extractos vegetales metanólicos de hojasa (*Flourensia cernua* D.C.), mejorana (*Origanum majorana* L.) y trompetilla [*Bouvardia ternifolia* (Ca.) Schlecht.]. *Rev Mex Fitopatología* 21: 13.
- Glick, B.R. (1995). The enhancement of plant growth by free-living bacteria. *Canadian Journal of Microbiology* 41: 109-114.
- Gustafson, R. (1993). Technical Bulletin Kodiak. Plano, Texas, U.S.A. pp.12.
- Jiménez, D.R., C.G. Virgen, P.V. Tabares y F.S. Olalde (2001). Bacterias promotoras del crecimiento de plantas: agro-biotecnología. *Avance y Perspectiva* 20: 395-398.
- Korsten, L., J.H. Lonsdale, E.E. De Villiers y E.S. De Jager (1992). Preharvest biological control of mango diseases. *South African Mango Growers Association Yearbook* 12: 72-78.
- Lagunas-Lagunas, J., E. Zavaleta-Mejía, S. Osada-Kawasoe y S. Aranda-Ocampo (2001). *Bacillus firmus* como agente de control biológico de *Phytophthora capsici* Leo. en jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Rev Mex Fitopatología* 19: 57-61.
- Lira-Saldivar, R.H. (2003). Estado actual del conocimiento sobre las propiedades biocidas de la gobernadora [*Larrea tridentata* (D.C.) Coville]. *Rev. Mex. Fitopatología* 21: 214-222.
- Lira-Saldivar, R.H., M.R. Sánchez, R. Gamboa, D. Jasso y R. Rodríguez (2003). Fungitoxic effect of *Larrea tridentata* resin extracts from the Chihuahuan and Sonoran Mexican deserts on *Alternaria solani*. *Agrochimica* 47: 54-59.
- Merriman, R.D., R.D. Price y K.F. Baker (1974). The effect of inoculation of seed with antagonists of *Rhizoctonia solani* on the growth of wheat. *Aust. J. Agric. Rev.* 25: 213-219.
- Montes, B.R., C.V. Cruz, M.G. Martínez, G.G. Sandoval, L.R. García, D.S. Zileh, L.L. Bravo, T.K. Bermúdez y M.H.C. Flores (2000). Propiedades antifúngicas en plantas superiores. Análisis retrospectivo de Investigaciones. *Rev. Mex. Fitopatología* 18: 125-131.
- Papavizas, G.C. y J.A. Lewis (1997). Isolating, identifying, and producing inoculum of *Rhizoctonia solani*. En: Methods for evaluating pesticides for control of plant pathogens. Hickey KD (Ed.) The American Phytopathological Society, St. Paul Minnesota, USA pp.50.
- Platt, H.W. (1989). Potato growth and tuber production as affected by inoculation of cut and whole seed with *Rhizoctonia solani* AG-3 and the use of seed treatment fungicides. *American Potato Journal* 66: 365-370.
- Penterman, J.N., S. Ghosh y J.R. Tyler (2000). Promotion of root elongation in canola (*Brassica campestris*) seedling by plan growth promoting soil bacteria. American Society of Plant Physiologists. *Plant Biology Abstracts* p. 254.
- Pusey, P.L. (1989). Use of *Bacillus subtilis* and related organism as biofungicides. *Pesticides Science* 27: 13-17.
- Shipper, B., A.W. Baker y P.A. Baker (1987). Interactions of deleterious and beneficial rhizosphere microorganism and the effect of cropping practices. *Annual Review of Phytopathology* 25: 339-345.
- Sneh, B., L. Burpee y A. Ogoshi (1991). Identification of *Rhizoctonia* Species. American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota. USA. 133p.
- Tschen, J.S. y W.L. Kuo (1985). Antibiotic inhibition and control of *Rhizoctonia solani* by *Bacillus subtilis*. *Plant Protection Bulletin* 27: 95-99.
- Ujváry, I. (2002). Transforming natural products into natural pesticides-experiences and expectations. *Phytoparasitica* 30: 439-441.
- Van Veen, J.A., L.S. Van Oberbeek y J.D. Van Elas (1997). Fate and activity of microorganisms introduced into soil. *Micro Molec Rev* 61: 121-131.
- Yang, Z.Z. (1992). Screening of *Bacillus subtilis* strain PR55 and test of its antifungal activities to *Rhizoctonia solani*. For Abst 53: 3409.