

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA “ANTONIO NARRO”

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA



Efecto antagónico de *Bacillus megaterium* (de Bary)
sobre *Rhizoctonia solani* Kühn. In vitro

Por:

MARCO ANTONIO TEPALCATL VILLARREAL

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Torreón, Coahuila, México
Junio 2019

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA**

DIVISIÓN DE CARRERAS AGRÓNOMICAS

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA

Efecto antagónico de *Bacillus megaterium* (de Bary)

sobre *Rhizoctonia solani* Kühn. In vitro

POR:

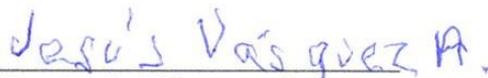
MARCO ANTONIO TEPALCATL VILLARREAL

TESIS

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

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Aprobada por:



Dr. Jesús Vásquez Arroyo
Presidente



M.C. Claudio Ibarra Rubio
Vocal



Ing. José Alonso Escobedo
Vocal



Ing. Bertha Alicia Cisneros Flores
Vocal Suplente


M.E. Javier López Hernández.

Coordinador de la División de Carreras Agronómicas.

Torreón, Coahuila, México
Junio 2019.



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA**

DIVISIÓN DE CARRERAS AGRÓNOMICAS

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA

Efecto antagónico de *Bacillus megaterium* (de Bary)
sobre *Rhizoctonia solani* Kühn. In vitro

POR:

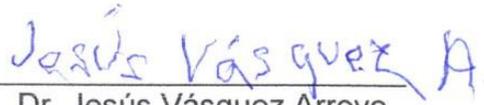
MARCO ANTONIO TEPALCATL VILLARREAL

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Aprobada por el Comité de Asesoría:



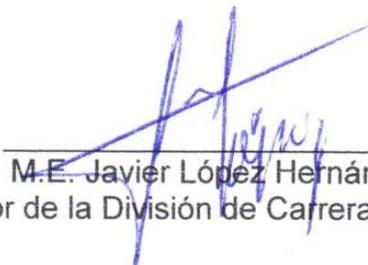
Dr. Jesús Vásquez Arroyo
Asesor Principal



M.C. Claudio Ibarra Rubio
Coasesor



Ing. José Alonso Escobedo
Coasesor



M.E. Javier López Hernández
Coordinador de la División de Carreras Agronómicas.

Torreón, Coahuila, México
Junio 2019.



AGRADECIMIENTOS

A DIOS, por darme la sabiduría para culminar mi formación profesional, por permitirme cumplir este objetivo establecido y por nunca abandonarme durante mi estancia fuera de casa.

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Laguna, por su gran apoyo en el tiempo que me recibió como estudiante de esta institución.

Al M.C. Claudio Ibarra Rubio, por todo el apoyo que me otorgó desde el momento que se me asignó como mi tutor, por cada uno de sus consejos que me orientaron en todo momento, sus enseñanzas, su amistad y gracias por su disposición para realizar esta tesis.

Al Dr. Jesús Vásquez Arroyo, por brindarme su apoyo asesoría y su disponibilidad para la elaboración de esta tesis.

Al Ing. Bertha Alicia Cisneros Flores y José Alonso Escobedo por la revisión y sugerencias para la elaboración de esta tesis.

A mis maestros, por transmitir sus conocimientos, consejos y por siempre dar su mejor esfuerzo para que me formara de la mejor manera posible.

A mi familia, que siempre conté con ellos en todo momento y siempre tuvieron una palabra de aliento para mí, gracias mamá por siempre apoyarme en todos los sentidos, a mi papa y a mis hermanos.

A todas esas personas, amigos y compañeros, que siempre me acompañaron durante esta etapa tan bonita, con los que conviví muchas veces y pasamos momentos muy agradables, gracias por brindarme de su amistad.

DEDICATORIA

A Dios, por resguardarme con bien siempre y siempre darme salud y toda la fortaleza necesaria.

A mi Mamá: Catalina Villarreal Prado.

Que siempre diste todo, el mayor y mejor esfuerzo para que yo pudiera culminar mi carrera profesional, por todos tus consejos y palabras de ánimo que en todo momento me proporcionaste cuando más los necesité, por inculcarme los más bonitos valores con ejemplos y por darme la mejor herencia que se le puede dar a un hijo, gracias por brindarme el don de la vida.

A mi Papá: Ramón Antonio Tepalcatl: Por apoyarme con sus consejos y palabras de aliento, por demostrarme con sus ejemplos que todo se puede cuando uno se lo propone.

A mis hermanos, Mercedes, Rosario y Jorge Luis,

Por siempre darme ánimos, por ayudarme de todas las maneras posibles a salir adelante y por siempre estar al pendiente de mí.

DIOS LOS BENDIGA SIEMPRE

RESUMEN

El presente estudio se realizó del 20 Mayo al 29 de Junio del año 2018 en el laboratorio del Departamento de Agroecología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, con el objetivo de determinar el efecto antagonista de la bacteria *Bacillus megaterium* (de Bary) sobre el hongo *Rhizoctonia solani* (Kühn) in vitro, utilizando un diseño completamente al azar con dos factores: diluciones decimales y medios de cultivo PDA (Papa, dextrosa, agar) y AN (Agar nutritivo), con seis repeticiones y como variable respuesta la inhibición del crecimiento fúngico. Se establecieron cuatro tratamientos (testigo sin inocular el antagonista (T1) y tres diluciones (T2, T3 y T4), en dos medios de cultivo, cada unidad experimental fue sembrada con el patógeno (excepto T1) e inoculada con las concentraciones de *B. megaterium* de acuerdo al tratamiento correspondiente (T2-T4). Se registraron datos de inhibición de desarrollo micelial a partir de las 24 horas hasta las 216 horas en PDA y de 168 h en AN. Los datos fueron sometidos a análisis de varianza (ANOVA) y pruebas de medias de Tukey con un α 0.05. De acuerdo a los resultados encontrados, el ANOVA presentó diferencias altamente significativas para los medios de cultivo ($P= 0.000$) a las 24 h. El mismo efecto se encontró a las 72 h, entre tratamientos y medios de cultivo. El mejor efecto inhibitorio lo presentaron los tratamientos T2 (reducción del crecimiento micelial del 59.5% a las 72 h, hasta de 68.1 % a las 144 h) en el AN, como era de esperarse.

PALABARAS CLAVE.

Rhizoctonia solani, *Bacillus megaterium*, Concentraciones, Antagónico, Dilución.

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	i
DEDICATORIA	ii
RESUMEN.....	iii
ÍNDICE	iv
ÍNDICE DE CUADROS.	vi
ÍNDICE DE FIGURAS	vii
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1 OBJETIVO	3
1.2 HIPÓTESIS.....	3
II. REVISIÓN DE LITERATURA.	4
2.1 Generalidades de <i>Rhizoctonia solani</i>	4
2.2 Importancia económica.....	5
2.3 Síntomas	5
2.4 Epidemiología.....	7
2.5 Taxonomía de <i>Rhizoctonia solani</i>	8
2.6 Morfología.	9
2.7 Ciclo de vida de <i>Rhizoctonia solani</i>	11
2.8 Invasión y colonización.....	13
2.9 Método de control.	13
2.9.1 Control físico.	13
2.9.2 Control cultural.....	13
2.9.3 Control químico.....	14
2.9.4 Control genético.....	15
2.9.5 Control biológico.	15
2.9.6 Importancia del control biológico.	16
2.10 Bacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal.	17
2.10.1Taxonomía y clasificación.....	18
2.10.2 BPCV como microorganismos antagonistas	20
2.10.3 Mecanismos antagónicos ante fitopatógenos.	20
2.10.4 Eventos de colonización.	21

III. MATERIALES Y MÉTODOS.	23
3.1 Ubicación del experimento.	23
3.2 Material biológico.	23
3.2.1 Aislamiento del patógeno.	23
3.3 Preparación de medio de cultivos.	25
3.3.1. Esterilización del material.	25
3.4 Preparación de diluciones.	27
3.5 Establecimiento de los tratamientos.	27
3.6 Variables a medir:	28
IV. RESULTADOS.	31
V. DISCUSIÓN	39
VI. CONCLUSIÓN.....	40
REFERENCIAS	42

ÍNDICE DE CUADROS.

Cuadro 1. Grupos anastomóticos de <i>R. solani</i> y las enfermedades que causan en diferentes especies de plantas cultivadas (Ceresini, 1999) citado por (Fernández, 2011).	10
Cuadro 2. Tratamientos establecidos y sus concentraciones respectivas de <i>B. megaterium</i>	28
Cuadro 3. Reducción (%) del crecimiento micelial de <i>R. solani</i> sobre el antagonismo de <i>B. megaterium</i> durante un período de incubación de 216 h empleando como cultivo el PDA.	33
Cuadro 4. Reducción (%) del crecimiento micelial de <i>R. solani</i> sobre el antagonismo de <i>B. megaterium</i> durante un período de incubación de 168 h empleando como cultivo el AN.	35
Cuadro 5. ANOVA del Desarrollo micelial a las 96 h de cultivo.	38
Cuadro 6. Análisis de medias de Tukey ($\alpha=0.05$), para la inhibición del crecimiento micelial a las 96 h de cultivo in vitro con agar nutritivo y <i>B. megaterium</i> como antagonista.	38

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Podredumbre de la raíz y el tallo de la planta de tomate en maceta. (Agris, 2005).	7
Figura 2. El micelio de <i>Rhizoctonia</i> que muestra su ramificación en ángulo recto y septos cerca del punto de ramificación (Agris, 2005).	9
Figura 3. Ciclo de la enfermedad de <i>Rhizoctonia solani</i> (<i>Thanatephorus cucumeris</i>) (Agris, 1985).	12
Figura 4. Lavado de las raíces para remover el exceso de suelo.	24
Figura 5. Muestras de las raíces donde se aprecia lesiones ocasionadas por el patógeno.	24
Figura 6. Siembra de pequeños cortes con lesiones.	25
Figura 7. Estructuras del patógeno observadas a través del microscopio compuesto. .	25
Figura 8. Cultivo puro de <i>R. solani</i>	26
Figura 9. Medio de cultivo PDA a punto de ebullición.	26
Figura 10. Esterilización del material en Autoclave	26
Figura 11. Caldo bacteriano agitado durante 24 horas.	27
Figuras 12. Dosificación de las diluciones de <i>B. megaterium</i> en campana de flujo laminar nivel II B.	27
Figura 13. Comportamiento del desarrollo micelial de <i>R. solani</i> sobre el antagonismo de <i>B. megaterium</i> durante un período de incubación de 216 h en PDA.	33
Figura 14. Comportamiento del desarrollo micelial de <i>R. solani</i> sobre el antagonismo de <i>B. megaterium</i> durante un período de incubación de 168 h en AN.	35
Figura 15. Disminución del crecimiento micelial (%) de <i>R. solani</i> por el antagonismo de <i>B. megaterium</i> con el tratamiento T2 en dos diferentes medios de cultivo (PDA y AN).	36
Figura 16. Disminución del crecimiento micelial (%) de <i>R. solani</i> por el antagonismo de <i>B. megaterium</i> con el tratamiento T3 en dos diferentes medios de cultivo (PDA y AN)	37
Figura 17. Disminución del crecimiento micelial (%) de <i>R. solani</i> por el antagonismo de <i>B. megaterium</i> con el tratamiento T4 en dos diferentes medios de cultivo (PDA y AN).	37

I. INTRODUCCIÓN

Un gran número de basidiomicetos causan pérdidas considerables al atacar principalmente las raíces y los tallos inferiores de las plantas interfiriendo así en su desarrollo, entre los fitopatógenos principales se encuentra *Rhizoctonia solani*, Kühn (teleomorfo: *Thanatephorus*), es un basidiomiceto que habita en el suelo y causa graves enfermedades en muchos cultivos como, algodón, arroz, cacahuate, café, cebolla, chile, tabaco, tomate, papa, aguacate, trigo etc., al afectar partes de las plantas que se desarrollan bajo o sobre el terreno como raíces, tallos, tubérculos, cormos (Agrios, 2005). En el cultivo de papa, el porcentaje de plántulas muertas por el síntoma del ahogamiento puede llegar hasta 70% (Martín y Torres, 1989), en el sur de California y en Brasil en los cultivos de granos las pérdidas asciende al 50% (Emechebe y Shoyinka, 1999). *R. solani* presenta una distribución cosmopolita (Chen *et al.*, 2016).

En tomate el daño más común es la podredumbre de la raíz, anomalía que se ve reflejada en la calidad y cantidad de la producción en el cultivo (Mendoza-Zamora, 1996). La aplicación de productos químicos es una opción para proteger a los cultivos de los daños causados por las enfermedades (Bingham *et al.*, 2009). La problemática es el uso indiscriminado de fungicidas acción que conlleva a que este patógeno muestre factores de resistencia a ciertos productos químicos, como es el caso del ingrediente activo Pencycuron sobre *Rhizoctonia solani* (Hernández *et al.*, 2005). Provoca daños al medio ambiente y genera afectaciones a la salud humana (Devine *et al.*, 2008)

Es por ello que el control biológico surge como una necesidad para reducir el uso de productos químicos dando paso al uso de microorganismos benéficos. Los cuales minimizan la problemática planteada, entre los microorganismos más estudiados se encuentran los géneros *Rhizobium*, *Pseudomonas*, *Trichoderma*, *Streptomyces* y *Bacillus* (Ezziyyani *et al.*, 2006).

Hoyos *et al.*, (2008) consignan en pruebas realizadas in vitro con aislamientos de *Trichoderma spp*, contra *Sclerotium rolfsii* (Sacc) resultados de efectividad antagónica en todos los aislamientos evaluados in vitro.

Bacillus subtilis (Cohn, 1872) inhibió en un rango de 50-100%, hongos fitopatógenos pertenecientes a los géneros *Fusarium* y *Alternaria*. En el mismo estudio también se encontró que *Rhizobium*, inhibió entre 50-90% el crecimiento de los fitopatógenos *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl, *Fusarium sp*, y *Fusarium equiseti* (Corda) Sacc. 1886 (Méndez-Úbeda *et al.*, 2017).

Chen *et al.*, (2006) mencionan que *Bacillus megaterium* (de Bary) produce ácidos orgánicos los cuales tienen cierta capacidad de solubilizar fosfatos, actúa contra patógenos como *Sclerotium cepivorum* (Berk) que causa la pudrición blanca de la cebolla.

1.1 OBJETIVO

Determinar el efecto antagonista de *Bacillus megaterium* (de Bary) contra *Rhizoctonia solani* Kühn in vitro.

1.2 HIPÓTESIS

Bacillus megaterium inhibe el desarrollo de *Rhizoctonia solani*, en medio de cultivo artificial.

II. REVISIÓN DE LITERATURA.

2.1 Generalidades de *Rhizoctonia solani*.

Entre los principales problemas que presentan los cultivos son las plagas y enfermedades en el estado de crecimiento de la planta, los hongos fitopatógenos además de manchar y ocasionar podredumbre afectan la calidad del fruto reduciendo su valor en el mercado (Juárez-Becerra *et al.*, 2010). Estos organismos son los principales causantes de enfermedades en las plantas ya que provocan aproximadamente el 25 % de pérdidas en los cultivos (Lugtenberg, 2014).

Un gran número de hongos han sido identificados y señalados como causantes de alteraciones fisiológicas en un amplio número de vegetales entre los más comunes son especies de: *Botrytis*, *Uncinula necátor* (Schwein) Burrill, *Sphaerotheca pannosa* (Wallr.: Fr.), *Penicillium*, *Colletotrichum*, *Phomopsis*, *Fusarium*, *Rhizopus*, *Phytophthora* y *Rhizoctonia* (Moreno, 2017).

R. solani afecta las semillas durante la germinación, en las plántulas induce muerte pre o post emergente, causando la pudrición de la raíz. Las lesiones son ovales, hundidas, de color café rojizo y seco. Ocurre pérdida de coloración del follaje y posteriormente el marchitamiento total. La enfermedad se desarrolla a temperaturas de 18 a 23 °C, con humedad en el suelo de moderada a alta y que el inóculo cuente con nutrientes necesarios (Abawi y Pastor 1990; Campos, 1991; Romero, 1988), ha sido clasificado como un patógeno de potencial evolutivo intermedio (McDonald y Linde, 2002).

2.2 Importancia económica.

R. solani se encuentra ampliamente distribuido en el mundo causando merms y afectando a una gran variedad de hospedantes (Pascual, 2000), este patógeno genera lesiones en tallos en más del 90% de las plantas. *R. solani* disminuye en un 50 % la emergencia de la soya (Mendoza *et al.*, 1987).

Según Sneh *et al.*, (1991) entre los patógenos del suelo, *Rhizoctonia solani* Kühn es de los más importantes, está presente tanto en suelos cultivados como no cultivados, se ha visto afectando a una variedad de cultivos como arroz, tomate y frijol por citar algunos. Está asociado al síndrome de la tristeza o marchitez, la enfermedad causa la muerte temprana de las plantas y las pérdidas pueden alcanzar entre el 10 y 60%, en lugares como Puebla y el Bajío se han tenido pérdidas del 100% (Pérez-Moreno *et al.*, 2003). En el cultivo de la papa se tiene registro que este agente causal de la costra negra ocasiona una reducción en el rendimiento de tubérculos, hasta del 30% (Banville, 1989).

2.3 Síntomas

R. solani se consignó por primera vez en cultivo de maíz causando un daño basal, el cual se aprecia primero en el tallo posteriormente avanza hasta las hojas, en donde provoca lesiones de color marrón, forma estructuras de resistencia (esclerocios) en la base del tallo mismas que persisten por mucho tiempo, las lesiones provocan el marchitamiento de la planta hasta causar la muerte (Bertus, 1927).

Los síntomas son variados de acuerdo al cultivo ya sea por la etapa de crecimiento en la que se infecta la planta o por las condiciones ambientales presentes. Los más comunes en la mayoría de las plantas son el decaimiento de las plántulas y la pudrición de la raíz, la pudrición del tallo o el de las plantas, en algunas ocasiones también se manifiesta generando la descomposición de los órganos de almacenamiento, manchas foliares por lo regular las que están en contacto con el suelo. El “damping off” se manifiesta con mayor frecuencia en terrenos fríos y húmedos, las plántulas muy jóvenes pueden morir antes o poco después de la emergencia del suelo. Las plántulas gruesas y carnosas como las de las leguminosas y los brotes de los tubérculos de papa, antes de morir pueden mostrar lesiones marrones notables y puntas muertas. Después de que las plántulas han emergido, el hongo ataca su tallo necrosando sus tejidos, el cual se vuelve suave e incapaz de sostener la planta, que luego se cae y muere (Agrios, 2005).

De acuerdo con Beebe, (1981) a simple vista las colonias muestran una decoloración de color café a bayo, presenta características típicas algunas veces el micelio se ramifica perpendicularmente. Los tejidos podridos generalmente se descomponen y se secan, formando un área hundida llena de partes de plantas secas mezcladas con micelios y esclerocios (Agrios, 2005).

La rizoctoniasis es de las enfermedades que presenta varios síntomas, estos síntomas dependerán de la severidad y las partes involucradas donde está presente (Figura 1). Este patógeno no tiene una etapa fisiológica específica en la planta para afectarla, en los brotes de la papa en la semilla, estos pueden ser

afectados en las etapas pre y post emergente los cuales son estrangulados mostrando lesiones necróticas. En este estado la planta puede desarrollar brotes nuevos en la parte baja del tallo, de no ser afectados emergen finalmente del suelo (Torres, 2002).



Figura 1. Podredumbre de la raíz y el tallo de la planta de tomate en maceta. (Agrios, 2005).

2.4 Epidemiología.

R. solani lleva a cabo su ciclo de reproducción tanto en suelos húmedos y ácidos con temperaturas bajas. Logra sobrevivir formando estructuras de resistencia llamados esclerocios por largos períodos de tiempo aun cuando las condiciones ambientales no sean favorables, siendo estas estructuras la principal fuente de inóculo para el inicio de la enfermedad (Prado *et al.*, 2001). Por excelencia es un habitante del suelo, en su condición de parasito facultativo puede vivir a expensas de descomposición de materia orgánica que esté presente en el suelo así como de plantas vivas, una característica importante de este patógeno es el amplio rango que tiene para parasitar gran número de especies, su

diseminación se lleva a cabo principalmente por partículas que son arrastradas por la lluvia (Ames, 1997), la severidad de la enfermedad dependerá de aspectos como la humedad del suelo, la temperatura, el estado de nutrición del inoculo (Weinhold, 1969), así como de los exudados de las plantas y las raíces las cuales estimulan el crecimiento micelial (Walker, 1952).

2.5 Taxonomía de *Rhizoctonia solani*.

Según (Agrios, 2002) la fase asexual (anamorfo) es.

Subdivisión: Deuteromycota

Clase: Agonomycetes

Orden: Agonomycetales(Myceliales)

Género: *Rhizoctonia*

Especie: *R.solani*.

Según (EPPO, 2015) la fase sexual (Teleomorfo) es.

Reino: Fungi

Filo: Basidiomycota

Orden: Ceratobasidiales

Familia: Ceratobasidiaceae

Género: *Thanatephorus*

Especie: *T. cucumeris*.

2.6 Morfología.

Sneh *et al.*, (1996) señalan que la principal característica morfológica de *R. solani* es el ángulo recto o casi recto que forma un conjunto de ramificación de las hifas, presenta septos, los cuales tienen engrosamiento del tabique en la parte central de una hifa, formando un conducto con forma de barril con los extremos abiertos, la ausencia de conexión en fibula y la constricción de la hifa en el punto de origen (Figura 2).



Figura 2. El micelio de *Rhizoctonia* muestra su ramificación en ángulo recto y septos cerca del punto de ramificación (Agrios, 2005).

R. solani se ha dividido en 14 grupos anastomósicos y varios subgrupos (González, 2002).

Cuadro 1. Grupos anastomóticos de *R. solani* y las enfermedades que causan en diferentes especies de plantas cultivadas (Ceresini, 1999) citado por (Fernández, 2011).

Grupo de anastomosis	Enfermedad	Hospedante
AG1-1 ^a	Marchités de la vaina, mancha de la vaina	Arroz
	Esclerocios, tizón de la hoja	Maíz
	Tizón de la hoja	Sorgo
	Tizón del sur	Soya
	Mancha marrón	Plántulas de alcanfor Césped
AG1-IB	Mustia	Frijol
	Putrefacción	Calabaza
	Pudrición de pie	Lechuga
AG1-IC	Ahogamiento y corona de la raíz	Soya Zanahoria
AG2-1	Ahogamiento	Crucíferas
	Pudrición del cogollo	Fresas
	Tizón de la hoja	Tulipanes
AG2-2 IIIB	Falso tizón de la vaina	Arroz
	Tizón de la vaina	Maíz
	Costra negra	Remolacha
	Parche marrón	Pasto
	Pudrición Ahogamiento	
AG2-2 IV	Pudrición de la raíz y tizón de la hoja	Remolacha
	Parche largo	Pasto
AG 3	Costra negra y cancro del tallo/stolones	Papa
	"Target spot"	Tabaco
	Tizón de la hoja	Tomate
	Mancha café	Berenjena
AG 4 (HGI, HGII y HGIII)	Pudrición del fruto	Tomate
	Pudrición del tallo	Chícharo
	Ahogamiento y cancro del tallo	Papa
	Ahogamiento y pudrición de la raíz	Soya, cacahuate
	Pudrición de la vaina	Habichuela, cebolla, algodón
AG5	Costra negra	Papa
	Parche marrón	Pasto
	Pudrición de raíz	Frijol, soya
AG 6	Grupo no patogénico	
AG 7	Grupo no patogénico	
AG8	Manchones desnudos	Cereales
	Pudrición de raíz	Papa
AG 9	Patógeno débil	Crucíferas

Las normas de anastomosis de hifas han sido utilizadas extensivamente para asignar a los aislados de *Rhizoctonia* en distintos grupos taxonómicos. Esta agrupación de aislados por anastomosis, se otorga bajo la afirmación de que las hifas se fusionan siempre y cuando sean del mismo grupo (Permeter *et al.*, 1952).

Por lo tanto la anastomosis de las hifas es un acción que demuestra la compatibilidad ya sea somática o vegetativa entres los aislados (Carling y Leiner, 1990).

De acuerdo a Ogoshi, (1987), los grupos de aislamientos de *Rhizoctonia solani* están divididos en tres grupos:

Rhizoctonia multinucleada las cual presenta tres o más núcleos por célula, hifas largas, su teleomorfo es *Thanatephorus* Donk.

Rhizoctonia binucleada presentando dos núcleos por célula, algunas veces presenta uno o tres, con hifas cortas, teolomorfo, *Ceratobasidium* Rogers.

Rhizoctonia oryzae y *R. zea*, presentan de tres o más núcleos por células, consta de hifas largas, su forma sexual es *Waitea* Warcup y Talbot.

Una característica muy particular es que los grupos de *Rhizoctonia* poseen un Basidiomiceto (Carling y Sumner, 1992). En los estudios realizados in vitro los aislamientos se desarrollan bien a 25 °C (USDA, 1980).

2.7 Ciclo de vida de *Rhizoctonia solani*.

El patógeno en el invierno puede estar presente como micelio o esclerocio en el suelo o sobre plantas perennes infectadas o el mismo material de propagación en el caso de las semillas de papa, en algunos huéspedes el patógeno puede ser incluso transportado en semilla, una característica importante de este patógeno es su presencia en gran cantidad de los suelos, una vez que llega al campo permanece allí indefinidamente, el hongo se propaga mediante la

lluvia, el riego, las herramientas o cualquier otra cosa que lleve suelo contaminado y estén infectadas. La mayoría de las razas requieren de una temperatura óptima para que la infección se lleve a cabo siendo las adecuadas de 15°C a 18°C aunque algunas razas son más activas a temperaturas mucho más altas hasta los 35 °C, la enfermedad suele ser más severa en los suelos con humedad regular que en suelos saturados o secos, la infección de las plantas jóvenes es más grave cuando la planta presenta un crecimiento lento esto es debido a las condiciones ambientales adversas de la planta (Figura 3) (Agrios, 2005).

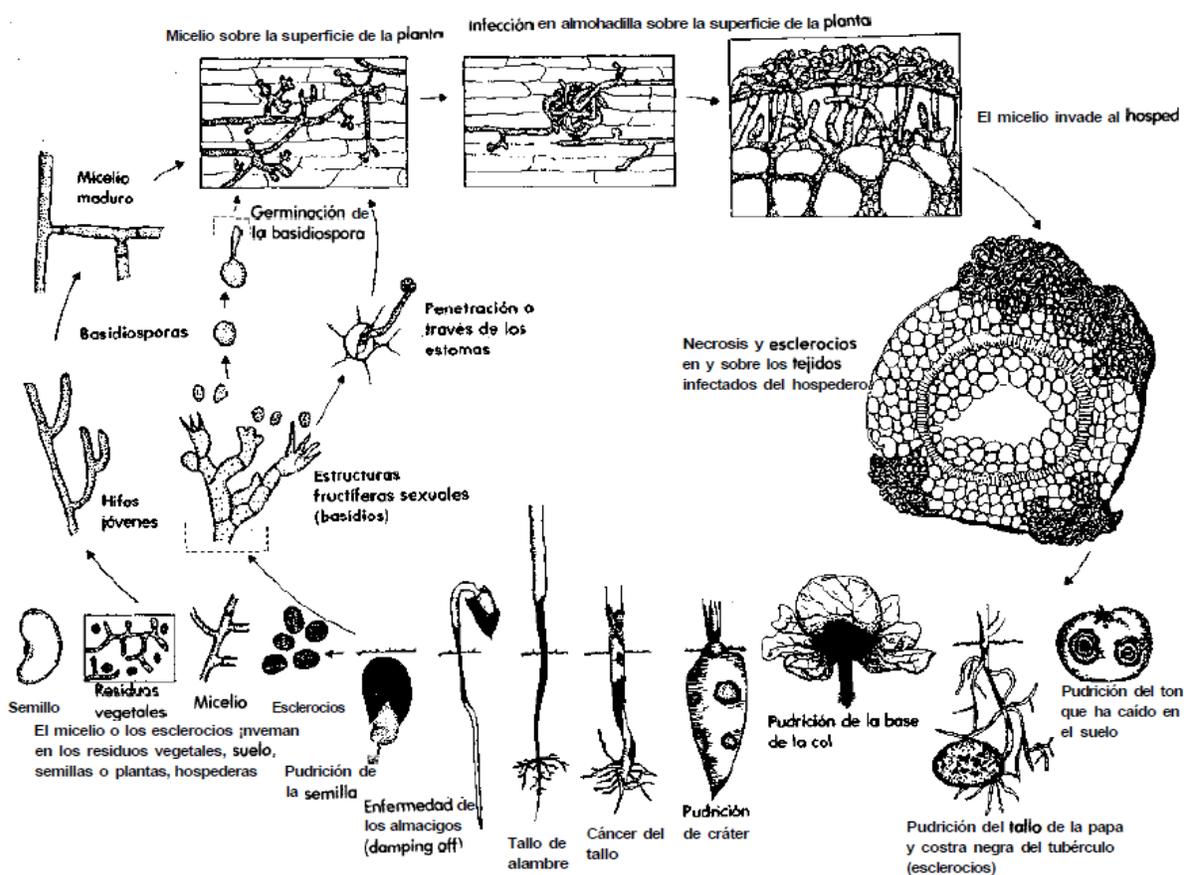


Figura 3. Ciclo de la enfermedad de *Rhizoctonia solani* (*Thanatephorus cucumeris*) (Agrios, 1985).

2.8 Invasión y colonización.

El micelio se desarrolla sin tener un hospedero vegetal necesariamente, los esclerocios por lo regular están presentes en el área medular de las plantas (USDA, 1980).

2.9 Método de control.

2.9.1 Control físico.

La solarización del suelo mediante la temperatura es un factor importante pues ejerce efectos negativos contra microorganismos fitopatógenos del suelo si la temperatura es de 37°C a 52 °C en los primeros centímetros del suelo que van de los 0 a 10 cm de profundidad. Al mismo tiempo la solarización del suelo presenta efectos benéficos para el crecimiento vegetal, pues las parcelas solarizadas contienen más nutrientes como nitrógeno amoniacal, nitrógeno nítrico, calcio, los cuales ayudan al crecimiento poblacional de microorganismos benéficos (De la Garza, 1996).

2.9.2 Control cultural

Consiste en la utilización de un conjunto de prácticas culturales de manejo con el propósito de reducir los daños ocasionados por los fitopatógenos y las plagas en los cultivos, tal es el caso de la rotación de los cultivos como trigo, cebada y maíz de más de tres años ya que reduce la presencia del patógeno. Por otra parte se recomienda la incorporación de materia orgánica en forma de residuos del cultivo como la paja de cereales (cebada, avena, trigo, etc.). También eliminar la compactación del suelo por medio del subsoleo entre surcos y a una

profundidad de 30 a 50 cm, (Inifap, 2010). Otra actividad sugerida es la nivelación del terreno esto para evitar encharcamientos; contar con un buen sistema de riego, la semilla debe de ser certificada o desinfectada, usar planta libre de patógenos y bien nutridas, aislar y quemar en caso de presencia de plantas enfermas, así como la eliminación total de sus residuos (Acuña y Araya, 2017).

2.9.3 Control químico.

Este control consiste en la aplicación de productos químicos para controlar ciertos patógenos que causan enfermedades de las plantas provocadas por hongos, los fungicidas son sustancias químicas que tienen como objetivo reducir la cantidad de inóculo del patógeno (Pérez *et al.*, 2004).

Se han determinado en estudios realizados en México que el Pencycurón controla eficientemente al grupo AG3 y el Tolclofos-metil al grupo AG4; pero el grupo AG7, que también forma esclerocios, es tolerante a todos los fungicidas (Torres, 2002).

Tecto® (Tiabendazol) a razón de 2.0 a 3.0 kg por ha, se recomienda la aplicación en banda, al fondo del surco, se tira la semilla, se asperjan los tubérculos junto con el suelo cercano a éstas y se cubren. Terraclor® (Quintozeno), a dosis de 12 a 20 l/ha, aplicado en bandas de 30 cm de ancho al momento de la siembra cubriendo suelo y semillas otra opción es sumergir los tubérculos en una solución de 1.5 a 2.0 kg de Monceren (Pencycurón) en 100 litros de agua, por un tiempo de 3 minutos y secar a la sombra antes de sembrar

(Macias *et al.*, 2006). Monceren (Pencycuron) funciona siempre y cuando la severidad de infección no sea tan alta en tubérculos (Agrios, 2002).

2.9.4 Control Genético.

Se le considera a la cualidad de tolerancia y/o resistencia de las plantas, la ventaja de este control es que es oportuno y estratégico, sin embargo existe poca información sobre el empleo de variedades resistentes ya que las variedades cultivadas en Latinoamérica son atacadas de igual forma por *R. solani*. Se tiene la alternativa de la formación de materiales genéticos que presentan niveles de producción cercanos a los híbridos y que sean costeables por el bajo costo de la semilla, capacidad de tener alto rendimiento, frutos de calidad y resistencia al patógeno (Acosta y Luján, 2004).

2.9.5 Control biológico.

El control biológico se basa en la utilización de microorganismos de la microflora del suelo nativa o introducida, que actúan como enemigos naturales competidores o sus metabolitos secundarios, cuyo objetivo es mantener el control de las poblaciones (Jacas, 2005).

Este tipo de control ha tenido resultados positivos de microorganismos contra algunos grupos anastómicos de *Rhizoctonia*, por citar algunos, *Trichoderma harzianum* (Rifai), *Rhizoctonia binucleada* (Gutierrez y Torres, 1990) y *Veticillium biguttatum* (W. Gams) (Torres, 2002).

Se observó claramente que *B. subtilis* mostró efecto de control biológico contra el crecimiento micelial del hongo *R. solani* in vitro en *Capsicum annuum* (L.) (Huang Y *et al.* , 2017).

2.9.6 Importancia del control biológico.

El uso de productos químicos es la práctica más común para el control de este patógeno, los resultados han sido muy variables, probablemente porque los grupos de anastomosis de *R. solani* muestran diferente sensibilidad y tolerancia a los fungicidas (Chávez *et al.*, 2011). A pesar de que los productos químicos han permitido reducir las pérdidas en la producción, el uso inadecuado ha generado problemas de contaminación ambiental que han impactado negativamente en la biodiversidad, provocando la inestabilidad de los mismos, causando entre otros efectos nocivos una incidencia mayor de enfermedades en los cultivos. Debido a estos problemas se ha tenido la necesidad de realizar la búsqueda y establecimiento de nuevas alternativas contra las enfermedades provocadas por fitopatógenos (Zavaleta-Mejía, 1999).

La agricultura en la actualidad pretende mediante nuevas alternativas implementadas minimizar los problemas con prácticas biológicas, las cuales actúan como biocontroladores contra ciertos patógenos, y permita producir alimentos libres de químicos (Pineda-Insuasti *et al.*, 2017). Otra consecuencia del mal manejo de productos químicos es que provoca resistencia en los fitopatógenos, por ello surgen nuevos métodos de control mediante la incorporación de microorganismos benéficos (Carreras, 2011).

La aplicación de bioproductos en la agricultura a partir de microorganismos los cuales son capaces de ejercer un control biológico por tener acciones fungicidas, bactericidas y además de esto cumplen la función de mejorar la nutrición de las plantas, es una alternativa muy prometedora para minimizar el uso indiscriminado de productos químicos, así como sus efectos nocivos. La cualidad de esta alternativa es que es amigable con el medio ambiente, no provoca alteraciones al ecosistema y el riesgo de resistencia de los patógenos es mínimo, pues al ser microorganismos muy selectivos el daño que presentan a otros microorganismos benéficos es poco probable y muestran beneficios indirectos (Tejeda, 2006).

La aceptación se debe a los buenos resultados mostrados por la multiplicación de las poblaciones, las cuales son metabólicamente activas así mismo esto les permite actuar como agentes de control biológico mediante la competencia contra los patógenos (Bashan, 1998).

2.10 Bacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal.

Dentro de los microorganismos más importantes que se han implementado como agentes de control biológico y biofertilización se encuentran hongos micorrizos algunas especies del género *Trichoderma* y las llamadas bacterias promotoras del crecimiento vegetal (BPCV) (Bloemberg y Lugtenberg, 2001). Estas fueron definidas por Kloepper (Kloepper, 1993).

Estos microorganismos habitantes del suelo cumplen la función de relacionarse fisiológica y bioquímicamente con las raíces de las plantas de manera

habitual, las cuales son estimuladas en su crecimiento, facilitan directa o indirectamente la disponibilidad de elementos en el suelo para las plantas como el nitrógeno en la rizosfera (Fulchieri y Frioni, 1994). Además desempeñan una función clave para la asimilación de los nutrientes, la tolerancia a estrés ambiental y, en general a mantener un buen estado radicular, ayudando a una mayor producción en los cultivos (Matiru y Dakora, 2004)

Dentro de las BPCV citadas en estudios que se han llevado a cabo se encuentran *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Klebsiella*, *Beijerinckia*, *Pseudomonas* y *Bacillus*; las cuales pueden sobrevivir a situaciones adversas (Loredo-Osti *et al.*, 2004).

Existen estudios donde los resultados llevaron a la conclusión de que la inoculación en cultivo tomate con *Entorabacter* sp. TVL-2 y *Pseudomonas putida* PSO14, son de gran potencial, ya que aumenta el número de frutos superando al testigo químico (Sánchez *et al.*, 2012).

Según Lara *et al.*, (2007) observaron que las bacterias del género *Azotobacter* sp y *Azospirillum* sp, produjeron el ion amonio en un rango de concentraciones que van de 0.9 hasta 5.2 mg/l lo cual comprobó la buena capacidad para fijar nitrógeno.

2.10.1 Taxonomía y clasificación.

Antonie Van Leeuwenhoek describió las primeras formas de las bacterias, mismas que agrupó de acuerdo a la similitud morfológica los cuales son cuatro grupos:

- 1.- Los cocos poseen forma esférica.
- 2.- Los bacilos, con una morfología de pequeños bastones
- 3.- Los espirilos en forma de tirabuzón, con un eje helicoidal, y
- 4.- Los vibrios estos muestran una forma poca curvada y poseen una gran movilidad (Romero, 2007).

Las bacterias son microorganismos unicelulares que pertenecen al Reino Procariota tienen una estructura celular simple, carecen de membrana nuclear, su modo de reproducción es simple por división celular conocido como fisión binaria (Audesrik *et al.*, 2013).

La tinción de Gram es la técnica más empleada en lo que respecta al estudio de las bacterias la cual alude su nombre a quien la describió en el año 1884, son aquellas tinciones que se usan para diferenciar de manera más explícitas los microorganismos dado estas cualidades las bacterias se pueden clasificar de acuerdo a su comportamiento en Gram positivas o Gram negativas, siendo las primeras que se tiñen de color violeta, mientras que las segundas adquieren un color rosado, los diferentes comportamientos de esta clasificación de bacterias a la tinción se relaciona a las diferencias fundamentales de su envoltura celular de estas dos clases de células. La diferencia entre ambos grupos se da en la forma estructural la cual se puso de manifiesto con la aparición del microscopio electrónico, las Gram positiva cuentan con una capa homogénea de 20 a 80 nm de grosor de peptidoglicano o mureína, la cual se encuentra fuera de la membrana celular, mientras que la gran negativa tiene una capa de 2 a 7 nm de grosor

depeptidoglicano la cual está rodeada de una membrana externa (Lucana y Huanca, 2014).

2.10.2 BPCV como microorganismos antagonistas

Algunos metabolitos secundarios que producen las BPCV, pueden tener efecto antagónico (involucran aspectos de control biológico, suprimen o inhiben el desarrollo de agentes fitopatógenos) por la producción de sideróforos, antibióticos, actividad de enzimas líticas (glucanasas, quitinasas) o inducción de mecanismos de resistencia (Bashan, 1998; Buchenauer, 1998). En estudios llevados a cabo mencionan que las BPCV inducen a la resistencia de las plantas contra enfermedades causadas por hongos, bacterias y virus (Liu, 1995; Maurhofer, 1998).

Según Ruiz-Sánchez *et al.*, (2016) las cepas de *Bacillus subtilis* subespecie *inaquosorum* y *Bacillus subtilis* subespecie *subtilis* presentaron actividad antagónica en la inhibición de crecimiento micelial contra los hongos fitopatógenos *Alternaria alternata*, *Helminthosporium rostratum* (Drechsler) y *Curvularia lunata* (Wakker).

2.10.3 Mecanismos antagónicos ante fitopatógenos.

Algunos mecanismos que ejercen acción antagonista con la cual actúa frente a los hongos fitopatógenos son: la competencia por espacio y nutrientes, micoparasitismo, antibiosis, la secreción de enzimas y la producción de compuestos inhibidores (Infante *et al.*, 2009). Algunas BPCV pueden detener el desarrollo de hongos por emisión de compuestos orgánicos volátiles (COV)

producción de sideróforos y antibióticos (Persello-Cartieaux *et al.*, 2003; Ryu *et al.*, 2004).

Jiménez *et al.*, (2001) notaron en cultivos de papa, que la bacteria *B. subtilis* inhibía prácticamente todos los grupos de anastomosis de *R. solani*, algunas cepas de *Fusarium* y de *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary. En cuanto a *B. megaterium* posee la características de producir sideróforos (Canavarro y Paula., 2002), tiene efecto antagónico contra *Sclerotium cepivorum* (Berk) que causa la pudrición blanca de la cebolla. Reduce la formación de agallas de nematodos en arroz reduciendo hasta 40% (Padgham y Sikora, 2007). (Chakraborty *et al.*, 2005) mencionan que, *B. megaterium* tiene la capacidad de promover el crecimiento vegetal y causar reducción de la podredumbre de la raíz parda causada por *Fomes lamaoensis* (Murr), esta se redujo notablemente al aplicar la bacteria al suelo.

2.10.4 Eventos de colonización.

La colonización de las raíces se da en dos fases, en la primera la bacteria se adhiere y se transporta sobre la elongación de la punta de la raíz, posteriormente en la segunda fase la bacteria se extiende localmente se desarrolla hasta los límites del nicho, compitiendo con organismo nativos (Howie *et al.*, 1987).

Las bacterias colonizan la raíz al momento después de ser introducidas, estas se distribuyen a lo largo de la raíz de las plantas, se propagan y se reproducen, sobreviven aun cuando existe una competencia con otros organismos

en la rizósfera, algunas veces el movimiento de la bacteria por la punta de la raíz no es eficiente, lo cual complica que la punta de la raíz quede colonizadas esto por la competencia con otras bacterias (Bahme *et al.*, 1987).

III. MATERIALES Y MÉTODOS.

3.1 Ubicación del experimento.

El experimento se realizó del 20 de Mayo al 29 de Junio del año 2018 en el laboratorio de Agroecología ubicado en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad laguna con las coordenadas (25° 33' 24'' de Latitud Norte y 103° 22' 30'' de Longitud oeste con elevación a 1124 msnm) de acuerdo al GPS del programa Google Earth.

3.2 Material biológico.

Se utilizó la cepa de *Bacillus megaterium* la cual fue proporcionada por el Dr. Jesús Vásquez Arroyo del Departamento de Agroecología, mientras que la cepa de *Rhizoctonia solani* fue aislada de raíces de plantas de tomate, las cuales fueron colectadas en la casa sombra No. 5 de la empresa Vigo.

3.2.1 Aislamiento del patógeno.

Se realizó en el laboratorio de Parasitología el lavado de raíces con agua corriente con el propósito de remover y eliminar el exceso de suelo adherido a las mismas (figura 4), enseguida se observaron con la ayuda de un estereoscopio para detectar las partes dañadas o con lesiones (Figura 5) por el hongo *Rhizoctonia solani* y al mismo tiempo detectar algunas de sus estructuras (micelio). Se realizaron siembras en el laboratorio de Agroecología de pequeños cortes con lesiones para confirmar la presencia del patógeno en medio de cultivo

artificial; Papa Dextrosa Agar (PDA) contenido en cajas Petri (Figura 6) en condiciones asépticas en campana de flujo laminar (LABCONCO Modelo 080688172B) y se incubaron a 28 °C por 4 días en una incubadora marca Yamato Modelo IC403E. Después de ese tiempo se observaron a través del microscopio compuesto marca Motic Modelo BA310 LED y se comprobó que las estructuras miceliales desarrolladas corresponden al patógeno *R. solani* de acuerdo con las claves “Illustrated Genera of Imperfect Fungi” (Barnett and Hunter, 1972) (Figura 7). Y después se procedió a realizar transferencias a otras cajas Petri con medio artificial hasta lograr obtener cultivos puros del patógeno (Figura 8).



Figura 4. Lavado de las raíces para remover el exceso de suelo.



Figura 5. Muestras de las raíces donde se aprecia lesiones ocasionadas por el patógeno.

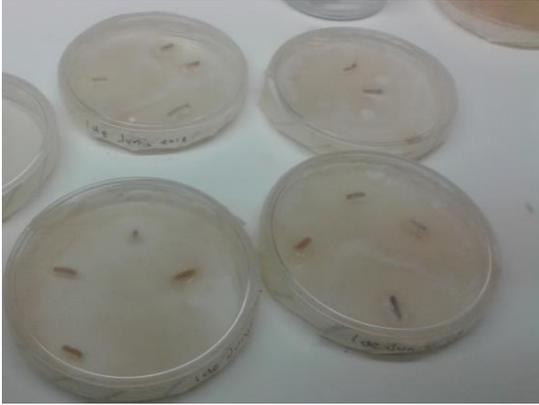


Figura 6. Siembra de pequeños cortes con lesiones.

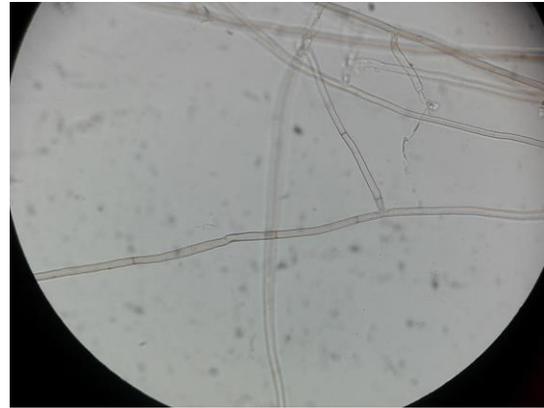


Figura 7. Estructuras del patógeno observadas a través del microscopio compuesto.

3.3 Preparación de medio de cultivos.

El medio AN (Agar nutritivo) se preparó disolviendo 11.5 grs de AN en un matraz Erlenmeyer con 500 ml de agua destilada, se colocó sobre una parrilla Marca lab Companion modelo lc-bdh573036u a una temperatura de 200 °C a punto de ebullición durante 10 minutos.

El medio PDA (papa dextrosa agar) se preparó disolviendo 11.7 grs de PDA en un matraz Erlenmeyer con 300 ml de agua destilada, se colocó sobre una parrilla a temperatura de 200 °C a punto de ebullición durante 10 minutos (Figura 9)

3.3.1 Esterilización del material.

El material de cristalería como son; cajas de petri, tubos de ensayo y pipetas, fueron envueltos con papel para introducirlos a la autoclave Novatech EV-24 (figura 10), además de una gradilla sacabocados, asas, agua destilada, agujas

y pinzas de disección, todo en conjunto se esterilizó durante 15 minutos manteniendo una presión de 15 libras.



Figura 8. Cultivo puro de *R. solani*.



Figura 9. Medio de cultivo PDA a punto de ebullición.



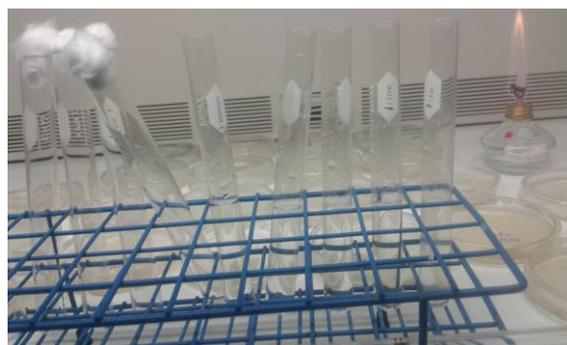
Figura 10. Esterilización del material en Autoclave.

3.4 Preparación de diluciones.

Previamente se colocó en el agitador marca Bill GER Bill, el caldo bacteriano a base de *B. megaterium* (Figura 11), permaneciendo durante 24 horas para la realización de diluciones decimales: 10^{-3} , 10^{-4} y 10^{-5} , marcando tubos de ensayos con tapón de rosca de 17x150 mm (1-5), conteniendo cada uno 9 ml de agua destilada y posteriormente con ayuda de una pipeta se transfirió 1 ml de *B. megaterium* al tubo 1 y se realizaron las diluciones respectivas (Figura 12).



Figura 11. Caldo bacteriano agitado durante 24 horas.



Figuras 12. Dosificación de las diluciones de *B. megaterium* en campana de flujo laminar nivel II B.

3.5 Establecimiento de los tratamientos.

Se establecieron 4 tratamientos con 6 repeticiones cada uno, la unidad experimental fue una caja Petri con medio de cultivo artificial Agar Nutritivo (AN) las cuales fueron inoculadas con los microorganismos para su desarrollo, haciendo un total de 24 cajas de Petri por experimento, realizado en dos ocasiones con igual número de tratamientos y sus respectivas repeticiones utilizando un diseño experimental de bloques al azar (Cuadro 2).

Cuadro 2. Tratamientos establecidos y sus concentraciones respectivas de *B. megaterium*.

Tratamientos	Diluciones
T1	---
T2	10^{-3}
T3	10^{-4}
T4	10^{-5}

Cada unidad experimental se estableció de la siguiente manera; con la ayuda de un sacabocados, se tomó una porción de 0.5 cm de diámetro del medio de cultivo puro con el patógeno *R. solani* y se colocó al centro de cada caja de Petri de los cuatro tratamientos, inmediatamente después con la ayuda de una asa bacteriológica calibrada y esterilizada se tomó del tubo de ensayo número 3 la dilución de *Bacillus megaterium* de 10^{-3} y se aplicó a cada una de las repeticiones del tratamiento 2, en 4 puntos en forma de estriado alrededor *R. solani* inoculado a distancias de 0.5 cm, 1 cm, 2 cm y 3 cm, realizando el mismo procedimiento para los T3 y T4 con las diluciones de 10^{-4} y 10^{-5} respectivamente. El T1 que corresponde al testigo solo se inoculó con *R. solani* sin agregar a *B. megateirum*.

3.6 Variables a medir:

Crecimiento longitudinal del micelio de *R. solani* (mm).

Tiempo de desarrollo de estructuras del patógeno (h).

Concentración Inhibitoria de *B. megaterium* sobre *R. solani* (Dilución).

El porcentaje de inhibición se calculó mediante la fórmula: $100 - (\text{Tratamiento} \times 100 / \text{Control})$.

Los datos registrados para la variable de crecimiento longitudinal se obtuvieron midiendo con una regla de 30 cm el crecimiento de la estructura micelial de *R. solani* a partir del punto de inoculación del medio de cultivo.

El tiempo de desarrollo de *R. solani* se registró a las 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 192 y 216 horas, durante un primer experimento y en una segunda repetición del experimento se registró a partir de las 24 horas consecutivamente hasta las 168 horas.

Para la variable de concentración inhibitoria de *B. megaterium* se observó el desarrollo de las colonias de la bacteria y el crecimiento del hongo registrando si existía o no efecto antagónico de la bacteria sobre el hongo a partir de cada uno de los puntos de inoculación de la bacteria y la concentración correspondiente.

Los datos fueron analizados, como un diseño completamente al azar con dos variables (Factor A, tratamientos, T1 testigo, T2-T4 diluciones decimales del antagonista *B. megaterium*, A; (10^{-3} 10^{-4} y 10^{-5}); B, dos medios de cultivo (PDA y AN) y seis repeticiones) sometidos a ANOVA y análisis de medias mediante el paquete estadístico Minitab 17.

Para el ANOVA de dos vías se consideró el siguiente modelo estadístico:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + e_{ijk} \text{ para: } i=1, 2, 3, 4; j= 1, 2; K=1,2 \dots 6.$$

Donde:

Y_{ijk} = Valor observado del crecimiento micelilal de la K-esima repetición con el i-esimo nivel de dilución y el j-iesimo nivel de medio de cultivo.

μ = Efecto de la media general.

α_i = Efecto fijo del i-esimo nivel de dilución

β_j = Efecto fijo del j-esimo nivel de medio de cultivo

$(\alpha\beta)_{ij}$ = Efecto de la interacción de i-esimo nivel de dilución y el j-esimo nivel de medio de cultivo.

e_{ijk} = Efecto del error aleatorio.

IV. RESULTADOS

De acuerdo a los resultados obtenidos en medio de cultivo PDA, el desarrollo del *R. solani* en los tratamientos, se observó que el crecimiento del hongo fue menor en T2 y T3 con una longitud promedio de 0.42 en ambos tratamientos a las 24 horas de establecido el experimento, mientras que en T1 (Testigo) y T4 el crecimiento del hongo fue mayor de 0.45 y 0.48 cm respectivamente.

Después de 48 horas de establecido el experimento se observó que el crecimiento del hongo en el T3 fue menor con una longitud promedio de 0.71 (\pm 0.152) cm en comparación con los tratamientos, T1, T2 y T4 con promedios de 1.05 (\pm 0.379) cm, 0.91 (\pm 0.197) cm y 1.16 (\pm 0.254) cm respectivamente.

A las 72 horas se observó el mismo comportamiento en cuanto al crecimiento del hongo en los tratamientos que fue mayor en T1, T2, T4 y menor en T3. El crecimiento micelial fue en aumento con un promedio longitudinal de 0.90 cm en T3, mientras que en T2 el promedio fue de 0.93 cm, en T4 fue 1.28 cm y en T1 fue de 1.35 cm.

Las observaciones a las 96 horas fueron que el T3 continuó con el menor desarrollo micelial de 0.90 cm mientras que el T2 registró una longitud promedio de 1.02 y el T1 superó al T4 con un promedio de 1,42 y 1.30 respectivamente.

Después de 120 horas de establecido el experimento se observó que los tratamientos se comportaron de la misma forma pero con un ligero aumento en la longitud micelial del hongo, siendo el T3 de 0.98 cm, en T2 de 1.1 cm, en T4 de 1.55 cm y en T1 de 1.46 cm.

A las 144 horas la longitud del hongo en T1 no cambió, mientras que en T2, T3 y T4 presentaron un ligero crecimiento siendo 1.2 cm 1.11 cm y 1.58 cm respectivamente. Manteniéndose T3 con el menor crecimiento longitudinal del micelio y T4 fue el que registró un mayor crecimiento del patógeno.

Después de 168 horas los tratamientos se comportaron de la misma manera el T3 presentó menor crecimiento del patógeno con un promedio de 1.23 cm, seguido del tratamiento T2 con un promedio de 1.31 cm, en el cual las repeticiones R2, R3 y R5 mostraron menor longitud en comparación con las mismas repeticiones del T3, el desarrollo en T4 superó al del T1 con promedio de 1.5 cm y 1.58 cm respectivamente.

A las 192 horas el T3 se comportaba como el tratamiento con mayor efecto inhibitorio con promedio de 1.25 cm, seguido del T2 con promedio de 1.38 cm misma que en sus repeticiones R2, R3, y R5 mostraban un menor desarrollo del patógeno en las mismas repeticiones del T3, el desarrollo de *R. solani* en el T1 con promedio de 1.55 fue superado en el T4 con promedio de 1.63 cm.

A las 216 horas el T3 presentó el menor desarrollo de *R. solani* con un crecimiento promedio de 1.29 cm sin embargo en la R3 del mismo tratamiento y R1 del T2 se observó el mayor crecimiento del hongo con 2.25 cm, comparado con las demás repeticiones de todos los tratamiento. El T2 registró un promedio de 1.38 cm, mayor que T3 pero con el mejor efecto antagónico en R5 con 0.85. El T1 y T4 resultaron con el menor efecto antagónico con un promedio de 1.64 y 1.66 respectivamente como se puede observar en la Figura 13.

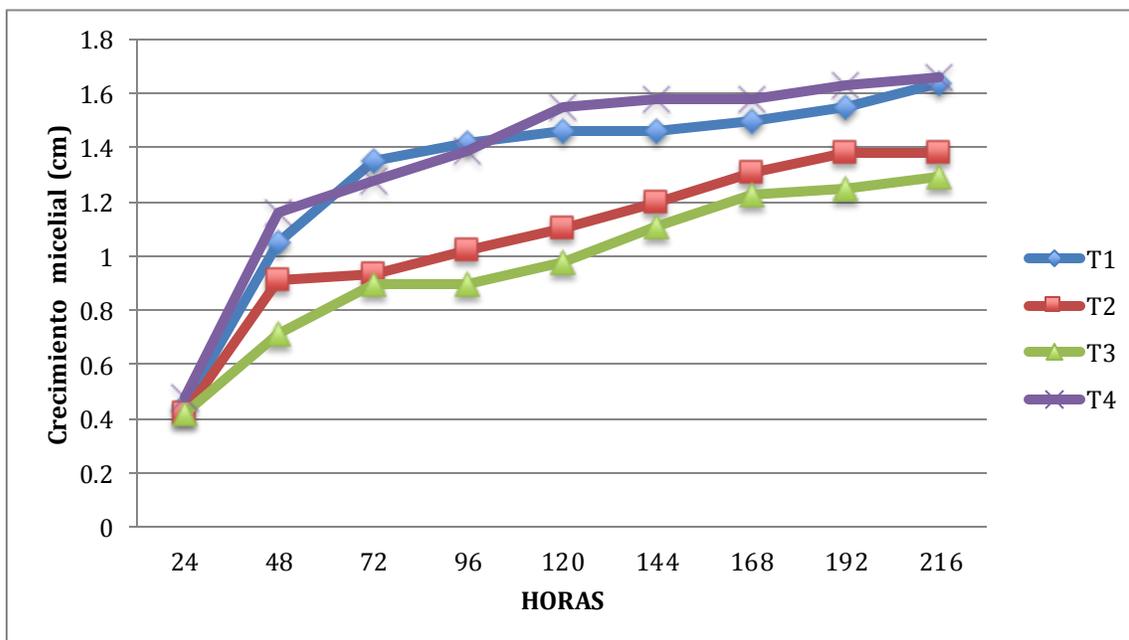


Figura 13. Comportamiento del desarrollo micelial de *R. solani* sobre el antagonismo de *B. megaterium* durante un período de incubación de 216 h en PDA.

El tratamiento 3 en PDA mostró el mejor resultado antagónico con un 21.3 % después de 216 horas de incubación sobre el crecimiento micelial de *R. solani*.

Cuadro 3. Reducción (%) del crecimiento micelial de *R. solani* sobre el antagonismo de *B. megaterium* durante un período de incubación de 216 h empleando como cultivo el PDA.

Horas	T2	T3	T4
24	6.7	6.7	-6.7
48	13.3	32.4	-10.5
72	31.1	33.3	5.2
96	28.2	36.6	2.1
120	24.7	32.9	-6.2
144	17.8	24.0	-8.2
168	12.7	18.0	-5.3
192	11.0	19.4	-5.2
216	15.9	21.3	-1.2

En cuanto a los resultados obtenidos en el medio de cultivo Agar Nutritivo (AN) el desarrollo longitudinal de *R. solani* en los tratamientos establecidos se observó que el crecimiento del hongo fue menor en T2 a las 24 hrs con una longitud promedio de 0.8 cm, en sus repeticiones R2 y R6 el crecimiento micelial fue nulo, mientras que el T1 mostró un promedio de 0.11 cm, seguido de los tratamiento 3 con promedio de 0.16 y T4 con promedio de 0.13 cm.

A las 48 horas de establecido el experimento se observó que el T2 fue el de menor crecimiento con promedio de 1 cm de micelio del patógeno, el T3 resultó con promedio de 1.08 cm, el T4 con 1.12 y finalmente el T1 con 1.6 cm.

Después de 72 horas el T3 resultó con el mejor desarrollo con un promedio de 1.18 cm de longitud, seguido por el T2 y T4 con promedio de 1.2 cm y 1.6 respectivamente, mientras que T1 presentó el mayor desarrollo con promedio de 2.96 cm.

Los resultados registrados después de las 96 horas fueron con el menor crecimiento micelial para el T2 con promedio de 1.37 cm, para el T3 un promedio de 1.51 cm de longitud, seguido por el T4 con promedio de 1.81 cm y finalmente con el de mayor longitud fue el T1 con promedio de 3.59 cm.

Los cuatro tratamientos a partir de las 120 horas y hasta las 168 horas, no mostraron variación en el crecimiento longitudinal del hongo registrando en promedio para T2; de 1.39 cm, para el T3; 1.51 cm, para T4; 2.04 cm y para T1 con el mayor promedio de 3.8 cm (Figura 14).

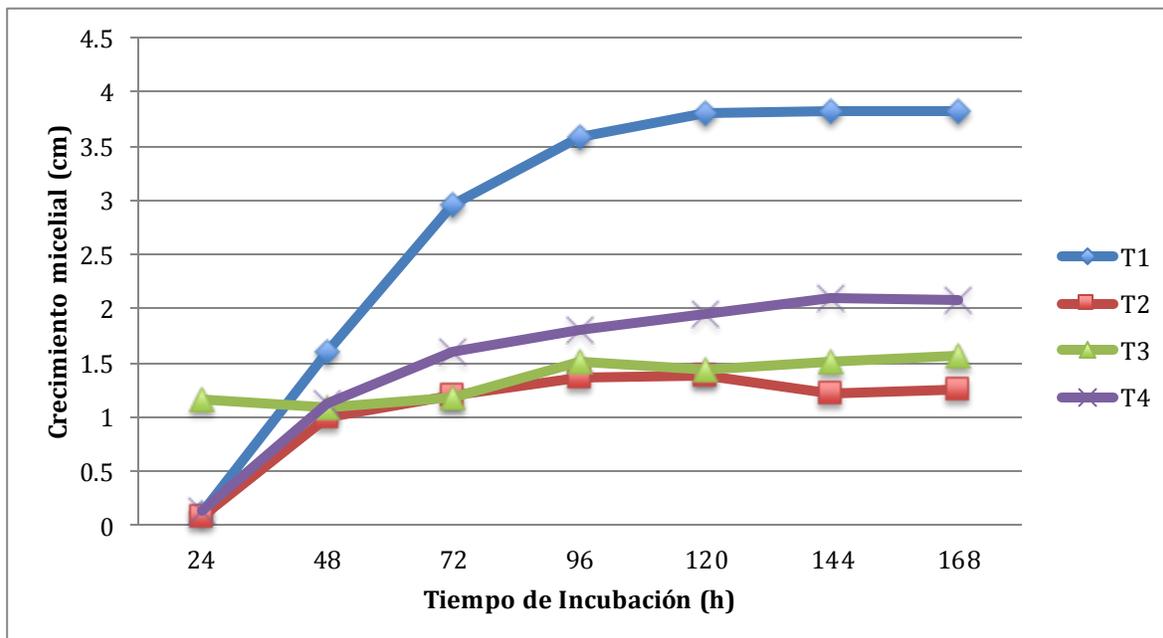


Figura 14. Comportamiento del desarrollo micelial de *R. solani* sobre el antagonismo de *B. megaterium* durante un período de incubación de 168 h en AN.

El tratamiento 2 en Agar Nutritivo mostró el mejor resultado antagónico con un 67.3% a las 168 horas de incubación sobre el crecimiento micelial de *R. solani*, cuadro 4.

Cuadro 4. Reducción (%) del crecimiento micelial de *R. solani* sobre el antagonismo de *B. megaterium* durante un período de incubación de 168 h empleando como cultivo el AN.

Horas	T2	T3	T4
24	27.3	0	0
48	37.5	32.5	30.0
72	59.5	60.1	45.6
96	61.8	57.9	49.6
120	63.5	62.5	48.8
144	68.1	60.5	45.0
168	67.3	59.2	45.5

El mejor comportamiento en la disminución del crecimiento micelial de *R. solani* en la comparación de los dos medios de cultivo en los tres tratamientos, se presentó en Agar Nutritivo (Figuras 15-17).

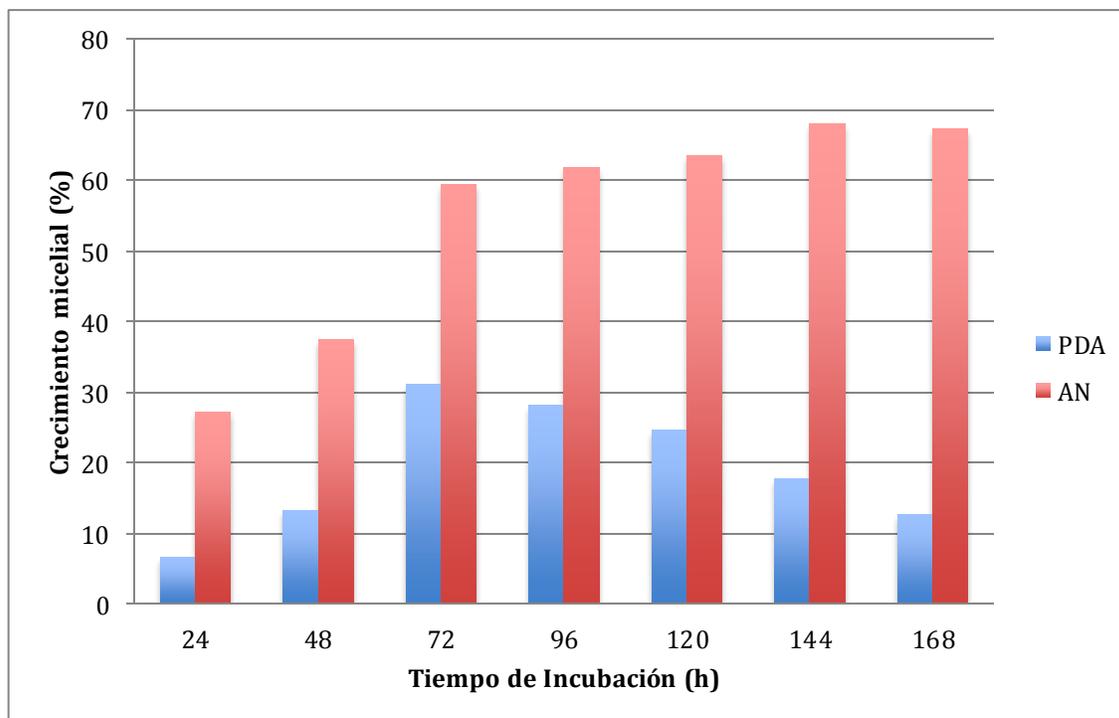


Figura 15. Disminución del crecimiento micelial (%) de *R. solani* por el antagonismo de *B. megaterium* con el tratamiento T2 en dos diferentes medios de cultivo (PDA y AN).

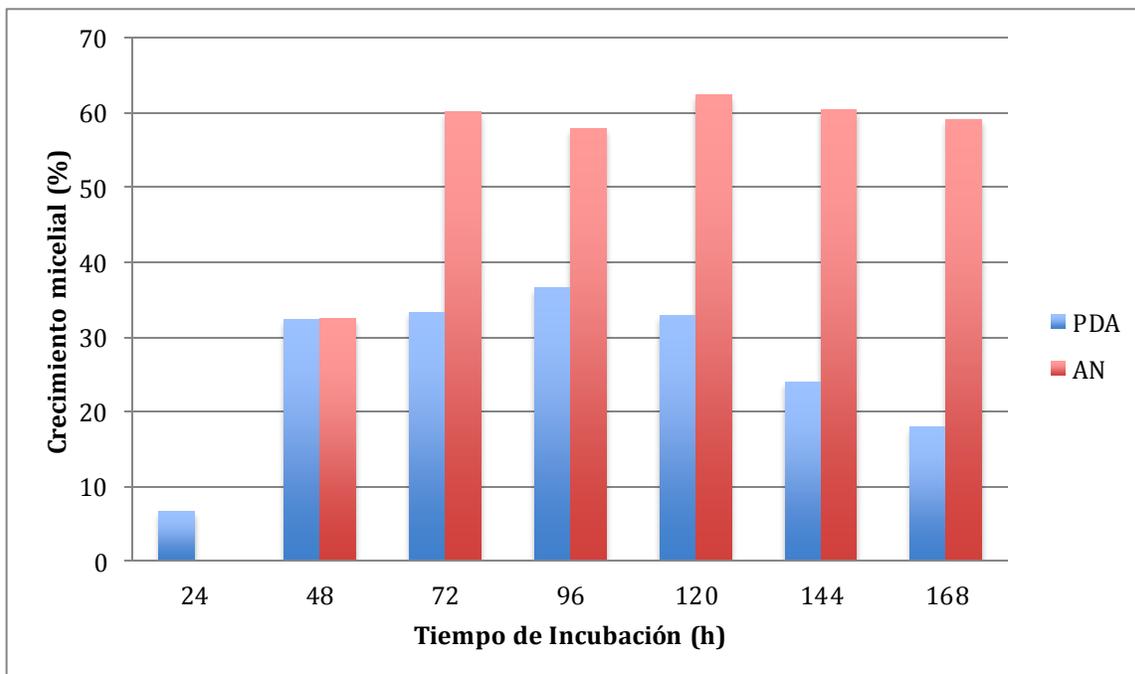


Figura 16. Disminución del crecimiento micelial (%) de *R. solani* por el antagonismo de *B. megaterium* con el tratamiento T3 en dos diferentes medios de cultivo (PDA y AN).

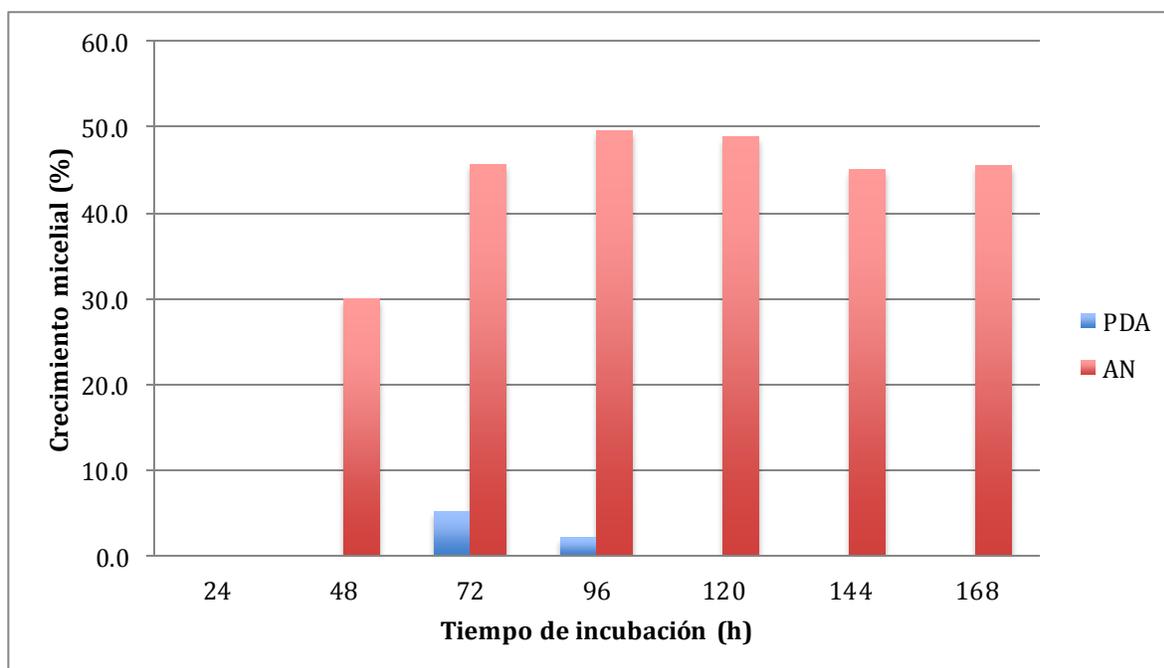


Figura 17. Disminución del crecimiento micelial (%) de *R. solani* por el antagonismo de *B. megaterium* con el tratamiento T4 en dos diferentes medios de cultivo (PDA y AN).

El análisis de varianza (ANOVA) presentó diferencias altamente significativas entre los tratamientos y los medios de cultivo, las pruebas de medias de Tukey con un α 0.05, indicaron que el mejor tratamiento para la inhibición del crecimiento fúngico fueron los tratamientos T2 y T3, considerando al último tratamiento como la concentración mínima inhibitoria. Los efectos fueron consistentes a las 24 h para los medios y a partir de las 72 h entre los tratamientos ya señalados (Cuadro 5).

Cuadro 5. ANOVA del Desarrollo micelial a las 96 h de cultivo.

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Tratamientos	3	13.6461	4.5487	15.84	0.000
Medios	1	9.4253	9.4253	32.82	0.000
Repeticiones	5	1.9154	0.3831	1.33	0.271
Error	38	10.9128	0.2872		
Total	47	35.8996			

Cuadro 6. Análisis de medias de Tukey ($\alpha=0.05$), para la inhibición del crecimiento micelial a las 96 h de cultivo in vitro con agar nutritivo y *B. megaterium* como antagonista.

TRATAMIENTOS	PDA	AN
1	1.43 ^b	3.59 ^b
2	1.03 ^a	1.38 ^a
3	0.90 ^a	1.51 ^c
4	1.39 ^b	1.81 ^c

V. DISCUSIÓN

De acuerdo a las observaciones en el experimento realizado, en medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA) indican que *B. megaterium* tiene la capacidad de reducir los efectos de la podredumbre de la raíz ocasionada por *R. solani* la cual coincide con las afirmaciones de (Chakraborty *et al.*, 2005), en estudios realizados en campo que *B. megaterium* tiene cualidades para actuar como agentes de control biológico de enfermedades radiculares, previamente cultivado en medio de cultivo.

Los resultados obtenidos coinciden con lo consignado por Omar *et al.*, (2006), que *Bacillus megaterium* es factible para actuar como agente de control biológico de pudrición de la corona y raíz por causada por *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici*. Por otra parte Figuera-Lopez *et al.*, (2016), aislaron 42 cepas de bacterias (*Bacillus*, *Pseudomonas* y *Paenibacillus*) las cuales inhibieron el crecimiento de *Fusarium verticillioides* en (> 45%), donde *B. megaterium* (B5), *B. cereus sensu lato* (B25) y *Bacillus sp.* (B35) mostraron el mejor afecto antagónico

De igual forma, se ha demostrado que existen especies de *Pseudomonas* que ocasionan efecto antagonista contra *Rhizoctonia* y que la diversidad de bacterias antagonistas depende de la presencia de suelos cultivados con poco tiempo, lo que se deberá considerar en estudios posteriores para la selección de antagonistas microbianos, como sería el caso de *Pseudomonas* (Garbeva *et al.*, 2004).

Los resultados concuerdan con lo consignado por (Bashan, 1998; Buchenauer, 1998), en el sentido que las Bacterias Promotoras de Crecimiento Vegetal (BPCV) pueden inducir mecanismos de resistencia a enfermedades debido a la producción de sideróforos, antibióticos y algunas enzimas líticas.

Nuestros resultados en AN concuerdan con lo consignado por (Martinez-Ortega, 2016) cuya mejor concentración de *B. megaterium* es la dilución 10^{-3} , siendo ésta la que mejor efecto inhibitorio tubo para hongos.

VI. CONCLUSIÓN

Con base a los resultados obtenidos en este estudio se concluye que *B. megaterium* aun cuando es considerada una BPCV ha demostrado tener cualidades como agente de control biológico de enfermedades ocasionadas por hongos del suelo, ésta puede actuar como antagonista a hongos fitopatógenos del suelo.

El efecto antagonista de *B. megaterium* se presenta en una concentración mínima de 10^{-3} en ambos medios, aunque con menor efecto inhibitorio en PDA.

El medio de cultivo que presentó el mejor comportamiento en % de Inhibición de crecimiento micelial de *R. solani* por el antagonismo de *Bacillus megaterium* fue en AN.

Es necesario llevar a cabo otros estudios en condiciones de campo para corroborar el control de la bacteria sobre hongos fitopatógenos.

REFERENCIAS.

- Abawi, G.S. and Pastor-Corrales, M. A. 1990. Root rot of beans in Latin America: Diagnosis, research, methodologies and management strategies. Centro Internacional de Agricultura Tropical. Cali, Colombia. 114 p.
- Acosta, R. F. G. y Luján, F.M. 2004. Selección de genotipos de chile de árbol y cayenne en el Estado de Chihuahua. Memorias Primera Convención Mundial del chile. León, Guanajuato. México. 14 p.
- Acuña, B I. y Araya M. 2017. Rizoctoniasis de la papa. Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA). Chile. 2 p.
- Agrios, G. N. 1985. Fitopatología. Primer Edición Editorial Limusa. México D.F. 838 p.
- Agrios, G.N. 2002. Fitopatología. Segunda Edición. Limusa, Grupo Noriega Editores. Mexico. 838 p.
- Agrios, G.N. 2005. Plant Pathology. 5th Edition. Elsevier. San Diego California, USA, 952 p.
- Ames de Icochea T. 1997. Enfermedades fungosas y bacterianas de raíces y tubérculos andinos. Centro Internacional de la Papa (CIP). Lima, Perú. 172 p.
- Audesirk, T., Audesirk, G., y Byers, B. E. 2013. Biología la vida en la tierra con fisiología. Pearson. Novena Edición. México. 1000 p.
- Bahme, J.B. and Schroth M. N. 1987, Spatial – temporal colonization patterns of a rhizobacterium on underground organs of potatoes. *Phytopathology*. 77: 1093-1100.
- Banville, G.J. 1989. Yield losses and damage to potato plants caused by *Rhizoctonia solani* Kuhn. *American Potato Journal*. 66: 821–834.
- Bashan, Y. 1998. Inoculants of plant growth-promoting bacteria for use in agriculture. *Biotechnology Advances* 16:(4), 729-770.
- Beebe, S. 1981. Pudriciones radicales del frijol y su control. CIAT. Cali Colombia. 52 p.
- Bertus, L.S. 1927. A sclerotial disease of Maize (*Zea mays* L.) due to *Rhizoctonia solani* Kühn, 44-46 p.
- Bingham, I. J., Walters, D. R., Foulkes, M. J. and Paveley, N. D. 2009. Crops traits and the tolerance of wheat and barley to foliar disease. *Ann. Appl. Biol.* 154(2): 154-173.

- Bloemberg, G V. and Lugtenberg, B. J. 2001. Molecular basis of plant growth promotion and biocontrol by rhizobacteria. *Science*. 4: 343-350.
- Buchenauer, H. 1998. Biological control of soil-borne diseases by rhizobacteria. *Journal of Plant Diseases and Protection*. 105:(4). 329-348.
- Campos, A. J. 1991. Enfermedades del frijol. Trillas. México. pp 154-167.
- Canavarro, B. A. M. y Paula, M, S. 2002. Sideróforos: Uma resposta dos microorganismos. *Quim. Nova*. 25: 1155-1164.
- Carling, D.E. and Sumner, D.R. 1992. *Rhizoctonia*. Methods for research on soilborne phytopathogenic fungi. The American Phytopathological Society. pp 157-165.
- Carling, D.E. and Leiner, R.H. 1990. Effect of temperature on virulence of *Rhizoctonia solani* and other *Rhizoctonia* on potato. *Phytopathology*. 80:930-934.
- Carreras, S. B. 2011. Applications of entomopathogenic bacteria *Bacillus thuringiensis* to control phytopathogens. *Ciencia y Tecnología Agorpecuaria*. 12(2): 129-133.
- Chakraborty, U., Chakraborty B. and Basnet, M. 2006. Plant growth promotion and induction of resistance in *Camellia sinensis* by *Bacillus megaterium*. *J. Basic Microbiol*. 46(3):186–195.
- Chávez, B J. R., Hernandez C F.D., Gallegos M G. y Rodriguez H R., 2011, Susceptibilidad al Pencycuron de grupos de anastomosis de *Rhizoctonia solani* Kühn colectados en ocho regiones paperas de México. *Revista Agraria-Nueva Epoca*. 8(3):18-24.
- Chen, L., Ai, P., Zhang, J., Deng, Q., Wang, S., Li, S., Zhu, J., Li, P and Zheng, A. 2016. RSIADB, a collective resource for genome and transcriptome analyses in *Rhizoctonia solani* AG1 IA. *Database J Biol*. 1-8.
- Chen, Y P., Rekha., P D., Arun, AB., Shen, F T., Lai, W. A. and Young, C.C. 2006. Phosphate solubilizing bacteria from subtropical soil and their tricalcium phosphate solubilizing abilities. *Applied Soil Ecology* 34: 33-41.
- De la Garza, J.L. 1996. Fitopatología General. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, Nuevo León. 515 p.
- Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA). 1980. Compendio de Enfermedades de la soja. Editorial Hemisferio Sur. Argentina. pp 17-19.

- Devine, Gregor J., Eza, Dominique, Oigusuku, Elena, y Furlong, Michael J. 2008. Uso de insecticidas: contexto y consecuencias ecológicas. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*. 25: 74-100.
- Emechebe, A.M. Shoyinka, S.A. 1999. Fungal and Bacterial disease of Cowpea in Africa. *Cowpea Research, Production and Utilization*. Sing, S.R. y Rachie, K.O. Edit. Ibadan, Nigeria. 1-10.
- EPPO Global Database. s/f, *Thanatephorus cucumeris* (RHIZSO). Fecha de consulta Noviembre 12 de 2018. Disponible en: <https://gd.eppo.int/taxon/RHIZSO>.
- Ezziyani, M A., Sid Ahmed, C., Pérez, S. M.E. y Requena, M.E. 2006. Control biológico por microorganismos antagonistas. *Tecnología de producción. Sanidad vegetal*. 8 p.
- Fernández, L. L. A. 2011. Identificación molecular de grupos anastomóticos de *Rhizoctonia solani* asociados a la costra negra y cancro del tallo en el cultivo de papa en sinaloa. Tesis de Maestría. IPN.Guasave, Sinaloa. 50 p.
- Figuroa-López, A. M., Cordero-Ramírez, J. D., Martínez-Álvarez, J. C., López-Meyer, M., Lizárraga-Sánchez, G. J., Félix-Gastélum, R., Castro-Martínez, C. and Maldonado-Mendoza, I. E. (2016). Rhizospheric bacteria of maize with potential for biocontrol of *Fusarium verticillioides*. *SpringerPlus*. 5:330-341.
- Fulchieri, M. and Frioni, L. 1994. *Azospirillum* inoculation on maize (*Zea mays*) effect of yield in field experiment in central Argentina. *Soil Biol. Biochem*. 26:(7),921-923.
- Garbeva, P., Veen, J.A. and Elsas, J.D. 2004. Assessment of the diversity, and antagonism towards *Rhizoctonia solani* AG3, of *Pseudomonas* species in soil from different agricultural regimes. *FEMS Microbiol Ecol* 47:51-64.
- González, H.D. 2002. Estado actual de la taxonomía de *Rhizoctonia solani* Kühn. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 20(2): 202-205.
- Gutierrez, P. y Torres, H. 1990. Control biológico de *Rhizoctonia solani* con *Rhizoctonia binucleada*. *Fitopatología* 25:45-50.
- Hernández, F.D., Carvajal, C.R., Guerrero, E., Sánchez, A., Gallegos, G. y Lira, R.H. 2005. Susceptibilidad a fungicidas de grupos de anastomosis del hongo *Rhizoctonia solani* Kühn colectados en zonas paperas de Chihuahua, México. *Rev. Int. Bot. Exp*. 74(1): 259-269.

- Howie, W.J., Cook, R.J. and Weller, D.M. 1987. Effects of soil matric potential and cell motility on wheat root colonization by fluorescent pseudomonads suppressive to take-all. *Phytopathology* 77:286-292.
- Hoyos, Carvajal L., Chaparro, P., Abramsky, M., Chet, I. y Orduz, S. 2008. Evaluación de aislamientos de *Trichoderma spp.* contra *Rhizoctonia solani* y *Sclerotium rolfsii* bajo condiciones in vitro y de invernadero. *Agronomía Colombiana*. 26(3):451-458.
- Huang, Y., Wu, Z., He, Y., Ye, B. C. y Li, C. 2017. Rhizospheric *Bacillus subtilis* Exhibits Biocontrol Effect against *Rhizoctonia solani* in Pepper (*Capsicum annuum*). *BioMed Research International*. 1-9.
- Infante, D. Martínez B., González, N., Reyes, Y. 2009, Mecanismos de acción de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos. *Revista, Protección Vegetal* 24(1). 14-21.
- INIFAP. 2010. Manejo integrado de plagas y enfermedades de frijol en Zacatecas. Folleto técnico No. 24. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Mexico D.F. 83 p.
- Jacas Miret, J. A. 2005. El control biológico de plagas y enfermedades. Universat Jaume I. 1ra Edición. 222 p.
- Jiménez, R., Virgen, G., Tabares S. y Olalde-Portugal, V. 2001. Bacterias promotoras del crecimiento de plantas: Agrobiotecnología. *Avance y Perspectiva*. 20:395-400.
- Juárez-Becerra, G.P., Sosa-Morales, M.E. y López-Malo, A. 2010. Hongos fitopatógenos de alta importancia económica: descripción y métodos de control. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*. 4(2):14-23.
- Kloepper, J.W. 1993. Plant growth promoting rhizobacteria as biological control agents. *Soil Microbial Ecology: Applications in Agricultural and Environmental Management*. Marcel Dekker. New York. 274.
- Lara, M C., Villalba A, M. y Oviedo Z. L. E. 2007. Bacterias fijadoras asimbióticas de nitrógeno de la zona agrícola de San Carlos. Córdoba, Colombia. *Revista Colombiana de Biotecnología*. 9 (2):6-14.
- Liu L., Kloepper J.W. and Tuzun, S. 1995. Induction of systemic resistance in cucumber against bacterial angular leaf spot by plant growth-promoting rhizobacteria. *Phytopathology*. 85 (8):843-847.
- Loredo O, C., López R, L. y Espinosa Victoria, D., 2004. Bacterias promotoras del crecimiento vegetal asociadas con gramíneas: Una revisión. *Terra Latinoamericana*. 22:225-239.

- Lucana, N.M.R. y Huanca, E.R. 2014. Estructura Bacterina. Revista de Actualización Clínica Investiga. 49:2589-2593.
- Lugtenberg, B. 2014. Principles of Plant-Microbe Interactions. Microbes for Sustainable Agriculture. Springer International Publishing. Berlin, 448 p.
- Macias, V.L.M., Reyes, M.L. y Robles, E.F.J. 2006. Guía para cultivar papa en Aguacalientes. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). Folleto técnico No.3. 15 p.
- Martin. C. and Torres,H. 1989. Control of *Rhizoctonia* and other soil-borne diseases of TPS. Pp: 191-205. In Fungal Diseases of the Potato. Report of Planning Conference on Fungal Diseases. CIP Lima, Perú. September 21-25.
- Martinez Ortega, A. 2016. Comporatmiento antagónico de *Bacillus megaterium* (de Bary,1884) Contra Hongos in vitro. Tesis de Licenciatura. UAAAN. Torreón Coahuila. 39 p.
- Matiru, V.N. and Dakora D F. 2004, Potential use of rhizobial bacteria as promoters of plant growth for increased yield in landraces of African cereal crops. African Journal of Biotechnology.3 (1):1-7.
- Maurhofer M., Reimmann.C., Sacherer S. P., Heebes S., Haas D. and Defago G. 1998. Salicylic acid biosynthetic genes expressed in *Pseudomonas fluorescens* strain P3 improve the induction of systemic resistance in tobacco against necrosis virus. Phytopathology. 88(7):678-684.
- McDonald, B.A. and Linde, C. 2002. Pathogen population genetics, evolutionary potential, and durable resistance. Annual Review of Phytopathol. 40:349-379.
- Méndez-Úbeda, J., Flores, H. M. y Páramo-Aguilera, L. 2017. Aislamiento e identificación de *Bacillus subtilis* y evaluación del antagonismo in vitro frente hongos fitopatógenos. Nexo Revista Científica, 30(2):96-110.
- Mendoza, C, I, A., Sánchez, de P, M. y Sieverding,E.1987.Efecto de algunos fungicidas sobre la interaccion *Rhizoctonia solani* Kuhn- Micorriza vesiculo arbuscular en soya, *Glycine max* Merril.Acta Agron. 37(3):18-33
- Mendoza, Z. C. 1996. Enfermedades fungosas de hortalizas.Universidad Autónoma Chapingo Chapingo, Edo. de México. 85 p.
- Moreno, V A. 2017. Usuario profesional de productos fitosanitarios. Mundi Prensa. Madrid España. 370 p.

- Omar, I., O'Neill, T. M., and Rossall, S. 2005. Biological control of *Fusarium* crown root rot of tomato with antagonistic bacteria and integrated control when combined with the fungicide cabendazim. *Plant Pathol.* 55:92-99.
- Ogoshi, A. 1987. Ecology and pathogenicity of anastomosis and intraspecific groups of *Rhizoctonia solani* Kuhn. *Annual Review of Phytopathol.* 25:125-143.
- Padgham J.L. and Sikora R.A. 2007. Biological control potential and modes of action of *Bacillus megaterium* against *Meloidogyne graminicola* on rice. *Crop Protection* 26:971-977.
- Pascual, C. B. and Hyakumachi M. 2000. Distribution of vegetatively compatible populations of *Rhizoctonia solani* AGI-IA in a field planted with different host species. *J. Gen. Plant Pathol.* 66:206-209.
- Pérez, M.L., Durán, O.L.J., Ramírez, M.R., Sánchez, P J. R. y Olalde Portugal, V. 2004, Sensibilidad in vitro de aislados del hongo *Phytophthora capsici* a fungicidas. *Memorias Primera Convención Mundial del Chile.* León Guanajuato, México. Resumen. 144-150.
- Pérez, Moreno, L., Durán Ortiz, L.J., Ramírez Malagón, R., Sánchez Pale, J.R. y Olalde Portugal, V. 2003. Compatibilidad fisiológica y sensibilidad a fungicidas de aislamientos de *phytophthora capsici* Leo. *Revista Mexicana de Fitopatología.* 21:19-25.
- Parmeter, JR., Sherwood. RT. and Platt, WD. 1969. Anastomosis grouping among isolates of *Thanatephorus cucumeris*, *Phytopathology* 59(9):1270-1278.
- Persello-Cartieaux F, Nussaume L and Robaglia C. 2003. Tales from the underground: Molecular plant-rhizobacteria interactions. *Plant, Cell and Environment.* 26:189-99.
- Pineda-Insuasti, J. A., Benavides S, E. N., Duarte-Trujillo, A. S., Burgos-Rada, C. A., Soto-Aroyave, C. P., Pineda-Soto, C A., Fierro-Ramos, F J., Mora-Muñoz, E S. y Álvarez-Ramos, S E. 2017. Producción de biopreparados de *Trichoderma spp*: una revisión. *ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar.*51 (1). 47-52.
- Prado, G., Correa, F., Aricapa, M. y Escobar, F. 2001. Caracterización preliminar de la resistencia de germoplasma de arroz al añublo de la vaina (*Rhizoctonia solani* Kühn). *Foro Arrocero Latinoamericano.* 7(1): 8-11.
- Romero, C S. 1988. Hongos fitopatógenos. *Universidad Autónoma Chapingo.* Chapingo, Estado de México. 309–317.

- Romero, C.R., 2007, Microbiología y Parasitología Humana. Editorial Medica Panamerica. 3a Edición. México, D.F.999 p.
- Ruiz-Sánchez, E., Mejía-Bautista, M.Á., Serrato-Díaz, A., Reyes-Ramírez, A., Estrada-Girón, Y. and Valencia-Botín, A.J. 2016. Antifungal activity and molecular identification of native strains of *Bacillus subtilis*. *Agrociencia*. 50:133-148.
- Ryu, C. M., Farag M. A., Hu C. H., Reddy M. S., Kloepper J. W. and Pare P W. 2004, Bacterial volatiles induce systemic resistance in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*. 134:1017–1026.
- Sánchez, L. D, Gómez V, R., Garrido, R. M. y Bonilla, B. R. 2012. Inoculación con bacterias promotoras de crecimiento vegetal en tomate bajo condiciones de invernadero. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 3(7):1401-1415.
- Sneh, B., Burpee. L y Ogoshi, A. 1991. Identification of *Rhizoctonia Species*. APS Press. St. Paul, Minnesota.133 p.
- Sneh, B., Jabaji. H. S. Neate. S. and Dijst. G. 1996. *Rhizoctonia Species: Taxonomy, Molecular Biology, Ecology, Pathology and Disease Control*. Springer-Science Bussines Media. Netherlands. 578 p.
- Tejeda, G., Rodriguez J., García R, Martínez V R., Dibut B, Castellanos JJ., Gutiérrez L., Plana L., Rios Y., Simanca M., E, Ortega M., Lamela C., Martínez A., Izquierdo L., Croche G. y Fey L. 2006. Efectividad del biobac, obtenido a partir de *Bacillus subtilis* (c epa INIfAt-101) como biocontrolador de enfermedades y estimulador del crecimiento vegetal. *Fitosanidad*. 10(2):141-142.
- Torres, H., 2002. Rizoctoniasis; Manual de las enfermedades más importantes de la papa en el Perú. Centro internacional de la papa (CIP).19-22.
- Walker, J.C., 1952. Disease of Vegetable Crops. McGraw-Hill. New York. 529 p.
- Weinhold, A.R., Bowman, T. and Dodman, R.L. 1969. Virulence of *Rhizotonia solani* as affected by nutrition of pathogen. *Phytopathology*. 59:1601-1605.
- Zavaleta Mejía, E. 1999. Alternativas de manejo de las enfermedades de las plantas. *Terra Latinoamericana*.17(3): 201-207.