

EFFECTO DE DOS BACTERIAS EN EL DESARROLLO DE Botrytis cinerea Pers. y Fr.
EN EL ALTIPLANO DE PASTO

Por

LEONARDO ERASO GUERRERO

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

Presidente de Tesis
BENJAMIN SAÑUDO SOTELO I.A.

UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRICOLAS
PASTO - COLOMBIA
1975

T
AN
632 H
F.65
Ej. 1.

- II -

UNIVERSIDAD DE NARIÑO
DEPARTAMENTO DE BIBLIOTECAS
LIBRERÍA - COLOMBIA

No. 16956 El A
Valor \$1000 = Vol.
Fecha I-25-77 Den. X
Faci. Agradecemos
Librería Autar Comp.

A LA MEMORIA DE MI MAESTRO

A MI PADRE

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

A MIS HIJOS

Art. 10. del Acuerdo No. 324 de Octubre
11 de 1966, emanado del Honorable Conse-
jo Directivo de la Universidad de Nariño.

DEDICO :

RICARDO ERASO GUERRERO

AGRADECIMIENTOS A :

A LA MEMORIA DE MI MADRE

A MI PADRE

A MIS HERMANOS

A MI ESPOSA

A MIS HIJOS

A LA FAMILIA ERASO GUERRERO

A MIS AMIGOS

BERNABE CASASO SOTILO I.A.

LUIS LEONARDO GUERRERO I.A., P. T.

FRANCISCO HERRERA BERNABE I.A.

MAX GALLARDO LOPEZ I.A.

LUIS AGUILERA SIASCON

Facultad de Ciencias Agrícolas de la
Universidad de México

Con los presentes que en una o otra
forma colaboraron en el desarrollo
del presente trabajo

DEDICO :

LEONARDO ERASO GUERRERO

CONTENIDO

	Pág.
I. INTRODUCCION.	1
II. REVISION DE LITERATURA	3
2.1 Generalidades.	3
2.2 Algunas especies sobre control biológico de pe- tígenos con el género <i>Basillera</i>	3
III. MATERIALES Y METODOS	
	BENJAMIN SAÑUDO SOTELO I.A.
	LUCIO LEGARDA BURBANO I.A., M. Sc.
IV. RESULTADOS Y DISCUSION	6
4.1 Antagonismo en el suelo	6
4.2 Tratamiento de semillas de lechuga con las me- terias antagonistas	13
	MARINO ERAZO
	LUCY AGUILERA RIASCOS
V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	22
5.1 Conclusiones	22
5.2 Recomendaciones.	22
	Facultad de Ciencias Agrícolas de la Universidad de Nariño
VI. RESUMEN	
SUMMARY	
	Todas las personas que en una u otra forma colaboraron en el desarrollo del presente trabajo
VII. BIBLIOGRAFIA	
APENDICE	

CONTENIDO

	Pág.
I. INTRODUCCION.	1
FIGURA 1. Germinación de lechuga en <i>Bacillus subtilis</i> , antagonista de <i>Bacteriella brassicae</i>	9
II. REVISION DE LITERATURA	3
FIGURA 2.1 Generalidades.	3
2.2 Algunos aspectos sobre control biológico de patógenos con el género <i>Bacillus</i>	10
FIGURA 3. Efectos de las adiciones de materia orgánica y <i>Bacillus subtilis</i> sobre <i>Bacteriella brassicae</i> , patógeno de la lechuga.	3
III. MATERIALES Y METODOS	4
FIGURA 4.1 Antagonismo en el suelo de materia orgánica y <i>Bacillus subtilis</i>	18
4.2 Tratamiento de semillas de lechuga con las bacterias antagonistas	6
IV. RESULTADOS Y DISCUSION	6
FIGURA 5.1 Conclusiones	6
5.2 Recomendaciones.	13
V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.	22
5.1 Conclusiones	22
5.2 Recomendaciones.	22
VI. RESUMEN	23
SUMMARY	24
VII. BIBLIOGRAFIA.	25
APENDICE	26

TABLAS

		Pág.
TABLA VI.	Comparación de los promedios de germinación en la chuga después de la inoculación de <u>Botrytis cinerea</u>	
TABLA I.	Porcentajes de germinación en lechuga, obtenidos por el efecto antagónico de dos bacterias frente a <u>Botrytis cinerea</u> Pers. y Fr. en suelos con a - adiciones de materia orgánica y turba.	7
TABLA VII.	Tratamiento de semillas con dos bacterias antagó-	
TABLA II.	Comparación de los promedios de germinación en lechuga por el efecto antagónico de dos bacterias sobre <u>Botrytis cinerea</u> Pers. y Fr. Prueba de Stu- dent.	8
TABLA III.	Comparación de los promedios de germinación en lechuga por el efecto antagónico de dos bacterias sobre <u>Botrytis cinerea</u> Pers. y Fr. en suelos con adiciones de turba y materia orgánica. Prueba de Student.	11
TABLA IV.	Comparación de los promedios de germinación en la chuga por el efecto antagónico de la bacteria <u>Bacillus subtilis</u> sobre <u>Botrytis cinerea</u> Pers. y Fr. en suelos con adiciones de turba y materia orgánica. Prueba de Student	15
TABLA V.	Comparación de los promedios de germinación en la chuga, por el efecto antagónico de la bacteria <u>Bacillus cereus</u> sobre <u>Botrytis cinerea</u> Pers. y Fr. en suelos con adiciones de turba y materia orgáni- ca. Prueba de Student.	16

TABLA VI.	Comparación de los promedios de germinación en lechuga después de la inoculación de <u>Botrytis cinerea</u> Pers. y Fr. en suelos con adiciones de turba y materia orgánica. Prueba de Student.	17
TABLA VII.	Porcentajes de germinación en lechuga después del tratamiento de semillas con dos bacterias antagónicas de <u>Botrytis cinerea</u> Pers. y Fr.	20
TABLA VIII.	Comparación de los promedios de germinación en lechuga después del tratamiento de semillas con dos bacterias antagónicas de <u>Botrytis cinerea</u> Pers. y Fr. Prueba de Tukey	21

APENDICE

TABLA I.	Análisis de variancia para los promedios de germinación en lechuga por el efecto antagónico de dos bacterias sobre <u>Botrytis cinerea</u> Pers. y Fr. en suelos con adiciones de turba y materia orgánica.	1
TABLA II.	Análisis de variancia para los promedios de germinación en lechuga después del tratamiento de semillas con dos bacterias antagónicas de <u>Botrytis cinerea</u> Pers. y Fr.	2

EFEECTO DE DOS BACTERIAS EN EL DESARROLLO DE Botrytis cinerea Pers. y Fr.
con estas bacterias EN EL ALTIPLANO DE PASTO (,)

Por

LEONARDO ERASO GUERRERO

I. INTRODUCCION

Entre los fitopatógenos de importancia económica en el Departamento de Nariño, se destaca el hongo Botrytis cinerea ya que ataca a muchos cultivos produciendo pudriciones en diferentes órganos de las plantas.

Sin embargo, actualmente es un patógeno frecuentemente asociado con pudriciones de semillas y muerte de plántulas, en muchas hortalizas, especialmente en la lechuga, en la cual causa el "moho gris", enfermedad principal del cultivo.

Las enfermedades causadas por este hongo son fácilmente controladas con productos químicos; no obstante, se deben buscar otras formas de control, en los que se incluyen las prácticas culturales y el uso de microorganismos antagónicos.

El presente trabajo tuvo como objetivos :

I. Estudiar el efecto antagónico de las bacterias Bacillus subtilis y Bacillus cereus sobre Botrytis cinerea en condiciones de suelo

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

III. MATERIALES Y METODOS

II. REVISION DE LITERATURA

El presente trabajo se realizó entre los meses de Junio y Noviembre

2.1 Generalidades

Hunter, Robrbach y Konimoto (4) indican que Botrytis cinerea ataca a muchos cultivos durante periodos húmedos y frios, especialmente entre los 18 y 22°C, con una humedad relativa de 95 a 100%.

Garcia (3) anota que el hongo produce el "moho gris" de la lechuga, atacando inicialmente el tallo y las hojas que quedan en contacto con la tierra húmeda. La enfermedad se propaga hacia arriba a lo largo del tallo y al interior, a través de las capas sucesivas de las hojas, causando pudrición. En tiempos húmedos aparece un "moho gris" en los tejidos muertos.

Según Arce (1), el hongo Botrytis cinerea causa "damping-off" y pudrición suave en plantas de lechuga de diferentes edades. El patógeno persiste en el suelo por medio de esporas y esclerotes, y penetra directamente en los tejidos de la lechuga.

2.2 Algunos aspectos sobre control biológico de patógenos con el género Bacillus

La mayoría de trabajos realizados sobre control del patógeno, se han efectuado especialmente con la utilización de fungicidas. Sin embargo, nada se conoce sobre la utilización de microorganismos antagónicos contra dicho hongo.

La abundancia de las especies de Bacillus, como su fácil aislamiento y cultivo, han permitido estudiar sus propiedades antagónicas. La especie Bacillus subtilis es sin duda la bacteria esporulada del suelo más importante, en referencia a la producción de antibióticos. Se han logrado aislar y purificar gran cantidad de antibióticos que en su mayoría son polipeptidos como la bacitracina, simplexcina, bacilina, subtilina, eumicina, bacilomicina, etc. Estas sustancias son más activas en hongos, según cercos (2).

III. MATERIALES Y METODOS

El presente trabajo se realizó entre los meses de Junio y Noviembre de 1.975, en el laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Ciencias Agrícolas, de la Universidad de Nariño.

A partir de plantas de lechuga afectadas con Botrytis cinerea, se hicieron aislamientos del patógeno, por siembras de las estructuras en cajas Petri con PDA a pH de 5.5. Obtenido el desarrollo micelial se hicieron repicajes en tubos de ensayo con PDA acidificado e inclinado para purificar el hongo. Posteriormente, se realizaron siembras del hongo en erlenmeyers con trozos esterilizados de papa, para la multiplicación del inóculo.

Las especies de Bacillus antagónicas se multiplicaron en cajas Petri con PDA y Agar nutriente, a pH de 6.0, colocándolas a temperatura ambiente de laboratorio, para obtener buen desarrollo de las colonias.

Para realizar el ensayo sobre antagonismo, se hizo una mezcla de suelo con arena en proporción 3:1; se tamizó y se esterilizó en autoclave a 120°C por una hora. Una vez esterilizado el suelo se repartió en tres porciones, a dos de las cuales se les adicionó individualmente turba y estiércol de ganado molidos, en cantidad de 10 gramos por 100-gramos de suelo. La otra porción se utilizó sin ninguna adición.

Cada porción de las anotadas, se inoculó con Botrytis cinerea por mezcla del inóculo en suspensión acuosa con el suelo. Después de 3 días se subdividió en 3 partes para inocular una suspensión de Bacillus cereus, B. subtilis y dejar una como testigo.

Cada subporción se llevó a 8 materos de plástico y se sembraron por matero 100 semillas de lechuga variedad Rubia de verano. Lo anterior sirvió para realizar un diseño de parcelas divididas con base a un diseño irrestrictamente al azar con 8 replicaciones. Se tomó como variable las adiciones de turba y estiércol molido (tratamientos) y las bacterias antagónicas como sistemas.

IV. RESULTADOS Y DISCUSION.

Los materos se llevaron a cámaras de rocío. Al mes se hicieron lecturas sobre los porcentajes de plantas de lechuga germinadas y vivas. Dichos porcentajes se transformaron a arco seno $V\%$ de germinación. Se efectuó el respectivo análisis estadístico. (5).

Un suelo previamente esterilizado y luego infestado con Botrytis cinerea se dividió en tres porciones, cada una de las cuales sirvió para realizar un tratamiento de semillas de lechuga, con Bacillus cereus y Bacillus subtilis y sin tratamiento.

Para el tratamiento de las semillas inoculadas con cada una de las especies bacteriales, se realizó en una mezcla del 80% de turba fina esterilizada y 20% de peptona de caseína. A esta preparación se le adicionó el 40% de una suspensión de las bacterias de cada especie.

La mezcla anterior se llevó a secamiento, posteriormente se trataron las semillas de lechuga utilizando como adherente almibar de azúcar. El diseño empleado fué irrestrictamente al azar con 7 replicaciones; cada replicación consistió en un matero, en el cual se sembraron 100 semillas de lechuga.

Los materos se llevaron a cámaras de rocío y al mes se sacó los porcentajes de plantas germinadas y sanas. Estos porcentajes se transformaron a arco seno $V\%$ de germinación, con el respectivo análisis estadístico.

IV. RESULTADOS Y DISCUSION.

4.1 Antagonismo en el suelo

El hongo Botrytis cinerea, es el principal causante de las pérdidas en la germinación de la lechuga en los semilleros, necesitando protección en esta etapa. En la tabla I se consignan los porcentajes originales de germinación de la lechuga, obtenidos después de inocular el patógeno y las bacterias antagonicas Bacillus cereus y Bacillus subtilis en suelo esterilizado, con adición de turba y materia orgánica.

En la tabla I del Apéndice, se observa el análisis de variancia que permitió obtener diferencias altamente significativas entre : las bacterias antagonicas y el patógeno, las adiciones al suelo de turba y materia orgánica y la interacción bacterias antagonicas y patógeno por adiciones al suelo.

En la tabla II se comparan los promedios de germinación de lechuga obtenidos como resultado del antagonismo. La prueba de Student indica que la bacteria Bacillus cereus tuvo un efecto antagonico superior al de Bacillus subtilis sobre Botrytis cinerea, con respecto a la germinación (Fig. I). En suelos inoculados unicamente con Botrytis cinerea la germinación fué muy escasa (Fig. 2).

Se observa, de acuerdo a lo anterior, que Bacillus cereus puede producir sustancias antibióticas más específicas contra el patógeno. La especie B. subtilis posiblemente puede producir sustancias antibióticas para la germinación de la lechuga, o que dicha sustancias esten en concentraciones tan bajas que favorezcan el desarrollo del patógeno en estudio. Al respecto Cercos (2) afirma que bajas concentraciones de ciertos antibióticos como la actidiona permiten mejor desarrollo de Botrytis cinerea.

TABLA I

PORCENTAJES DE GERMINACION EN LECHUGA OBTENIDOS POR EL EFECTO ANTAGONICO DE DOS BACTERIAS FRENTE A Botrytis cinerea Pers. y Fr. EN SUELOS CON ADICIONES DE MATERIA ORGANICA Y TURBA

		Suelo	Suelo + materia orgánica	Suelo + turba
<u>Botrytis cinerea</u> Contra <u>Bacillus subtilis</u>	I	48	30	32
	II	24	26	36
	III	32	52	36
	IV	18	36	52
	V	22	38	28
	VI	28	36	24
	VII	24	24	42
	VIII	44	38	46
	Total	240	280	296
$\bar{X}$		30	35	37
<u>Botrytis cinerea</u> Contra <u>Bacillus cereus</u>	I	42	70	60
	II	38	64	60
	III	34	48	56
	IV	28	56	60
	V	36	46	70
	VI	46	24	74
	VII	36	36	64
	VIII	38	34	50
	Total	298	378	494
$\bar{X}$		37,25	47,25	61,75
<u>Botrytis cinerea</u> (Testigo)	I	8	6	2
	II	12	2	0
	III	6	0	6
	IV	2	0	2
	V	0	4	0
	VI	4	2	4
	VII	0	8	2
	VIII	6	0	0
	Total	38	22	16
$\bar{X}$		4,75	2,75	2,0

TABLA II

COMPROBACIÓN DE LOS PROMEDIOS DE GERMINACIÓN EN LECHUGA
POR EL EFECTO ANTAGONICO DE DOS BACTERIAS SOBRE Botrytis cinerea Pers. y Fr.
PRUEBA DE STUDENT

	<u>Bacillus</u> <u>cereus</u> contra <u>Botrytis</u> <u>cinerea</u> 94.88	<u>Bacillus</u> <u>subtilis</u> contra <u>Botrytis</u> <u>cinerea</u> 74.47
<u>Botrytis cinerea</u>	83.76 ⁺⁺	63.35 ⁺⁺
Contra	11.12	
<u>Bacillus subtilis</u>		
<u>Botrytis cinerea</u>	20.41 ⁺⁺	
Contra		
<u>Bacillus cereus</u>	74.47	
<u>Botrytis cinerea</u>	94.88	

++ : Significa tivo al nivel del 1%

t 5% = 2,08

t 1% = 2,83

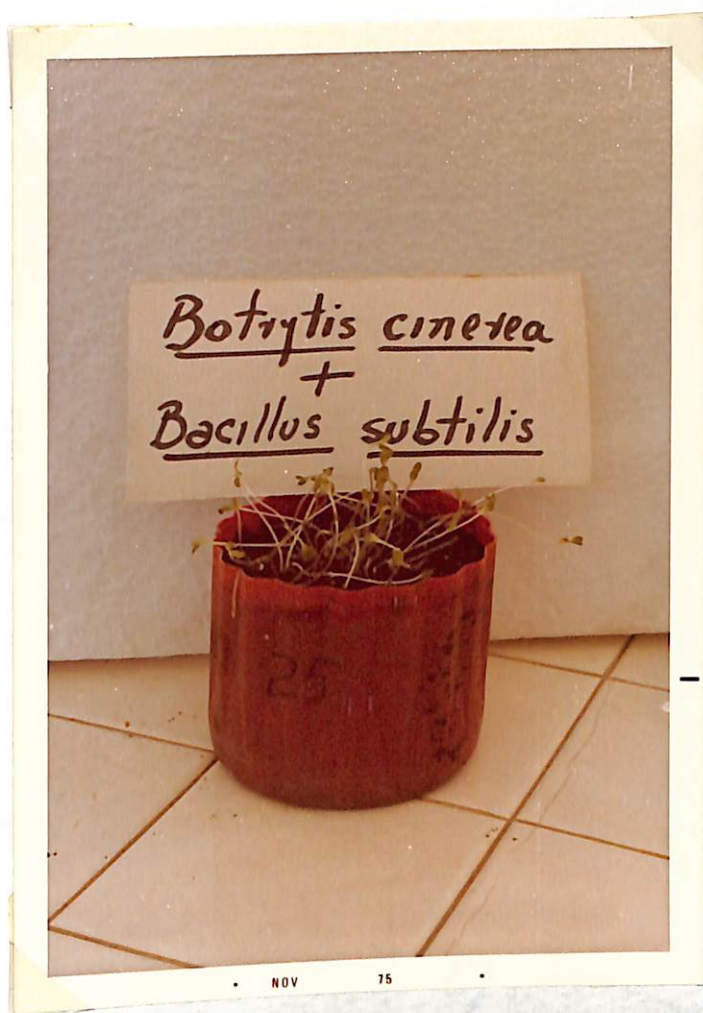


Figura 1. Germinación de lechuga en Bacillus cereus antagónico de Botrytis cinerea

Foto : Mans.

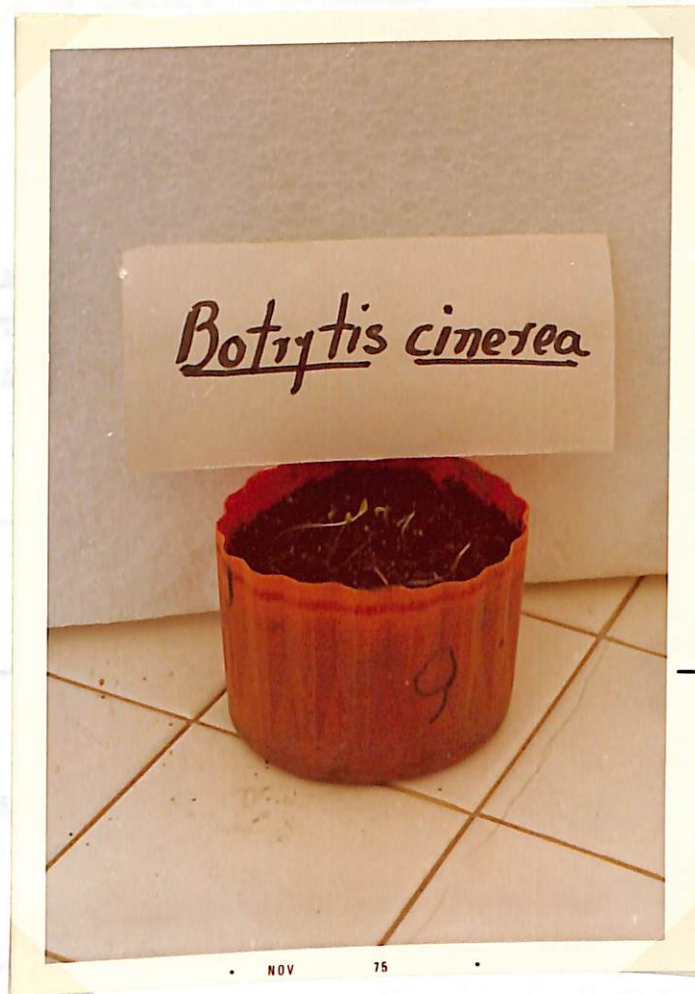


Figura 2. Escasa germinación de la lechuga por el ataque de Botrytis cinerea a las semillas.

Foto : Manz.

En la tabla III se comparan los promedios de germinación de lechuga en suelos inoculados con el patógeno y las bacterias antagonistas, tomando de base la influencia de las adiciones de turba y materia orgánica. Las adiciones de turba en el suelo, permitieron mayores germinaciones de lechuga en comparación con las de materia orgánica y suelo sin adición de ninguna sustancia. Además, con las adiciones de turba, hubo mayor antagonismo que en un suelo sin turba. Lo anterior, se explica debido a que los antibióticos producidos por los antagonistas, se adsorben mejor en las partículas de turba, las cuales pueden constituir un medio favorable para el desarrollo de dichos microorganismos. La adsorción de los antibióticos es menor en materia orgánica, debido a que esta se encuentra en proceso de mineralización, en la cual se producen compuestos que desplazan la sustancias antibióticas y enriquecen su acción. Además la materia orgánica puede constituir un sustrato para el mejor desarrollo de *Botrytis cinerea*. En suelos sin adiciones ocurre mayor pérdida de los antibióticos y las bacterias antagonistas, por lo que se encuentran un medio óptimo para su desarrollo.

TABLA III

COMPARACION DE LOS PROMEDIOS DE GERMINACION EN LECHUGA POR EL EFECTO ANTAGONICO DE DOS BACTERIAS SOBRE *Botrytis cinerea* Pers. y Fr. EN SUELOS CON ADICIONES DE TURBA Y MATERIA ORGANICA. PRUEBA DE STUDENT

	Suelo + turba	Suelo + materia orgánica
	8,76	5,49

Suelo	3,25	5,51 ⁺⁺	2,24 ⁺
Suelo + materia orgánica	5,49	3,27 ⁺⁺	
Suelo + turba	8,76	—	

En el caso de *Bacillus subtilis* contra *Botrytis cinerea*, las adiciones de turba y materia orgánica permitieron mayores germinaciones de lechuga. La adición de materia orgánica siguió siendo significativa al nivel del 1% y al nivel del 5%. En efecto, respecto a suelo solo, no se presentaron diferencias entre las adiciones de turba y materia orgánica para la germinación de las semillas, debido a que el mayor contenido de sustancias antibióticas en turba pueden resultar perjudicial para las semillas. En materia orgánica hay menor concentración de antibióticos y permite mayor desarrollo de *Botrytis cinerea* (Figura 3). El suelo sin adiciones hay mayor pérdida de los antibióticos por volatilización o percolación, observándose por lo tanto menor efecto en la germinación.

++ : Significativo al nivel del 1%
 + : Significativo al nivel del 5%
 t 5% = 2,02
 t 1% = 2,70

En la tabla III se comparan los promedios de germinación de lechuga en suelos inoculados con el patógeno y las bacterias antagónicas, tomando de base la influencia de las adiciones de turba y materia orgánica. Las adiciones de turba en el suelo, permitieron mayores germinaciones de lechuga en comparación con las de materia orgánica y suelo sin adición de ninguna sustancia. Además, con las adiciones de turba, hubo mayor antagonismo que en un suelo sin turba. Lo anterior, se explica debido a que los antibióticos producidos por los antagonicos, se adsorben mejor en las partículas de turba, las cuales pueden constituir además un medio favorable para el desarrollo de dichos microorganismos. La adsorción de los antibióticos es menor en materia orgánica, debido a que esta se encuentra en proceso de mineralización, en la cual se producen compuestos que desplazan la sustancias antibióticas y enmascaran su acción. Además la materia orgánica puede constituir un substrato para el mejor desarrollo de Botrytis cinerea. En suelos sin adiciones ocurre mayor pérdida de los antibióticos y las bacterias antagónicas no encuentran un medio optimo para su desarrollo.

En las tablas IV, V y VI se comparan los promedios de germinación en los diferentes substratos, obtenidos con las inoculaciones de Bacillus subtilis contra Botrytis cinerea, Bacillus cereus contra Botrytis cinerea, y Botrytis cinerea (testigo).

En el caso de Bacillus subtilis contra Botrytis cinerea, las adiciones de turba en el suelo determinaron mayores germinaciones de lechuga que en suelos sin adición. La adición de materia orgánica siguió en efectividad con respecto a suelo solo, no se presentaron diferencias entre las adiciones de turba y materia orgánica para la germinación de las semillas, debido a que el mayor contenido de sustancias antibióticas en turba pueden resultar perjudicial para las semillas. En materia orgánica hay menor concentración de antibióticos y permite mayor desarrollo de Botrytis cinerea (Figura 3). El suelo sin adiciones hay mayor pérdida de los antibióticos por volatilización o percolación, observándose por lo tanto menor efecto en la germinación.

La bacteria Bacillus cereus fue más activa en suelos con adiciones de turba que con adición de materia orgánica, como en suelo sin adiciones. En la turba se concentran en mayor proporción las sustancias antibióticas, que atacan a Botrytis cinerea pero que no inhiben la germinación de las semillas como el caso de Bacillus subtilis (Figura 4). Además, la materia orgánica permitió mayor germinación de la lechuga que en el suelo sin adiciones por la adsorción de sustancias antibióticas.

En suelo inoculado con Botrytis cinerea produce mayor germinación que en suelos tratados con turba y materia orgánica más el patógeno. En este caso él se desarrolló mejor en las adiciones de materia orgánica y turba. Bajo estas condiciones al adicionar materia orgánica las germinaciones fueron ligeramente superiores al tratamiento con turba, debido a que la materia orgánica en su proceso de descomposición continuada determina una mayor acumulación de sustancias, como anhídrido carbónico, - el cual ejerce efecto nocivo para el hombre.

4.2 Tratamiento de semillas de lechuga con las bacterias antagónicas en suelos infestados con Botrytis cinerea.

En la tabla VII, se consignan los porcentajes originales de germinación de la lechuga, como resultado de este ensayo, se observa que los tratamientos de semillas con Bacillus cereus, son prometedores. En la tabla II del Apéndice se observa el análisis de variancia, donde se presentan las diferencias altamente significativas entre los tratamientos de la semilla de lechuga con las bacterias antagónicas.

En la tabla VIII, se incluye la prueba de Tukey para la comparación de los promedios de germinación con el tratamiento de las semillas para las bacterias antagónicas y su siembra en el suelo contaminado con Botrytis cinerea. Se observó que el tratamiento a las semillas con Bacillus cereus permitió germinaciones estadísticamente superiores respecto a Bacillus subtilis, y al testigo. En el resto no se presentaron diferencias, es más efectiva Bacillus cereus para proteger a las semillas por la mayor concentración de sustancias antibióticas.

Además, no hay fitotoxicidad como en el caso de Bacillus subtilis el cual al estar en contacto con las semillas, hace que las sustancias - antibióticas inhiban notablemente la germinación de la lechuga.

TABLA IV

COMPARACION DE LAS PROPENSIONES DE GERMINACION EN LECHEUGA
POR EL EFECTO ANTAGONICO DE LA BACTERIA Bacillus subtilis
SOBRE Spizella cinerea Pers. y Fr. EN SUELOS CON ABIGICIONES DE
TURBA Y MATERIA ORGANICA. PRUEBA DE STUDENT

	Suelo + turba	Suelo + materia orgánica
	6,19	3,44
Suelo	3,38	2,91 ⁺⁺
Suelo + materia orgánica	5,44	0,75 ^{MS}
Suelo + turba	6,19	—

++ : Significativo al nivel del 1%
+ : Significativo al nivel del 5%
MS : No significativo
t 1% = 2,71
t 5% = 2,13

TABLA IV

COMPARACION DE LOS PROMEDIOS DE GERMINACION EN LECHUGA
POR EL EFECTO ANTAGONICO DE LA BACTERIA Bacillus subtilis
SOBRE Botrytis cinerea Pers. y Fr. EN SUELOS CON ADICIONES DE
TURBA Y MATERIA ORGANICA. PRUEBA DE STUDENT

	Suelo + turba	Suelo + materia orgánica
	6,19	5,44
Suelo	3,28	2,91 ⁺⁺
Suelo + materia orgánica	5,44	0,75 ^{NS}
Suelo + turba	6,19	—

++ : Significativo al nivel del 1%
+ : Significativo al nivel del 5%
NS : No significativo
t 1% = 2,91
t 5% = 2,15

TABLA V

COMPARACION DE LOS PROMEDIOS DE GERMINACION EN LECHUGA
POR EL EFECTO ANTAGONICO DE LA BACTERIA Bacillus cereus
SOBRE Botrytis cinerea Pers. y Fr. EN SUELOS CON ADICIONES
DE TURBA Y MATERIA ORGANICA. PRUEBA DE STUDENT

		Suelo + turba	Suelo + materia orgánica
		15,46	16,47
Suelo	6,05	9,41 ⁺⁺	5,80 ⁺⁺
Suelo + materia orgánica	16,47	8,42	—
Suelo + turba	15,46	—	—

++ : Significativo al nivel del 1%

t 5% = 2,02

t 1% = 2,70

t 5% = 2,02

t 1% = 2,70

TABLA VI

COMPARACION DE LOS PROMEDIOS DE GERMINACION EN LECHUGA
DESPUES DE LA INOCULACION DE Botrytis cinerea Pers. y Fr. EN
SUELOS CON ADICIONES DE TURBA Y MATERIA ORGANICA. PRUEBA DE STUDENT

		Suelo 5,88	Suelo + materia orgánica 3,57
Suelo + turba	3,10	2,78 ⁺⁺	0,47 ^{NS}
Suelo + materia orgánica	3,57	2,31 ⁺	—
Suelo	5,88	—	—

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

t 5% = 2,02
t 1% = 2,70



Figura 3. Efecto de las adiciones de materia orgánica y turba en el antagonismo de Bacillus subtilis sobre Botrytis cinerea, patógeno de la lechuga

Foto : Manz.

TABLA VII



Figura 4. Efecto de las adiciones de materia orgánica y turba en el antagonismo de Bacillus cereus sobre Botrytis cinerea, patógeno de la lechuga.

Foto : Manz.

TABLA VII

PORCENTAJES DE GERMINACION EN LECHUGA DESPUES DEL TRATAMIENTO DE SEMILLAS
CON DOS BACTERIAS ANTAGONICAS DE Botrytis cinerea Pers. y Fr.

DE Botrytis cinerea Pers. y Fr. PRUEBA DE TUCKER

	Testigo	<u>Bacillus cereus</u>	<u>Bacillus subtilis</u>
I	6	35	3
II	1	27	2
III	1	30	5
IV	10	40	8
V	3	22	10
VI	7	23	1
VII	3	21	2
Total	31	198	31

++ = Significativo al nivel del 1%

= No significativo

t 1% = 11.00

V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

TABLA VIII

5.1.1 El hongo *Botrytis cinerea* produce disminuciones notorias en la germinación de la lechuga.

COMPARACION DE LOS PROMEDIOS DE GERMINACION EN LECHUGA DESPUES DEL TRATAMIENTO DE SEMILLAS CON DOS BACTERIAS ANTAGONICAS DE *Botrytis cinerea* Pers. y Fr. PRUEBA DE TUKEY como antagonistas de *Botrytis cinerea*.

5.1.3 *Bacillus subtilis* produce sustancias antibióticas fito-

		<u>Bacillus</u> <u>cereus</u>	<u>Bacillus</u> <u>subtilis</u>
		31,99	11,37
Testigo	9,82	22,17 ⁺⁺	1,55 ^{NS}
<i>B. cereus</i>	11,37	20,62 ⁺⁺	—
<i>B. subtilis</i>	31,99	—	—

++ : Significativo al nivel del 1%
NS : No significativo

t 5% = 9,06

t 1% = 11,80

5.1.2 Iniciar la etapa de control biológico de patógenos que se hacen a los insectos aéreos en plantas de importancia económica.

V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

5.1.1 El hongo Botrytis cinerea produce disminuciones notorias en la germinación de la lechuga.

5.1.2 La bacteria Bacillus cereus, incorporada al suelo, y en tratamiento a las semillas de lechuga, fue superior a Bacillus subtilis, como antagonista de Botrytis cinerea.

5.1.3 Bacillus subtilis produce sustancias antibióticas fitotóxicas sobre la lechuga.

5.1.4 Las adiciones de turba en el suelo, determinaron mayor capacidad antagonista de la bacteria Bacillus cereus sobre Botrytis cinerea.

5.1.5 Las adiciones de materia orgánica son igualmente efectivas que las de turba en el antagonismo de Bacillus subtilis sobre Botrytis cinerea.

5.2 Recomendaciones

5.2.1 Verificar el antagonismo de Bacillus cereus sobre Botrytis cinerea a nivel de campo, en comparación de Bacillus subtilis.

5.2.2 Buscar nuevos microorganismos antagonistas de Botrytis cinerea.

5.2.3 Iniciar la etapa de control biológico de patógenos que atacan a los órganos aéreos en plantas de importancia económica.

VI. RESUMEN

El presente trabajo se realizó entre los meses de Junio y Noviembre de 1975, en el laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad de Nariño, con el objeto de observar el efecto antagónico de las bacterias Bacillus cereus y Bacillus subtilis sobre Botrytis cinerea causante de pudrición de las semillas de lechuga.

Se purificaron y multiplicaron las bacterias y el patógeno. Se inocu- laron en suelo esterilizado, al cual se hizo adiciones de turba y materia orgánica. El diseño empleado fue de parcelas divididas con 8 replicaciones en base a un diseño irrestrictamente al azar. Después de un mes de la siem- bra de semillas de lechuga, se hizo el conteo de plántulas sanas. Luego, se realizó el análisis estadístico para determinar que la bacteria Bacillus cereus ejerció mayor antagonismo sobre Botrytis cinerea, especialmente cuan- do al suelo se le adicionó turba.

A cada una de las bacterias, se les hicieron cultivos puros para lograr una suspensión bacterial, la cual se mezcló en proporción del 40% con un pre- parado a base de 80% de turba + 20% de peptona de caseína. Con lo anterior se trataron semillas de lechuga previamente colocadas en almíbar de azúcar. Luego, se sembraron en suelo infestado con Botrytis cinerea. El diseño em- pleado fue de bloques al azar con 7 replicaciones. Los mejores resultados se obtuvieron con Bacillus cereus, mientras que Bacillus subtilis inhibió notablemente la germinación de las semillas de lechuga.

VII. BIBLIOGRAFIA

SUMMARY

1. ANGE, R. J. The damage caused by B. cinerea in glass-houses and its

This work was carried out between June to November, 1975, in the Phytopathology laboratory at the Agronomic Sciences Faculty of the Nariño University, to observe the antagonistic effect of the bacteria Bacillus cereus and Bacillus subtilis on Botrytis cinerea which is the cause of the seed lettuce rotting.

2. GARCIA, L. C. Control of diseases of glass-house crops and studies on soil. Review of plant pathology 21(4) 1973.

The bacteria were purified and multiplied and the same for the pathogen. They were inoculated to the sterilized soil, which was added peat and organic matter. The used design was split plots with 8 replications with the base a strictly randomized design. A month after the lettuce planting, it was made a same plants counting. Then, it was made an estadistical analysis to determine that the bacterium Bacillus cereus exerts a highly antagonism on Botrytis cinerea, specially when it was added peat to the soil.

It was made a pure culture to each one of the bacteria to obtain a bacterial suspension, which was mixed with a special preparation in a relation of 40%. The preparation consisted of 80% peat and 20% of peptone caseine. The lettuce seeds were treated with the above solution previously the seeds wetted in sugar agar. Then, they were put in the soil bed infected with Botrytis cinerea. The used design was randomized blocks with 7 replications. The best results were obtained with Bacillus cereus, while Bacillus subtilis highly inhibited the lettuce germination.

VII. BIBLIOGRAFIA

1. ARCE, R. J. The damage caused by B. cinerea in glass-houses and its control on lettuce. Horticultural Abstracts 41(9): 771 p. 1971.
2. CERCOS, A. J. Selective media to distinguish between two Botrytis - species on cereus. Phytopathology 57(6): 658 p. 1972.
3. GARCIA, L. C. Control of diseases of glass-house crops and ornamentals. Review of plant pathology 51(4): 175 p. 1972.
4. HUNTER, J. E., RONBRACH, K. G. y KONIMOTO, R. K. Epidemiology of Botrytis cinerea. Academia Racemans Phytopathology 62 (7): 316-319 p. 1972.
5. SNEDECOR, G. W. Métodos estadísticos. Trad. del inglés por Angel Reynosa Fuller. México, Continental, 626 p. 1970.

APENDICE

APENDICE

C.A.	C.A.	C.A.	C.A.	C.A.	C.A.
Rendite A. 10.10.1944	10.10.1944	10.10.1944	10.10.1944	10.10.1944	10.10.1944
Rendite A. 10.10.1944	10.10.1944	10.10.1944	10.10.1944	10.10.1944	10.10.1944
Rendite A. 10.10.1944	10.10.1944	10.10.1944	10.10.1944	10.10.1944	10.10.1944
Rendite A. 10.10.1944	10.10.1944	10.10.1944	10.10.1944	10.10.1944	10.10.1944
Rendite A. 10.10.1944	10.10.1944	10.10.1944	10.10.1944	10.10.1944	10.10.1944
Rendite A. 10.10.1944	10.10.1944	10.10.1944	10.10.1944	10.10.1944	10.10.1944
Rendite A. 10.10.1944	10.10.1944	10.10.1944	10.10.1944	10.10.1944	10.10.1944
Rendite A. 10.10.1944	10.10.1944	10.10.1944	10.10.1944	10.10.1944	10.10.1944

TABLA I

ANALISIS DE VARIANCIA PARA LOS PROMEDIOS DE GERMINACION EN LECHUGA
 POR EFECTO ANTAGONICO DE DOS BACTERIAS SOBRE Botrytis cinerea Pers. y Fr.
 EN SUELOS CON ADICIONES DE TURBA Y MATERIA ORGANICA

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F.C.	5%	1%
Bacterias antagonicas	2	16.939,55	8.469,78	3.635,09**	3,46	5,78
Residuo (a)	21	48,88	2,33			
Adiciones al suelo	2	281,62	140,81	15,47**	3,23	7,30
Bacterias antagonicas x Adiciones al suelo	4	754,77	188,69	20,73**	2,61	3,80
Residuo (b)	42	382,04	9,10			

F.V.	=	Fuente de variación	C.M.	=	Cuadrado medio
G.L.	=	Grados de libertad	F.C.	=	F calculado
S.C.	=	Suma de cuadrados	Ft.	=	F de la tabla

TABLA II

ANÁLISIS DE VARIANCIA PARA LOS PROCEDIMIENTOS DE GERMINACIÓN EN LECHECA
DESPUES DEL TRATAMIENTO DE SEMILLAS CON DOS BACTERIAS ANTAGONICAS DE Botrytis cinerea Pers. y Fr.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F.C.	5%	1%
Bacterias	2	2.142,74	1.021,37	22,98**	3,55	6,01
Residuo	18	800,76	44,43			

F.V. = Fuente de variación
G.L. = Grados de libertad
S.C. = Suma de cuadrados
C.M. = Cuadrado Medio
F.C. = F calculado
Ft. = F de la tabla

632.4

16956

E 65

Eraso Guerrero, Leonardo

Ej. 1

Efecto de dos bacterias en el
desarrollo de Botrytis cinerea

VENCE

NOMBRE

Monica Usama

153

No. del Carnet

NOMBRE

Mano Soltero

No. del Carnet

NOMBRE

Aracelly Givolo

No. del Carnet

200031202

NOMBRE

Evelin Rosero

No. del Carnet

27031245

09 MAY 2000

AN

T

632.4

E65

Ej.1.

16956