

Selección evaluación de microorganismos nativos con potencial
antagonista de *Rhizoctonia solani* y *Phytophthora*
infestans promotores del crecimiento de tuberculillos
de papa *Solanum tuberosum* L. in vitro

*Selection of native microorganisms with potential antagonist Rhizoctonia
solani and Phytophthora infestans promoters of minituber growth of
papas Solanum tuberosum L. in vitro*

ABAD FLORES PAUCARIMA; ROSA M. EGÚSQUIZA CH.; ALEJANDRO PATIÑO G., TITO L. SÁNCHEZ R., MARIO
ALCARRAZ C; JESSI CLAUDIO F.; CARLA TRIGOSO H., ANA EVANGELIO G.¹

¹ Laboratorio de Microbiología Ambiental y Biotecnología. Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú.

Resumen

La producción agrícola mundial de papas y tuberosas andinas se ha visto seriamente afectada por el ataque de plagas y enfermedades, estimándose las pérdidas alrededor del 20 al 25 por ciento. Por esta razón los agricultores utilizan fungicidas sintéticos que pueden originar resistencia a los plaguicidas, además de generar contaminación ambiental y toxicidad; esta problemática obliga a la búsqueda de otros métodos alternativos efectivos y no perjudiciales para combatir dichos patógenos. En lo que concierne a la papa, el hongo *Phytophthora infestans* responsable de la rancha o tizón tardío (Mont. De Bary) ocasiona pérdidas anuales estimadas en cerca de tres mil millones de dólares en los países desarrollados, además de ser la mayor responsable de cuantiosos gastos anuales por aplicación de fungicidas en el cultivo. El objetivo de la presente investigación fue diseñar un proceso biotecnológico de producción de biofertilizantes bacterianos a partir de la selección de cepas bacterianas, en el cual se lograron aislar y hacer reconocimiento de 4 cepas de *Azotobacter sp.*, 2 cepas de *Azospirillum sp.*, 7 cepas de *Bacillus sp.*, 5 de *Pseudomonas fluorescens* y 2 de *Bulkhoderia sp.*; éstos con actividad solubilizadora de fósforo, fijación de nitrógeno y antagonista de hongos patógenos; donde las cepas *Bacillus sp.*; *Ps. fluorescens-35*; *Ps. fluorescens-40*; *Ps. fluorescens-45*; *Ps. fluorescens-55* y *Bulkhoderia cepacia-72*, presentaron una mayor actividad contra *Rhizoctonia solani* y una mediana actividad antagónica sobre *Phytophthora infestans*, patógenos de tuberculillo de papa aislados del suelo y raíces de estos cultivos andinos.

Palabras clave: Papa, *Rhizoctonia solani*, *Phytophthora infestans*, antagonismo.

Abstract

World agricultural production of potatoes and Andean tubers has been seriously affected by pests and diseases, estimated losses of around 20 to 25 percent. For this reason farmers use synthetic fungicides that can cause resistance to pesticides and generate environmental pollution and toxicity; this problem forced to finding other effective and not harmful alternative methods to combat these pathogens. With respect to potatoes, the fungus *Phytophthora infestans* is responsible for rancho or late blight (Mont. De Bary) brings estimated at about three billion dollars in annual losses in developed countries, as well as being most responsible for substantial annual expenses by applying fungicides in farming. The objective of the present investigation was to design a biotechnological production process of bacterial biofertilizers from the selection of bacterial strains, in which they managed to isolate and recognition of 4 strains of *Azotobacter sp.*, 2 strains of *Azospirillum sp.*, 7 strains of *Bacillus sp.*, 5 of *Pseudomonas fluorescens* and 2 of *Bulkhoderia sp.*; these with phosphorus solubilizing activity, nitrogen fixation and antagonist pathogenic fungi; where strains *Bacillus sp.*; *Ps. fluorescens-35*; *Ps. fluorescens-40*; *Ps. fluorescens-45*; *Ps. fluorescens-55* and *Bulkhoderia cepacia-72*, showed a higher activity against *Rhizoctonia solani* and medium antagonist activity in *Phytophthora infestans*, potato tuberculillo pathogens isolated from ground and roots of these Andean crops.

Keywords: Pope, *Rhizoctonia solani*, *Phytophthora infestans*, antagonism.

Introducción

El tizón tardío de la papa, causado por *Phytophthora infestans* (Mont de Bary), es una de las enfermedades más devastadoras de la papa a nivel mundial (Pérez y Forbes, 2008). En el país se le conoce como rancha y se le considera la enfermedad más importante, debido a que se presenta en todas las áreas paperas y por las pérdidas que causa. Las condiciones climáticas de la sierra favorecen su desarrollo al presentar temperaturas moderadas entre 12 a 18 °C, alta humedad en las mañanas y periodos de sol (Jongebloed et al., 1993, Ezzyani, 2004).

Dentro de los síntomas se considera: en las hojas, la aparición de manchas de color marrón claro a oscuro, no limitadas por las nervaduras, de apariencia húmeda, de forma irregular, algunas veces rodeadas por un halo amarillento. Estos síntomas se presentan inicialmente en los bordes y puntas de las hojas. En los tallos y pecíolo la presencia de lesiones necróticas, alargadas de 5 a 10 cm de longitud, de color marrón a negro, generalmente ubicadas desde el tercio medio a la parte superior de la planta. Presentan también consistencia vítrea y cuando la enfermedad alcanza todo el diámetro del tallo, este se quiebra fácilmente.

Los tubérculos afectados presentan áreas irregulares, ligeramente hundidas. La piel toma una coloración marrón rojiza (Figs. 1 y 2). Al corte transversal se pueden observar unas prolongaciones delgadas que van desde la superficie externa hacia la médula a manera de clavijas (Jindal et al. 1988; Cao & Forrer, 2001).



Fig. 1. Lesiones irregulares de color marrón rojiza sobre la superficie de los tubérculos.



Fig. 2. Estrías necróticas que van desde la superficie del tubérculo hacia el interior.

El biocontrol de algunas enfermedades de plantas por hongos fitopatógenos del suelo por bacterias ha sido intensamente investigado. La investigación y uso de *Pseudomonas fluorescens*, *Burkholderia cepacia*, *Bacillus subtilis* y *Azotobacter sp* ha recibido una especial atención debido principalmente a que la producción de biomasa de microorganismos antagonistas es más ventajoso que el de los hongos, en cuanto a su propagación a escala comercial y presenta una elevada efectividad en campo. (Blakeman y Fokkema 1982; Fravel 1988; Foldes et al. 2000; Han-S et al. 2003).

Las plantas de interés comercial como la papa (*Solanum tuberosum L*) pueden ser infectadas y dañadas por más de una especie de hongo fitopatógeno. Los hongos producen una depreciación del producto, que en muchos casos se tiene que desechar y no se puede comercializar. Los hongos que producen mayores pérdidas en los cultivos de tuberosas andinas son *Rhizoctonia solani* y *Phytophthora infestans* asociadas a la Rancho o Tizón tardío. En el control biológico de estos hongos, se han utilizado *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens*, *Ps. Putida* y *Burkholderia cepacia* con unos resultados alentadores. El uso de bacterias para el control biológico de especies de *Phytophthora sp.* ha tenido resultados poco exitosos debido a la capacidad del patógeno para producir diferentes formas de inóculo (zoosporas, esporangios, oosporas y micelio), alta capacidad para penetrar e infectar al hospedante en pocas horas, su tendencia a sobrevivir en el suelo

a profundidades que le permiten escapar a la mayoría de los antagonistas, y en algunas especies, su amplio ámbito de hospedantes (Jongebloed 1993).

El control de hongos fitopatógenos como *Phytophthora infestans* en el cultivo de Solanaceas se basa en el uso de fungicidas, principalmente porque la mayoría de los cultivares utilizados son altamente susceptibles a este patógeno. Con el propósito de combatir la enfermedad los agricultores realizan varias aspersiones de fungicidas por semana. Generalmente, durante la época lluviosa se realizan 2-3 aplicaciones, tanto de fungicidas protectores como sistémicos (Cao y Forrer 2001). En los últimos años, se ha reducido el uso de fungicidas sistémicos como metalaxil, debido a que los productores han observado una disminución de su efectividad. Este producto ha sido sustituido por otros ingredientes activos como propamocarb, oxadixil, fentin hidróxido, los cuales se usan en combinación con otros protectores como mancozeb.

Los ensayos de laboratorio y en campo de inoculación de cultivares con *Azospirillum brasilense* y *Ps. fluorescens* han permitido mejorar significativamente los rendimientos de cultivos andinos de maíz y papa. En 1970 se descubrió que estas bacterias pueden fijar asimbióticamente el nitrógeno atmosférico (Dobbelaere et al. 2003).

La concentración de nutrientes en la solución del suelo es tan baja que aquellas especies capaces de absorber más nutrientes por unidad de raíz resultan más eficientes. Esta ventaja tiene mayor importancia en nutrientes de baja solubilidad como el fósforo, en la actualidad se está evaluando la efectividad de la inoculación de semillas con bacterias solubilizadoras de fosfatos como *Bacillus subtilis*, *B. megatherium*, *Pseudomonas fluorescens* y *Bulkhoderia cepacia* que exudan ciertos ácidos orgánicos que promueven incrementos en las concentraciones de fósforo en las inmediaciones de las raíces.

Material y métodos

Aislamiento y selección de microorganismos con potencial antagonista. Se colectaron 75 muestras de 100 g de rizósfera, rizoplano y suelos de cultivares de papa de las regiones Cuzco, Puno, Apurímac, Junín, Ancash, Piura, Lambayeque y Lima. Se siguió la metodología propuesta por Kim

(2003) y Flores y col. (2009). Se efectuaron diluciones seriadas y tratamiento térmico a 70 °C por 10 minutos. El aislamiento se efectuó en Agar MYPG; Caldo Acetamida, Agar King B y Agar Cetrimide. Para la identificación se utilizaron los protocolos propuestos por Kim et al. 2003; Asaka 2003 y el Manual de Bacteriología determinativa de Bergey 2001. Para el aislamiento y caracterización de *Azotobacter* sp se siguió la técnica de gránulos de suelos rizosféricos sobre Caldo y Agar Ashby (Robles Carrión et al. 2011). Para *Azospirillum* sp se enriquecieron las muestras en Caldo NFb y se aislaron en Agar selectivo NF de Dobreiner et al, 1976. Para el aislamiento y caracterización de microorganismos solubilizadores de fosfato inorgánico se utilizó el medio SRS con fosfato tricálcico y púrpura de bromocresol como indicador, siguiendo el protocolo de Pramer-Schmidt 1954. La identificación de los microorganismos seleccionados se efectuó de acuerdo al manual de Bacteriología determinativa de Bergey, 1989.

Aislamiento de *Pseudomonas* sp. Se tomaron muestras de plantas de papa afectadas por tizón tardío en cultivos del INIA. Tres muestras de plantas que se encontraban en mejores condiciones de crecimiento en el campo y una de plantas que se cultivaba bajo invernadero. Las plantas fueron colocadas en frascos que contenían buffer fosfato esterilizado, sometiéndolas a agitación a 150 rpm; durante 15 minutos. Posteriormente se realizaron diluciones y con las concentraciones 10⁻⁴ y 10⁻⁵ se procedió a sembrar en Caldo Acetamida durante tres días incubándose a 30 °C; luego los tubos con crecimiento positivo en superficie se aislaron en placas Petri con agar Cetrimide, agar King B y agar nutritivo, incubándose durante 24 horas a 30 °C. Se purificó cada cepa que tuvo crecimiento característico y con estas se realizarán las pruebas de caracterización (Medio de King, hidrólisis de almidón, TSI, KOH, catalasa, oxidasa, hidrólisis de gelatina, producción de ácidos en azúcares, coloración Gram y pruebas morfológicas).

Aislamiento e incremento del material biológico. La cepa de *R. solani* fue aislada de tallos necróticos de plantas de papa provenientes de lotes comerciales de este cultivo; la especie aislada fue identificada de acuerdo a las claves de identificación micológica. El material aislado se purificó

posteriormente por punta de hifa de acuerdo a la técnica reportada por Papavizas y Lewis (1997). La cepa de *R. solani* se incrementó en placas Petri conteniendo medio de cultivo papa-dextrosa-agar (PDA), depositando un explante de 5 mm de diámetro en el centro de las mismas. Las placas Petri fueron incubadas durante cuatro días a 24 ± 28 °C. La cepa de *Phytophthora infestans* proviene de muestras de tierra de cultivos de papa de Junín, las cuales presentaban rasgos de la enfermedad; y aislada en placas de agar avena modificado, en el cual se colocó un trozo infectado del tubérculo y se incubó en cámara húmeda durante cinco días a temperatura de 28 °C. Las cepas de *Bacillus sp.*, identificados como B3, B9 y B15, se obtuvieron de la rizosfera del suelo de plantas de papa obtenidas en zonas productoras de papa.

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

Preparación de inóculos de infección y bacterias antagonistas para enfrentamiento. Los inóculos de *P. infestans* y *R. solani* se prepararon en granos de trigo, depositándose 700 ml de grano en un matraz al cual se le agregó agua hasta aforarlo a 1000 ml y se dejó remojar por 24 h. Posteriormente, se extrajeron los granos de trigo y se colocaron en placas Petri de vidrio, agre-

gándoles 10 ml de caldo nutritivo. Las placas fueron colocadas seguidamente en una autoclave durante una hora a 110 °C, y una presión de 15 lb, dejándose reposar posteriormente por 24 horas. Finalmente, los granos de trigo se inocularon con *R. solani*, depositando dos explantes de 5 mm de diámetro en dichas placas. Estas últimas se incubaron a una temperatura de 24 °C por 20 días para permitir la colonización de las bacterias (Lagunas et al. 2001).

Las diferentes cepas de bacterias del género *Bacillus* se sembraron en agar nutritivo (AN) y se incubaron a 35 °C por cuatro días. Al término de este tiempo, se tomó una suspensión de las bacterias con la ayuda de un hisopo estéril el cual se pasó en las placas Petri que contenían las colonias bacterianas. Posteriormente, se depositaron en un tubo de ensayo con 50 ml de agua destilada estéril y se ajustó para obtener una concentración bacteriana de 1×10^6 ufc/ml. Para la prueba de antagonismo se prepararon también cepas de *P. fluorescens*, las cuales se sembraron en agar nutritivo (AN) y se incubaron a 30 °C por dos días; procediendo de la misma manera que el anterior género. Los enfrentamientos de antagonismo se evaluaron durante siete días.

Ensayo in vitro de cepas antagonistas. Para examinar el potencial antagónico de las cepas estándares y nativas de *B. subtilis*; *fluorescens* y *B. cepacia* se realizó un ensayo in vitro mediante confrontaciones de las bacterias frente a *Phytophthora infestans* y *Rhizoctonia solani*. Se siguió el método de crecimiento dual de bacteria antagonista y hongo fitopatógeno en placas Petri con Agar avena modificado. La comprobación de la acción antagónica se verificó a los cuatro días de cultivo en incubadora controlada con inducción de humedad (con un recipiente de agua estéril adentro) a 20, 25, 28, y 30 °C, evaluando la inhibición del crecimiento del micelio fúngico obtenido por acción de las bacterias. Esta evaluación de la efectividad de las cepas sobre los hongos se efectuó por triplicado y una cepa control con puntura central sin exposición a los agentes controladores.

Resultados

Se lograron aislar 28 cepas bacterianas, de las cuales se reconocieron 3 cepas como *Bacillus subtilis* en base a sus características macroscópica de

colonia, comportamiento cultural y bioquímica aplicando el sistema API 20 C. (B.s-10,B.s-15.B.s-18 ; 6 de *Bacillus sp*, 3 de *Bacillus mycoides*, 5 de *Pseudomonas fluorescens*, 5 de *Pseudomonas aeruginosa* y 2 de *Bulkhoderia sp*, Tambien se aislaron 4 cepas de *Azotobacter sp.* y 2 cepas de *Azospirillum sp.*

También se hizo el aislamiento y reconocimiento de las cepas fitopatógenas de *Rhizoctonia solani* y *Phytophthora infestans*, las cuales fueron utilizadas en los bioensayos de antagonismo.

Las cepas de *Bacillus subtilis* mostraron una actividad antagónica reflejada en una inhibición de 14 -17 mm para *R. solani* y de 12-14 mm para *Ph. Infestans*.

Las cepas de *Pseudomonas aeruginosa*, *P. fluorescens* y *Bulkhoderia sp.* fueron reconocidas por su morfología microscópica, características culturales de colonia Oxidasa positivos y pruebas bioquímicas diferenciales empleando el sistema API 20 NF para organismos no fermentadores.

Las cepas de *Bacillus subtilis* mostraron una actividad antagónica reflejada en una inhibición de 14 -16 mm para *R. solani* y de 14-19 mm para *P. Infestans*.



Fig.3. Comportamiento bioquímico de bacilos Gram – No fermentadores en Sistema API NF.

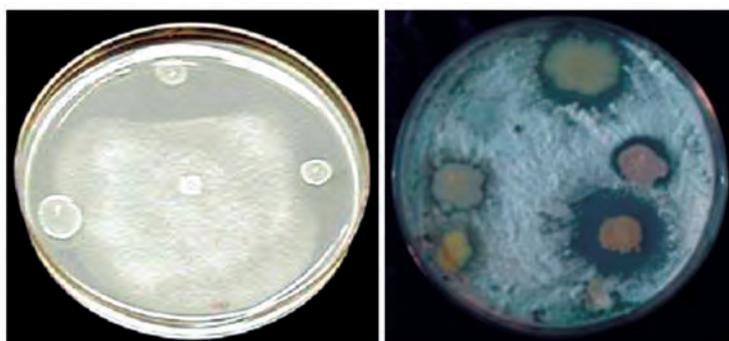


Fig.4. Halos de inhibición in vitro contra *Phytophthora infestans* por microorganismos antagonistas.

Tabla 1.- Características morfológicas y bioquímicas de las bacterias antagonistas aisladas de suelos agrícolas de agroecosistemas peruanos.

	<i>B. subtilis</i> -10	<i>B. subtilis</i> - 15	<i>B. subtilis</i> -18
Características Morfológicas	Bacilos cortos	Bacilos	Bacilos
	Extremos romos	Extremos romos	Ext. romos
Coloración Gram	Positivo	Positivo	Positivo
Endospora	Elipsoidal	Elipsoidal	Elipsoidal
Motilidad	Presente	Presente	Presente
Tº Crecimiento	5-50 °C	5-50 °C	5-50 °C
Tº optima crecimiento	25- 35°C	25- 35°C	25- 35°C
Requerimiento Oxígeno	Aerobio	Aerobio	Aerobio
Catalasa	Positivo	Positivo	Positivo
Vogues-Proskauer	- +	- +	- +
Hidrólisis Almidón	++	++	++
Hidrólisis Caseína	++	++	++
Hidrólisis Gelatina	++	++	++
Reducción Nitrato	++	++	++
Tolerancia a NaCl	10 % (p/v)	10 % (p/v)	10 % (p/v)
Acidez de Glucosa	++	++	++
Utilización carbohidratos			
Arabinosa	++	++	++
Xilosa	--	--	--
Manitol	++	++	++

TABLA 2
ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE CEPAS NATIVAS DE (*Bacillus sp.*)
FRENTE A HONGOS FOTOPATÓGENOS

CEPA BACTERIANA	Fitopatogeno	Efecto de inhibición del crecimiento mm.	
<i>Bacillus subtilis</i> BS.10	<i>Rhizoctonia solani</i>	14	17
	<i>Phytophthora infestans</i>	12	14
<i>Bacillus subtilis</i> BS.15	<i>Rhizoctonia solani</i>	11	12
	<i>Phytophthora infestans</i>	12	13
<i>Bacillus subtilis</i> BS.18	<i>Rhizoctonia solani</i>	14	17
	<i>Phytophthora infestans</i>	11	14

TABLA 3
ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE CEPAS NATIVAS DE *PSEUDOMONAS FLUORESCENS*
Y *BULKHODERIA CEPACIA* FRENTE A HONGOS FITOPATÓGENOS DE TUBERCULILLOS DE PAPA

CEPA BACTERIANA	Fitopatógeno	Efecto de inhibición del crecimiento mm.	
<i>Pseudomonas fluorescens</i> Ps. f-35	<i>Rhizoctonia solani</i>	14	16
	<i>Phytophthora infestans</i>	12	15
<i>Pseudomonas fluorescens</i> Ps. F.40	<i>Rhizoctonia solani</i>	15	16
	<i>Phytophthora infestans</i>	14	15
<i>Pseudomonas fluorescens</i> Ps. f-45	<i>Rhizoctonia solani</i>	14	16
	<i>Phytophthora infestans</i>	13	15
<i>Pseudomonas fluorescens</i> Ps. F.55	<i>Rhizoctonia solani</i>	14	16
	<i>Phytophthora infestans</i>	14	17
<i>Bulkhoderia cepacia</i> B.c .72	<i>Rhizoctonia solani</i>	16	17
	<i>Phytophthora infestans</i>	16	19

Discusión

Se ha reportado el uso de *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus* sp, *Bulkhoderia cepacia* y *Streptomyces* como gentes de biocontrol, los cuales han sido seleccionados in vitro a partir de diversos ecosistemas. Las cepas de *B. subtilis* y *Pseudomonas fluorescens* son efectivos in vitro contra hongos fitopatógenos (Asaka y Shoda 1996; Kim et al. 2003; Lee et al. 2003; Venegas et al. 2005). Las evidencias sugieren que el principal mecanismo de esta acción implica la producción de antibióticos (Fravel 1988). Otros producen compuestos orgánicos volátiles con efecto antagonista sobre *Rhizoctonia solani*; *Botrytis cinera* y otros fitopatógenos edáficos. Han sido reconocidos como productores de antibióticos; Sideroforos y antagonistas de hongos fitopatógenos (Dowling y O' Gara 1994).

Jongebloed et al. (1993) seleccionaron dos bacterias antagonistas de *P. infestans*, *Pseudomonas fluorescens* (cepa C148) y *Bacillus* sp. (cepa B39), las cuales mostraron un efecto altamente antagonista contra el patógeno en plantas que crecieron en cámaras con clima controlado. Sin embargo, cuando los aisla-

mientos se probaron en el campo, no se apreció reducción.

Se han examinado una diversidad de productos biológicos como Riyoplan (*Pseudomonas putida*) and Bectofit (*Bacillus subtilis*) han sido usados en cultivos susceptibles de papa CV. Lorkh en condiciones de laboratorio en Rusia. Ambas preparaciones suprimen el desarrollo de zoosporas de *Phytophthora* sp in vitro. Ensayos de inoculación con cepas de *Azospirillum brasilense* y *Pseudomonas fluorescens* aumentan significativamente los rendimientos de cultivos andinos de maíz y papa. En 1970 se descubrió que estas bacterias pueden también fijar el nitrógeno del aire sin asociarse simbióticamente a las plantas como sucede en las leguminosas con las bacterias del género *Rhizobium* (Dobbelaere et al. 2003).

Esta ventaja tiene mayor importancia en nutrientes poco móviles y de baja solubilidad, como el fósforo. En la actualidad se está evaluando la efectividad de la inoculación de semillas con bacterias que poseen reconocida capacidad de solubilizar compuestos fosforados como *Bacillus subtilis*, *B. megatherium*, *Pseudomonas fluorescens* y *Bulkoderia cepa-*

cia las cuales exuda ciertos ácidos orgánicos que promueven incrementos en las concentraciones de fósforo en las inmediaciones de las raíces; haciendo una acción efectiva de control sobre estos microorganismos patógenos a nivel de campo.

Algunas bacterias, como *B. subtilis*, han demostrado la capacidad de inhibir la germinación y el crecimiento de las hifas de varios patógenos foliares en tomate, algunas bacterias del género *Pseudomonas* (como la *P. fluorescens* y *P. aeruginosa*) tienen propiedades de excretar metabolitos con acción antibiótica, compuestos volátiles como el cianuro de hidrógeno y sideróforos que le permiten ejercer una competencia activa con el patógeno, estas son las características más importantes por las que las bacterias y los hongos son considerados como controladores de enfermedades en plantas (Pérez, 2004). También se encontró que las cepas recomendables para el control de *R. solani* fueron *Trichoderma viride*, *Bulkhoderia cepacia*, para *Stemphylium solani* fue Quitosana y *Bacillus subtilis*, para *Passalora fulvum* fue Quitosana y *Pseudomonas fluorescens* y para el control de *Xanthomona vesicatoria* fue Quitosana y *Trichoderma viride*, en los cuatro momentos evaluados. Para el control de las principales enfermedades foliares del tomate mejores tratamientos fueron con *Burkholderia cepacia*, *Trichoderma viride* y Quitosana.

Conclusiones y recomendaciones

Los suelos agrícolas examinados albergan cepas microbianas antagónicas de mucha efectividad como las bacterias *Bacillus sp*; *Ps. fluorescens-35*; *Ps. fluorescens-40*; *Ps. fluorescens-45*; *Ps. fluorescens -55* y *Bulkhoderia cepacia-72*; que son agentes promisorios en el control de *Rhizoctonia solani* y otros fitopatógenos de cultivos de agroexportación y presentan mediana actividad antagónica sobre *Phytophthora infestans* patógenos de tuberculillo de la papa. La posibilidad de contar con un banco de germoplasma de bacterias, con propiedades antagónicas frente a los hongos fitopatógenos *Rhizoctonia solani* y *Phytophthora infestans* que afectan a tuberculillos de papa y promotoras de su crecimiento, nos per-

mitirá diseñar tecnologías propias de producción de biofertilizantes y bioantagonistas adecuados, adaptados a nuestros ecosistemas naturales.

Se recomienda seguir efectuando muestreos de rizosfera y rizoplano de cultivares de papa de diferentes latitudes para seleccionar un cepario de bacterias antagonistas mejor adaptadas a las condiciones climáticas del suelo peruano. Igualmente, se recomienda efectuar bioensayos de infectividad y antagonismos de bacterias aisladas en almácigos a nivel de invernadero.

Referencias bibliográficas

- Asaka, O. and Shoda M. 1996. Biocontrol of *Rhizoctonia solani* damping-off of tomato with *Bacillus subtilis* RB14. Appl. Environ. Microbiol. 62, 4081-4085.
- Blakeman, JP; Fokkema, NJ. 1982. Potential for biological control of plant diseases on the phylloplane. Annual Review of Phytopathology 20:167-192.
- Berger, F.; H. Li, R. Frazer, C. Leifert 1996. Effect of pathogen inoculum, antagonist density and plant species on biological control of *Phytophthora* and *Pythium* damping off by *B. subtilis* in glass house Phytopathology 86: 428-433
- Cao, K.; Forrer, H.R. 2001, Current status and prosperity on biological control of Potatoes late blight (*Ph. Infestans*) Univ. J. Agric. 1-10
- Dowling, D.N. and F. O Gara. 1994. Metabolites of *Pseudomonas* involved in the biocontrol of plant disease. Trends Biotechnol 12, 133-141.
- Dobbelaere S., Vanderleyden J. Okon Y. 2003. Plant Growth-Promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. Crit. Rev. Pl. Sci. 22(2): 107-149
- Ezzyani, M.; Pérez Sanchez C; Requena ME; Ahmed Sid A, Candel M.E 2004 Evaluación del biocontrol de *Ph. Capsici* en pimiento (*Capsicum annum*,L por tratamiento con *Bulkhoderia cepacia* Anales de Biología 26: 61-68

- Ezzyani, M. 2004: Biocontrol de *Phytophthora capsici* en pimiento /*Capsicum annum*, L mediante una combinación de microorganismos antagonistas Murcia: Tesis Doctoral Univ.
- Fravel, D.R. 1988. Role of antibiosis in the biocontrol of diseases. *Ann. Rev. Phytopathol.* 26, 75
- Foldes, T.; Banhegy, I.; Herpai, Z.; Varga, L., Szigeti, J. 2000 Isolation of *Bacillus* strains from the rhizosphere of cereals and in vitro screening for antagonism against phytopathogenic food borne pathogenic and spoilage microorganisms *J. Apply Microb.* 89: 840-846
- Kim H.S.; Park, J.; Choi, K.H.; Lee G.P.; Ban S.J.; Lee C.H.; Kim C.s (2003):: Isolation and characterization of *Bacillus* strains for biological control *J. Microbiol.* 41: 196-201
- Lewis. J.A.; Papavizas, G.C. 1991. Biocontrol of plant diseases: the approach for tomorrow. *Crop Protection* 10: 95-105.
- Jindal, KK; Singh, H; Madhu, M; Meeta, M. 1988. Biological control of *Phytophthora infestans* on potato. *Indian Journal of Plant Pathology* 6(1):59-62.
- Jongebloed, P.H.J.; Kessel, G.J.T.; Van der plas, C.H.; Molhoek, W.M.L.; Fokkeman, N.J. 1993. Biological control of *Phytophthora infestans* with selected bacterial antagonists. In *Proceedings ICPP 6 Montreal* (Abstract).
- Han-Soo Kim, H.; Park J, Won Choi, S., Choi, K.H; Lee, G.P; Ban, S.J; Hoo Lee, O.C.H; Sun Kim, C.S 2003 : Isolation and Characterization of *Bacillus* Strains for Biological Control *The Journal of Microbiology* Vol 41 (3):196-201
- Okon Y. y Labandera-González CA. 1994. Agronomic applications of *Azospirillum*: an evaluation of 20 years worldwide field inoculation. *Soil Biol. Biochem.* 26: 1591-1601
- Rosales AM, Thomashow RJC & Mew TW. 1995. Isolation and identification of antifungal metabolites produced by rice-associated antagonistic *Pseudomonas*. *Phytopathology* 85: 1028-1032.
- Rigato, S., González, A.; Huarte, M. 2001. Producción de Plántulas de Papa a Partir de Técnicas tradicionales
- Robles Carrión A.; Díaz Santos A.; Lidcay Herrera Isla L.; Cupull Santana R. 2011 Utilización de antagonistas como una alternativa ecológica en el control de enfermedades foliares en tomate *Centro Agrícola*, 38(3): 37-43; julio-sept.
- Rodgers, P.B. 1989. Potential of biological control as a source of antifungal compounds for agrochemical and pharmaceutical product development. *Pesticides Science* 27:155-164.
- Sanchez Garita V.; Bustamante, E.; Shattock, R. 1998. Selección de antagonistas para el control biológico de *Phytophthora infestans* en tomate. *Manejo Integrado de Plagas* (Costa Rica) no.48:25-34.
- Trujillo, I., Díaz A., Hernández A.; Heydrich. M, 2007..: Antagonismo de cepas de *Pseudomonas fluorescens* y *Burkholderia cepacia* contra hongos fitopatógenos del arroz y el maíz. *La Habana, Cuba. Protección Vegetal.* 22(1): 41-46 pp
- Wilson. J.B.; Gallegly, M.E. 1955. The interrelationship of potato and tomato races of *Phytophthora infestans*. *Phytopathology* 45:473-476.