

NUEVOS MICROORGANISMOS ANTAGONICOS DE Rhizoctonia solani Kuehn
EN EL ALTIPLANO DE PASTO, DEPARTAMENTO DE NARIÑO

Por

JESUS ANTONIO VALDIVIESO IBROBO

Tesis de Grado presentada como requisito parcial
para optar al título de
INGENIERO AGRONOMO

Presidente de Tesis
BENJAMIN SANUDO SOTELO, I. A.

UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRICOLAS
PASTO - COLOMBIA
1976

T
HN
6324
V146m
82.1
80

UNIVERSIDAD DE NARIÑO
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIONES
PASTO - CO
No. 19643 Fi. 1
Valor \$1200 = Vol. _____
Fecha Jul 28-76 Don. X
C. Agustin Cargo _____
autor Cond. _____

A-00016-77

"Las ideas y conclusiones aportadas en la Tesis de Grado, son de responsabilidad exclusiva de su autor".

Artículo 10. del Acuerdo No. 324 de Octubre 11 de 1966, emanado del Honorable Consejo Directivo de la Universidad de Nariño.

A LOS ESFUERZOS DE MIS PADRES

A MI HERMANA Y FAMILIA

A MI ABUELA BENJAMIN CARROO SUYEO, I.A.

A CLARA INES EPISO CORAL QUINTERO, I.A., M. Sc.

A MIS FAMILIARES JOAQUIN GARCIA JAMES, I.A., M. Sc.

A MIS AMIGOS ARMANDO RAMOS CRONER, I.A.

La Facultad de Ciencias Agrícolas de
la Universidad de Maricao

DEDICO :

JESUS ANTONIO VALDIVIESO TOROBO
contribuyeron a la culminación del
presente trabajo.

CONTENIDO

	PÁG.
I. INTRODUCCION	1
II. REVISION DE LITERATURA	3
2.1 Características sobre <i>Trichoderma</i>	3
2.2 Antagonismo sobre <i>Phytophthora blanda</i>	5
2.3 Uso de antibióticos contra fitopatógenos	6
III. MATERIALES Y METODOS	8
IV. RESULTADOS Y DISCUSION	11
4.1 AGRADECIMIENTOS A :	11
4.1.1 <i>Trichoderma</i> 1	11
4.1.2 <i>Trichoderma</i> 2	11
4.1.3 <i>Trichoderma</i> 4	11
4.1.4 <i>Trichoderma</i> 3	11
4.1.5 <i>Trichoderma</i> 6	14
4.1.6 <i>Bacillus cereus</i>	14
4.1.7 <i>Bacillus subtilis</i>	14
4.2 Antagonismo en cajas Petri	14
4.3 Comprobación del sustrato	18
4.4 Efecto del tratamiento de semillas y las aplicaciones al suelo con los microorganismos antagonistas de <i>Phytophthora blanda</i>	30
Las personas que en una u otra forma contribuyeron a la culminación del presente trabajo.	
V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	43
5.1 Conclusiones	43
5.2 Recomendaciones	43
VI. RESUMEN	45
SUMMARY	46
VII. BIBLIOGRAFIA	47
OPORTUNIDAD	50

CONTENIDO

	Pág.
I. INTRODUCCION	1
II. REVISION DE LITERATURA	3
2.1 Generalides sobre antagonismo	3
2.2 Antagonismo sobre <u>Rhizoctonia solani</u> Kuenhn . .	5
2.3 Uso de antibióticos contra fitopatógenos . . .	6
III. MATERIALES Y METODOS	8
IV. RESULTADOS Y DISCUSION	11
4.1 Características morfológicas de los antagonicos	11
4.1.1 <u>Trichoderma</u> 1	11
4.1.2 <u>Trichoderma</u> 2	11
4.1.3 <u>Trichoderma</u> 4	11
4.1.4 <u>Trichoderma</u> 5	11
4.1.5 <u>Trichoderma</u> 6	14
4.1.6 <u>Bacillus cereus</u>	14
4.1.7 <u>Bacillus subtilis</u>	14
4.2 Antagonismo en cajas Petri	14
4.3 Comprobación del antagonismo a nivel del suelo	18
4.4 Efecto del tratamiento de semillas y las aplica- ciones al suelo con los microorganismos antagoni- cos de <u>Rhizoctonia solani</u> Kuenhn	30
V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	43
5.1 Conclusiones	43
5.2 Recomendaciones	43
VI. RESUMEN	45
SUMMARY	46
VII. BIBLIOGRAFIA	47
APENDICE	50

ILUSTRACIONES

	Pág.
FIGURA 1. Crecimiento en PDA de la cepa <u>Trichoderma</u> 1	12
FIGURA 2. Características del desarrollo en PDA de la cepa <u>Trichoderma</u> 2	13
FIGURA 3. Crecimiento en PDA de la cepa <u>Trichoderma</u> 4	15
FIGURA 4. observación del desarrollo en PDA de la cepa <u>Trichoderma</u> 5	16
FIGURA 5. Crecimiento característico en PDA de la cepa <u>Trichoderma</u> 6	17
FIGURA 6. Desarrollo en agar nutriente de una colonia de <u>Bacillus cereus</u>	19
FIGURA 7. Desarrollo en PDA de una colonia de <u>Bacillus subtilis</u>	20
FIGURA 8. Efecto antagónico de <u>Bacillus cereus</u> sobre <u>Rhizoctonia solani</u> Kuenhn	27
FIGURA 9. Antagonismo de la cepa <u>Trichoderma</u> 1 sobre <u>Rhizoctonia solani</u> Kuenhn	28
FIGURA 10. Efecto antagónico de la cepa <u>Trichoderma</u> 2 sobre <u>Rhizoctonia solani</u> Kuenhn	29
FIGURA 11. Determinación del marcado antagonismo de la cepa <u>Trichoderma</u> 4 sobre <u>Rhizoctonia solani</u> Kuenhn	38
FIGURA 12. Efectividad apreciable de la cepa <u>Trichoderma</u> 5 como antagónico de <u>Rhizoctonia solani</u> Kuenhn	39

FIGURA 13.	Efecto nulo de la cepa <u>Bacillus subtilis</u> sobre <u>Rhizoctonia solani</u> Kuehn	41
------------	---	----

TABLA I.	Porcentajes de plántulas vivas de rábano en dos	42
----------	---	----

FIGURA 14.	Efecto nulo de la cepa <u>Trichoderma 6</u> sobre <u>Rhizoctonia solani</u> Kuehn	42
------------	---	----

TABLA II.	Comparación de los porcentajes de plántulas vivas de rábano	21
-----------	---	----

TABLA II.	Comparación de los porcentajes de plántulas vivas de rábano obtenidas por el antagonismo de algunos microorganismos sobre <u>Rhizoctonia solani</u> Kuehn. Prueba de "c"	23
-----------	--	----

TABLA III.	Comparación para la primera siembra de los porcentajes de plántulas vivas de rábano, obtenidas por el antagonismo de algunos microorganismos sobre <u>Rhizoctonia solani</u> Kuehn. Prueba de "a"	25
------------	---	----

TABLA IV.	Comparación para la segunda siembra de los porcentajes de plántulas vivas de rábano, obtenidas por el antagonismo de algunos microorganismos sobre <u>Rhizoctonia solani</u> Kuehn. Prueba de "a"	26
-----------	---	----

TABLA V.	Porcentajes de plántulas vivas de rábano después del tratamiento a las semillas, adicionales al suelo y tratamiento de semillas e adicional al suelo de microorganismos antagonistas de <u>Rhizoctonia solani</u> Kuehn. Prueba de "b"	31
----------	--	----

TABLA VI.	Comparación de los porcentajes de plántulas vivas de rábano con tratamiento a las semillas, adicionales al suelo y tratamiento de semillas e adicional al suelo de microorganismos antagonistas de <u>Rhizoctonia solani</u> Kuehn. Prueba de "b"	32
-----------	---	----

TABLAS

	Pág.
TABLA VII. Comparación de los promedios de plántulas vivas de rábano obtenidos por el antagonismo de algunos microorganismos sobre <u>Rhizoctonia solani</u> Kuehn	21
TABLA VIII. Comparación de los promedios de plántulas vivas de rábano obtenidos por el antagonismo de algunos microorganismos sobre <u>Rhizoctonia solani</u> Kuehn. Prueba de "t"	23
TABLA IX. Comparación para la primera siembra de los promedios de plántulas vivas de rábano, obtenidos por el antagonismo de algunos microorganismos sobre <u>Rhizoctonia solani</u> Kuehn. Prueba de "t"	25
TABLA X. Comparación para la segunda siembra de los promedios de plántulas vivas de rábano, obtenidos por el antagonismo de algunos microorganismos sobre <u>Rhizoctonia solani</u> Kuehn. Prueba de "t"	26
TABLA XI. Porcentajes de plántulas vivas de rábano después del tratamiento a las semillas, adiciones al suelo y tratamiento de semillas + adiciones al suelo de microorganismos antagonísticos de <u>Rhizoctonia solani</u> Kuehn. Prueba de "t"	31
TABLA XII. Comparación de los promedios de plántulas vivas de rábano con tratamiento a las semillas, adiciones al suelo y tratamiento de semillas + adiciones al suelo de microorganismos antagonísticos de <u>Rhizoctonia solani</u> Kuehn. Prueba de "t"	32

ESTUDIOS MICROBIOLÓGICOS Y ANTAGONISMO DE Rhizoctonia solani Kuehn Pág.
EN EL ALTIPLANO DE PASTO, DEPARTAMENTO DE NAHÚA (*)

TABLA VII. Comparación de los promedios de plántulas vivas de rábano obtenidos con el antagonismo de algunos microorganismos sobre Rhizoctonia solani Kuehn. Prueba de "t" 34

TABLA VIII. Comparación de los promedios de plantas vivas de rábano obtenidos con el tratamiento de semillas con algunos microorganismos antagonísticos de Rhizoctonia solani Kuehn. Prueba de "t" 35

TABLA IX. Comparación de los promedios de plántulas vivas de rábano obtenidos con las adiciones al suelo de algunos microorganismos antagonísticos de Rhizoctonia solani Kuehn. Prueba de "t" 36

TABLA X. Comparación de los promedios de plántulas vivas de rábano obtenidos con el tratamiento de semillas + adiciones al suelo de algunos microorganismos antagonísticos de Rhizoctonia solani Kuehn. Prueba de "t". 37

APENDICE

TABLA I. Análisis de variancia correspondiente a plántulas vivas de rábano obtenidos por el antagonismo de algunos microorganismos sobre Rhizoctonia solani Kuehn., a través de dos siembras 51

TABLA II. Análisis de variancia correspondiente a plántulas vivas de rábano después del tratamiento a las semillas, adiciones al suelo y tratamiento a las semillas + adiciones al suelo de microorganismos antagonísticos de Rhizoctonia solani Kuehn 52

NUEVOS MICROORGANISMOS ANTAGONICOS DE Rhizoctonia solani Kuehn
EN EL ALTIPLANO DE PASTO, DEPARTAMENTO DE NARIÑO (1)

JESUS ANTONIO VALDIVIESO IDROBO

I. INTRODUCCION

El hongo Rhizoctonia solani Kuehn., es un patógeno del suelo de importancia económica en el Departamento de Nariño, por atacar la mayoría de cultivos en sus primeras fases de desarrollo y por estar capacitado para producir amplia variabilidad morfológica y fisiológica, la cual dificulta su estudio y hace más complejo el control por métodos inmunológicos.

En la actualidad, se da énfasis al control cultural y biológico del hongo, con el objeto de restringir el uso de fungicidas que tantos problemas causan en el suelo, especialmente relacionados con la destrucción de la microflora.

En cuanto al control biológico, es importante continuar con la búsqueda de microorganismos antagónicos, con el objeto de evaluar su comportamiento frente a Rhizoctonia solani, permitiendo en el campo una buena sanidad de los cultivos.

(1) Tesis de Grado presentada como requisito parcial para optar al título de Ingeniero Agrónomo, bajo la presidencia de Benjamín Sañudo Sotelo, I.A., a quien el autor expresa su agradecimiento.

El presente trabajo tiene como objetivos fundamentales :

1. Buscar nuevos microorganismos antagonicos de Rhizoctonia solani Kuehn, comparando su efectividad con la ya conocida de Bacillus cereus

2. Estudiar el efecto de los microorganismos antagonicos aislados en el tratamiento de semillas para su siembra en suelos contaminados con el patógeno

3. Comprobar el tratamiento al suelo de los microorganismos adsorbidos a la turba, simulando un fungicida

4. Aportar nuevas bases para el control biologico en Narino.

5. Efecto de las sustancias orgánicas específicas tales como antibióticos, alcohol y sulfonamidas que perjudican al crecimiento de los microorganismos.

6. Parasitismo directo de un organismo sobre otro; este caso se refiere a hongos y bacterias.

7. Efecto depredador, como el observado en la destrucción de bacterias por protozoos, de hongos por insectos y de bacterias por otros.

8. Lucha de los microorganismos por un espacio vital.

Barclay y Vincent (19) señalan que tanto fungicidas como insecticidas presentan selectividad respecto a muchas especies nocivas, pero no a las benéficas. En general, los fungicidas orgánicos parecen ser más selectivos que los inorgánicos, respecto a los microorganismos benéficos.

Vincent (20) menciona que de 643 aislamientos de bacterias, 303 de hongos y 141 de algas del suelo y de la rizosfera en cultivos de algodón.

II. REVISION DE LITERATURA

2.1 Generalidades sobre antagonismo

Waksman (20) indica que las interrelaciones antagónicas son muy comunes entre los microorganismos del suelo, entre las cuales se destacan :

1. Competencia por el aprovechamiento de nutrimentos
2. Formación de condiciones, principalmente de carácter químico, que son adversas para el crecimiento de otros microorganismos
3. Producción por parte del organismo de sustancias específicas tales como antibióticos, alcoholes y quinonas que perjudican el crecimiento de otros
4. Parasitismo directo de un organismo sobre otro; este caso es más notorio en hongos y bacterias
5. Efecto depredador, como el observado en la destrucción de bacterias por protozoarios, de hongos por insectos y de nemátodos por otros
6. Lucha de los microorganismos por un espacio vital.

Horsfall y Dimond (9) señalan que tanto fungicidas como insecticidas presentan selectividad respecto a muchos organismos nocivos, pero no a los benéficos. En general los fungicidas orgánicos parecen ser más selectivos que los inorgánicos, respecto a los microorganismos benéficos.

Vlakhous (18) anota que de 665 aislamientos de bacterias, 903 de Bacillus y 541 de hongos del suelo y de la rizosfera en cultivos de algodón

y papa, solamente el 33,3%, 23,6% y 7,2% respectivamente fueron antagonistas de los hongos Thielaviopsis basicola, Verticillium albo-atroum, Rhizoctonia solani, Pythium debaryanum, Phytophthora parasitica var. nicotianae y Sclerotinia sclerotiorum. Los antagonistas más efectivos fueron Pseudomonas fluorescens, Bacillus mesentericus, Bacillus cereus y Penicillium purpurogenum.

Según Blasco (3), existen abundantes casos de microparasitismo; la especie Gliocladium roseum, está habilitada para destruir conidias de muchos hongos; el Didymella oxitiolis puede perforar las paredes celulares de Ophiobolus graminis y el Bacillus cereus produce sustancias antibióticas que controlan a Fusarium solani, principalmente cuando se adiciona al suelo quitina.

Bulla (4) anota que el hongo Cephalosporium sp. es promisorio para el control del marchitamiento del tomate, causado por el hongo Fusarium oxysporum f. lycopersicae.

Askarova y otros (2) indican que algunos actinomicetos aislados del suelo inhiben el desarrollo de Fusarium vasinfectum, Verticillium dahliae y Rhizoctonia solani.

Las bacterias constituyen una importante fuente de producción de antibióticos. Entre los géneros más importantes están el Bacillus con las especies B. subtilis, B. lincheniformes, B. circulans, B. brevis, B. lateroporus y B. alkei (5).

Henis e Inbar (8) afirman que algunas cepas del género Bacillus producen antibióticos que inhiben el crecimiento de Alternaria tenuis, Aspergillus niger, Fusarium solani, Pythium ultimum, Rhizopus nigricans, Sclerotinia sclerotiorum y Sclerotium rolfsii.

Según Alexander (1), las especies Bacillus megaterium, Bacillus cereus y Bacillus subtilis se encuentran frecuentemente en el suelo, pero su cultivo conjunto altera la preponderancia de una u otra de las especies.

La germinación Morquer y Touvet (15) anotan que la efectividad del antagonismo se determina por la toxicidad del antibiótico producida por el parásito, tiempo para su desarrollo y por el pH del medio. Además aseguran, que los antagonistas más activos contra Armillaria mellea fueron los hongos Trichoderma viride, Aeromonium crotocinigenum y Scytalidium aurantiacum.

Dubos y Ricard (7) aseguran que Trichoderma viride es efectivo en el control preventivo de enfermedades en árboles de duraznero.

2.2 Antagonismo sobre Rhizoctonia solani Kuehn

Cercos (5) afirma que Bacillus simplex y Bacillus subtilis producen sustancias antibióticas que inhiben el desarrollo de Rhizoctonia solani.

Dennis y Webster (6) dicen que las especies de Trichoderma aisladas del suelo producen antibióticos no volátiles efectivos contra un gran número de hongos, especialmente contra Rhizoctonia solani.

Kirik y Stebluyk (11) anotan que la especie Trichoderma koningii inhibe apreciablemente a Fusarium oxysporum y Fusarium culmorum, aunque no afecta en forma notoria a Rhizoctonia solani.

El hongo Rhizoctonia sp. es afectado por los hongos Acrostalagmus sp., Aspergillus niger, Botrytis cinerea, Verticillium sp., Fusarium lateritium y Penicillium vermiculatum, el cual es un verdadero parásito de Rhizoctonia solani ya que invade sus hifas (20, 3).

En el Departamento de Nariño, Vargas (18) encontró que la bacteria Bacillus cereus previene en el suelo el desarrollo de Rhizoctonia solani, permitiendo porcentajes de germinación del 80,8%, 54,8%, 54,5% y 28,7%, para repollo, lechuga, remolacha y zanahoria respectivamente, en comparación con

la germinación casi nula obtenida en el suelo inoculado con el patógeno.

2.3 Uso de antibióticos contra fitopatógenos

De acuerdo con Cercos (5), el antibiótico es una sustancia química producida por organismos vivientes que actuando en muy bajas concentraciones, posee propiedades líticas, inhibitoras o letales y selectivas sobre otros organismos vivos. Los antibióticos en general anulan la acción de los microorganismos por interferencia en los procesos enzimáticos, inhibición de la división celular, sustitución de nutrimentos esenciales y por interferencia en la producción o utilización de estos.

El autor anterior afirma además, que el antibiótico viridina producido por ciertas cepas de Trichoderma viride impide la germinación de hongos fitopatógenos, tales como el Colletotrichum lini y Fusarium caeruleum. Según Dennis y Webster (6) las especies de Trichoderma producen antibióticos no volátiles.

Waksman (20) anota que muchos microorganismos del suelo están capacitados para producir antibióticos; así las bacterias biosintetizan las sustancias tirotricina, bacitracina, subtilina, polímixina, piocinasa, piocinamina, prodigiosina, nisina y colicina. Los hongos producen penicilina, ácido penicílico, fumigacina, ácido micofenólico, gliotoxina, clavacina, ácido glandiólico y quetomicina. Los actinomicetos producen estreptomycinina, actinomicina, actidiona, cloranfenicol, aureomicina, terramicina, neomicina, estreptocina, zanthomicina, viomicina, antimicina, fungicidina y fradicina.

Shishelova y Fedorova (16) indican que la blasticidina inactivó las enzimas pectídicas que se acumulan en cultivos líquidos de Botrytis cinerea y Erwinia caratovora y en tejidos de plantas infectados por estos patógenos. La adición de extractos de cebolla infectados aumentaron el efecto de la blasticidina en cultivos líquidos de Botrytis cinerea.

Koltin y Chorin-Kirsch (12) encontraron que Bacillus cereus produjo una proteína estable al calor, activa a pH de 4 a 7, la cual inhibió el desarrollo de varios hongos fitopatógenos. Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad de Moscú, entre los meses de Julio de 1975 y Febrero de 1976.

Mattis y Badanov (14) recomiendan contra las infecciones de Fusarium sp. en plántulas de pino, el tratamiento del suelo con Tricodermina en dosis de 1 g/m².

Likhachev y Vasin (13) afirman que el tratamiento combinado de Tricodermina y 1% de Thiram redujeron las infecciones producidas por Botrytis cinerea.

Karr y Htay (10) anotan que la bacteriocina producida por una cepa no fitopatógena de la bacteria Agrobacterium controló la mayoría de las razas de Agrobacterium tumefaciens.

Los colonios fríos de bacteriocinas de Agrobacterium se prepararon en los días de cultivo con TBA con el objeto de identificarlos. Los días de cultivo de los colonios se identificaron por técnicas y temperaturas que se establecieron en el laboratorio.

Una vez caracterizadas las posibles antagonistas se hicieron siembras sueltas de cada una de ellas con Thiostroma urinae en cajas Petri con TBA. En el mismo medio de cultivo se permitió el desarrollo del patógeno y una vez establecido se hicieron siembras de los microorganismos aislados del medio con el objeto de determinar la capacidad de estos para invadir a Thiostroma urinae una vez establecido en un medio de cultivo.

III. MATERIALES Y METODOS

La siembra de las bacterias se hizo en una pequeña porción de medio, mientras que para las bacterias se hizo una línea de inoculación con una aguja de transferencia.

El presente trabajo se realizó en la Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad de Nariño, entre los meses de Julio de 1975 y Febrero de 1976.

Las bacterias aisladas se multiplicaron en cajas Petri con PDA, mientras que para los hongos se utilizaron erlenmeyers con trozos de papa esterilizada. Al mismo tiempo se usó una solución de dextrosa al 5% de una solución de dextrosa al 5%. En el laboratorio de Microbiología, se esterilizó suelo en el autoclave a 120°C por una hora; luego se colocó en materos, haciendo inoculaciones quincenales durante tres meses de cepas de Rhizoctonia solani Kuehn aisladas de diferentes cultivos hortícolas del Altiplano de Pasto y cultivadas en erlenmeyers con trozos esterilizados de papa más una solución de dextrosa del 5%. La inoculación se hizo licuando el contenido de un erlenmeyer de capacidad de 250 cc y con 200 cc de agua destilada. Se mezcló 100 cc del inóculo por 1 kilo de suelo.

A los tres meses se tomaron a diferentes profundidades de los materos pequeñas porciones de suelo, con las cuales se hicieron diluciones 1:10, 1:100 y 1:1.000. De cada dilución se sacaron porciones de 1 cc, cada una de las cuales se mezclaron con 20 cc de Agar nutriente o PDA a un pH de 6,0, esterilizado y diluido a 41°C aproximadamente. Dichos medios de cultivo se vertieron en cajas Petri esterilizadas, las cuales se incubaron a 20°C por 48 horas.

Las colonias fungosas o bacterianas que aparecieron, se pasaron a tubos de ensayo con PDA con el objeto de purificarlos. Una vez diferenciado el crecimiento se identificaron por tinciones y comparación con las existentes en el laboratorio.

Una vez caracterizados los posibles antagonistas se hicieron siembras opuestas de cada uno de ellos con Rhizoctonia solani en cajas Petri con PDA. En el mismo medio de cultivo se permitió el desarrollo del patógeno y una vez establecido se hicieron siembras de los microorganismos aislados del suelo, con el objeto de determinar la capacidad de estos para invadir a Rhizoctonia solani una vez establecido en un medio de cultivo.

La siembra de los hongos se hizo colocando una pequeña porción de micelio, mientras que para las bacterias se hizo una línea de inoculación con una asa de transferencia.

Las bacterias aisladas se multiplicaron en cajas Petri con PDA, mientras que para los hongos se utilizaron erlenmeyers con trozos de papa esterilizados. El mismo medio se empleó para Rhizoctonia solani pero con la adición de una solución de dextrosa al 2%.

Para observar el efecto antagónico a nivel del suelo, se hizo una mezcla de 3 partes de tierra por una de arena, se esterilizó en autoclave a 120°C por 1 hora y se llenó en materos pequeños de plástico. De cada microorganismo antagónico aislado y de Rhizoctonia solani se hicieron suspensiones en agua destilada, del conjunto se tomaron 600 cc y se mezclaron con suelo esterilizado; el suelo se llevó a la capacidad de campo, se colocó en los materos y se sembraron semillas de rábano, utilizando 50 semillas por matero. El Testigo fue un suelo infestado con el patógeno Rhizoctonia solani.

Los materos con el tratamiento se llevaron a cámaras de rocío, donde se mantuvo una humedad constante; al mes de efectuada la siembra se contabilizó el número de plantas vivas y sanas, se sacaron los porcentajes de plántulas vivas, las cuales se transformaron a arco seno $\sqrt{\%}$ de plantas vivas para el respectivo análisis estadístico. Se hizo otra siembra de rábano y se empleó el mismo procedimiento anotado.

Se empleó un diseño irrestrictamente al azar con 8 replicaciones en base a 2 sistemas y a 8 tratamientos arreglados en parcelas divididas, teniendo como variables las lecturas de las dos siembras (Sistemas) y la efectividad antagónica de los microorganismos (Tratamientos).

Para realizar el tratamiento de semillas y las aplicaciones al suelo de los microorganismos simulando un fungicida, se molió turba seca, se pasó por un tamiz de malla de luz de 5u y se esterilizó en autoclave a 120°C por

1 hora. Posteriormente se hizo una mezcla de turba (90%) más dextrosa (10%). Además se esterilizó suelo y se infestó en su totalidad con Rhizoctonia solani.

Después de recibir aislamientos de suelo infestado con Rhizoctonia solani se determinaron 5 cepas diferentes del hongo Trichoderma y dos de ellas. Los microorganismos aislados inicialmente se cultivaron en PDA. Para cada uno de ellos se suspendió el contenido de 10 cajas Petri en 40 cc de agua destilada esterilizada. De esta suspensión se mezcló con la turba más azúcar en proporción del 40%; se dejó secar hasta manejarla fácilmente y se hizo el tratamiento a las semillas de rábano, previamente pasando por almíbar de azúcar, hasta lograr la impregnada total con el preparado anterior. Estas semillas se sembraron en un suelo infestado con Rhizoctonia solani. El Testigo consistió en la siembra de semillas tratadas con turba más azúcar pero sin contener ningún antagonico.

Del preparado turba más dextrosa más antagonico se aplicó 1 gramo por matero con suelo infestado con Rhizoctonia solani. Además se hizo otra aplicación a la semilla y al suelo, con el objeto de observar si se aumentaba la eficiencia en el antagonismo. Para el Testigo únicamente se aplicó turba más azúcar.

El diseño empleado fue de bloques al azar con 8 replicaciones en base a 3 sistemas y a 8 tratamientos arreglados en parcelas divididas. Se utilizó como sistemas el tratamiento a las semillas, la aplicación al suelo y el tratamiento a la semilla más la aplicación al suelo; como tratamientos se emplearon los microorganismos antagonicos. Cada replicación estuvo constituida por un matero plástico en el cual se sembraron 50 semillas de rábano.

Los materos con el tratamiento se llevaron a cámaras de rocío, manteniendo una humedad constante. Al mes se obtuvieron los porcentajes de plántulas vivas y sanas, las cuales se transformaron a arco seno $\sqrt{\%}$ plantas vivas para efectuar el análisis estadístico correspondiente.

IV. RESULTADOS Y DISCUSION

Después de realizar aislamientos de suelo infestado con Rhizoctonia solani Kuehn, se determinaron 5 cepas diferentes del hongo Trichoderma y dos de Bacillus.

4.1 Características morfológicas de los antagonicos

4.1.1 Trichoderma 1

Formó inicialmente un micelio blanco poco denso, de rápido crecimiento en círculos concéntricos, los cuales se tornan posteriormente de un color verde oscuro indicando la esporulación del hongo.

4.1.2 Trichoderma 2

Formó rápidamente un micelio blanco, denso, uniforme; aproximadamente al mes, se produjeron ligeras tonalidades, verde azulosas en la periferia del medio de cultivo, indicativo de la esporulación.

4.1.3 Trichoderma 4

Micelio blanco algo ralo, el cual esporuló desordenadamente en forma de grumos medianos blancos, luego verde amarillentos y por último verdoso.

4.1.4 Trichoderma 5

Micelio blanco denso con formación de grumos medianos en círculos concéntricos y en forma abundante. Dichos grumos fueron de color blanco, luego amarillentos, verde claros y por último oscuros.



Figura 1. Crecimiento en PDA de la cepa Trichoderma 1.

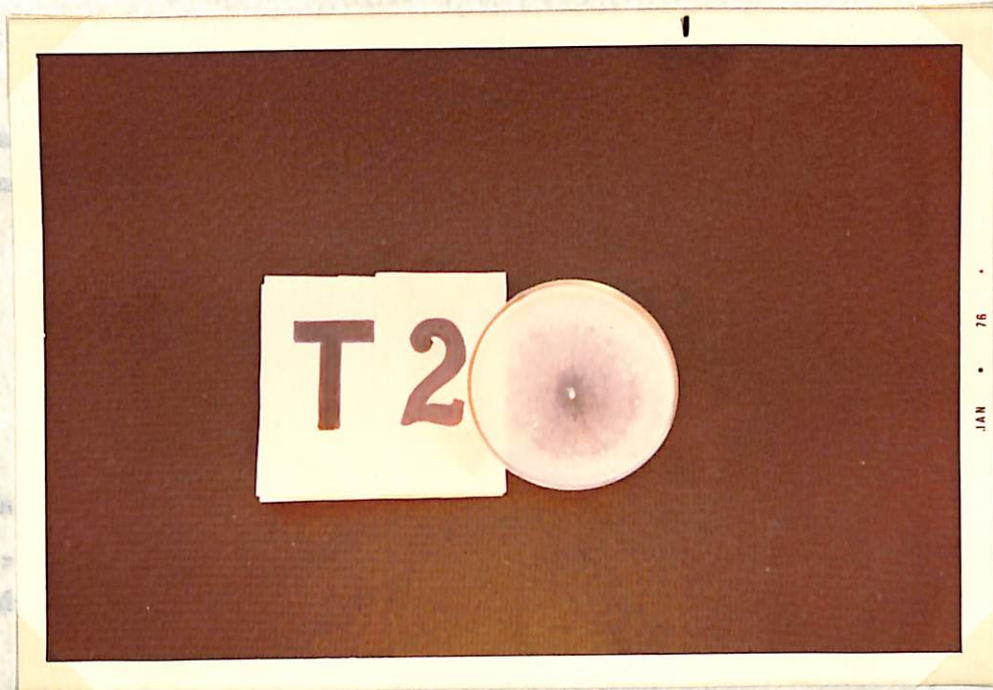
Foto : L. Arturo.

Foto : L. Arturo.

4.1.5 *Trichoderma* 4

Micelio blanco pero con un xno forma formación concéntrica de granos blancos y later verde verdoso.

4.1.6 *Aspilus* varieg



positiva
Los color
trazado

de color
suficiente
vuelto 6

evolución
verde.
con neg

de la de
lo de
r café
E. P. A.

JAN . 76

4.2 *Trichoderma* en agua de lluvia

Al afectar siempre aparecen en azules blancos con PDA entre cada

una de las **Figura 2. Característica del desarrollo en PDA de la cepa Trichoderma 2.**

Las especies *Trichoderma 1*, *Trichoderma 2* y *Trichoderma 6* tuvieron igual comportamiento ya que formaron una zona de color Foto : L. Arturo. blanco de unión con el micelio de *Aspilus* *variegatus* el cual creció también con un color blanco por una producción abundante de esclerotas. Sin embargo, sólo *Trichoderma 1* y *Trichoderma 2* fueron favorecidos poco a poco el crecimiento del endógeno. Esto no pasó con *Trichoderma 6* cuya presencia se vio favorecida por *Aspilus* *variegatus*.

Las cepas *Trichoderma 4* y *Trichoderma 5* tuvieron un comportamiento similar y afectivo contra *Aspilus* *variegatus*, ya que al entrar los dos cre-

4.1.5 Trichoderma 6

Micelio blanco poco denso, con escasa formación concéntrica de grumos blancos y luego verde azulosos.

4.1.6 Bacillus cereus

Comprende bacilos Gram positivos, esporulados, de reacción positiva a la catalasa y producción de ácido a partir de Caldo Glucosado. Las colonias en medios de cultivos fueron cerosas, blanco cremosas y con sustancias difusibles blanquecinas alrededor de las colonias.

4.1.7 Bacillus subtilis

Presenta características similares a Bacillus cereus; la diferencia está dada por las características de las colonias en el medio de cultivo, dando lugar a un crecimiento butiroso abundante, de un color café oscuro únicamente en medios que sean ricos en azúcares, tales como el PDA.

4.2 Antagonismo en cajas Petri

Al efectuar siembras opuestas en cajas Petri con PDA entre cada uno de los antagonísticos y Rhizoctonia solani, se comprobó lo siguiente :

Figura 3. Crecimiento en PDA de las cepas Trichoderma 6.

Las especies Trichoderma 1, Trichoderma 2 y Trichoderma 6 tuvieron igual comportamiento ya que formaron una zona de acordonamiento en el sitio de unión con el micelio de Rhizoctonia solani el cual mostró también esa zona compuesta por una producción abundante de esclerotes. Sin embargo, más tarde Trichoderma 1 y Trichoderma 2 fueron invadiendo poco a poco el crecimiento del patógeno. Esto no pasó con Trichoderma 6 cuyo crecimiento se vió invadido por Rhizoctonia solani.

Las cepas Trichoderma 4 y Trichoderma 5 tuvieron un comportamiento similar y efectivo contra Rhizoctonia solani, ya que al unirse los dos cre-



Figura 4. Observación del crecimiento en PDA de la cepa
Figura 3. Crecimiento en PDA de la cepa Trichoderma 4.

Foto : L. Arturo.

Foto : L. Arturo.



Figura 4. Observación del desarrollo en PDA de la cepa Trichoderma 5.

Foto : L. Arturo.

cimientos (antagónico y patógeno), el micelio de cada uno de los antagonistas creció rápidamente sobre el de Rhizoctonia solani, invadiéndolo e inhibiendo la producción de esporas del patógeno.

En las siembras sueltas de Basillia citrea y Basillia subtilis con Rhizoctonia solani ocurrió un caso contrario ya que al largo creció hasta aproximadamente 1 cm de la línea de inoculación de cada bacteria y formó una zona de



Figura 5. Crecimiento característico en PDA de la cepa

Trichoderma 6.

Foto : L. Arturo.

4.3 Comprobación del antagonismo a nivel del suelo

En la Tabla I aparecen los porcentajes de plántulas de rábano vivas y sanas, al ser desahucadas de su siembra en suelos infestados con Rhizoctonia solani y protegidos al antagonista. Se observa una buena efectividad de

cimientos (antagónico y patógeno), el micelio de cada uno de los antagonicos creció rápidamente sobre el de Rhizoctonia solani, invadiéndolo e inhibiendo la producción de esclerotes del patógeno.

En las siembras opuestas de Bacillus cereus y Bacillus subtilis con Rhizoctonia solani ocurrió un efecto parecido ya que el hongo creció hasta aproximadamente 1 cm de la línea de inoculación de cada bacteria y formó una zona de acordonamiento de esclerotes. Esto se debe a que las bacterias difunden una sustancia antibiótica en el medio de cultivo, que detiene el crecimiento de Rhizoctonia solani; por lo tanto ocurre un antagonismo a distancia. Más tarde se observó que Rhizoctonia solani fue invadiendo poco a poco la zona de inhibición de Bacillus subtilis y por último creció hasta cubrir la colonia bacterial. Esto no sucedió con Bacillus cereus, la cual detuvo definitivamente el crecimiento del hongo.

Lo anterior indica que las cepas 4 t 5 de Trichoderma, son las más efectivas ejerciendo un antagonismo de masa, ya que pueden invadir totalmente a Rhizoctonia solani. La cepa 6 es totalmente inefectiva contra el patógeno. Entre las bacterias, la especie Bacillus cereus muestra una mayor efectividad, debido posiblemente a que la sustancia antibiótica producida es específica contra Rhizoctonia solani, lo que no sucede con la bacteria.

En cajas Petri con crecimiento de Rhizoctonia solani y siembra posterior de cada uno de los antagonicos, únicamente se observó que las colonias de Trichoderma 1 y 5 están capacitadas para invadir micelio establecido, debido a su especificidad sobre Rhizoctonia solani, dada principalmente por un posible parasitismo a las hifas del patógeno o a que producen sustancias antibióticas que debilitan al patógeno, facilitándose su invasión.

4.3 Comprobación del antagonismo a nivel del suelo

En la Tabla I aparecen los porcentajes de plántulas de rábano vivas y sanas, al mes después de su siembra en suelos infestados con Rhizoctonia solani y agregados al antagonista. Se observa una buena efectividad de



Figura 6. Desarrollo en agar nutriente de una colonia de Bacillus cereus.

Foto : L. Arturo.

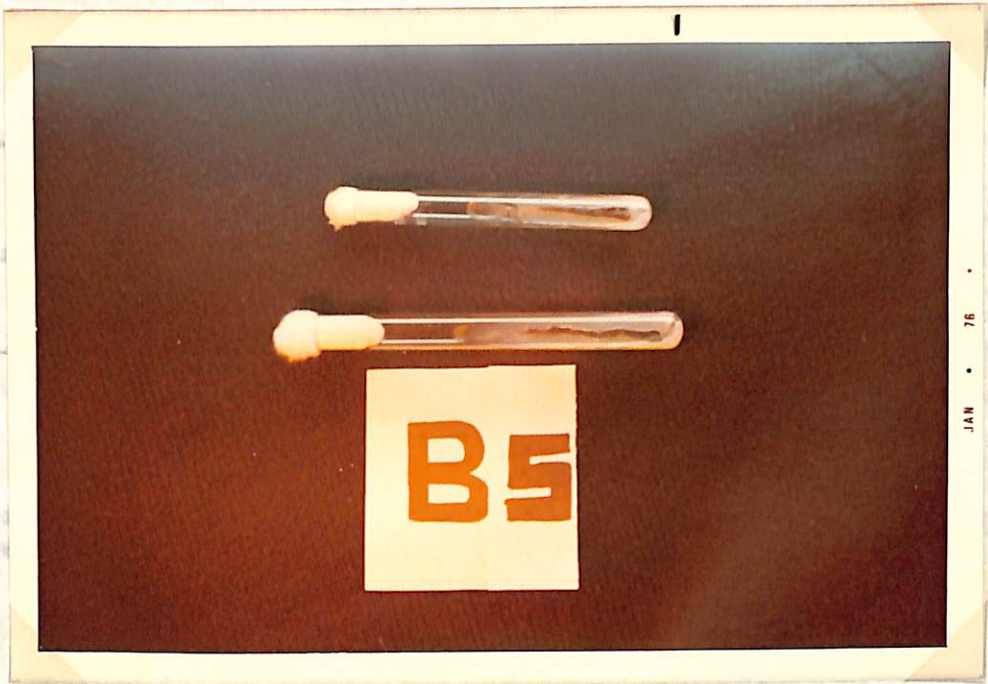


Figura 7. Desarrollo en PDA de una colonia de Bacillus subtilis.

Foto : L. Arturo.

TABLA I

PORCENTAJES DE PLANTULAS VIVAS DE RABANO EN DOS SIEMBRAS DESPUES DE LAS ADICIONES DE MICROORGANISMOS ANTAGONICOS EN UN SUELO INFESTADO CON Rhizoctonia solani Kuehn

Sistemas	Tratamientos								
	<u>R. solani</u> (Testigo negativo)	<u>R. solani</u> + <u>B. cereus</u>	<u>R. solani</u> + <u>B. subtilis</u>	<u>R. solani</u> + <u>Trichoderma</u> 6	<u>R. solani</u> + <u>Trichoderma</u> 5	<u>R. solani</u> + <u>Trichoderma</u> 4	<u>R. solani</u> + <u>Trichoderma</u> 2	<u>R. solani</u> + <u>Trichoderma</u> 1	
Primera Siembra	I	0	28	4	2	88	70	12	20
	II	2	26	0	4	90	64	16	12
	III	0	16	0	0	88	54	10	16
	IV	0	28	0	0	88	60	6	26
	V	2	14	0	8	74	54	6	18
	VI	0	24	0	0	86	72	8	10
	VII	6	24	2	0	76	74	14	20
	VIII	0	26	2	0	86	52	10	8
		10	186	8	14	676	500	82	130
\bar{x}	1,25	23,25	1,00	1,75	84,5	62,5	10,25	16,25	
Segunda Siembra	I	4	22	2	2	88	86	2	4
	II	4	14	0	4	90	88	0	6
	III	4	26	4	4	86	88	4	0
	IV	4	36	6	6	90	86	0	8
	V	8	30	2	0	100	60	0	2
	VI	2	32	0	0	82	88	6	0
	VII	0	26	0	0	82	82	4	0
	VIII	0	22	4	2	86	78	6	6
		26	208	18	18	704	656	22	26
\bar{x}	3,25	26,00	2,25	2,25	88,00	82,00	2,75	3,25	
Gran total	36	394	26	32	1.380	1.156	104	156	
Media general	2,25	24,62	1,62	2,00	86,25	72,25	6,5	9,75	

las cepas de Trichoderma 4 y Trichoderma 5 para controlar a Rhizoctonia solani, en suelo; le sigue en efectividad la bacteria Bacillus cereus.

En la Tabla I del Apéndice se incluye el análisis de variancia, donde se encontraron diferencias altamente significativas entre antagonicos y para la interacción siembras por antagonicos.

La Tabla II, muestra las comparaciones entre los promedios de plántulas vivas de rábano obtenidos con diferentes antagonicos de Rhizoctonia solani, de acuerdo con la prueba de "t", con los siguientes resultados :

La cepa de Trichoderma 5 tuvo un efecto superior al de todos los antagonicos sobre Rhizoctonia solani, ya que permitió promedios de plantas vivas mayores que los obtenidos con los restantes. Le siguieron en efectividad Trichoderma 4 que fue superior a Bacillus cereus, Trichoderma 1, Trichoderma 2, Testigo, Trichoderma 6 y Bacillus subtilis. La bacteria Bacillus cereus permitió promedios de plantas vivas superiores a los obtenidos con Bacillus subtilis, Trichoderma 6, en el Testigo, Trichoderma 2 y Trichoderma 1. Los antagonicos Trichoderma 1 y Trichoderma 2 fueron superiores al Testigo, a Bacillus subtilis y Trichoderma 6.

Al parecer las cepas de Bacillus subtilis y Trichoderma 6, además de ser ineficaces contra Rhizoctonia solani, producen sustancias fitotóxicas que inhiben la germinación de las semillas de rábano.

Las especies Bacillus cereus y Trichoderma 1 encontradas inicialmente por Vargas (18), muestran algún efecto contra Rhizoctonia solani, pero las sustancias antibióticas no son las más eficientes contra el patógeno, bien sea porque no las producen en cantidad suficiente, que se pierden rápidamente en el suelo o no interfieren decisivamente en los procesos parasitarios de Rhizoctonia solani, el cual inicialmente puede ser inhibido, pero el inóculo potencial se restablece rápidamente y tolera la acción antibiótica de los microorganismos antes mencionados. Igual caso sucedió con Trichoderma 2.

TABLA II

COMPARACION DE LOS PROMEDIOS DE PLANTULAS VIVAS DE RABANO OBTENIDOS POR EL ANTAGONISMO DE ALGUNOS MICROORGANISMOS SOBRE Rhizoctonia solani Kuehn. PRUEBA DE "t"

	Tratamientos							
	<u>R. solani + Trichoderma 5</u> 69,05	<u>R. solani + Trichoderma 4</u> 58,86	<u>R. solani + B. cereus</u> 29,57	<u>R. solani + Trichoderma 1</u> 15,86	<u>R. solani + Trichoderma 2</u> 13,04	<u>R. solani</u> 6,57	<u>R. solani + Trichoderma 6</u> 5,88	<u>R. solani + B. subtilis</u> 5,36
<u>R. solani + B. subtilis</u> 5,36	32,76 ⁺⁺	27,50 ⁺⁺	12,44 ⁺⁺	5,39 ⁺⁺	3,44 ⁺⁺	0,61 ^{NS}	0,26 ^{NS}	—
<u>R. solani + Trichoderma 6</u> 5,88	32,49 ⁺⁺	27,23 ⁺⁺	12,17 ⁺⁺	5,12 ⁺⁺	3,68 ⁺⁺	0,35 ^{NS}	—	—
<u>R. solani</u> 6,57	32,14 ⁺⁺	26,88 ⁺⁺	11,82 ⁺⁺	4,77 ⁺⁺	3,33 ⁺⁺	—	—	—
<u>R. solani + Trichoderma 2</u> 13,04	28,81 ⁺⁺	23,55 ⁺⁺	8,49 ⁺⁺	1,44	—	—	—	—
<u>R. solani + Trichoderma 1</u> 15,86	27,37 ⁺⁺	22,10 ⁺⁺	7,05 ⁺⁺	—	—	—	—	—
<u>R. solani + B. cereus</u> 29,57	20,31 ⁺⁺	15,05 ⁺⁺	—	—	—	—	—	—
<u>R. solani + Trichoderma 4</u> 58,86	55,26 ⁺⁺	—	—	—	—	—	—	—
<u>R. solani + Trichoderma 5</u> 69,09	—	—	—	—	—	—	—	—

++ : Significativo al 1%
NS : No significativo

D.M.S. (Student) 5% = 1,99
D.M.S. (Student) 1% = 2,64

Δ = 1,94

La cepa Trichoderma 5 mostró la mayor efectividad debido a que no actúa fitotóxicamente respecto a las semillas de rábano ya que tiene mayor capacidad de invasión sobre Rhizoctonia solani, produciendo por lo tanto rápidamente sustancias antibióticas que se distribuyen en el suelo e inhiben aunque sea parcialmente los brotes del patógeno, si bien no actúan contra los esclerotes del hongo. Le sigue en efectividad el Trichoderma 4 pero posiblemente las sustancias producidas son en menor cantidad o que se acumulan en ciertos micrositios del suelo.

En las Tablas III y IV se consigna la prueba de "t" para los resultados del efecto antagónico sobre Rhizoctonia solani a través de dos siembras de rábano.

Después de la primera siembra de rábano, se obtuvo una total efectividad de Trichoderma 5, seguido de Trichoderma 4 y Bacillus cereus. Las cepas de Trichoderma 1 y Trichoderma 2 tuvieron igual comportamiento, siendo mejores que Trichoderma 6 y Bacillus subtilis, los cuales fueron totalmente inefectivos para controlar el desarrollo de Rhizoctonia solani, lo cual puede deberse también a que los productos derivados de su acción metabólica inhiben la germinación del rábano.

Las cepas Trichoderma 1 y Trichoderma 2 parece ser que produzcan sustancias antibióticas, pero que éstas pueden perderse rápidamente del suelo o que inicialmente inhiben el crecimiento de Rhizoctonia solani pero una vez que éste ha establecido su acción parasitaria y su consecuente desarrollo micelial, anula el crecimiento de los antagónicos mencionados.

La bacteria Bacillus cereus produce sustancias antibióticas que pueden inhibir en forma parcial el desarrollo del patógeno, pero no lo puede invadir como lo hacen Trichoderma 5 y Trichoderma 4, cuya velocidad de desarrollo hacen que ocupen los micrositios que les corresponderían a Rhizoctonia solani y además, pueden producir sustancias antibióticas específicas contra el patógeno.

TABLA III

COMPARACION PARA LA PRIMERA SIEMBRA DE LOS PROMEDIOS DE PLANTULAS VIVAS DE RABANO, OBTENIDOS POR EL ANTAGONISMO DE ALGUNOS MICROORGANISMOS
 SOBRE Rhizoctonia solani Kuehn. PRUEBA DE "t"

	Tratamientos							
	<u>R. solani + Trichoderma 5</u>	<u>R. solani + Trichoderma 4</u>	<u>R. solani + B. cereus</u>	<u>R. solani + Trichoderma 1</u>	<u>R. solani + Trichoderma 2</u>	<u>R. solani + Trichoderma 6</u>	<u>R. solani</u>	<u>R. solani + B. subtilis</u>
	67,10	52,35	28,67	23,45	18,43	4,86	4,16	3,83
<u>R. solani + B. subtilis</u> 3,83	23,00 ⁺⁺	16,74 ⁺⁺	9,03 ⁺⁺	7,13 ⁺⁺	5,31 ⁺⁺	0,37 ^{NS}	0,12 ^{NS}	—
<u>R. solani</u> 4,16	22,88 ⁺⁺	17,52 ⁺⁺	9,81 ⁺⁺	7,01 ⁺⁺	5,19 ⁺⁺	0,25 ^{NS}	—	—
<u>R. solani + Trichoderma 6</u> 4,86	22,63 ⁺⁺	17,26 ⁺⁺	8,65 ⁺⁺	6,75 ⁺⁺	4,93 ⁺⁺	—	—	—
<u>R. solani + Trichoderma 2</u> 18,43	17,69 ⁺⁺	12,33 ⁺⁺	3,72	1,82 ^{NS}	—	—	—	—
<u>R. solani + Trichoderma 1</u> 23,45	15,87 ⁺⁺	10,50 ⁺⁺	1,90 ^{NS}	—	—	—	—	—
<u>R. solani + B. cereus</u> 28,67	13,97 ⁺⁺	8,60 ⁺⁺	—	—	—	—	—	—
<u>R. solani + Trichoderma 4</u> 52,35	5,36 ⁺⁺	—	—	—	—	—	—	—
<u>R. solani + Trichoderma 5</u> 67,10	—	—	—	—	—	—	—	—

++ : Significativo al 1%
 NS : No significativo

D.M.S. (Student) 5% = 1,99
 D.M.S. (Student) 1% = 2,64

Δ = 2,75

TABLA IV

COMPARACION PARA LA SEGUNDA SIEMBRA DE LOS PROMEDIOS DE PLANTULAS VIVAS DE RABANO, OBTENIDOS POR EL ANTAGONISMO DE ALGUNOS MICROORGANISMOS SOBRE Rhizoctonia solani Kuenhn. PRUEBA DE "t"

	Tratamientos							
	<u>R. solani + Trichoderma 5</u> 71,08	<u>R. solani + Trichoderma 4</u> 65,36	<u>R. solani + B. cereus</u> 30,47	<u>R. solani</u> 8,98	<u>R. solani + Trichoderma 1</u> 8,27	<u>R. solani + Trichoderma 2</u> 7,66	<u>R. solani + Trichoderma 6</u> 6,90	<u>R. solani + B. subtilis</u> 6,90
<u>R. solani + B. subtilis</u> 6,90	23,34 ⁺⁺	21,26 ⁺⁺	8,56 ⁺⁺	0,75 ^{NS}	0,49 ^{NS}	0,27 ^{NS}	—	—
<u>R. solani + Trichoderma 6</u> 6,90	23,34 ⁺⁺	21,26 ⁺⁺	8,56 ⁺⁺	0,75 ^{NS}	0,49 ^{NS}	0,27 ^{NS}	—	—
<u>R. solani + Trichoderma 2</u> 7,66	23,06 ⁺⁺	20,98 ⁺⁺	8,29 ⁺⁺	0,48 ^{NS}	0,22 ^{NS}	—	—	—
<u>R. solani + Trichoderma 1</u> 8,27	22,84 ⁺⁺	20,76 ⁺⁺	8,07 ⁺⁺	0,25 ^{NS}	—	—	—	—
<u>R. solani</u> 8,98	22,58 ⁺⁺	20,50 ⁺⁺	7,81 ⁺⁺	—	—	—	—	—
<u>R. solani + B. cereus</u> 30,47	14,77 ⁺⁺	12,69 ⁺⁺	—	—	—	—	—	—
<u>R. solani + Trichoderma 4</u> 65,36	2,08 ⁺	—	—	—	—	—	—	—
<u>R. solani + Trichoderma 5</u> 71,08	—	—	—	—	—	—	—	—

++ : Significativo al 1%
NS : No significativo

D.M.S. (Student) 5% = 1,99
D.M.S. (Student) 1% = 2,64

Δ = 2,75

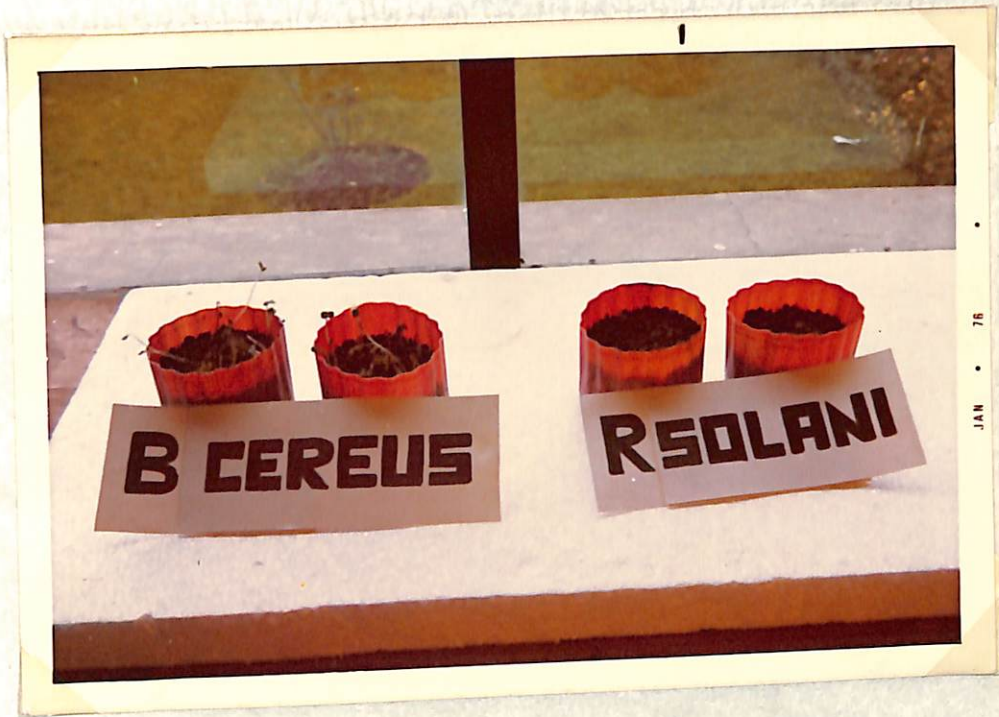


Figura 8. Efecto antagónico de Bacillus cereus sobre Rhizoctonia solani Kuehn.

Foto : L. Arturo.



Figura 9. Antagonismo de la cepa Trichoderma 1 sobre Rhizoctonia solani Kuehn.

Foto : L. Arturo.

Al efectuar la segunda prueba de efecto y corroborar la partici-
nación y actividad de las plantas se comprobó de acuerdo con la prueba de
"T" que sigue parasitando. La efectividad de Trichoderma 2, pero que su su-
manta la efectividad de Trichoderma 4 y Basillia sergenti. Probablemente
se a la acumulación de sustancias antibióticas que inhiben los nuevos creci-
mientos de Rhizoctonia solani.



Figura 10. Efecto antagónico de la cepa Trichoderma 2

de la Tabla II sobre Rhizoctonia solani Kuehn de verificación, don-
de se observan diferencias altamente significativas, entre las formas de a-
plicación de los antagonistas, entre la efectividad de los antagonistas en
taponetes y para la interacción forma de aplicación por efectividad de los
microorganismos antagonistas.

Foto : L. Arturo.

En la Tabla VI se muestra la prueba de "T" para la comparación de
los promedios de plantas vivas obtenidas con las formas de aplicación de los
microorganismos antagonistas, demostrándose que cuando el tratamiento se hic

Al efectuar la segunda siembra de rábano y contabilizar la germinación y sanidad de las plántulas se comprobó de acuerdo con la prueba de "t" que sigue persistiendo la efectividad de Trichoderma 5, pero que se aumenta la efectividad de Trichoderma 4 y Bacillus cereus, debido probablemente a la acumulación de sustancias antibióticas que inhiben los nuevos crecimientos de Rhizoctonia solani.

Las cepas Trichoderma 1 y Trichoderma 2 resultan inefectivas contra Rhizoctonia solani, posiblemente porque las sustancias antibióticas se pierden rápidamente en el suelo y porque Rhizoctonia solani como respuesta inicial ha producido numerosos esclerotes, los cuales germinan y atacan las semillas de rábano. Igualmente se vuelve a considerar la inefectividad de las cepas Trichoderma 6 y Bacillus subtilis y su posible influencia adversa sobre la germinación de las semillas de rábano.

4.4 Efecto del tratamiento de semillas y las aplicaciones al suelo con los microorganismos antagonistas de Rhizoctonia solani

En la Tabla V aparecen los porcentajes de plántulas de rábano germinadas y libres de la afección de Rhizoctonia solani, después de haber realizado la adsorción en turba de los microorganismos antagonistas y haber hecho el tratamiento a las semillas, la aplicación al suelo y el tratamiento a la semilla más la aplicación al suelo.

En la Tabla II del Apéndice aparece el análisis de variancia, donde se observan diferencias altamente significativas, entre las formas de aplicación de los antagonistas, entre la efectividad de los microorganismos antagonistas y para la interacción formas de aplicación por efectividad de los microorganismos antagonistas.

En la Tabla VI se observa la prueba de "t" para la comparación de los promedios de plantas vivas obtenidos con las formas de aplicación de los microorganismos antagonistas, determinándose que cuando el tratamiento se hi-

TABLA V

PORCENTAJES DE PLANTULAS VIVAS DE RABANO DESPUES DEL TRATAMIENTO A LAS SEMILLAS, ADICIONES AL SUELO Y TRATAMIENTO DE SEMILLAS + ADICIONES AL SUELO DE MICROORGANISMOS ANTAGONICOS DE Rhizoctonia solani Kuehn. PRUEBA DE "t"

		Tratamientos							
		<u>R. solani</u>	<u>R. solani + B. cereus</u>	<u>R. solani + B. subtilis</u>	<u>R. solani + Trichoderma 6</u>	<u>R. solani + Trichoderma 5</u>	<u>R. solani + Trichoderma 4</u>	<u>R. solani + Trichoderma 2</u>	<u>R. solani + Trichoderma 1</u>
Semilla	I	0	26	0	0	64	52	4	2
	II	2	24	0	0	60	60	4	4
	III	4	22	0	0	60	54	8	6
	IV	0	14	0	0	58	58	2	12
	V	0	20	0	0	44	42	10	10
	VI	0	28	0	0	40	60	6	10
	VII	2	16	2	0	62	34	10	6
	VIII	0	30	0	0	38	32	12	8
			8	180	2	0	426	392	56
	\bar{x}	1,00	22,50	0,25	0,00	53,25	49,00	7,00	7,25
Suelo	I	4	12	0	2	30	26	2	0
	II	4	10	0	0	24	26	2	0
	III	2	6	0	4	32	32	0	4
	IV	4	6	0	2	34	32	2	2
	V	6	6	0	2	32	20	4	2
	VI	0	10	0	0	28	28	6	4
	VII	2	4	0	0	42	26	6	2
	VIII	2	14	0	0	42	32	8	0
			24	68	0	10	264	222	30
	\bar{x}	3,00	8,50	0,00	1,25	33,00	27,75	3,75	1,75
Semilla + suelo	I	2	24	0	0	70	60	6	4
	II	0	30	0	0	72	54	16	8
	III	0	20	0	0	88	72	18	14
	IV	0	32	0	2	84	68	20	10
	V	2	30	0	0	60	82	20	14
	VI	4	32	0	0	76	80	20	20
	VII	0	38	0	0	82	74	14	24
	VIII	0	24	0	2	54	72	10	8
			8	220	0,00	4	586	562	124
	\bar{x}	1,00	28,75	0,00	0,50	73,25	70,25	15,50	12,75
Gran total		40	478	2	14	1.276	1.176	210	174
Media general		1,66	19,91	0,08	1,74	53,16	49,00	8,75	7,25

de la semilla y al suelo se obtienen mejores resultados que con las aplicaciones individuales de los microorganismos a la semilla y al suelo. El tratamiento a la semilla fue superior a la aplicación al suelo.

Lo anterior se debe a que al formar una capa de turba más micorrizal alrededor de la semilla, el dote de protección de una protección a las semillas es más efectiva contra Rhizoctonia solani. Las aplicaciones al suelo no son tan efectivas ya que las sustancias antibióticas primero se adsorben en las partículas de turba lo cual permite el desarrollo de Rhizoctonia solani en las raíces de las plantas.

TABLA VI

COMPARACION DE LOS PROMEDIOS DE PLANTULAS VIVAS DE RAIZO CON TRATAMIENTO A LAS SEMILLAS, ADICIONES AL SUELO Y TRATAMIENTO DE SEMILLAS + ADICIONES AL SUELO DE MICROORGANISMOS ANTAGONICOS DE Rhizoctonia solani Kuehn.

PRUEBA DE "t"

Sistemas	
Semilla + suelo	Semilla Suelo
24,86	19,43 14,28
Suelo	6,36
14,28	—
Semilla	6,70**
19,43	—
Semilla + suelo	—
24,86	—

D.M.S. (Student) 5% = 2,08

D.M.S. (Student) 1% = 2,83

** = Significativo al 1%

= 0,81

zo a la semilla y al suelo se obtuvieron mejores resultados que con las aplicaciones individuales de los microorganismos a la semilla y al suelo. El tratamiento a la semilla fue superior a la aplicación al suelo.

Lo anterior se debe a que al formar una capa de turba más microorganismos alrededor de la semilla, si éste no es fitotóxico da una protección a las semillas en su germinación contra Rhizoctonia solani. Las aplicaciones al suelo no son tan efectivas ya que las sustancias antibióticas primero se adsorben en las partículas de turba lo cual permite el desarrollo de Rhizoctonia solani; además, la distribución del microorganismo no es tan buena. Cuando se hace la aplicación al suelo más la semilla se aumenta la efectividad.

En la Tabla VII se consignan la prueba de "t" para comparar la efectividad de los microorganismos antagónicos de Rhizoctonia solani. Se comprobó la mayor efectividad de Trichoderma 4, seguida de Trichoderma 5 y Bacillus cereus. Las cepas Trichoderma 2 y Trichoderma 1 muestran cierto efecto mientras que se vuelve a comprobar la ineffectividad y posible toxicidad de las cepas Trichoderma 6 y Bacillus subtilis.

Esto comprueba que las diferentes formas de aplicación que se hagan con Trichoderma 5 y aun de Trichoderma 4, son efectivas en la inhibición del desarrollo de Rhizoctonia solani, ya que al parecer producen sustancias antibióticas específicas contra el patógeno, no tóxicas contra las semillas de rábano y que tienen gran capacidad de formar sus estructuras a partir de los puntos de inoculación.

En las Tablas VIII, IX y X aparecen las pruebas de "t" para las aplicaciones de los antagónicos a la semilla, al suelo y a la semilla más suelo, respectivamente.

Cuando las aplicaciones de los microorganismos se hicieron a las semillas de rábano, se comprobó igual efectividad de Trichoderma 5 y Trichoderma 4, ya que desarrollan una zona de protección sobre las semillas en

TABLA VII

COMPARACION DE LOS PROMEDIOS DE PLANTULAS VIVAS DE RABANO OBTENIDOS CON EL ANTAGONISMO DE ALGUNOS MICROORGANISMOS
 SOBRE Rhizoctonia solani Kuenhn. PRUEBA DE "t"

	Tratamientos							
	<u>R. solani + Trichoderma 5</u> 47,06	<u>R. solani + Trichoderma 4</u> 44,43	<u>R. solani + B. cereus</u> 25,70	<u>R. solani + Trichoderma 2</u> 15,96	<u>R. solani + Trichoderma 1</u> 13,89	<u>R. solani</u> 5,62	<u>R. solani + Trichoderma 6</u> 2,60	<u>R. solani + B. subtilis</u> 0,88
<u>R. solani + B. subtilis</u> 0,88	35,90 ⁺⁺	33,86 ⁺⁺	19,30 ⁺⁺	11,72 ⁺⁺	10,11 ⁺⁺	3,68 ⁺⁺	1,33 ^{NS}	—
<u>R. solani + Trichoderma 6</u> 2,60	34,57 ⁺⁺	32,52 ⁺⁺	17,96 ⁺⁺	10,39 ⁺⁺	8,78 ⁺⁺	2,35 ⁺	—	—
<u>R. solani</u> 5,62	32,22 ⁺⁺	30,17 ⁺⁺	15,61 ⁺⁺	8,04 ⁺⁺	6,42 ⁺⁺	—	—	—
<u>R. solani + Trichoderma 1</u> 13,89	25,79 ⁺⁺	23,74 ⁺⁺	9,18 ⁺⁺	1,61 ^{NS}	—	—	—	—
<u>R. solani + Trichoderma 2</u> 15,96	24,18 ⁺⁺	22,13 ⁺⁺	7,57 ⁺⁺	—	—	—	—	—
<u>R. solani + B. cereus</u> 25,70	16,60 ⁺⁺	14,55 ⁺⁺	—	—	—	—	—	—
<u>R. solani + Trichoderma 4</u> 44,43	2,04 ⁺	—	—	—	—	—	—	—
<u>R. solani + Trichoderma 5</u> 47,06	—	—	—	—	—	—	—	—

++ : Significativo al 1%
 + : Significativo al 5%
 NS : No significativo

D.M.S. (Student) 5% = 1,96
 D.M.S. (Student) 1% = 2,57
 Δ = 1,29

TABLA VIII

COMPARACION DE LOS PROMEDIOS DE PLANTAS VIVAS DE RABANO OBTENIDOS CON EL TRATAMIENTO DE SEMILLAS CON ALGUNOS MICROORGANISMOS ANTAGONICOS DE Rhizoctonia solani Kuehn. PRUEBA DE "t"

	Tratamientos							
	<u>R. solani + Trichoderma 5</u> 46,88	<u>R. solani + Trichoderma 4</u> 44,38	<u>R. solani + B. cereus</u> 28,15	<u>R. solani + Trichoderma 1</u> 15,20	<u>R. solani + Trichoderma 2</u> 14,87	<u>R. solani</u> 3,83	<u>R. solani + B. subtilis</u> 1,51	<u>R. solani + Trichoderma 6</u> 0,57
<u>R. solani + Trichoderma 6</u> 0,57	20,78 ⁺⁺	19,66 ⁺⁺	12,38 ⁺⁺	6,56 ⁺⁺	6,41 ⁺⁺	1,46 ^{NS}	0,42 ^{NS}	—
<u>R. solani + B. subtilis</u> 1,51	20,36 ⁺⁺	19,24 ⁺⁺	11,95 ⁺⁺	6,14 ⁺⁺	5,99 ^{NS}	1,03 ^{NS}	—	—
<u>R. solani</u> 3,83	19,32 ⁺⁺	18,20 ⁺⁺	10,91 ⁺⁺	5,10 ⁺⁺	4,95 ⁺⁺	—	—	—
<u>R. solani + Trichoderma 2</u> 14,87	14,36 ⁺⁺	13,24 ⁺⁺	5,96 ⁺⁺	0,14 ^{NS}	—	—	—	—
<u>R. solani + Trichoderma 1</u> 15,20	14,21 ⁺⁺	13,09 ⁺⁺	5,81 ⁺⁺	—	—	—	—	—
<u>R. solani + B. cereus</u> 28,15	8,40 ⁺⁺	7,28 ⁺⁺	—	—	—	—	—	—
<u>R. solani + Trichoderma 4</u> 44,38	1,11 ^{NS}	—	—	—	—	—	—	—
<u>R. solani + Trichoderma 5</u> 46,88	—	—	—	—	—	—	—	—

++ : Significativo al 1%
NS : No significativo

D.M.S. (Student) 5% = 1,96
D.M.S. (Student) 1% = 2,57

Δ = 2,22

TABLA IX

COMPARACION DE LOS PROMEDIOS DE PLANTULAS VIVAS DE RABANO OBTENIDOS CON LAS ADICIONES AL SUELO DE ALGUNOS MICROORGANISMOS ANTAGONICOS DE Rhizoctonia solani Kuenhn. PRUEBA DE "t"

	Tratamientos							
	<u>R. solani + Trichoderma 5</u> 34,98	<u>R. solani + Trichoderma 4</u> 31,73	<u>R. solani + B. cereus</u> 16,65	<u>R. solani + Trichoderma 2</u> 10,16	<u>R. solani</u> 9,22	<u>R. solani + Trichoderma 1</u> 6,12	<u>R. solani + Trichoderma 6</u> 4,77	<u>R. solani + B. subtilis</u> 0,57
<u>R. solani + B. subtilis</u> 0,57	15,44 ⁺⁺	13,98 ⁺⁺	7,21 ⁺⁺	4,30 ⁺⁺	3,88 ⁺⁺	2,50 ⁺⁺	1,88 ^{NS}	—
<u>R. solani + Trichoderma 6</u> 4,77	13,55 ⁺⁺	12,09 ⁺⁺	5,32 ⁺⁺	2,41 ⁺	1,99 ⁺	0,61 ^{NS}	—	—
<u>R. solani + Trichoderma 1</u> 6,12	12,94 ⁺⁺	11,48 ⁺⁺	4,71 ⁺⁺	1,80 ^{NS}	1,37 ^{NS}	—	—	—
<u>R. solani</u> 9,22	11,56 ⁺⁺	10,10 ⁺⁺	3,33 ⁺⁺	0,42 ^{NS}	—	—	—	—
<u>R. solani + Trichoderma 2</u> 10,16	11,14 ⁺⁺	9,68 ⁺⁺	2,91 ⁺⁺	—	—	—	—	—
<u>R. solani + B. cereus</u> 16,65	8,22 ⁺⁺	6,76 ⁺⁺	—	—	—	—	—	—
<u>R. solani + Trichoderma 4</u> 31,73	1,45 ^{NS}	—	—	—	—	—	—	—
<u>R. solani + Trichoderma 5</u> 34,98	—	—	—	—	—	—	—	—

++ : Significativo al 1%
 + : Significativo al 5%
 NS : No significativo

D.M.S. (Student) 5% = 1,96
 D.M.S. (Student) 1% = 2,57
 Δ = 2,22

TABLA X

COMPARACION DE LOS PROMEDIOS DE PLANTULAS VIVAS DE RABANO OBTENIDOS CON EL TRATAMIENTO DE SEMILLAS + ADICIONES AL SUELO DE ALGUNOS MICROORGANISMOS ANTAGONICOS DE Rhizoctonia solani Kuehn. PRUEBA DE "t"

	Tratamientos							
	<u>R. solani + Trichoderma 5</u> 59,32	<u>R. solani + Trichoderma 4</u> 57,17	<u>R. solani + B. cereus</u> 32,32	<u>R. solani + Trichoderma 2</u> 22,86	<u>R. solani + Trichoderma 1</u> 20,33	<u>R. solani</u> 3,83	<u>R. solani + Trichoderma 6</u> 2,46	<u>R. solani + B. subtilis</u> 0,57
<u>R. solani + B. subtilis</u> 0,57	26,37 ⁺⁺	25,40 ⁺⁺	14,25 ⁺⁺	10,00 ⁺⁺	8,87 ⁺⁺	1,46 ^{NS}	0,84 ^{NS}	—
<u>R. solani + Trichoderma 6</u> 2,46	25,52 ⁺⁺	24,55 ⁺⁺	13,40 ⁺⁺	9,15 ⁺⁺	8,02 ⁺⁺	0,61 ^{NS}	—	—
<u>R. solani</u> 3,83	24,90 ⁺⁺	23,94 ⁺⁺	12,78 ⁺⁺	8,54 ⁺⁺	7,50 ⁺⁺	—	—	—
<u>R. solani + Trichoderma 1</u> 20,33	17,50 ⁺⁺	16,53 ⁺⁺	5,38 ⁺⁺	1,13 ^{NS}	—	—	—	—
<u>R. solani + Trichoderma 2</u> 22,86	16,36 ⁺⁺	15,39 ⁺⁺	4,24 ⁺⁺	—	—	—	—	—
<u>R. solani + B. cereus</u> 32,32	12,11 ⁺⁺	11,15 ⁺⁺	—	—	—	—	—	—
<u>R. solani + Trichoderma 4</u> 57,17	0,96 ^{NS}	—	—	—	—	—	—	—
<u>R. solani + Trichoderma 5</u> 59,32	—	—	—	—	—	—	—	—

++ : Significativo al 1%
NS : No significativo

D.M.S. (Student) 5% = 1,96
D.M.S. (Student) 1% = 2,57

Δ = 2,22



Figura 11. Determinación del marcado antagonismo de la cepa Trichoderma 4 sobre Rhizoctonia solani Kuehn.

Foto : L. Arturo.



Figura 12. Efectividad apreciable de la cepa Trichoderma 5 como antagónica de Rhizoctonia solani Kuenhn.

Foto : L. Arturo.

su proceso de germinación y no son tóxicas. Sigue en efectividad Bacillus cereus y luego las cepas Trichoderma 1 y Trichoderma 2. Por lo observado, se puede aplicar la protección microbial a las semillas de rábano siempre y cuando se encuentren microorganismos específicos contra el patógeno, de rápido crecimiento y/o producción de sustancias antibióticas, las cuales no deben ser fitotóxicas para el rábano en su germinación.

Se determina igualmente la total ineffectividad de Trichoderma 6 y de Bacillus subtilis contra Rhizoctonia solani, ya que al parecer son microorganismos que producen sustancias fitotóxicas que inhiben la germinación de las semillas de rábano.

Cuando las aplicaciones se hicieron al suelo, se comprobó el mismo caso que para Trichoderma 5, Trichoderma 4 y Bacillus cereus, pero se disminuyó la efectividad del Trichoderma 2 ya que las sustancias antibióticas son escasas. Además Trichoderma 1 permitió promedios de plantas vivas en menor proporción que las observadas en el Testigo, porque las sustancias antibióticas posiblemente se adsorben rápidamente en las partículas de turba. No existe especificidad de Trichoderma 6 y Bacillus subtilis contra Rhizoctonia solani.

En las aplicaciones a la semilla y al suelo se comprobó igual efectividad de Trichoderma 5 y Trichoderma 4, seguidos de Bacillus cereus, y luego de Trichoderma 2 y Trichoderma 1. Al observar los promedios de germinación superiores a los obtenidos con las aplicaciones solo a la semilla o al suelo, se puede indicar que es un tratamiento que se puede llevar a condiciones de campo, contando con microorganismos específicos de un determinado patógeno. Se observa también en el caso de Trichoderma 2 y Trichoderma 1 que para ser efectivos contra Rhizoctonia solani, necesitan concentrarse más en la turba; entonces se considera la efectividad de un microorganismos antagonicos, por la capacidad de producir antagonismo sobre un patógeno aun cuando las concentraciones sean bajas.

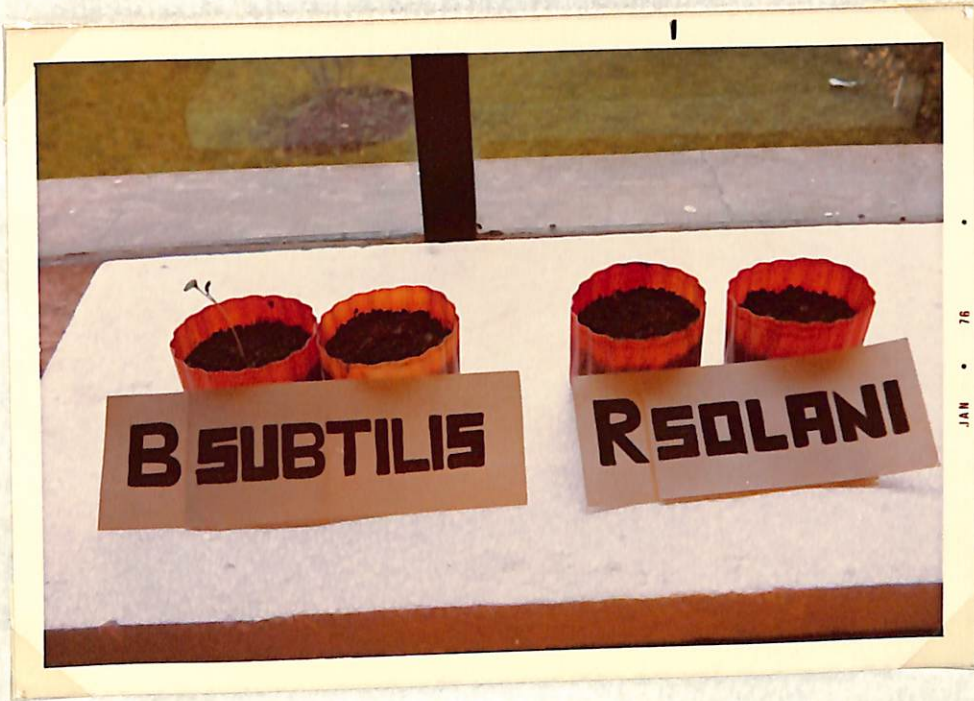


Figura 13. Efecto nulo de Bacillus subtilis sobre Rhizoc-
tonia solani Kuenhn.

Foto : L. Arturo.



JAN 76

Figura 14. Efecto nulo de la cepa Trichoderma 6 sobre Rhizoc-
tonia solani Kuenhn. T6 y Trichoderma 6 fueron ineficaces

Foto : L. Arturo.

V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

1. La patogenicidad de Rhizoctonia solani en rábano (Raphanus sativus) es inhibida efectivamente por dos cepas de Trichoderma denominadas Trichoderma 5 y Trichoderma 4. Dichas cepas en condiciones de cajas Petri producen una invasión rápida y en masa sobre Rhizoctonia solani; además invaden crecimientos ya establecidos del patógeno. En el suelo son más efectivos que otros microorganismos estudiados.

2. La bacteria Bacillus cereus les siguió en efectividad contra Rhizoctonia solani. En cajas Petri desarrolla un antagonismo a distancia.

3. Las cepas Trichoderma 1 y Trichoderma 2 necesitan una mayor concentración en las aplicaciones para inhibir el desarrollo de Rhizoctonia solani; sin embargo no muestran efectividad total.

4. Cuando los microorganismos se adsorbieron en turba más azúcar, resultó más efectivo el tratamiento a las semillas más la aplicación al suelo, siguiendo en efectividad el tratamiento a las semillas.

5. La bacteria Bacillus subtilis y Trichoderma 6 fueron ineficaces para controlar a Rhizoctonia solani y al parecer producen sustancias fitotóxicas para la germinación del rábano.

5.2 Recomendaciones

1. Reproducir el experimento en condiciones de campo

2. Buscar nuevas formas de aplicación de los microorganismos antagónicos en el campo, buscando el aspecto económico.

3. Proseguir el aislamiento de nuevos microorganismos antagónicos y evaluar su efectividad contra diferentes patógenos del suelo

4. Iniciar trabajos sobre protección biológica contra patógenos del área foliar de las plantas

5. Iniciar ensayos sobre la utilización de antibióticos en la lucha contra los fitopatógenos de importancia económica en Maricao.

Se utilizaron aislamientos obtenidos de cinco cepas del hongo *Trichoderma*, y las especies de *Bacillus* identificadas como *Bacillus cereus* y *Bacillus subtilis*.

De cada uno de los microorganismos se hicieron siembras con *Blumeria graminis* en hojas Petri con PDA, y siembras en cultivos establecidos del patógeno, encontrándose mayor efectividad de las cepas *Trichoderma* 3 y *Trichoderma* 4 que ejercen una invasión en masa sobre *Blumeria graminis* ya establecida dicho patógeno. Los siguió en efectividad *Bacillus cereus* que ejerció un antagonismo a distancia pero no invadió cultivos establecidos por el patógeno.

En suelos infestados con *Blumeria graminis* y con aplicaciones individuales de suspensiones de los antagonistas fueron más efectivas las cepas de *Trichoderma* 3 y *Trichoderma* 4, siguiéndoles en efectividad *Bacillus cereus* y *Trichoderma* 1 y *Trichoderma* 2. Las cepas de *Bacillus subtilis* y *Trichoderma* 6 fueron inefectivas y al parecer fitopatógenas para el rábano.

Los microorganismos se mezclaron en turba más suelta y se trataron con turba en rábano, se hicieron aplicaciones al suelo y tratamientos de semillas con las mismas aplicaciones al suelo. Se empleó un diseño aleatorizado, con 8 aplicaciones, que luego se analizó según un diseño de parcelas divididas. Fueron mejores las aplicaciones al suelo más el tratamiento a la semilla, determinándose gran efectividad de las cepas *Trichoderma* 3 y *Trichoderma* 4 seguidas por *Bacillus cereus*. Las cepas de *Trichoderma* 1 y *Trichoderma* 2 ocasionaron pocas o ninguna reducción en el suelo para desarrollar buen cultivo de rábano sobre *Blumeria graminis*.

VI. RESUMEN

El presente trabajo se realizó entre Julio de 1975 y Febrero de 1976, en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Agrícolas, con el objeto de buscar microorganismos antagónicos de Rhizoctonia solani Kuehn. en plántulas de rábano. En suelo esterilizado se hicieron inoculaciones quincenales durante tres meses de Rhizoctonia solani, luego se realizaron aislamientos obteniéndose cinco cepas del hongo Trichoderma, y dos especies de Bacillus identificados como Bacillus cereus y Bacillus subtilis.

De cada uno de los microorganismos se hicieron siembras con Rhizoctonia solani en cajas Petri con PDA, y siembras en cultivos establecidos del patógeno, encontrándose mayor efectividad de las cepas Trichoderma 5 y Trichoderma 4 que ejercen una invasión en masa sobre Rhizoctonia solani, aun ya establecido dicho patógeno. Les siguió en efectividad Bacillus cereus que ejerció un antagonismo a distancia pero no invadió cultivos establecidos por el patógeno.

En suelos infestados con Rhizoctonia solani y con aplicaciones individuales de suspensiones de los antagónicos fueron más efectivas las cepas de Trichoderma 5 y Trichoderma 4, siguiéndoles en efectividad Bacillus cereus y luego Trichoderma 1 y Trichoderma 2. Las cepas de Bacillus subtilis y Trichoderma 6 fueron inefectivas y al parecer fitotóxicas para el rábano.

Los microorganismos se mezclaron en turba más azúcar y se trataron semillas de rábano, se hicieron aplicaciones al suelo y tratamiento de semillas más aplicaciones al suelo. Se empleó un diseño aleatorizado, con 8 replicaciones, que luego se analizó según un diseño de parcelas divididas. Fueron mejores las aplicaciones al suelo más el tratamiento a la semilla, determinándose gran efectividad de las cepas Trichoderma 5 y Trichoderma 4 seguidos por Bacillus cereus. Las cepas de Trichoderma 1 y Trichoderma 2 necesitan estar más concentradas en el suelo para desarrollar buen antagonismo sobre Rhizoctonia solani.

VII. BIBLIOGRAPHIA
SUMMARY

Present work was carried out between July, 1975 and February, 1976, in order to look for antagonistic microorganisms of Rhizoctonia solani Kuehn on radish seedlings. Inoculations of Rhizoctonia solani at 15 days intervals, during 3 months were made; after, isolations were realized, obtaining 5 isolates of Trichoderma and 2 species of Bacillus, identified as Bacillus cereus and Bacillus subtilis.

Seedlings of microorganisms and Rhizoctonia solani in Petri dishes with PDA and in established cultures of pathogen were made, finding out higher effectivity of isolates 5 and 4 of Trichoderma, performing a mass invasion, yet in established cultures. Less effective was Bacillus cereus, performing and antagonism at distance, but did not invade established cultures.

In soils infested with Rhizoctonia solani, and with individual applications of antagonists, more effective were 5 and 4 isolates of Trichoderma. Immediately Bacillus cereus, Trichoderma 1 and Trichoderma 2. Bacillus subtilis and Trichoderma 6 were ineffective and phytotoxic.

Microorganisms were mixed with pest and sugar and radish seeds were treated; applications to soil and to seed + soil, were made; a randomized design, with 8 replications, analyzed as split-plot design, was used. Best results were applications to seed and soil, determining high effectivity of Trichoderma 5 and Trichoderma 4, followed by Bacillus cereus, Trichoderma 1 and 2 need higher concentration for developing a good antagonism.

9. MORFILL, H. G. y A. K. VII. BIBLIOGRAFIA. New York, Academic Press, 1960. 330 p.

1. ALEXANDER, M. Introduction to soil Microbiology. New York, Wiley, 1961. 462 p.
2. ASHAROVA, S. A. et al. Investigation on antagonists of phytopathogenic fungi among thermophilic actinomycetes. *Uzbarski Biologicheski Zhurnal* 18(1) : 9-11. 1974. (Original no consultado compendiado en *Review of Plant Pathology* 53(11): 879-880. 1974).
3. BLASCO, L., M. Microbiología de suelos. Turrialba, IICA, Costa Rica, 1970. 67 p.
4. BULLA, A. Fitopatología y control de enfermedades. Palmira, Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agropecuarias, 1972. 133 p. (Mimeografiado).
5. CERCOS, A. Los antibióticos y sus aplicaciones agropecuarias. Buenos Aires, Salvat, 1957. 475 p.
6. DENNIS, Y. y S. WESTER. Antagonistic properties of species groups of Trichoderma. I. Production of no-volatile antibiotics. II. Production of volatile antibiotics. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 57(1): 25-39; 41-48. 1971. (Original no consultado compendiado en *Review of Plant Pathology* 51(3): 202. 1972).
7. DUBOS, B. y J. L. RICARD. Curative treatment of peach trees against silver leaf disease (Stereum purpureum) with Trichoderma viride preparations. *Plant Disease Reporter* 58(2): 147-150. 1974. (Original no consultado compendiado en *Review of Plant Pathology* 53(11): 977. 1974).
8. DENNIS, Y. y J. INBAR. Effect of Facillus subtilis on growth and sclerotium formation by Rhizoctonia solani. *Phytopathology* 58(7): 933-938. 1968.

9. HORSFALL, H. G. y A. E. DIMOND. Plant pathology. New York, Academic Press, 1960. 1350 p.
10. KERR, A. y K. HTAY. Biological control of crow gall through bacteriocin production. *Physiological Plant Pathology* 4(1): 37-44. 1974. (Original no consultado compendiado en *Review of Plant Pathology* 53(9): 666. 1974).
11. KIRIK, N. N. y N. I. STERLYUK. Assessment of the effectiveness of *I. rovingii* Oud. in the biological control of fusariosis of pea. *Mirologiya i Fitopatologiya* 8(2): 108-112. 1974. (Original no consultado compendiado en *Review of Plant Pathology* 53(12): 1007. 1974).
12. KOLTIN, P. y CHORIN-KIESCH. Alteration of gungal morphology induced by substance from Bacillus cereus. *Gan microbial* 66(2): 145-151. 1971. (Original no consultado compendiado en *Review of Plant Pathology* 51(1): 72. 1972).
13. LIKHANCHEV, A. N. y V. B. VASIN. The use of Trichoderma lignorum (Tode) Harz. in the control of grey mould of strawberry. *Mirologiya i Fitopatologiya* 8(1): 37-42. 1974. (Original no consultado compendiado en *Review of Plant Pathology* 53(7): 546. 1974).
14. MATTIS, G. YA. y A. P. BADANOV. Biological method of controlling Fusarium disease of seedlings. *Lesnoe Khozyaistvo* No. 9, 58-60. 1973. (Original no consultado compendiado en *Review of Plant Pathology* 53(5): 427. 1974).
15. MORQUER, R. y A. TOUVET. Comparative action of antagonist fungi against various Hymenomycete parasites of resinous trees. *Compter Rendus Hebdomadaires des Seances de L'Academic des Sciences*, D. 278(6): 709-713. 1974. (Original no consultado compendiado en *Review of Plant Pathology* 53(10): 823-824. 1974).

16. SHISHELOVA, M. A. y V. D. FEDOROVA. Effect of antibiotics on pectic enzymes of plant parasites. Navehnye Doklady Visshei Shkoly, Biologicheskoe Nauri 17(1): 100-105. 1974. (Original no consultado compendiado en Review of Plant Pathology 53(10): 753. 1974).
17. SNEDECOR, G. W. Métodos estadísticos. Trad. del inglés por Angel Reinos Fuller. México, Continental, 1970. 626 p.
18. VARGAS R., M. A. Comprobación de la capacidad antagónica de algunos microorganismos del suelo frente a Rhizoctonia solani Kuehn en el Altiplano de Pasto. Tesis Ing. Agr. Pasto, Colombia, Universidad de Nariño, Facultad de Ciencias Agrícolas, 1975. 71 p. (Mecanografiada).
19. VLAKHOVS, Z. Antagonistic correlation of soil bacteria and fungi with phytopathogenic fungi. God. Saf. Univ. Biol. Fac. 59(2): 165-182. 1965. (Original no consultado compendiado en Review of Plant Pathology 46(10): 563. 1967).
20. WAKSMAN, S. Soil Microbiology. New York, John Wiley, 1957. 356 p.

ANÁLISIS DE LA COMPLEJIDAD A PARTIR DE LAS CARACTERÍSTICAS DEL LENGUAJE EN
 A CORRELACIÓN CON LA COMPLEJIDAD DEL LENGUAJE EN LOS DIFERENTES
 NIVELES DE DESARROLLO DEL LENGUAJE EN LOS NIÑOS.

APENDICE

Formas de Variación	N.º	S.º	C.º	T.º	S.º
Formas de palabras	1	20	1,00	0,10	0,05
Formas de frases	14	404	15,30		1,00
Formas de palabras y frases	14	70.821,05	19.117,59	394,23	2,10
Formas de palabras y frases	14	2.383,70	161,12	5,38	1,70
Formas de palabras y frases	98	2.945,02	30,27		2,75
Totales	136				

0,05 = No significativo
 0,01 = altamente significativo

TABLA I

ANALISIS DE VARIANCIA CORRESPONDIENTE A PLANTULAS VIVAS DE BABANO OBTENIDOS POR EL ANTAGONISMO DE
 ALGUNOS MICROORGANISMOS SOBRE Rhizoctonia solani Kuehn. A TRAVES DE DOS SIEMBRAS

Fuentes de Variación	G.L.	S.C.	C.M.	F.C.	F.T.	
					5%	1%
Sistemas de siembra	1	3,84	3,84	0,10 ^{NS}	4,60	8,86
Error (a)	14	494,20	35,30	---		
Tratamientos	7	70.821,05	10.117,29	334,23 ⁺⁺	2,10	2,82
Sistemas de siembra x Tratam.	14	2.283,78	163,12	5,38 ⁺⁺	1,79	2,26
Error (b)	98	2.966,62	30,27			
Total	134					

NS = No significativo
 ++ = Altamente significativo

TABLA II

ANÁLISIS DE VARIANCIAS CORRESPONDIENTE A PLANTAS VIVAS DE RABANO, DESPUÉS DEL TRATAMIENTO A LAS SEMILLAS, ADICIONES AL SUELO Y TRATAMIENTO A LAS SEMILLAS + ADICIONES AL SUELO DE MICROORGANISMOS ANTAGONICOS DE Rhizoctonia solani Kuehn

Fuentes de Variación	G.L.	S.C.	C.M.	F.C.	5%	1%	F.T.
Sistemas de siembra	2	3.583,91	1.791,95	86,19**	3,57	5,78	
Error (a)	21	436,59	20,79				
Tratamientos	7	54.918,04	7.845,43	395,03**	2,07	2,76	
Sistemas de siembra x Tratam.	14	4.147,74	296,26	14,91**	1,76	2,20	
Error (b)	147	2.920,87	19,86				
Total	191						

** = Altamente significativo

632.4

19643

V146n Valdivieso Idrobo, Jesús A.
Ej. 1

Nuevos microorganismos anta-
gonicos de Rhinocytia solani VENCE

NOMBRE Andres J. Ordenpi

No. del Carnet 77108198

NOMBRE Ivan Taticwan

AN
T
632.4
V146n
Ej.1.

19643