

**Evaluación de *Bacillus subtilis* (Cohn) para el control de *Rhizoctonia solani* (Kuhn) en papa (*Solanum tuberosum* L) en Jalisco-México.**

**Evaluation of *Bacillus subtilis* (Cohn) to control *Rhizoctonia solani* (Kuhn) potato (*Solanum tuberosum* L) in Jalisco-Mexico.**

**Autores:** <sup>1</sup> Dr.C. Sergio Valdivia-Navarro, <sup>1</sup> Dr.C. Pedro Posos-Ponce, <sup>2</sup> MSc. Benito Monroy-Reyes, <sup>2</sup> Dr.C. Enrique Pimienta-Barrios, <sup>2</sup> Dr.C. Yordan Lores-Pérez.

**Organismo:** <sup>1</sup> Secretaría de Ganadería Agricultura y Pesca. SAGARPA. Distrito-CADER, Ocotlan, Delegación Jalisco, México.

<sup>2</sup> Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Universidad de Guadalajara, Camino Ing. Ramón Padilla Sánchez, 2100, Predio Las Agujas, Zapopan, Jalisco, México.

<sup>3</sup> Facultad Agroforestal (FAF). Universidad de Guantánamo (UG). Guantánamo, Cuba.

**E-mail:** <sup>2</sup> pposos@udg.edu.cucba.mx

**Resumen.**

La investigación se realiza con el objetivo de evaluar la efectividad biológica del fungicida Double Nickel® (*Bacillus subtilis* var. *Amyloliquefaciens* cepa D747) para el control de *Rhizoctonia Solani* (Kuhn) en el cultivo de papa. Se ha montado un diseño experimental de bloques al azar con 9 tratamientos y 4 réplicas, en áreas de Juanacatlan, Jalisco-México. El fungicida biológico Double Nickel fue aplicado en varias dosis y evaluada la efectividad y su combinación frente a los fungicidas sintéticos Emesto®; Serenade soil®; Pulsor® y PCNB®. Las variables evaluadas son incidencia, severidad de la enfermedad y la fitotoxicidad. Los datos fueron procesados con el Software Agricultural Research Management. Los mejores tratamientos para el control de *Rhizoctonia solani* han sido Double Nickel® 1,5 kg.ha<sup>-1</sup>; 2.0 kg.ha<sup>-1</sup>; 2.5 kg.ha<sup>-1</sup> y la combinación de Double Nickel® + Emesto® (2.0 kg.ha<sup>-1</sup>+ 0.7 L.ha<sup>-1</sup>), respectivamente, todos iguales o superiores al testigo regional y sin síntomas de fitotoxicidad.

**Palabras clave:** Double Nickel, *Bacillus subtilis*, *Rhizoctonia Solani*.

**Abstract.**

The investigation is carried out in order to evaluate the biological effectiveness of fungicide Double Nickel® (*Bacillus subtilis* var. *Amyloliquefaciens* strain D747) to control *Rhizoctonia solani* (Kuhn) in potato cultivation. An experimental randomized block design with 9 treatments and 4 replicates, in areas Juanacatlan, Jalisco-Mexico was applied. The Double Nickel biological fungicide was used at various doses, and its effectiveness and combination were assessed in relation to the synthetic fungicides Emesto®; Serenade soil®; Pulsor® and PCNB®. Incidence, severity of the disease and phytotoxicity were the evaluated variable. The data were processed with the Agricultural Research Management Software. The best treatments for controlling *Rhizoctonia solani* were Double Nickel® 1.5 kg.ha<sup>-1</sup>; 2.0 kg.ha<sup>-1</sup>; 2.5 kg.ha<sup>-1</sup> and the combination of Double Nickel® + Emesto® (2.0 kg.ha<sup>-1</sup> + 0.7 L.ha<sup>-1</sup>), respectively, that is, equal or higher than the regional witness without phytotoxicity symptoms.

**Key words:** Double Nickel, *Bacillus subtilis*, *Rhizoctonia Solani*.

## **Introducción.**

El cultivo de la papa (*Solanum tuberosum* L.) constituye una valiosa fuente de alimentación en un gran número de países (Estévez et al., 2001). Una de las enfermedades fungosas que más daño causa a este cultivo es la rizoctoniasis (*Rhizoctonia solani* teleomorfo: *Tanetephorus cucumeris*), (Castellanos et al., 2005). Este patógeno está presente en numerosas áreas productivas y afecta todas las fases del cultivo desde la emergencia hasta la cosecha. Las plantas infectadas tienden a producir tubérculos deformes, lo que reduce el rendimiento comercial (Acuña y Vargas, 2004).

En el cultivo de la papa, el hongo causa la enfermedad comúnmente llamada cáncer del tallo y costra negra de los tubérculos. Algunos autores consideran más apropiado identificarla como rizoctoniasis porque los síntomas de cáncer del tallo y costra negra son afecciones ocurridas en tejidos específicos y excluyen las producidas en las raíces y estolones, órganos que también son afectados generalmente por este hongo. La rizoctoniasis en papa se encuentra en todas las zonas productoras del mundo, pero es más frecuente y severa en los sitios con clima fríos y suelos húmedos (Cedeño et al., 2001; Escalona et al., 2011).

Se ha comprobado que los plaguicidas químicos, y en particular los fungicidas, pueden tener impactos negativos en la biodiversidad de los agroecosistemas, así como en la salud pública. Por esta razón los científicos trabajan en el desarrollo de alternativas de control ecológicas (Zavaleta, 2000). Una de las más actuales es el uso de microorganismos entre otros (Dixon, 2001; Vaillant et al., 2009). El área sembrada con papa a nivel nacional es de aproximadamente 70 mil hectáreas, de las cuales se cultivan la mitad en condiciones de temporal, los principales estados productores de papa son: México, Puebla, Sinaloa, Coahuila, Veracruz, Guanajuato, Michoacán, Jalisco por mencionar algunos.

Por lo que el objetivo de este trabajo es evaluar la efectividad biológica del fungicida Double Nickel (*Bacillus subtilis* var. *Amyloliquefaciens* cepa D747) para el control de la “Costra Negra” *Rhizoctonia Solani* (Kuhn) en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.).

## **Materiales y métodos.**

El trabajo se ha realizado en las áreas dedicadas al cultivo de la papa (*Solanum tuberosum* L.), de la localidad de Juanacatlan en el estado de Jalisco, México, en el período de la campaña de invierno comprendido desde el 10 hasta el 30 de junio de 2015, con temperaturas medias de 24,65°C y una humedad relativa de 72,3%.

La variedad de papa “Fiana” fue empleada. La aplicación de los diferentes tratamientos fue realizada de la siguiente forma: fueron colocados tres litros de agua al recipiente y simulada la aplicación en una unidad experimental; por la diferencia del resto en el recipiente fue obtenido un gasto de 1450 ml de agua por 24 metros cuadrados de la unidad experimental. Esta acción fue repetida dos veces más con la obtención en la segunda calibrada de un gasto de 1500.0 ml por 24 metros cuadrados, y en la tercera 1400.0 ml por 24 metros cuadrados de la unidad experimental, para un total de 4.350 litros por las tres unidades experimentales. Luego fueron promediados los 4.350 litros entre 3 para considerar la media de las tres calibradas con un resultado de 1.450 L/24 metros cuadrados por unidad experimental. Posteriormente ese gasto fue extrapolado al gasto de agua por hectárea de la

siguiente forma: 1.450 litros divididos entre 24 metros cuadrados de la unidad experimental para 0.06041666 litros por metro cuadrado, valor lo multiplicado a su vez por 10,000 metros cuadrados por hectárea para obtener finalmente 604.1666 litros por hectárea.

El experimento se ha llevado a cabo bajo el diseño de bloques al azar con 9 tratamientos y 4 repeticiones. La unidad experimental fue constituida por 4 surcos con una separación de 1.0 metros de ancho por 8.0 metros de largo para lograr 32 metros cuadrados por unidad experimental, 128 metros cuadrados por tratamiento y un total de 1152 metros cuadrados para el ensayo.

### Tratamientos.

**Tabla1.** Tratamientos evaluados para el control de Costra negra en el cultivo de papa.

No	TRATAMIENTOS	kg./Lt. M.C./Ha.
1	Doublé Nickel®	1,5
2	Doublé Nickel®	2,0
3	Doublé Nickel®	2,5
4	Doublé Nickel® + Pulsor®	1,0+ 1,0
5	Emesto® + Serenade Soil®	0,700+ 4,0
6	Doublé Nickel + Emesto	2,0+ 0,70
7	Emesto®	0,70
8	PCNB®	15,0
9	Testigo sin Aplicar	

\*M.C. = Material Comercial o Producto Comercial

### VARIABLES EVALUADAS.

**Incidencia de la enfermedad:** 10 plantas de la parcela útil fueron inspeccionadas y sacadas de los dos surcos centrales para determinar la severidad; fueron colocadas en una bolsa de papel de estraza y llevadas al laboratorio para lavar el sistema radicular y así determinar el porcentaje de ellas con síntomas de la enfermedad en el mismo.

$IE = (\text{Número de plantas enfermas} / \text{total de plantas inspeccionadas}) \times 100$

IE = incidencia de la enfermedad.

**Severidad de la enfermedad:** El método de evaluación consiste en muestrear en 10 plantas tomadas al azar por unidad experimental el daño al sistema radicular. Aquí las plantas se colocan en una bolsa de papel de estraza, se trasladan al laboratorio en donde se lava el sistema radicular y posteriormente se evalúa el nivel de daño a este en una escala del 1 al 100%, de acuerdo a la escala de Townsend y Heuberger, para comprobar el grado de infección de la enfermedad presente en las plantas.

**Fitotoxicidad:** En caso de presentarse efectos fitotóxicos al cultivo, estos son evaluados mediante el empleo de la escala de la EWRS.

**Análisis estadístico.**

A partir de los datos obtenidos se realiza un análisis de varianza, se utiliza el modelo matemático correspondiente a un diseño de bloques al azar, mientras que para la determinación de las diferencias entre los tratamientos se utiliza el Test de de Separación de Medias de Tukey al 5% de significancia, así como también las pruebas de Bartlett de Homogeneidad de Varianzas con el Software de computación ARM, (AGRICULTURAL RESEARCH MANAGEMENT).

**Resultados y discusión.**

En la tabla 2, que corresponde a la Incidencia de la enfermedad en tallos y brotes a los 60 días después de sembradas las papas, se observa que no hay diferencias significativas entre el testigo sin aplicar y los tratamientos, sin embargo si se observan pequeñas diferencias numéricas lo que indica la actividad de los fungicidas sobre el patógeno a controlar.

**Tabla 2.** Por ciento (%) de incidencia de costra negra (*Rhizoctonia solani*) y Pruebas de medias de Tukey al 5% de significancia, en el cultivo de papa.

TRATAMIENTO	DOSIS Lt o Kg/ HA.	% incidencia los 60 DDS
Doublé Nickel®	1,5 kg	55,00 b
Doublé Nickel®	2,0 kg	67,50 ab
Doublé Nickel®	2,5 kg	65,0 ab
Doublé Nickel® + Pulsor®	1,0 kg+ 1,0 l	72,50 ab
Emesto® + Serenade Soil®	0,700 l+ 4,0 kg	72,50 ab
Doublé Nickel + Emesto	2,0 kg+ 0,70 l	52,50 b
Emesto®	0,70 l	72,50 ab
PCNB®	15,0 l	80,0 ab
Testigo sin Aplicar	----	100,0 a

En este ensayo se observa que la mayor incidencia fue la del tratamiento 9, Testigo sin aplicar con un 100% de incidencia, seguido del Tratamiento 8 PCNB (80%), luego los tratamientos 4, 5 y 7 (72%) de incidencia respectivamente; el tratamiento número 2 (67%); el tratamiento 1 (55%) y finalmente el que menor incidencia de la enfermedad ha presentado el tratamiento 6 (52.50%). Se debe destacar que la presión de la enfermedad ha sido alta lo que ha puesto a prueba las sustancias evaluadas.

Estos resultados se observan claramente en la figura 1 donde se especifica el porcentaje de incidencia de la enfermedad Costa Negra en los tallos de papa.

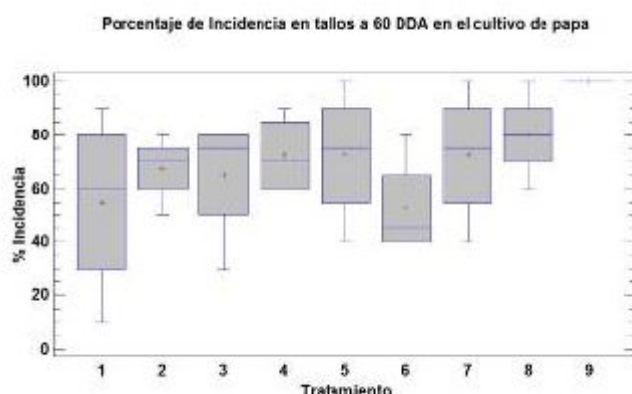


Figura 1. Porcentaje de incidencia de la enfermedad Costra Negra en tallos de papa.

En la tabla 3 se observa que después de la aplicación la eficacia de los tratamientos es clara con respecto al testigo sin aplicar; así mismo se observa que sí hay diferencias significativas entre los tratamientos y el testigo sin aplicar.

Tabla 3. Porcentaje (%) de Severidad y (%) control de Costra Negra (*Rhizoctonia solani*) y Pruebas de medias de Tukey al 5% de significancia, en el cultivo de papa (Tallos), en Juanacatlan, Jalisco.

TRATAMIENTO	DOSIS Lt o Kg/ HA.	% Severidad y Control los 60 DDS
Doublé Nickel®	1,5 kg	16,50/72,50 b
Doublé Nickel®	2,0 kg	17,50/70,83 b
Doublé Nickel®	2,5 kg	14,50/75,83 b
Doublé Nickel® + Pulsor®	1,0 kg+ 1,0 l	17,50/70,83 b
Emesto® + Serenade Soil®	0,700 l+ 4,0 kg	20,00/66,67 b
Doublé Nickel + Emesto	2,0 kg+ 0,70 l	11,00/81,67 b
Emesto®	0,70 l	18,50/69,17 b
PCNB®	15,0 l	22,00/63,33 b
Testigo sin Aplicar	----	60,00/0,0 a

Nota: \*Severidad de la enfermedad \*\* Por ciento de eficacia

A los 60 días después de brotadas las papas el comportamiento de los tratamientos ha sido el siguiente: Tratamiento 1 (Doublé Nickel 1.5 kg.ha<sup>-1</sup>) con un 72% de control; tratamiento 2 (Doublé Nickel® 2.0 l.ha<sup>-1</sup>) con un 70%; tratamiento 3 (Doublé Nickel® 2.5 l.ha<sup>-1</sup>) con 75 %; la mezcla del tratamiento 4 (Doublé Nickel® 1.0 kg ha<sup>-1</sup> + Pulsor® 1.0 kg.ha<sup>-1</sup>) con 70%; tratamiento 5 (Emesto® 0.7 l.ha<sup>-1</sup> + Serenade soil® 4.0 kg.ha<sup>-1</sup>) con 66%, seguido del tratamiento 6, el de mejor control (Doublé Nickel® 2.0 kg.ha<sup>-1</sup> + Emesto® 0.70 l.ha<sup>-1</sup>) con 82%; tratamiento 7 (Emesto® 0.7l l.ha<sup>-1</sup>) con 69%; finalmente el tratamiento Regional 8 (PCNB 15.0 l.ha<sup>-1</sup>) con un control de 63%.

Es válido señalar que en el testigo sin aplicar se ha comprobado una alta severidad de hasta un 60% de la enfermedad en tallos (figura 2).

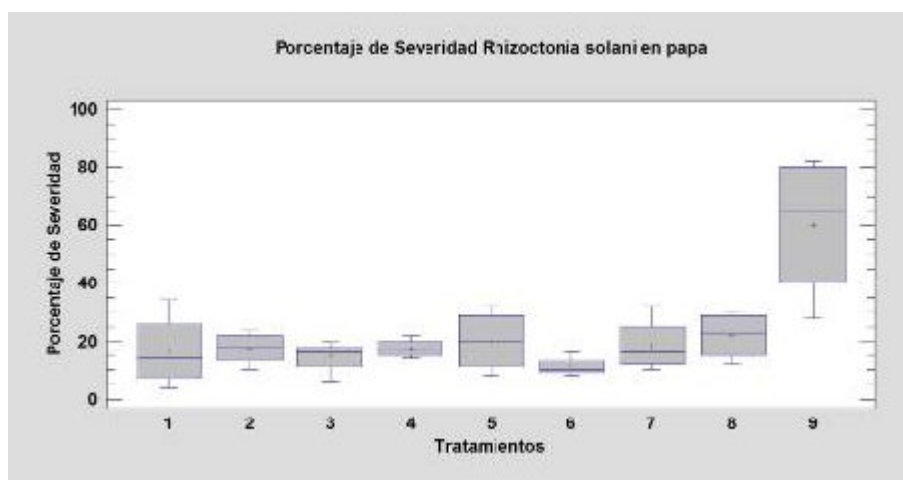


Figura 2. Porcentaje de severidad de la enfermedad Costra Negra en tallos de papa.

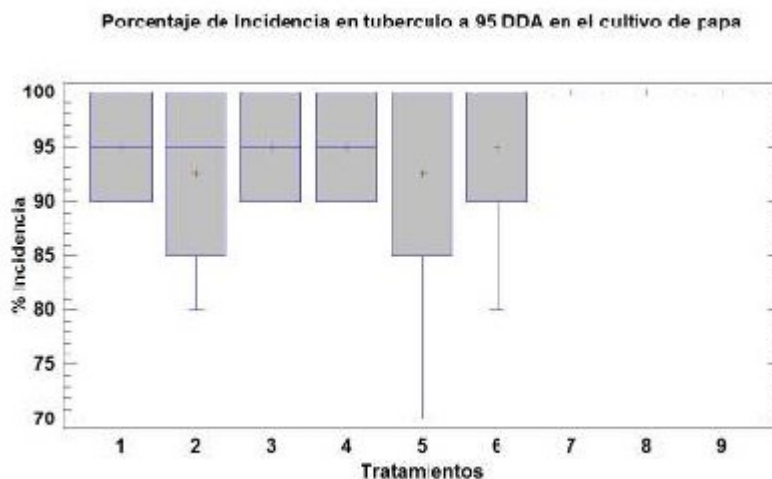
La tabla 4 corresponde a la Incidencia de la enfermedad en tubérculos, y a los 95 días después de sembradas las papas se observa que no hay diferencias significativas entre el testigo sin aplicar y los tratamientos; no obstante sí se observan pequeñas diferencias numéricas lo que indica la actividad de los fungicidas sobre el patógeno a controlar. Se observa que la mayor incidencia es la de los Tratamientos 9: Testigo sin aplicar, 8: PCNB® y 7: Emesto®, todos con un 100% de incidencia. Luego se ubican los tratamientos 6, 4, 1 y 3 con un 95% de incidencia respectivamente y finalmente los tratamientos 2 y 5 con un 92.5%.

**Tabla 4.** Por ciento % de incidencia de costra negra (*Rhizoctonia solani*) y Pruebas de media de Tukey al 5% de significancia, en el cultivo de papa (Tubérculos), en Juanacatlan, Jalisco.

TRATAMIENTO	DOSIS Lt o Kg/ HA.	%incidencia los 95 DDS
Doublé Nickel®	1,5 kg	95,0 a
Doublé Nickel®	2,0 kg	92,5 a
Doublé Nickel®	2,5 kg	95,0 a
Doublé Nickel® + Pulsor®	1,0 kg+ 1,0 l	95,0 a
Emesto® + Serenade Soil®	0,700 l+ 4,0 kg	92,50 a
Doublé Nickel® + Emesto®	2,0 kg+ 0,70 l	95,00 a
Emesto®	0,70 l	100,0 a
PCNB®	15,0 l	100,0 a
Testigo sin Aplicar	----	100,0 a

Hay que hacer notar que la presión de la enfermedad fue alta lo que puso a prueba las sustancias evaluadas.

El comportamiento y el control de la enfermedad se observa más claramente en la figura 3 que muestra las variaciones en cuanto al control y presencia de la enfermedad durante el desarrollo del cultivo, donde se observa que la mayor incidencia ha sido en el Testigo sin aplicar.



**Figura 3.** Porcentaje de incidencia de la enfermedad Costra Negra en tubérculos de papa.

La tabla 5 muestra que después de la aplicación la eficacia de los tratamientos es clara con respecto al testigo sin aplicar; así mismo se observa que sí hay diferencias significativas entre los tratamientos y el testigo sin aplicar.

A los 95 días después de brotadas las papas el comportamiento de los tratamientos ha sido el siguiente: El tratamiento 1 (Doblé Nickel 1.5 kg.ha<sup>-1</sup>) con 67% de control; el tratamiento 2 (Double Nickel® 2.0 l.ha<sup>-1</sup>) con 62%; el tratamiento 3 (Double Nickel® 2.5 l.ha<sup>-1</sup>) con 68 %; la mezcla del tratamiento 4 (Double Nickel® (1.0 kg.ha<sup>-1</sup> + Pulsor® 1.0 l.ha<sup>-1</sup>) con 73%; el tratamiento 5 (Emesto® 0.7 l.ha<sup>-1</sup> + Serenade soil® 4.0 kg.ha<sup>-1</sup>) con 69%; el tratamiento que mejor control manifiesta: 6 (Double Nickel® 2.0 kg.ha<sup>-1</sup> + Emesto® 0.70 l.ha<sup>-1</sup>) con 70%; luego el tratamiento 7 (Emesto® 0.7 l.ha<sup>-1</sup>) con 69%, y por último el tratamiento Regional, el número 8 (PCNB® 15.0 l.ha<sup>-1</sup>) con 51%. Como nota importante se señala que en el testigo sin aplicar la severidad ha sido alta con valor de hasta un 90.50%.

**Tabla 5.** Porcentaje de severidad y eficacia biológica de costra negra (*Rhizoctonia solani*) y pruebas de media de Tukey al 5% de significancia, en el cultivo de papa (Tubérculos), en Juanacatlan, Jalisco.

TRATAMIENTO	DOSIS Lt o Kg/ HA.	% Severidad y Control los 60 DDS
Doblé Nickel®	1,5 kg	29,50/67,40 bc
Doblé Nickel®	2,0 kg	34,50/61,88 bc
Doblé Nickel®	2,5 kg	29,00/67,96 c
Doblé Nickel® + Pulsor®	1,0 kg+ 1,0 l	24,00/73,48 c
Emesto® + Serenade Soil®	0,700 l+ 4,0 kg	28,00/69,06 c
Doblé Nickel® + Emesto®	2,0 kg+ 0,70 l	27,00/70,17 c
Emesto®	0,70 l	28,00/69,06 c
PCNB®	15,0 l	44,00/51,38 b
Testigo sin Aplicar	----	90,50/0,0 a

Nota: \*Severidad de la enfermedad \*\* Por ciento de eficacia

El comportamiento en cuanto al control de la enfermedad se observa más claramente en la gráfica 4 de Cuadros y Bigotes en la cual existe una mayor consistencia de los tratamientos a base de Double Nickel.

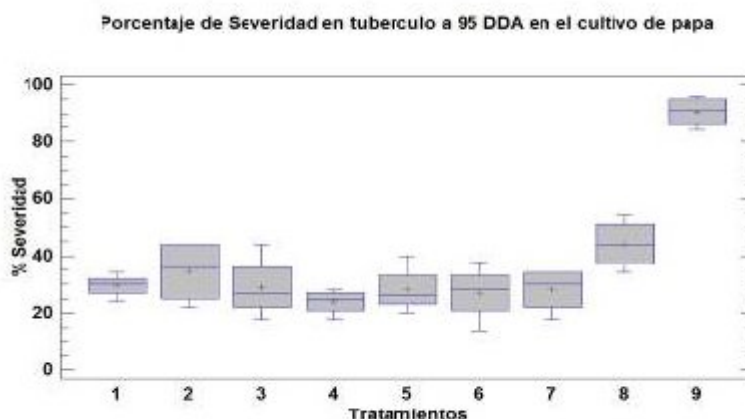


Figura 4. Porcentaje de severidad de la enfermedad Costra Negra en tubérculos de papa.

Se recomienda realizar aplicaciones de Double Nickel® sólo en el rango de dosis de 1.5 a 2.5 l.ha<sup>-1</sup> en el cultivo de la papa al momento de la siembra. Además exhorta realizar mezcla de Double Nickel® + Emesto® en dosis de 2.0 kg.ha<sup>-1</sup>+ 0.7 l.ha<sup>-1</sup>, así como también la mezcla de Double Nickel® 1.0 l.ha<sup>-1</sup> + Pulsor® 1.0 l.ha<sup>-1</sup>.

El uso de Double Nickel® (*Bacillus subtilis*) para el control de hongos del suelo representa una alternativa viable por lo que se aconseja su uso en el cultivo de papa y en mezcla con otros fungicidas. Hay que señalar que en ninguno de los muestreos se han observado síntomas de fitotoxicidad.

### Conclusiones.

Los mejores tratamientos para controlar costra negra (*Rhizoctonia solani*) tanto en la evaluación en tallos como en tubérculos han sido: Tratamiento 1. Double Nickel® 1.5 kg.ha<sup>-1</sup>; el 2. Double Nickel® 2.0 kg.ha<sup>-1</sup>; el 3. Double Nickel® 2.5 l.ha<sup>-1</sup> y el 6. Double Nickel® + Emesto® (2.0 kg.ha<sup>-1</sup> + 0,7 l.ha<sup>-1</sup>) con un control superior al 70% en las diferentes evaluaciones y comportamiento similar o superior al testigo regional a Base de PCNB® 15.0 l.ha<sup>-1</sup> y Emesto® 0,70 l.ha<sup>-1</sup>, tal y como se observa en las pruebas de medias.

En este caso no fueron observados síntomas de fitotoxicidad en el cultivo después de la aplicación de los tratamientos.

### Referencias Bibliográficas.

- Acuña, I., & Vargas M. (2004). Rhizoctoniasis de la papa, Boletín Informativo. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, La Habana, (46). pp. 1-4
- Agricultural Research Management (ARM). Software. 2000. U.S.A. by Gylling Data Management inc.
- Castellanos, L., Rivero, T., Pomas, A. & Pajón, J. (2005). Modelación matemática de Alternaria solani Sor en papa en función del tiempo. La Habana, *Fitosanidad* 9 (1). pp. 28-33.
- Cedeño, L., Carrero, C., Quintero, K., Araujo, Y., Pino, H. & García. R. (2001). Identificación y virulencia de grupos de anastomosis de *Rhizoctonia solani* Kühn asociados con papa en Mérida, Venezuela. *Interciencia*. (26). pp.296-300.
- Dixon, R. (2001). Natural Products and Plant Disease Resistance. EE.UU, *Nature* (411). pp. 843-847.
- Escalona, Y., Rodríguez, D. & Hernández, A. (2011). *Rhizoctonia solani* Kühn aislado de papa (*Solanum tuberosum* L.): En los estados Táchira, Mérida, Trujillo y Lara. I. Caracterización cultural. *Bioagro*, 23(3). pp. 161-168.
- Estévez, A., González, M. E., Hernández, M. M., Castillo, J., Moré, O. & Cordero, M. (2001). Estrategia para el desarrollo del mejoramiento de la papa, *Granma Ciencia*, Cuba. (5). pp. 21-30.



Fedepapa. (1997). Vademécum del Cultivo de la Papa, Primera Edición, Bogotá, Colombia. p.180.

Mendoza, Z .C. (1985). Principios de fitopatología y enfermedades causadas por Hongos. Departamento de Parasitología. Universidad Autónoma de Chapingo. México.

Vaillant Flores, D., Romeu Carballo, C., Ramos Ramos, E., González García, M., Ramírez Ochoa, R. & González Pentón, J. (2009). Efecto inhibitorio in vitro de cinco monoterpenos de aceites esenciales sobre un aislado de *Rhizoctonia solani* en papa (*Solanum tuberosum* L.). *Fitosanidad*, 13(3). pp. 197-200.

Zavaleta, E. (2000). Alternativas del manejo de las enfermedades de las plantas, *Terra*, México. (17). pp. 202-217.