Comunicación corta

AISLAMIENTO Y PROSPECCIÓN DE CEPAS BACTERIANAS DEL GÉNERO *BACILLUS* PARA EL CONTROL DEL HONGO *PHYTOPHTHORA NICOTIANAE* EN EL CULTIVO DEL TABACO

Carlos Ros Araluce, Raquel Arévalo Arévalo y Yudisneidis Rodríguez

Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal. Carretera Central vía Holguín no. 371, Bayamo, Granma, Cuba, cros@udg.co.cu

El tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) se encuentra entre los cultivos de mayor importancia económica para la provincia de Granma, y es objeto de una atención fitosanitaria priorizada. La pata prieta (*Phytophthora nicotianae*) es la enfermedad que más afecta al cultivo, tanto en la fase del semillero como en la plantación. Para su control se emplea un sistema de manejo donde se incluyen diferentes medidas como las prácticas culturales, aplicación de *Trichoderma harzianum* cepa A53 y de productos químicos, que han contribuido a la disminución de las áreas afectadas [Tabacuba, 2003].

Las potencialidades del género *Bacillus* para el control de enfermedades de plantas están señaladas por varios autores [Kim *et al*., 1997], y se considera a estos microorganismos como colonizadores eficaces, dada su diversidad genética tanto en el suelo como en la rizosfera.

El objetivo de este trabajo fue la búsqueda de cepas bacterianas del género *Bacillus* para el control de *Phytophthora nicotianae* en el cultivo del tabaco, en la provincia de Granma. Se realizaron aislamientos a partir de muestras de suelos destinados al cultivo del tabaco en el barrio de Veguitas, municipio de Buey Arriba. Mediante la observación a los microscopios óptico y estereoscópico y la tinción de gram, se seleccionaron las colonias blancas, lisas y rugosas, convexas, grampositivas, productoras de esporas y con morfología bacilar, según Claus y Berkeley (1986).

Para evaluar la acción antagónica de las bacterias sobre el crecimiento del hongo se utilizó el medio de cultivo papa-dextrosa-agar (PDA), y además las cepas C1, C2, C3 y C4 del género *Bacillus* aisladas en la Universidad de Granma. Se cortaron discos de 5 mm de diámetro del hongo *P. nicotianae*, cepa Phy1 perteneciente al cepario del Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal de Granma, que se colocaron en el centro de las placas que contenían PDA. Las cepas bacterianas se sembraron por punción alrededor del hongo a 1 cm del borde, a razón de tres por placa. Se efectuaron tres repeticiones de cada una de las combinaciones bacteria-hongo. Las placas se incubaron a 30°C durante 10 días. Se seleccionaron las bacterias en cuyo alrededor no apareció crecimiento fúngico, en las que se formó un halo de inhibición.

Con las bacterias seleccionadas como antagonistas se realizó otro ensayo para determinar el porcentaje de inhibición micelial y la velocidad de crecimiento del hongo. En erlenmeyers de 500 mL con el medio papa-dextrosa-agar, aún sin solidificar, se inoculó una suspensión de 10^8 UFC/mL de cada una de las bacterias por separado. Los medios se vertieron en placas de Petri estériles. Una vez solidificado el medio, se colocó en el centro de cada placa un disco de 5 mm con el hongo. En el testigo no se inoculó ningún agente de control. Las placas se incubaron a 30°C y se observó su crecimiento durante 10 días. Cada 24 h se midió el crecimiento en diámetro del micelio con una regla graduada.

Con estos datos se calculó el porcentaje de inhibición micelial mediante la fórmula propuesta por Singh (2003), donde:

$$\textit{Inhibición micelial (\%)} \frac{dc - dt}{dt} 100$$

dc: Diámetro del micelio del control
dt: Diámetro del micelio del tratamiento

También se calculó la velocidad de crecimiento por día mediante la fórmula:

$$Vc\,(mm/día)\,\frac{dm\ final - dm\ inicial}{Tiempo\ transcurrido}$$

Para las variables crecimiento e inhibición se realizó un análisis de varianza de clasificación simple. Se consideró diferencias significativas para $p \leq 0{,}05$, y como prueba de comparación de medias se utilizó el test de rangos múltiples de Duncan. Para procesar los datos se empleó el paquete Statistic 2003.

Se obtuvo un total de 102 aislamientos pertenecientes al género *Bacillus*. De ellos, solamente los denominados V5, V3 y V12 mostraron actividad antagónica frente a *Phytophthora nicotianae* al igual que las cepas C1, C2, C3 y C4. Se observó al microscopio estereoscópico un crecimiento micelial diferente al testigo, con el micelio empobrecido, enroscado y de una coloración diferente, sin llegar a cubrir la placa completa. En todos los casos existió una zona clara entre el patógeno y la bacteria antagónica. La cepa C4 inhibió en el 90,4% el crecimiento micelial significativamente superior al resto. La cepa C3 inhibió el crecimiento en el 80%, mientras C1, C2, V3, V5 y V12 no sobrepasaron el 70%. Las placas testigos resultaron totalmente cubiertas del micelio del hongo fitopatógeno al cabo de 10 días de iniciado el experimento.

La velocidad más baja de crecimiento experimentada por el patógeno resultó cuando se enfrentó a la cepa C4 (0,51 mm/día) y se detuvo a las 72 h, con diferencia significativa respecto al resto de las cepas, frente a las cuales el hongo experimentó una velocidad de crecimiento superior a 1 mm/día y no se detuvo hasta los ocho o nueve días, según el caso, con excepción del testigo, que creció a razón de 10 mm/día hasta ocupar toda la placa.

A pesar de existir una presencia abundante de bacilaceas en los suelos muestreados, su antagonismo frente *a P. nicotianae* resultó bajo. Talavera (1998) planteó que de 25 aislamientos a partir de la rizosfera de cereales, solo uno produjo una zona de inhibición contra algunos de los microorganismos probados. Igualmente Sosa *et al*. (2006) encontraron que solo 17 de 323 aislados bacterianos de suelos manifestaron antagonismo frente a los patógenos fúngicos investigados.

Independientemente de que pocos aislamientos resultaron antagónicos a *P. nicotianae, el* porciento de inhibición se puede considerar alto por los valores alcanzados en las placas. La inhibición por encima del 90%, causada por el aislamiento C4, lo señala como promisorio para continuar el estudio en modelos con plántulas de tabaco. Igualmente se deben incluir los restantes aislamientos bacterianos para comprobar sus potencialidades *in vivo* para el control del patógeno *P. nicotianae*.

REFERENCIAS

Claus, D.; R. C. W. Berkeley: Genus Bacillus. Bergey's *Manual of Systematic Bacteriology*, 9th ed., vol. 2, Williams & Wilkins, 1986, pp. 1105-1139.

Kim, D. S.; R. J. Cook; D. M. Weller: «*Bacillus* sp. L324-92 for Biological Control of Three Root Disease of Wheat Grown with Reduced Tillage», *Phytopathology* 87:551-558, EE.UU., 1997.

Sing, G.; O. Prakosh; M. P. Lamparsona; C. A. N. Catalán: «Studies on Essential Oils. Chemical and Biocidal Investigations on *Tagetes erecta* Leaf Volatile Oil», *Flavour and Fragance Journal* 18:62-65, 2003.

Sosa, A.; V. Pazos; M. González: «Nuevos aislados de *Bacillus* spp. Antagonistas a *Sclerotium rolfssi*, *Rhizoctonia solani* y *Pythium aphanidermatum*», *Fitosanidad* 10(1):73-74, 2006.

Tabacuba: «Informe final de campaña», Actividad Sanidad Vegetal, Campaña Tabacalera 2002- 2003, División Comercializadora Oriente-Camagüey, 2003.

Talavera, M. E.; E. Bustamante; R. González; V. Sánchez: «Selección y evaluación en el laboratorio y campo de microorganismos glucanolíticos antagonistas a *Mycosphaerella fijiensis*», *Manejo Integrado de Plagas* 47:24-30, Costa Rica, 1998.