

COMPROBACION DE LA CAPACIDAD ANTAGONICA DE ALGUNOS
MICROORGANISMOS DEL SUELO FRENTE A Rhizoctonia solani Kuenhn.
EN EL ALTIPLANO DE PASTO

POR

MIGUEL ANGEL VARGAS ROSERO la Tesis
de Grado, con la responsabilidad exclusiva de
sus autores.

Tesis de Grado presentada como requisito parcial
Artículo 22 del Decreto 2434 de Octubre 11 de
1962, expedido por el Honorable Consejo Directivo
de la Universidad de Nariño.

BENJAMIN SAÑUDO SOTELO, I.A.

Presidente de Tesis

UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRICOLAS
PASTO - COLOMBIA

1.975

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

Artículo 1º del Acuerdo N° 324 de Octubre 11 de 1966, emanado del Honorable Consejo Directivo de la Universidad de Nariño.

MIGUEL ANGEL VAUGHAN ROSERO

A:

MIS PADRES

MI HERMANA

MI ABUELA

ALBA

BENJAMIN SAÑUDO SOTELO, I.A.

LA FAMILIA OSORIO DIAGO

LA FAMILIA VARGAS ROSERO

MIS AMIGOS

DEDICO:

MIGUEL ANGEL VARGAS ROSERO

CONTENIDO

	Pág.
I. INTRODUCCION.	1
II. REVISION DE LITERATURA.	3
2.1 Generalidades.	3
2.1.1 Relaciones entre microorganismos.	3
2.1.2 Efectos antagonicos.	3
2.2 Antibioticos.	4
2.3 Microorganismos antagonicos.	6
2.4 Bacterias productoras de antibioticos.	8
2.5 El Aspergillus niger como productor de antibioticos.	9
2.6 El Trichoderma sp. como productor de antibioticos.	10
AGRADECIMIENTOS A:	
LUIS OBANDO GUERRERO, I.A.	
ARMANDO RAMOS ORDOÑEZ, I.A.	
VICTOR MONTENEGRO GALVEZ, I.A., M.Sc.	
JOAQUIN GAMBOA JAIMES, I.A., M.Sc.	
La Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad de Nariño.	
III. MATERIALES Y METODOS.	11
IV. RESULTADOS Y DISCUSION.	12
4.1 Observaciones.	12
4.1.1 Signos de antagonismo.	12
4.1.1.1 Aspergillus niger sp.	12
4.1.1.2 Aspergillus niger sp.	12
4.1.1.3 Trichoderma sp.	17
4.1.1.4 Trichoderma sp. (posiblemente	
Trichoderma reesei)	17
4.1.1.5 Rhizoglyphus solani	18

CONTENIDO

	Pág.
I. INTRODUCCION.	1
II. REVISION DE LITERATURA.	3
2.1 Generalidades.	3
2.1.1 Relaciones entre microorganismos.	3
2.1.2 Efectos antagónicos	3
2.1.3 Antibióticos.	4
2.2 Microorganismos antagónicos.	6
2.3 Bacterias productoras de antibióticos.	8
2.4 El <u>Aspergillus niger</u> como productor de anti- bióticos	9
2.5 El <u>Trichoderma</u> sp. como productor de anti- bióticos	10
III. MATERIALES Y METODOS.	11
IV. RESULTADOS Y DISCUSION.	16
4.1 Observaciones en caja Petri con PDA.	16
4.1.1 Siembras individuales	16
4.1.1.1 <u>Acrostalagmus</u> sp.	16
4.1.1.2 <u>Aspergillus niger</u>	16
4.1.1.3 <u>Trichoderma</u> sp.	17
4.1.1.4 <u>Bacillus</u> sp. (posiblemente <u>Bacillus cereus</u>)	17
4.1.1.5 <u>Rhizoctonia solani</u>	18

	Pág.
4.1.2 Siembras opuestas	18
4.1.2.1 <u>Acrostalagmus</u> sp. + <u>Rhizoc-</u> <u>tonia solani</u>	18
4.1.2.2 <u>Aspergillus niger</u> + <u>Rhizoc-</u> <u>tonia solani</u>	19
4.1.2.3 <u>Trichoderma</u> sp. + <u>Rhizocto-</u> <u>nia solani</u>	22
4.1.2.4 <u>Bacillus</u> sp. (posiblemente <u>Bacillus cereus</u>) + <u>Rhizoc-</u> <u>tonia solani</u>	25
4.1.3 Siembra conjunta.	25
4.1.3.1 <u>Acrostalagmus</u> sp. + <u>Rhizoc-</u> <u>tonia solani</u>	25
4.1.3.2 <u>Aspergillus niger</u> + <u>Rhizoc-</u> <u>tonia solani</u>	28
4.1.3.3 <u>Trichoderma</u> sp. + <u>Rhizocto-</u> <u>nia solani</u>	28
4.1.3.4 <u>Bacillus</u> sp. (posiblemente <u>Bacillus cereus</u>) + <u>Rhizoc-</u> <u>tonia solani</u>	30
4.1.4 Siembra posterior de los antagonicos sobre cultivos establecidos de <u>Rhi-</u> <u>zootonia solani</u>	30
4.1.5 Efecto de los microorganismos anta- gónicos entre sí.	32

	Pág.
4.2 Ensayo de suelo.	32
4.2.1 Siembras de repollo.	32
4.2.2 Siembra de lechuga.	39
4.2.3 Siembra de remolacha.	44
4.2.4 Siembra de zanahoria.	53
V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.	58
5.1 Conclusiones.	58
5.2 Recomendaciones.	59
VI. RESUMEN.	61
SUMMARY.	63
VII. BIBLIOGRAFIA.	65
APENDICE.	67
IV. Prueba de Tukey para los promedios de plántulas vivas de lechuga en suelo ino- culado con diferentes microorganismos.	61
V. Porcentajes de plántulas vivas de zanahoria en suelo inoculado con diferentes mi- croorganismos antagonistas del suelo.	65
VI. Prueba de Tukey para los promedios de plántulas vivas de remolacha en suelo inoculado con diferentes microorgani- smos antagonistas de <i>Helicoverpa zea</i>	67

T A B L A S

Pág.

Pág.

Tabla I.	Porcentajes de plantas vivas de repollo durante dos siembras, en suelo inoculado con diferentes microorganismos antagónicos de <u>Rhizoctonia solani</u>	35
Tabla II.	Prueba de Tukey para los promedios generales de plántulas vivas de repollo en suelo inoculado con diferentes microorganismos antagónicos de <u>Rhizoctonia solani</u>	37
Tabla III.	Porcentajes de plántulas vivas de lechuga en suelo inoculado con diferentes microorganismos antagónicos de <u>Rhizoctonia solani</u>	40
Tabla IV.	Prueba de Tukey para los promedios de plántulas vivas de lechuga en suelo inoculado con diferentes microorganismos. .	41
Tabla V.	Porcentajes de plántulas vivas de remolacha en suelo inoculado con diferentes microorganismos antagónicos del suelo. . .	45
Tabla VI.	Prueba de Tukey para los promedios de plántulas vivas de remolacha en suelo inoculado con diferentes microorganismos antagónicos de <u>Rhizoctonia solani</u> . .	47

Tabla VII.	Porcentajes de plántulas vivas de zanahoria en suelo inoculado con diferentes microorganismos antagonicos de <u>Rhizoctonia solani</u> .	54
Figura 1.	Entre los dos microorganismos	20
Tabla VIII.	Prueba de Tukey para los promedios de plántulas vivas de zanahoria en suelo inoculado con diferentes microorganismos antagonicos de <u>Rhizoctonia solani</u> .	55
Figura 2.	Cultivos viejos del segundo (2)	21
Figura 3.	Antagonismo entre el <u>Aspergillus niger</u> y el <u>Rhizoctonia solani</u>	23
Figura 4.	Inversión del <u>Aspergillus niger</u> sobre cultivos viejos del <u>Rhizoctonia solani</u>	24
Figura 5.	Impulso total del <u>Trichoderma</u> sp. sobre el <u>Rhizoctonia solani</u>	25
Figura 6.	Antagonismo a distancia del <u>Penicillium</u> sp. (posiblemente <u>Penicillium notatum</u>) sobre el <u>Rhizoctonia solani</u>	27
Figura 7.	Predominio total del desarrollo del <u>Trichoderma</u> sp. sobre el del <u>Rhizoctonia solani</u> en siembra conjunta de los 2 microorganismos	29

ILUSTRACIONES

Pág.

- Figura 1. Antagonismo entre el Acrostalagmus sp. y el Rhizoctonia solani, el cual forma zona de acordonamiento en el sitio de unión entre los dos microorganismos 20
- Figura 2. Estado inicial (A) de antagonismo entre el Acrostalagmus sp. y el Rhizoctonia solani, e invasión final del primer hongo sobre cultivos viejos del segundo (B) 21
- Figura 3. Antagonismo entre el Aspergillus niger y el Rhizoctonia solani 23
- Figura 4. Invasión del Aspergillus niger sobre cultivos viejos del Rhizoctonia solani 24
- Figura 5. Invasión total del Trichoderma sp. sobre el Rhizoctonia solani 26
- Figura 6. Antagonismo a distancia del Bacillus sp. (posiblemente Bacillus cereus), sobre el Rhizoctonia solani. 27
- Figura 7. Predominio total del desarrollo del Trichoderma sp. sobre el del Rhizoctonia solani en siembra conjunta de los 2 microorganismos. 29

- Figura 8. Invasión del Bacillus sp. (posiblemente Bacillus cereus), sobre cultivos del Rhizoctonia solani en siembras conjuntas de los 2 microorganismos. 31
- Figura 9. Siembra conjunta de los microorganismos antagónicos, donde se observa el predominio del Trichoderma sp. (T) sobre el Acrostalagmus sp. (A) y el Aspergillus niger (A₁); el Bacillus sp. (posiblemente Bacillus cereus) (B), ejerce antagonismo a distancia sobre el Trichoderma sp. . . . 33
- Figura 10. Antagonismo entre el Trichoderma sp. y el Bacillus sp. (posiblemente Bacillus cereus). El hongo produce zona de acordonamiento 34
- Figura 11. Diferentes grados de germinación de remolacha en suelo inoculado con diferentes microorganismos antagónicos del Rhizoctonia solani 46
- Figura 12. Germinación baja de remolacha en un suelo inoculado con Rhizoctonia solani y Acrostalagmus sp. 49

Figura 13.	Germinación baja de remolacha en suelo inoculado con <u>Rhizoctonia solani</u> y <u>Aspergillus niger</u>	50
Figura 14.	Diferencia entre la germinación obtenida en un suelo inoculado con <u>Trichoderma</u> sp. y <u>Rhizoctonia solani</u> y otro inoculado únicamente con el patógeno	51
Figura 15.	Efectividad del <u>Bacillus</u> sp. (posiblemente <u>Bacillus cereus</u>) sobre el <u>Rhizoctonia solani</u> ; permitiendo una alta germinación de remolacha.	52

APENDICE

Pág.

Tabla I.	Análisis de variancia para los promedios de germinación de plantas de repollo durante dos siembras, en suelo inoculado con diferentes microorganismos antagónicos del <u>Rhizoctonia solani</u>	68
Tabla II.	Análisis de variancia para los promedios de germinación de plántulas de lechuga en suelo inoculado con diferentes microorganismos antagónicos del <u>Rhizoctonia solani</u>	69
Tabla III.	Análisis de variancia para los promedios de germinación de plántulas de remolacha en suelo inoculado con diferentes microorganismos antagónicos del <u>Rhizoctonia solani</u>	70
Tabla IV.	Análisis de variancia para los promedios de germinación de plántulas de zanahoria en suelo inoculado con diferentes microorganismos antagónicos del <u>Rhizoctonia solani</u>	71

COMPROBACION DE LA CAPACIDAD ANTAGONICA DE ALGUNOS
MICROORGANISMOS DEL SUELO FRENTE A Rhizoctonia solani Kuenhn.
EN EL ALTIPLANO DE PASTO (+)

POR

MIGUEL ANGEL VARGAS ROSERO

I. INTRODUCCION

Entre los hongos fitopatógenos de importancia económica en el departamento de Nariño, se destaca Rhizoctonia solani Kuenhn., especie que ocasiona pudrición de semillas y muerte de plántulas en varios cultivos, con las consiguientes pérdidas económicas que ésto conlleva.

La erradicación de este hongo es bastante difícil, por ser un habitante natural del suelo, en el cual persiste gracias a su capacidad saprofitica, al desarrollo de estructuras de conservación y a su caracter omnívoro.

Por otra parte, el uso de productos químicos contra Rhizoctonia solani Kuenhn., origina varios problemas, especialmente en lo relacionado con la destrucción de la microflora

(+) 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.

benéfica, causa que implica un posterior incremento en la incidencia del patógeno, por un desequilibrio biológico.

2.1 Generalidades

Cuando existe equilibrio biológico de la microvida en un sustrato se presentan numerosas interrelaciones ecológicas y simbióticas, ya sea de ayuda mutua o de antagonismo. Este último aspecto es la base fundamental para un control biológico, el cual disminuye la población natural de hongos patógenos como es Rhizoctonia solani Kuehn.

El presente trabajo tiene como objetivo principal determinar la influencia que tiene la bacteria Bacillus sp. (posiblemente Bacillus cereus) y los hongos Trichoderma sp., Acrocalagmus sp. y Aspergillus niger, en el desarrollo de Rhizoctonia solani Kuehn. Cumplido este objetivo se busca aportar bases para futuros trabajos relacionados con el control biológico de fitopatógenos del suelo.

II. REVISION DE LITERATURA

2.1 Generalidades

2.1.1 Relaciones entre microorganismos

Entre los seres vivos, los microorganismos especialmente, establecen relaciones ecológicas que pueden ser neutrales, metabióticas, sinérgicas y antagónicas. Estas últimas se denominan antibiosis y se presentan cuando un organismo impide o inhibe el desarrollo de otros (5).

2.1.2 Efectos antagónicos

Waksman (14) indica que las interrelaciones antagónicas son muy comunes entre la microvida que habita el suelo, afectando directa o indirectamente la actividad de otros microorganismos. Estas relaciones son:

1. La competencia por el aprovechamiento de nutrimentos.

2. La formación de condiciones, principalmente de carácter químico, que son adversas para el crecimiento de otros organismos.

3. La producción por parte del organismo de sustancias específicas tales como: antibióticos, alcoholes y

quinonas que perjudican el crecimiento de otros.

4. El parasitismo directo de un organismo sobre otro; este caso es más notorio en hongos y bacterias.

5. El efecto depredador, como el observado en la destrucción de bacterias por protozoarios, de hongos por insectos y de nemátodos por otros.

6. La lucha de los microorganismos por el espacio vital.

2.1.3 Antibióticos

De acuerdo a Cercos (6), el antibiótico es una sustancia química producida por un organismo vivo, que actuando en muy bajas concentraciones, posee propiedades líticas, inhibidoras o letales y selectivas sobre otros microorganismos 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 o por la interferencia en la producción o utilización de éstos.

Por lo tanto, los antibióticos actúan de tal forma que paralizan la multiplicación celular pudiendo llegar a matar la célula. Al primer caso se le denomina acción bacteriostática o fungistática; al segundo, acción bactericida o fungicida. (6).

Waksman (14) menciona que los antibióticos, abidina, frecuentina, ácido gladiólico, gliotoxina, griseofulvina, ácido micofenólico, patulina, viridina, penicilina y streptomycin, son producidos en forma natural y abundante y se inactivan en el suelo por efectos del pH, por la actividad microbiana, por fenómenos de adsorción de los constituyentes del suelo y por otros procesos de naturaleza química.

Cercos (6) afirma que es posible la producción y conservación de antibióticos en suelos esterilizados, a los cuales se agregaron abonos verdes y/o carbohidratos.

Waksman y Woodruff, citados por Cercos (6), aseguran que muchos patógenos de plantas que atacan a partes subterráneas como el Ophiobolus graminis y el Phymatotrichum omnivorum, entre otros, pueden ser combatidos con la adición de abonos orgánicos que aportan una flora rica en microorganismos saprófitos, los cuales liberan antibióticos principalmente.

Horsfall y Dimond (9) indican que algunos antibióticos como la clavacina, que es producto del metabolismo de especies de Penicillium y Aspergillus es altamente tóxico para las células de plantas superiores, causándoles daño al actuar como enzimas venenosas.

2.2 Microorganismos antagonistas

Vlakhovs (13) anota que de 665 aislamientos de bacterias, 903 de Bacillus y 541 de hongos del suelo y de la rizósfera de cultivos de algodón y papa, solamente el 33.3%, 23.6% y 7.2% respectivamente, fueron antagonistas del Thielaviopsis basicola, Verticillium albo-atrum, Rhizoctonia solani, Pythium debaryanum, Phytophthora parasitica var. nicotianae y Sclerotinia esclerotiorum. Los antagonistas más efectivos fueron: Pseudomonas fluorescens, Bacillus mesentericus, Bacillus cereus y Penicillium purpurogenum.

Según Bulla (5), el hongo Trichoderma lignorum es antagónico del Rhizoctonia solani y el Streptomyces praecox sobre el Streptomyces scabies. Anota además, que el Cephalosporium sp. es promisorio para el control del marchitamiento del tomate, causado por el Fusarium oxysporum f. lycopersicae.

Brian, citado por Cercos (6), indica que de 245 géneros de microorganismos aislados, 120 presentaron acción antimicrobial a través de 785 especies; entre los cuales se destacan: Ficomicetes representados por un 7.1% del total examinados, Ancomycetes 27.9%, hongos imperfectos 45.8% y Basidiomycetes 34.2%. Anota además, que los hongos Trichoderma lignorum y especies de Helminthosporium, Penicillium, Cladosporium, Mucor y Alternaria, inhiben el crecimiento de Ophiobolus graminis.

Alexander (2) aisló los siguientes antibióticos cuyas cantidades porcentuales fueron: 1.7% de Actinomycetes que actuaron sobre Sclerotium rolfsii, el cual también fue controlado por antibióticos obtenidos de hongos y bacterias en 3.5% y 0.2%, respectivamente. Además obtuvo 16% y 3.6% de antibióticos procedentes de hongos y bacterias, para el control de Pythium arrhenomanes. El 21% y 12.2% de antibióticos obtenidos respectivamente de especies de Streptomyces y de Actinomyces controlaron Scherichia coli y Streptomyces scabies.

Waksman (14) da una lista de microorganismos antagonicos de patógenos del suelo:

ANTAGONICO	ORGANISMO AFECTADO
<u>Acrostalagmus</u> sp.:	<u>Rhizoctonia</u> sp.
<u>Aspergillus niger</u> :	<u>Peziza</u> sp. y <u>Rhizoctonia</u> sp.
<u>Botrytis cinerea</u> :	<u>Rhizoctonia</u> sp.
<u>Trichoderma lignorum</u> :	<u>Rhizoctonia</u> sp.
	<u>Phytophthora</u> sp. y
	<u>Pythium</u> sp.
<u>Verticillium</u> sp.:	<u>Rhizoctonia</u> sp.
<u>Penicillium</u> sp.:	<u>Rhizoctonia</u> sp., <u>Peziza</u> sp.
	y <u>Fusarium</u> sp.
<u>Fusarium lateritium</u> :	<u>Rhizoctonia</u> sp.

El mismo autor afirma que muchos microorganismos aislados del suelo tienen capacidad productora de antibióticos.

De igual manera las bacterias formadoras de esporas y las no formadoras producen antibióticos, entre los cuales se encuentran la tirotricina, bacitracina, subtilina, polimixina, piocinasa, piocianina, prodigiosina, nisina y colicina.

De los hongos del suelo, se observa la formación de penicilina, ácido micofenólico, gliotoxina, clavacina, ácido gladiólico, quetomicina, ácido penicilínico y fumigacina. Los actinomicetos producen antibióticos tan importantes como la estreptomycin, actinomicina, cloramfenicol, aureomicina, terramicina, neomicina, actinomicina, actidiona, estreptocina, xanthomicina, viomicina, antimicina, fungicidina y fradicina (14).

De otra parte Blasco (4) indica que hay abundantes casos de microparasitismo; la especie Gliocadium roseum, está habilitado para destruir conidias de muchos hongos; Penicillium vermiculatum, es un verdadero parásito del Rhizoctonia solani invadiendo sus hifas y el Didymella oxitidis puede perforar las paredes celulares del Ophiobolus graminis.

2.3 Bacterias productoras de antibióticos

Las bacterias constituyen una importante fuente de producción de antibióticos. Entre los géneros más importantes está el Bacillus, con las especies Bacillus subtilis, Bacillus licheniformes, Bacillus circulans, Bacillus brevis, Bacillus

laterosporus y Bacillus alvei. Dentro de este género unas cepas rugosas de Bacillus simplex produce una sustancia que inhibe el crecimiento de Rhizoctonia solani (6).

Blasco (4) afirma que Bacillus cereus produce chitinasa y laminasa para controlar Fusarium solani, principalmente cuando se adiciona al suelo quitina.

Koltin y Chorin-Kiesch (11) mencionan que una proteína termoestable y activa a pH de 4 a 7, fué producida por Bacillus cereus, que es capaz de afectar a varios hongos.

Cordon y Haenseler, citados por Cercos (6), afirman que un aislamiento de Bacillus subtilis proveniente del suelo, inhibió el desarrollo de Rhizoctonia solani.

Cercos (6) indica que se han hecho estudios sobre inoculación a las semillas con bacterias Azotobacter chroococcum, Pseudomonas fluorescens y Clostridium sp. para disminuir ataques de especies de Fusarium, Colletotrichum y Helminthosporium.

2.4 El Aspergillus como productor de antibióticos

Cercos (6) y Wakeman (14) afirman que numerosas especies de Aspergillus producen antibióticos; el Aspergillus niger produce ácido cítrico; el Aspergillus fumigatus sintetiza fumigalina y fumigacina; el Aspergillus clavatus libera clavacina; el Aspergillus flavus produce el ácido aspergílico y

la flavacina. En general los antibióticos producidos por el género Aspergillus pueden dividirse en dos grupos de acuerdo a la naturaleza pigmentada o no de sus principios activos. Las sustancias antibióticas pigmentadas son espinolusina y fumigatina; las sustancias antibióticas no pigmentadas son principalmente fumigacina y gliotoxina.

2.5 El Trichoderma como productor de antibióticos

Cercos (6) indica que del Trichoderma sp. se ha aislado y purificado la gliotoxina y que de cepas del Trichoderma viridae se sintetiza la viridina. Este hongo presentó efectos antagónicos contra Rhizoctonia solani.

Dennis y Webster (7) afirman que especies de Trichoderma aisladas del suelo producen antibióticos no volátiles, efectivos contra un gran número de hongos, de los cuales Fomes annosus fué el más susceptible y Fusarium oxysporum el más resistente. Igualmente se aislaron especies de Trichoderma que inhiben en forma efectiva al Rhizoctonia solani.

Horsfall y Dimond (9) señalan que tanto insecticidas como fungicidas 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 las poblaciones benéficas de los microorganismos. Al respecto el Thiram y el Hexaclorobenceno no afectan al Trichoderma viridae

III. MATERIALES Y METODOS

El presente trabajo se realizó en el laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad de Naríño, entre Octubre de 1974 y Marzo de 1975.

Se inició el estudio con el aislamiento, purificación y multiplicación de los microorganismos a estudiar. Para el aislamiento, se partió de un suelo inoculado con Rhizoctonia solani; se tomaron porciones de un gramo de suelo y se colocaron en tubos de ensayo con agua destilada esterilizada; posteriormente se hicieron diluciones 1:10, 1:100 y 1:1.000; con una pipeta se pasaron porciones de 1 ml a cajas Petri esterilizadas, que contenían una 20 ml de PDA (papa-dextrosa-agar) diluido a 41°C y con pH de 4, 5, 6 y 7. Para cada pH se utilizaron 5 cajas Petri, las cuales se mantuvieron al ambiente natural del laboratorio.

A las 48 horas se observaron los crecimientos bacteriales y fungosos, los cuales se separaron, haciendo siembras en tubos de ensayo con PDA inclinado y con un pH de 6. Obtenidas las diferentes colonias se efectuó la identificación en la forma siguiente:

Para los hongos se efectuaron observaciones sobre el desarrollo micelial, con su correspondiente coloración; luego se montaron placas utilizando como colorante el Lactofenol con

Azul de Algodón. La identificación de estos microorganismos al microscopio, se realizó de acuerdo a la forma y/o disposición de sus estructuras y teniendo en cuenta los criterios de Barnett (3) y Alborno y colaboradores (1).

La bacteria aislada se identificó de acuerdo a su desarrollo en PDA, a la tinción de Gram, tinción de esporas, siembras en caldo nutriente y con prueba de la catalasa.

Efectuadas las identificaciones se procedió a comprobar la capacidad antagónica de cada microorganismo frente al Rhizoctonia solani, del cual se disponía de cultivos puros, a partir de aislamientos hechos de repollo. Para ésto se utilizaron 10 cajas Petri con PDA por tratamiento, a un pH de 6 en las cuales se hicieron siembras opuestas de: Rhizoctonia solani + Acrostalagmus sp.; Rhizoctonia solani + Aspergillus niger; Rhizoctonia solani + Trichoderma sp. y Rhizoctonia solani + Bacillus sp. (posiblemente Bacillus cereus).

En el caso de los hongos el sistema de siembra consistió en colocar trozos de micelio de Rhizoctonia solani y del hongo a comprobar su antagonismo, dispuestos en forma opuesta en el medio de cultivo. Para Bacillus sp. (posiblemente Bacillus cereus) en un extremo de la caja se sembró Rhizoctonia solani y en el otro se trazó una línea con una asa de siembra impregnada del crecimiento bacterial. Después de hechas las siembras, las cajas Petri se dejaron al ambiente natural del laboratorio

y luego se hicieron lecturas cada dos días.

Para las siembras conjuntas de Rhizoctonia solani y de cada uno de los posibles microorganismos antagonicos se siguió el procedimiento anterior, haciendo las respectivas inoculaciones en el centro de las cajas Petri con PDA.

Otra forma para evaluar el antagonismo de los microorganismos en estudio fué la siembra posterior de éstos utilizando el procedimiento anterior pero en este caso se sembró primero el Rhizoctonia solani y cuando su crecimiento micelial, abarcó toda la superficie de la caja Petri se sembró encima, el microorganismo a comprobar su antagonismo. Para cada antagonista se emplearon 10 cajas Petri y se hicieron observaciones cada 2 días.

Igualmente se hicieron siembras opuestas de los diferentes microorganismos antagonistas, con el objeto de determinar cual de ellos presenta la mayor capacidad antagonica.

En base a los aspectos anteriores, se procedió a repetir el ensayo en condiciones de campo (suelo pleno), para lo cual los diferentes hongos se multiplicaron en erlenmeyers con trozos de papa esterilizados. El Rhizoctonia solani creció en erlenmeyers con trozos de papa esterilizados más una solución de dextrosa al 10%. La bacteria se multiplicó en tubos de ensayo con agar nutriente inclinado.

Cuando se obtuvo suficiente inóculo de cada microorganismo, se licuó por separado en agua destilada. Posteriormente se inoculó a suelo previamente esterilizado en autoclave a 120°C por una hora; además se hicieron mezclas iguales de Rhizoctonia solani con cada uno de los microorganismos antagonicos y se inoculó en suelo esterilizado.

El suelo inoculado se dejó secar hasta aproximadamente la capacidad de campo y se llevó a materos plásticos.

Los resultados se estudiaron en base a un diseño de tratamientos (parcelas divididas), irrestrictamente al azar, en donde actuaron 10 tratamientos y 5 replicaciones. Los tratamientos consistieron en la inoculación de: Acrostalagmus sp., Aspergillus niger, Trichoderma sp., Bacillus sp. (posiblemente Bacillus cereus), Rhizoctonia solani, Rhizoctonia solani + Acrostalagmus sp., Rhizoctonia solani + Aspergillus niger, Rhizoctonia solani + Trichoderma sp. y Rhizoctonia solani + Bacillus sp. (posiblemente Bacillus cereus).

El testigo consistió en un suelo esterilizado e inoculado con Rhizoctonia solani, al cual para efectos de redacción se llamará testigo negativo. Además se tomó un suelo sin esterilizar y sin inocular con el fin de hacer comparaciones y que se denominará testigo positivo.

Los materos se regaron cada 3 días con agua destilada esterilizada y se mantuvieron en una cámara de rocío.

A los 10 días de efectuadas las inoculaciones se hizo una siembra de repollo variedad "Corazón de buey", utilizando 50 semillas por matero. A los 20 días se hicieron conteos de plantas vivas y se efectuó una nueva siembra de repollo. Se sacaron los porcentajes de plantas vivas, los cuales se transformaron a $\text{Arcoseno } \sqrt{\%}$ y se aplicó un análisis de parcelas divididas tomando como variables los microorganismos inoculados y las 2 siembras de repollo.

Posteriormente, se hicieron siembras cada mes, pero utilizando lechuga variedad "imperial", remolacha variedad "Egyptian Crosby" y zanahoria variedad "Chantenay", contando el número de plantas vivas 20 días después de la siembra. Se utilizaron para las tres hortalizas 50 semillas por matero. Para cada cultivo se sacaron porcentajes de plantas vivas, los cuales se transformaron a $\text{Arcoseno } \sqrt{\%}$ y se usó un diseño irrestrictamente al azar, tomando como tratamientos los microorganismos inoculados. (12).

IV. RESULTADOS Y DISCUSION

4.1 Observaciones en caja Petri con PDA

4.1.1 Siembras individuales

4.1.1.1 Acrostalagmus sp.

El hongo creció lentamente, notándose hasta los 16 días que únicamente había abarcado un diámetro de 1.30 cm aproximadamente. El desarrollo se presentó en forma de anillos, notándose que los centrales tenían un color anaranjado rojizo, índice de esporulación, le seguía un anillo de color amarillento, que indica el comienzo de la esporulación; posteriormente apareció un anillo central de color blanquecino, que corresponde únicamente al desarrollo micelial.

4.1.1.2 Aspergillus niger

El desarrollo de este hongo no es gradual, sino que a partir del sitio de inoculación se produjo una pequeña zona algodonosa de color blanco de aproximadamente 0.70 cm de diámetro, la cual se tornó negra y de apariencia polvosa al esporular el hongo. En este momento las conidias fueron expulsadas en diferentes direcciones, apareciendo nuevamente las zonas antes anotadas.

Lo anterior demuestra que la invasión de Aspergillus niger se realiza a partir de la esporulación, la cual necesitaría un espacio sin obstáculos para invadir un medio, lo que no se cumple en condiciones de suelo.

4.1.1.3 Trichoderma sp.

A los 6 días de hecha la siembra, el hongo llenó la caja Petri y hasta los 16 días se produjeron cuatro zonas de crecimiento en forma de anillos. La zona externa está representada por un micelio blanco algo ralo; el anillo siguiente hacia el centro, se torna de un color blanco, compacto y con zonas algodonosas, índice de la iniciación de la esporulación; luego sigue un anillo de color verde blanquecino, el cual se torna verde oscuro y de apariencia pulverulenta, en la zona central, donde se observó la máxima esporulación.

La velocidad de desarrollo de este hongo, permite suponer que tiene gran capacidad de invasión de un sustrato, sin dar oportunidad al progreso de otros hongos.

4.1.1.4 Bacillus sp. (posiblemente Bacillus cereus)

La bacteria presentó un crecimiento

blanco amarillento ceroso, alrededor de la línea de invasión, sin embargo, en condiciones de alta humedad de la caja, puede invadir todo el medio, dando lugar a un crecimiento blanco opaco de apariencia granular. También se observó que la bacteria produjo un crecimiento debajo de la superficie del PDA; dicho desarrollo consistió en una película blanquecina, lo que indica la capacidad de desarrollo en condiciones anaeróbicas, por lo que parece ser una cepa del Bacillus subtilis.

4.1.1.5 Rhizoctonia solani

A los 6 días de efectuada la siembra, el hongo cubrió el medio de cultivo, produciéndose un micelio blanco cremoso, con motas de micelio más espeso, índice de la iniciación de la formación de esclerotes, los cuales se tornaron de un color pardo, de tamaño pequeño y de forma irregular.

El Rhizoctonia solani también ofreció una capacidad alta de invasión del sustrato, especialmente en presencia de materia orgánica en descomposición y de un cultivo susceptible.

4.1.2 Siembras opuestas

4.1.2.1 Acrostalagmus sp. + Rhizoctonia solani

A partir de los 8 días de hecha la

siembra, Rhizoctonia solani presentó un crecimiento de 2.7 cm mientras que Acrostalagmus sp. de 0.5 cm. A los 12 días, el primer hongo creció 3.4 cm y Acrostalagmus sp. produjo un desarrollo de 0.6 cm, pero totalmente esporulado. A partir de este momento se presentó una zona de acordonamiento de Rhizoctonia solani alrededor de Acrostalagmus sp., formado por los esclerotes del primer hongo, como una respuesta a detener el avance del antagonista (Figura 1).

Aproximadamente a los 45 días Acrostalagmus sp. invadió al Rhizoctonia solani, debido a que el contenido alimenticio del PDA disminuyó notablemente, de este modo pudo producirse la muerte de gran cantidad de hifas del Rhizoctonia solani, las cuales aprovechó como alimento el Acrostalagmus sp., para realizar su invasión, demostrando ser por lo tanto un saprófito, y un antagonista de Rhizoctonia solani, cuando éste presente una debilidad fisiológica por falta de alimento (Figura 2).

4.1.2.2 Aspergillus niger + Rhizoctonia solani

A los 8 días de hecha la inoculación, el Rhizoctonia solani invadió la mayor parte del medio, mientras que el Aspergillus niger esporuló a partir del sitio de siembra, produciéndose una zona aproximadamente de 1 cm de diámetro.

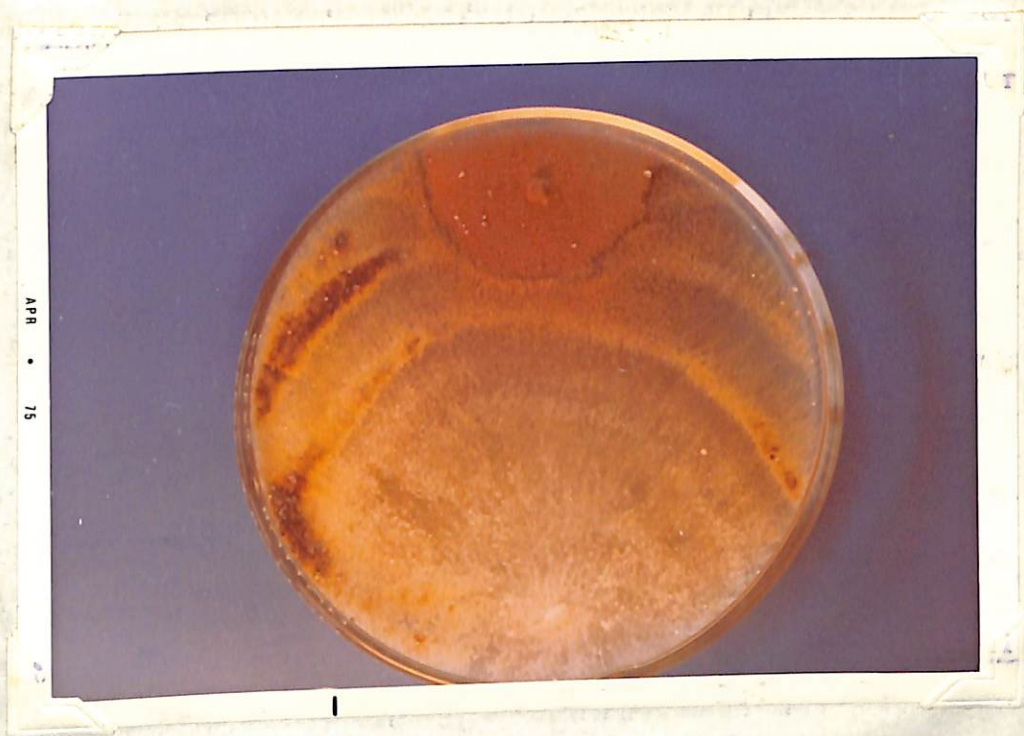


Figura 1. Antagonismo entre el Acrostalagmus sp. y el Rhizoctonia solani, el cual forma zona de acordonamiento en el sitio de unión entre los dos microorganismos.

Foto: Autor



Figura 2. Estado inicial (A) de antagonismo entre el Acrostalagmus sp. y el Rhizoctonia solani, e invasión final del primer hongo sobre cultivos viejos del segundo (B).

Foto: A. Salazar

metro. Además, entre los dos hongos se produjo una pequeña zona de inhibición que indica la posible difusión del ácido cítrico producido por el Aspergillus niger, impidiendo el avance del Rhizoctonia solani, el cual formó una zona de acordonamiento constituida por los esclerotes del hongo (Figura 3).

A los 45 días de efectuada la siembra, comenzó la colonización del micelio del Rhizoctonia solani por el Aspergillus niger, a partir de zonas de esporulación de este hongo (Figura 4).

Lo anterior indica que el Aspergillus niger es un invasor del micelio debilitado del Rhizoctonia solani y la detención del crecimiento del patógeno, está dada por la capacidad de producir el antibiótico, que según Cercos (6) es el ácido cítrico. Sin embargo, en el suelo esta sustancia puede ser eliminada rápidamente al ejercer un efecto mayor sobre el Rhizoctonia solani.

4.1.2.3 Trichoderma sp. + Rhizoctonia solani

El Trichoderma sp. presentó un desarrollo rápido y mayor que el del Rhizoctonia solani. En el sitio de siembra el Rhizoctonia solani formó una zona de acordonamiento, pero esta fue superada por el Trichoderma sp., que lo invadió paulatinamente hasta hacerlo desaparecer completamente. Esto indica que el efecto antagónico del Trichoderma sp.



Figura 3. Antagonismo entre el Aspergillus niger y el Rhizoctonia solani.

Foto: Autor



Figura 4. Invasión del Aspergillus niger sobre cultivos viejos del Rhizoctonia solani.

Foto: A. Salazar

sobre el patógeno se debe más que todo a una invasión de masa, por una posible desintegración de las hifas del Rhizoctonia solani, gracias a una sustancia antibiótica producida por el Trichoderma sp. (Figura 5).

4.1.2.4 Bacillus sp. (posiblemente Bacillus cereus) + Rhizoctonia solani

En este caso se presentó un verdadero antagonismo a distancia, ya que el Rhizoctonia solani creció rápidamente hasta un centímetro aproximadamente del crecimiento bacterial; es decir, se presentó una zona de inhibición, determinada por una posible sustancia antibiótica extracelular, producida por la bacteria y difusible en el medio de cultivo. El Rhizoctonia solani en estas condiciones formó una zona de acordonamiento como defensa para detener el antibiótico. Sin embargo, no se produjo una invasión de masa por parte de la bacteria (Figura 6).

4.1.3 Siembra conjunta

4.1.3.1 Acrostalagmus sp. + Rhizoctonia solani

Al efectuar la siembra de los dos hongos en el centro de la caja Petri, se observó que el Rhi-



Figura 5. Invasión total del Trichoderma sp. sobre el Rhizoctonia solani.

Foto: Autor

Rhizoctonia solani la llenó completamente; pero aproximadamente al mes de hecha la siembra del gambú sp., comenzó la colonización del Alceite del Rhizoctonia solani, iniciándose nuevamente a los 30 días, a causa de la debilitada fisiología o latencia del patógeno, provocada por el adelantamiento



Figura 6. Antagonismo a distancia del Bacillus sp. (posiblemente Bacillus cereus), sobre el Rhizoctonia solani.

Foto: A. Salazar

zoctonia solani la llenó completamente; pero aproximadamente al mes de hecha la siembra del Acrostalagmus sp., comenzó la colonización del micelio del Rhizoctonia solani, invadiéndolo totalmente a los 50 días, a causa de un debilitamiento fisiológico o latencia del patógeno, provocada por el empobrecimiento nutricional del medio de cultivo. Se observó en este caso la capacidad de latencia del Acrostalagmus sp.

4.1.3.2 Aspergillus niger + Rhizoctonia solani

En este caso el Rhizoctonia solani invadió completamente el medio e inhibió el desarrollo del Aspergillus niger, el cual, posiblemente necesita de cierto tiempo para producir la sustancia antibiótica.

4.1.3.3 Trichoderma sp. + Rhizoctonia solani

Se observó que el Trichoderma sp. creció rápidamente, no permitiendo el desarrollo del Rhizoctonia solani. Este es un caso típico de antibiosis por masa, en que se aprovecha el desarrollo rápido de un hongo como el Trichoderma sp., el cual además, puede producir sustancias antibióticas (Figura 7).

2.1.5.4 Trichoderma sp. (posiblemente Trichoderma
viride) y Rhizoctonia solani

En esta zona se observó inicialmente
un crecimiento por un lado del Rhizoctonia solani y por el

otro del Trichoderma (ver foto 7). En esta zona se observó inicialmente

ver foto 7.

ver foto 7.

ver foto 7.

ver foto 7.

ver foto 7.

ver foto 7.

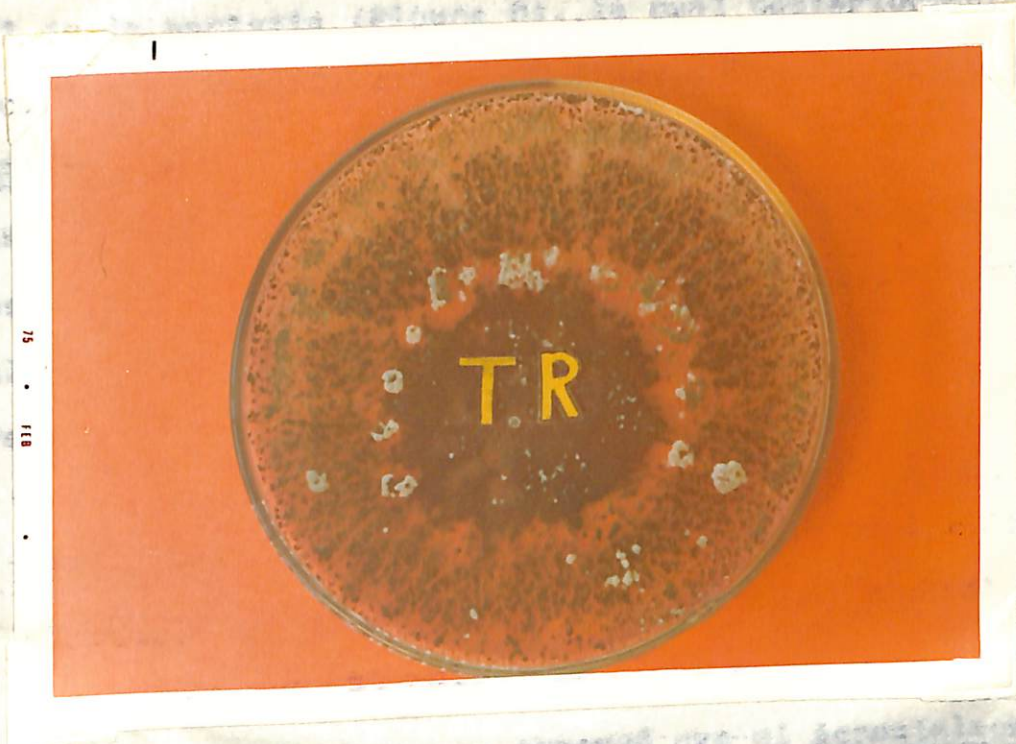


Figura 7. Predominio total del desarrollo del Tri-
choderma sp. sobre el del Rhizoctonia so-
lani en siembra conjunta de los 2 micro-
organismos.

Foto: Autor

4.1.3.4 Bacillus sp. (posiblemente Bacillus cereus) + Rhizoctonia solani

En este caso se observó inicialmente un crecimiento por un lado del Rhizoctonia solani y por el otro el de la bacteria (Figura 8), la cual posteriormente invadió el medio, aprovechando el crecimiento del micelio del Rhizoctonia solani; es decir que al desarrollarse el hongo, éste transporta al Bacillus sp. (posiblemente Bacillus cereus) que posteriormente inhibe al micelio del Rhizoctonia solani, lo cual se comprobó al hacer reaislamientos, en donde no se pudo recuperar al hongo.

4.1.4 Siembra posterior de los antagonistas sobre cultivos establecidos de Rhizoctonia solani

Unicamente se observó que el Acrostalagmus sp. invadió paulatinamente el crecimiento micelial del Rhizoctonia solani, a partir de los 18 días de efectuada la siembra. Igualmente se determinó una invasión rápida del Trichoderma sp. sobre el Rhizoctonia solani, a partir de los 6 días de hecha la siembra.

Los anteriores resultados demuestran que el Acrostalagmus sp. aprovecha el debilitamiento del Rhizoctonia solani y que el Trichoderma sp. puede desarrollarse sobre un



Figura 8. Invasión del Bacillus sp. (posiblemente Bacillus cereus), sobre cultivos del Rhizoctonia solani en siembras conjuntas de los 2 microorganismos.

Foto: A. Salazar

sustrato muerto o sobre un micelio vivo, en forma rápida, uti
lizándolo como alimento.

4.1.5 Efecto de los microorganismos antagónicos entre sí.

En las siembras conjuntas de los antagónicos se observó que el Bacillus sp. (posiblemente Bacillus cereus) detiene el crecimiento del Trichoderma sp. lo cual se comprueba por el acordonamiento que se forma aproximadamente a 1 cm de la línea de invasión de la bacteria (Figura 9).

El Trichoderma sp. invade por masa al Aspergillus niger y al Acrostalagmus sp., lo que indica su poder antagónico mayor (Figura 10).

4.2 Ensayo de suelo

4.2.1 Siembras de repollo

En la Tabla I se observan los porcentajes originales de plantas vivas de repollo en dos siembras, en donde se nota que el número de plantas vivas de mayor a menor corresponde al siguiente: Bacillus sp. (posiblemente Bacillus cereus) + Acrostalagmus sp. Trichoderma sp. Rhizoctonia solani + Bacillus sp. (posiblemente Bacillus cereus) Testigo positivo Aspergillus niger Rhizoctonia solani + Trichoderma sp.



Figura 9. Siembra conjunta de los microorganismos antagónicos, donde se observa el predominio del Trichoderma sp. (T) sobre el Acrostalagmus sp. (A) y el Aspergillus niger (A1); el Bacillus sp. (posiblemente Bacillus cereus) (B) ejerce antagonismo a distancia sobre el Trichoderma sp.

Foto: A. Salazar



Figura 10. Antagonismo entre el Trichoderma sp. y el Bacillus sp. (posiblemente Bacillus cereus). El hongo produce zona de acordonamiento.

Foto: A. Salazar

TABLA I

PORCENTAJES DE PLANTAS VIVAS DE REPOLLO DURANTE DOS SIEMBRAS, EN SUELO INOCULADO CON DIFERENTES MICROORGANISMOS ANTAGONISTAS DEL Rhizoctenia solani

		T R A T A M I E N T O S									Testigo Positivo
SISTEMAS		<u>Acrostalagmus</u> sp.	<u>Aspergillus niger</u>	<u>Trichoderma</u> sp.	<u>Bacillus</u> sp.	<u>Rhizoctenia solani</u> (Testigo negativo)	<u>R. solani</u> + <u>Acrostalagmus</u> sp.	<u>R. solani</u> + <u>A. niger</u>	<u>R. solani</u> + <u>Trichoderma</u> sp.	<u>R. solani</u> + <u>Bacillus</u> sp.	
PRIMERA SIEMBRA	I	90	74	78	90	0	0	8	60	75	74
	II	100	58	90	90	0	0	4	68	70	68
	III	90	52	70	93	0	0	16	42	73	80
	IV	80	64	86	87	0	0	2	92	69	78
	V	88	74	86	97	0	2	6	86	93	80
		448	322	410	457	0	2	36	348	380	330
	$\bar{X}$	89.0	64.4	82.0	91.4	0	0.4	7.2	69.6	76.0	76.0
SEGUNDA SIEMBRA	I	66	72	90	86	6	4	0	48	100	64
	II	84	43	78	90	0	4	0	54	70	74
	III	94	84	88	94	0	8	2	38	94	80
	IV	84	74	78	88	2	2	4	44	72	82
	V	86	50	78	92	4	0	0	38	92	78
		414	323	412	450	12	18	6	222	428	378
	$\bar{X}$	82.8	64.8	82.4	90.0	2.4	3.6	1.2	44.4	85.6	75.6
GRAN TOTAL		862	645	822	907	12	20	42	570	808	758
MEDIA GENERAL		86.2	64.5	82.2	90.7	1.2	2.0	4.2	57.0	80.8	75.8

Rhizoctonia solani + Aspergillus niger Rhizoctonia solani
+ Acrostalagmus sp. Rhizoctonia solani.

Al efectuar el análisis de variancia se observó que se presentaron diferencias altamente significativas entre los tratamientos, no detectándose otra significación para las demás variables (Tabla I del Apéndice).

En la Tabla II se consigna la prueba de Tukey con los siguientes resultados:

Rhizoctonia solani, Rhizoctonia solani + Aspergillus niger y Rhizoctonia solani + Acrostalagmus sp., difirieron al nivel del 1% con respecto al resto de tratamientos. Esto indica que el Rhizoctonia solani puede causar una pudrición completa de las semillas de repollo y que en condiciones de suelo el Aspergillus niger y el Acrostalagmus sp., son incapaces de inhibir el patógeno, debido a que éste mantiene su actividad en el suelo y en estas condiciones no se producen antibióticos y no hay actividad saprófita por parte de los hongos. También se observa la capacidad que tiene el Trichoderma sp. y el Bacillus sp. (posiblemente Bacillus cereus), para detener al Rhizoctonia solani, gracias a la posible producción de antibióticos y a un desarrollo activo en condiciones de suelo.

El Bacillus sp. (posiblemente Bacillus cereus), Acrostalagmus sp., Rhizoctonia solani + Bacillus sp.

TABLA II

PRUEBA DE TUKEY PARA LOS PROMEDIOS GENERALES DE PLANTAS VIVAS DE REPOLLO, EN UN SUELO INOCULADO CON DIFERENTES MICROORGANISMOS ANTAGONICOS DEL *Rhizoctonia solani*

T R A T A M I E N T O S										
	<u>Bacillus</u> sp. 72.54	<u>Acrostalagmus</u> sp. 69.73	<u>R. solani</u> + <u>Bacillus</u> sp. 66.95	<u>Trichoderma</u> sp. 65.38	Testigo Positivo 60.66	<u>Aspergillus niger</u> 54.64	<u>R. solani</u> + <u>Trichoderma</u> sp. 49.71	<u>R. solani</u> + <u>A. niger</u> 9.35	<u>R. solani</u> + <u>Acrostalagmus</u> sp. 5.58	<u>R. solani</u> 3.39
<u>R. solani</u> 3.39	69.15 ^{xx}	66.34 ^{xx}	62.66 ^{xx}	61.99 ^{xx}	57.27 ^{xx}	51.25 ^{xx}	46.32 ^{xx}	5.96 ^{NS}	2.19 ^{NS}	0
<u>R. solani</u> + <u>Acrostalagmus</u> sp. 5.58	66.96 ^{xx}	64.15 ^{xx}	60.47 ^{xx}	59.80 ^{xx}	55.08 ^{xx}	49.06 ^{xx}	44.13 ^{xx}	3.77 ^{NS}	0	
<u>R. solani</u> + <u>A. niger</u> 9.35	63.19 ^{xx}	60.83 ^{xx}	56.70 ^{xx}	56.03 ^{xx}	51.31 ^{xx}	45.29 ^{xx}	40.36 ^{xx}	0		
<u>R. solani</u> + <u>Trichoderma</u> sp. 49.71	22.83 ^{xx}	20.02 ^{xx}	16.34 ^{xx}	15.67 ^{xx}	10.95 ^{xx}	4.93 ^{NS}	0			
<u>A. niger</u> 54.64	17.90 ^{xx}	15.09 ^{xx}	11.41 ^{xx}	10.74 ^{xx}	6.02 ^{NS}	0				
Testigo Positivo 60.66	11.88 ^{xx}	9.07 ^{xx}	5.39 ^{NS}	4.72 ^{NS}	0					
<u>Trichoderma</u> sp. 65.38	7.16 ^x	4.35 ^{NS}	0.67 ^{NS}	0						
<u>R. solani</u> + <u>Bacillus</u> sp. 66.95	6.49 ^x	3.68 ^{NS}	0							
<u>Acrostalagmus</u> sp. 69.73	2.81 ^{NS}	0								
<u>Bacillus</u> sp. 72.54	0									

x = Significative al 5%

xx = Significative al 1%

NS = No significative

D.M.S. (Tukey) 5% = 6.03

D.M.S. (Tukey) 1% = 7.93

(posiblemente Bacillus cereus), Trichoderma sp. y el Testigo positivo mostraron diferencias al nivel del 1% con el Rhizoctonia solani + Trichoderma sp. Esta mezcla no difirió con el Aspergillus niger. Lo anterior indica que es mayor la capacidad antagónica del Bacillus sp. (posiblemente Bacillus cereus) que del Trichoderma sp., contra el Rhizoctonia solani, mostrando una mayor especificidad de control. Además, se observa que la bacteria y los hongos Acrostalagmus sp. y Trichoderma sp., no tuvieron ningún efecto letal en la germinación de las semillas de repollo, por lo cual se puede utilizar en estudios sobre el control biológico de patógenos radicales de este cultivo, lo que no sucede con el Aspergillus niger, el cual además de ser inefectivo en el control del Rhizoctonia solani, puede causar pudrición de semillas de repollo, principalmente en condiciones malas de germinación.

El Bacillus sp. (posiblemente Bacillus cereus), Acrostalagmus sp., Rhizoctonia solani, Rhizoctonia solani + Bacillus sp. (posiblemente Bacillus cereus) y Trichoderma sp. mostraron diferencias altamente significativas con el Aspergillus niger, el que al parecer causa problemas de germinación en repollo.

El Bacillus sp. (posiblemente Bacillus cereus) y el Acrostalagmus sp. mostraron diferencias al nivel del 1% con el Testigo positivo, ya que dichos microorganismos no afectan la viabilidad de las semillas y en un suelo sin este-

rilizar, e inocular, existen infinidad de microorganismos que en conjunto pueden causar pequeños problemas de germinación.

El Bacillus sp. (posiblemente Bacillus cereus) y Acrostalagmus sp., mostraron diferencias al 5% con Trichoderma sp. y Rhizoctonia solani + Bacillus sp. (posiblemente Bacillus cereus), ya que el Trichoderma sp. puede influir en forma escasa en la germinación y que la bacteria no muestra una efectividad total contra el Rhizoctonia solani, el cual mata a algunas semillas.

4.2.2 Siembra de lechuga

En la Tabla III se observan los porcentajes originales de plántulas de lechuga vivas, con el siguiente orden decreciente: Testigo positivo Acrostalagmus sp. Trichoderma sp. Rhizoctonia solani + Bacillus sp. (posiblemente Bacillus cereus) Bacillus sp. (posiblemente Bacillus cereus) Aspergillus niger Rhizoctonia solani + Trichoderma sp. Rhizoctonia solani + Aspergillus niger Rhizoctonia solani + Acrostalagmus sp. Rhizoctonia solani.

En la Tabla II del Apéndice se indica el análisis de variancia, en donde se encontraron diferencias altamente significativas entre los tratamientos.

Al hacer la prueba de Tukey (Tabla IV), se

TABLA III

PORCENTAJES DE PLANTAS VIVAS DE LECHUGA EN SUELO INOCULADO CON DIFERENTES MICROORGANISMOS ANTAGONICOS DEL Rhizoctonia solani

REPLICACIONES	T R A T A M I E N T O S									Testigo Positivo
	<u>Acrostalagmus</u> sp.	<u>Aspergillus niger</u>	<u>Trichoderma</u> sp.	<u>Bacillus</u> sp.	<u>Rhizoctonia solani</u> (Testigo negativo)	<u>R. solani</u> + <u>Acrostalagmus</u> sp.	<u>R. solani</u> + <u>A. niger</u>	<u>R. solani</u> + <u>Trichoderma</u> sp.	<u>R. solani</u> + <u>Bacillus</u> sp.	
I	58	28	48	30	0	16	14	25	56	48
II	70	26	50	32	0	6	22	32	40	60
III	62	32	50	68	0	10	24	18	52	72
IV	60	42	70	34	4	8	12	18	70	74
V	58	58	60	86	2	8	18	26	56	54
	308	186	278	230	6	48	90	120	274	308
$\bar{X}$	61.6	37.2	55.6	46.0	1.2	9.6	18.0	24.0	54.8	81.6

TABLA IV

PRUEBA DE TUKEY PARA LOS PROMEDIOS DE PLANTAS VIVAS DE LECHUGA EN UN SUELO INOCULADO CON DIFERENTES MICROORGANISMOS

T R A T A M I E N T O S

	Testigo Positivo	<u>Acrostalagmus</u> sp.	<u>Trichoderma</u> sp.	<u>R. solani</u> + <u>Bacillus</u> sp.	<u>Bacillus</u> sp.	<u>Aspergillus niger</u>	<u>R. solani</u> + <u>Trichoderma</u> sp.	<u>R. solani</u> + <u>A. niger</u>	<u>R. solani</u> + <u>Acrostalagmus</u> sp.	<u>R. solani</u>
	51.86	51.74	48.28	47.81	42.64	37.41	29.19	24.93	17.81	3.93
<u>R. solani</u> 3.93	47.93 ^{xx}	47.81 ^{xx}	44.35 ^{xx}	43.88 ^{xx}	38.71 ^{xx}	33.48 ^{xx}	25.26 ^{xx}	21.00 ^{xx}	13.88 ^{xx}	0
<u>R. solani</u> + <u>Acrostalagmus</u> sp. 17.81	34.05 ^{xx}	33.93 ^{xx}	30.54 ^{xx}	30.00 ^{xx}	24.83 ^{xx}	19.60 ^{xx}	11.38 ^{xx}	7.12 ^{xx}	0	
<u>R. solani</u> + <u>A. niger</u> 24.93	26.93 ^{xx}	26.81 ^{xx}	23.35 ^{xx}	22.88 ^{xx}	17.71 ^{xx}	12.48 ^{xx}	4.26 ^{NS}	0		
<u>R. solani</u> + <u>Trichoderma</u> sp. 29.19	22.67 ^{xx}	22.55 ^{xx}	19.09 ^{xx}	18.62 ^{xx}	13.45 ^{xx}	8.22 ^{xx}	0			
<u>A. niger</u> 37.41	14.45 ^{xx}	14.33 ^{xx}	10.87 ^{xx}	10.40 ^{xx}	5.23 ^{NS}	0				
<u>Bacillus</u> sp. 42.64	9.22 ^{xx}	9.10 ^{xx}	5.64 ^{NS}	5.17 ^{NS}	0					
<u>R. solani</u> + <u>Bacillus</u> sp. 47.81	4.05 ^{NS}	3.93 ^{NS}	0.47 ^{NS}	0						
<u>Trichoderma</u> sp. 48.28	3.58 ^{NS}	3.40 ^{NS}	0							
<u>Acrostalagmus</u> sp. 51.74	0.12 ^{NS}	0								
Testigo Positivo 51.86	0									

x = Significativo al 5%

xx = Significativo al 1%

NS = No significativo

D.M.S. (Tukey) 5% = 5.75

D.M.S. (Tukey) 1% = 7.78

obtuvieron los siguientes resultados: Todos los tratamientos mostraron diferencias al nivel del 1% con el Rhizoctonia solani, el cual inhibe la germinación de las semillas. En este caso se observó ya un mayor efecto del Aspergillus niger y del Acrostalagmus sp. sobre el Rhizoctonia solani, debido a la capacidad de producir posiblemente, cada vez, mayores cantidades de ácido cítrico y a desarrollarse sobre materia orgánica respectivamente.

Todos los tratamientos a excepción del Rhizoctonia solani + Aspergillus niger ofrecieron diferencias al nivel del 1% con el Rhizoctonia solani + Acrostalagmus sp. Con esta mezcla el Rhizoctonia solani + Aspergillus niger ofrecieron diferencias al nivel del 5%. Esto indica que de los antagonistas, el hongo Acrostalagmus sp. es el que presenta menor capacidad de detener al Rhizoctonia solani ya que únicamente lo haría en el caso de existir abundante materia orgánica y al presentar el patógeno un debilitamiento fisiológico por falta de alimento.

El Testigo positivo, Acrostalagmus sp., Trichoderma sp., Rhizoctonia solani + Bacillus sp. (posiblemente Bacillus cereus), Bacillus sp. y Aspergillus niger mostraron diferencias al nivel del 5% con respecto a Rhizoctonia solani + Aspergillus niger y Rhizoctonia solani + Trichoderma sp. porque Bacillus sp. (posiblemente Bacillus cereus) tiene mayor especificidad para controlar al Rhizoctonia solani, debido a

su mayor capacidad para producir antibióticos, los cuales se van acumulando en el suelo, mientras que los producidos por Trichoderma sp. pueden volatilizarse y el Aspergillus niger no produce suficiente cantidad y pueden perderse en el suelo por diferentes procesos. Igualmente, se observa que el Aspergillus niger, el Trichoderma sp., el Acroestalagmus sp. y Bacillus sp. (posiblemente Bacillus cereus), no tienen efecto en la germinación de la lechuga.

El Testigo positivo, Acroestalagmus sp., Trichoderma sp. y Rhizoctonia solani + Bacillus sp. (posiblemente Bacillus cereus), ofrecieron diferencias al nivel del 1% con el Aspergillus niger ya que al parecer este hongo puede invadir las semillas deterioradas o que las sustancias que producen en sus procesos metabólicos, pueden inhibir la germinación.

El Testigo positivo y Acroestalagmus sp., ofrecieron diferencias al nivel del 1% con Bacillus sp. (posiblemente Bacillus cereus), pero no ofrecieron diferencias con el Rhizoctonia solani + Bacillus sp. (posiblemente Bacillus cereus), Trichoderma sp., Acroestalagmus sp. y el Testigo positivo. Al parecer las sustancias metabólicas que produce la bacteria Bacillus sp. (posiblemente Bacillus cereus), al no encontrar hongos huéspedes, pueden concentrarse alrededor de las semillas, las cuales pueden morir por toxicidad.

4.2.3 Siembra de remolacha

En la Tabla V se observan los porcentajes de plántulas vivas de remolacha, en el siguiente orden de mayor a menor: Bacillus sp. (posiblemente Bacillus cereus), Rhizoctonia solani + Bacillus sp., Aspergillus niger, Rhizoctonia solani + Trichoderma sp., Trichoderma sp., Acrostalagmus sp., Rhizoctonia solani + Aspergillus niger, Rhizoctonia solani + Acrostalagmus sp., Rhizoctonia solani (Figura 11).

En la Tabla III del Apéndice se presenta el análisis de variancia, donde se detectaron diferencias altamente significativas entre tratamientos.

En la Tabla VI aparece la prueba de Tukey con los siguientes resultados: todos los tratamientos ofrecieron diferencias al nivel del 1% con el Rhizoctonia solani que produce la muerte de todas las semillas de remolacha en ausencia de un control de dicho patógeno.

El Bacillus sp. (posiblemente Bacillus cereus), Rhizoctonia solani + Bacillus sp., Aspergillus niger, Testigo positivo, Rhizoctonia solani + Trichoderma sp., Trichoderma sp. y Acrostalagmus sp., mostraron diferencias al nivel del 1% respecto a Rhizoctonia solani + Acrostalagmus sp. y Rhizoctonia solani + Aspergillus niger porque los dos antagonistas pueden inhibir la germinación de las semillas de remolacha ya que por

TABLA V

PORCENTAJES DE PLANTAS VIVAS DE REMOLACHA EN SUELO INOCULADO CON DIFERENTES MICROORGANISMOS ANTAGONICOS DEL Rhizoctonia solani

REPLICACIONES	T R A T A M I E N T O S									
	<u>Acrostalagmus</u> sp.	<u>Aspergillus niger</u>	<u>Trichoderma</u> sp.	<u>Bacillus</u> sp.	<u>Rhizoctonia solani</u> (Testigo negativo)	<u>R. solani</u> + <u>Acrostalagmus</u> sp.	<u>R. solani</u> + <u>A. niger</u>	<u>R. solani</u> + <u>Trichoderma</u> sp.	<u>R. solani</u> + <u>Bacillus</u> sp.	Testigo Positivo
I	36	50	32	60	0	16	12	30	56	46
II	30	68	22	90	0	20	16	44	62	60
III	20	40	28	84	0	10	20	30	50	42
IV	20	32	32	66	0	14	26	24	46	46
V	28	60	42	70	0	18	12	36	58	54
	134	250	156	370	0	78	86	164	272	248
$\bar{X}$	26.8	50.0	31.2	74.0	0	15.6	17.2	32.8	54.4	49.6



Figura 11. Diferentes grados de germinación de remolacha en suelo inoculado con diferentes microorganismos antagónicos del Rhizoctonia solani.

Foto: A. Salazar

TABLA VI

PRUEBA DE TUKEY PARA LOS PROMEDIOS DE PLANTAS VIVAS DE REMOLACHA EN UN SUELO INOCULADO CON DIFERENTES MICROORGANISMOS ANTAGONICOS DEL Rhizoctonia solani

T R A T A M I E N T O S										
	<u>Bacillus</u> sp. 59.97	<u>R. solani</u> + <u>Bacillus</u> sp. 47.54	<u>Aspergillus niger</u> 45.00	Testigo Positivo 44.78	<u>R. solani</u> + <u>Trichoderma</u> sp. 34.83	<u>Trichoderma</u> sp. 33.84	<u>Acrostalagmus</u> sp. 31.23	<u>R. solani</u> + <u>A. niger</u> 24.27	<u>R. solani</u> + <u>Acrostalagmus</u> sp. 23.13	<u>R. solani</u> 0
<u>R. solani</u> 0	59.97 ^{xx}	47.54 ^{xx}	45.00 ^{xx}	44.78 ^{xx}	34.83 ^{xx}	33.84 ^{xx}	31.23 ^{xx}	24.27 ^{xx}	23.13 ^{xx}	0
<u>R. solani</u> + <u>Acrostalagmus</u> sp. 23.13	36.84 ^{xx}	24.41 ^{xx}	21.87 ^{xx}	21.65 ^{xx}	11.70 ^{xx}	10.71 ^{xx}	9.10 ^{xx}	1.14 ^{NS}	0	
<u>R. solani</u> + <u>A. niger</u> 24.27	35.70 ^{xx}	23.27 ^{xx}	20.73 ^{xx}	20.51 ^{xx}	10.56 ^{xx}	9.57 ^{xx}	6.96 ^{xx}	0		
<u>Acrostalagmus</u> sp. 31.23	28.74 ^{xx}	16.31 ^{xx}	13.77 ^{xx}	13.55 ^{xx}	3.60 ^{NS}	2.61 ^{NS}	0			
<u>Trichoderma</u> sp. 33.84	26.13 ^{xx}	13.70 ^{xx}	11.16 ^{xx}	10.94 ^{xx}	0.99 ^{NS}	0				
<u>R. solani</u> + <u>Trichoderma</u> sp. 34.83	25.14 ^{xx}	12.71 ^{xx}	10.17 ^{xx}	9.95 ^{xx}	0					
Testigo Positivo 44.78	15.19 ^{xx}	2.79 ^{NS}	0.25 ^{NS}	0						
<u>A. niger</u> 45.00	14.97 ^{xx}	2.54 ^{NS}	0							
<u>R. solani</u> + <u>Bacillus</u> sp. 59.97	12.43 ^{xx}	0								
<u>Bacillus</u> sp. 59.97	0									

x = Significativo al 5%

xx = Significativo al 1%

NS = No significativo

D.M.S. (Tukey) 5% = 4.92

D.M.S. (Tukey) 1% = 6.52

falta de alimento pueden posesionarse de la cubierta leñosa de la semilla de remolacha que al germinar pueden ser fácilmente destruidas por el Rhizoctonia solani (Figura 12 y 13). Además, se sigue observando la especificidad de Bacillus sp. contra el patógeno (Figura 14). También puede existir fluctuaciones de un mayor desarrollo del Rhizoctonia solani y una menor producción de sustancias antibióticas por parte del Aspergillus niger.

El Bacillus sp. (posiblemente Bacillus cereus), Rhizoctonia solani + Bacillus sp., Aspergillus niger y Testigo positivo ofrecieron diferencias altamente significativas respecto a Acrostalagmus sp., Trichoderma sp. y Rhizoctonia solani + Trichoderma sp., debido posiblemente a alguna influencia en la germinación por parte de los antagonistas y por una escasa selectividad del Trichoderma sp. por el Rhizoctonia solani en condiciones de suelo, donde el hongo puede encontrar condiciones más favorables para su desarrollo que el antagonista (Figura 15).

El Bacillus sp. mostró diferencias al nivel del 1% con el Testigo positivo, Aspergillus niger y Rhizoctonia solani + Bacillus sp. (posiblemente Bacillus cereus), debido a que las sustancias antibióticas producidas por la bacteria no inhiben la germinación de las semillas de remolacha.

En el Testigo positivo pueden haber algunos



Figura 12. Germinación baja de remolacha en un suelo inoculado con Rhizoctonia solani y Acrostalagmus sp.

Foto: A. Salazar



Figura 13. Germinación baja de remolacha en un suelo inoculado con Rhizoctonia solani y Aspergillus niger.

Foto: A. Salazar



Figura 14. Diferencia entre la germinación obtenida en un suelo inoculado con Trichoderma sp. y Rhizoctonia solani y otro inoculado únicamente con el patógeno.

Foto: A. Salazar

microorganismos que en conjunto contribuyeren a inhibir la germinación; además, el Aspergillus niger puede tener cierto efecto patogénico contra la remolacha y la bacteria no inhibe totalmente el desarrollo del Rhizoctonia solani, el cual como respuesta defensiva, tiende a una multiplicación mayor.



Figura 15. Efectividad del Bacillus sp. (posiblemente Bacillus cereus) sobre el Rhizoctonia solani; permitiendo una alta germinación de remolacha.

Foto: A. Salazar

microorganismos que en conjunto contribuyeron a inhibir la germinación; además, el Aspergillus niger puede tener cierto efecto patogénico contra la remolacha y la bacteria no inhibe totalmente el desarrollo del Rhizoctonia solani, el cual como respuesta defensiva, tiende a una multiplicación mayor.

4.2.4 Siembra de zanahoria

En la Tabla VII se presentan los porcentajes originales de plantas vivas en el siguiente orden descendente: Testigo positivo, Bacillus sp. (posiblemente Bacillus cereus), Rhizoctonia solani + Bacillus sp., Aspergillus niger, Acrostagmus sp., Trichoderma sp., Rhizoctonia solani + Acrostagmus sp., Rhizoctonia solani + Trichoderma sp., Rhizoctonia solani + Aspergillus niger, Rhizoctonia solani.

En la Tabla IV del Apéndice, se observa el análisis de variancia, donde se detectaron diferencias al nivel del 1% entre los tratamientos.

Al realizar la prueba de Tukey (Tabla VIII), se determinó lo siguiente: Todos los tratamientos presentaron diferencias altamente significativas respecto al Rhizoctonia solani. Además, los diferentes tratamientos a excepción del Rhizoctonia solani + Trichoderma sp. ofrecieron diferencias al nivel del 1% con el Rhizoctonia solani + Aspergillus niger. Con esta mezcla, Rhizoctonia solani + Trichoderma sp. mostró

TABLA VII

PORCENTAJES DE PLANTAS VIVAS DE ZANAHORIA EN SUELO INOCULADO CON DIFERENTES MICROORGANISMOS ANTAGONICOS DEL Rhizoctonia solani

T R A T A M I E N T O S										
REPLICACIONES	<u>Acrostalagmus</u> sp.	<u>Aspergillus niger</u>	<u>Trichoderma</u> sp.	<u>Bacillus</u> sp.	<u>Rhizoctonia solani</u> (Testigo negativo)	<u>R. solani</u> + <u>Acrostalagmus</u> sp.	<u>R. solani</u> + <u>A. niger</u>	<u>R. solani</u> + <u>Trichoderma</u> sp.	<u>R. solani</u> + <u>Bacillus</u> sp.	Testigo Positivo
I	18	18	20	24	0	14	10	28	21	36
II	18	28	26	36	0	26	16	10	30	24
III	32	26	14	26	0	28	4	14	34	28
IV	30	34	24	26	1	10	10	10	24	38
V	30	22	16	34	0	16	14	26	32	36
	128	128	100	146	1	94	54	88	141	162
					0.2	18.8	10.8	17.6	28.2	32.4
$\bar{X}$	25.6	25.6	20.0	29.2						

TABLA VIII

PRUEBA DE TUKEY PARA LOS PROMEDIOS DE PLANTAS VIVAS DE ZANAHORIA EN UN SUELO INOCULADO CON DIFERENTES MICROORGANISMOS ANTAGONICOS DEL *Rhizoctonia solani*

T R A T A M I E N T O S										
	Testigo Positivo 34.62	<i>Bacillus</i> sp. 32.64	<i>R. solani</i> + <i>Bacillus</i> sp. 31.99	<i>Aspergillus niger</i> 30.27	<i>Acrostalagmus</i> sp. 30.21	<i>Trichoderma</i> sp. 26.42	<i>R. solani</i> + <i>Acrostalagmus</i> sp. 25.32	<i>R. solani</i> + <i>Trichoderma</i> sp. 24.29	<i>R. solani</i> + <i>A. niger</i> 18.79	<i>R. solani</i> 1.15
<i>R. solani</i> 1.15	33.47 ^{xx}	31.49 ^{xx}	30.84 ^{xx}	29.12 ^{xx}	29.06 ^{xx}	25.27 ^{xx}	24.17 ^{xx}	23.14 ^{xx}	17.64 ^{xx}	0
<i>R. solani</i> + <i>A. niger</i> 18.79	15.83 ^{xx}	13.85 ^{xx}	13.20 ^{xx}	11.48 ^{xx}	11.42 ^{xx}	7.63 ^{xx}	6.53 ^{xx}	5.50 ^x	0	
<i>R. solani</i> + <i>Trichoderma</i> sp. 24.29	10.33 ^{xx}	8.35 ^{xx}	7.70 ^{xx}	5.98 ^{xx}	5.92 ^{xx}	2.13 ^{NS}	1.03 ^{NS}	0		
<i>R. solani</i> + <i>Acrostalagmus</i> sp. 25.32	9.30 ^{xx}	7.32 ^{xx}	6.67 ^{xx}	4.95 ^x	4.89 ^x	1.10 ^{NS}	0			
<i>Trichoderma</i> sp. 26.42	8.20 ^{xx}	6.22 ^{xx}	5.57 ^{xx}	3.85 ^{NS}	3.79 ^{NS}	0				
<i>Acrostalagmus</i> sp. 30.21	4.41 ^x	2.43 ^{NS}	1.78 ^{NS}	0.06 ^{NS}	0					
<i>A. niger</i> 30.27	4.35 ^x	2.37 ^{NS}	1.72 ^{NS}	0						
<i>R. solani</i> + <i>Bacillus</i> sp. 31.99	2.63 ^{NS}	0.65 ^{NS}	0							
<i>Bacillus</i> sp. 32.64	1.98 ^{NS}	0								
Testigo Positivo 34.62	0									

x = Significativo al 5%

xx = Significativo al 1%

NS = No significativo.

D.M.S. (Tukey) 5% = 4.008

D.M.S. (Tukey) 1% = 5.52

únicamente diferencias significativas. Esto puede deberse a la pérdida por volatilización de las sustancias antibióticas producidas por el Trichoderma sp. y a la descomposición en el suelo del ácido cítrico producido por el Aspergillus niger; este hecho permite un mayor desarrollo de la población de Rhizoctonia solani.

El Testigo positivo, Bacillus sp. (posiblemente Bacillus cereus), Rhizoctonia solani + Bacillus sp. ofrecieron diferencias al 1% con Rhizoctonia solani + Trichoderma sp. y Rhizoctonia solani + Acrostalagmus sp. Además, Aspergillus niger y Acrostalagmus sp. mostraron diferencias al nivel del 1% con Rhizoctonia solani + Trichoderma sp. y al 5% con Rhizoctonia solani + Acrostalagmus sp. Esto se debe a la menor efectividad del Trichoderma sp. ya que a medida que transcurre el tiempo, las sustancias antibióticas se pueden perder y hay un mayor desarrollo del Rhizoctonia solani. Se comprueba también algún efecto de Acrostalagmus sp., debido probablemente a su capacidad de ir invadiendo los residuos orgánicos y en cierta forma al Rhizoctonia solani.

El Testigo positivo, Bacillus sp. (posiblemente Bacillus cereus), mostraron diferencias al nivel del 1% con Trichoderma sp., ya que al parecer este hongo puede actuar como patógeno débil de las semillas de remolacha. Además, se sigue observando la efectividad de la bacteria, respecto al Rhizoctonia solani.

V. El Testigo positivo y el Bacillus sp. (posiblemente Bacillus cereus), mostraron diferencias al nivel del 5% respecto al Aspergillus niger y al Acrostalagmus sp., los cuales pueden en alguna forma contribuir a disminuir la germinación de las semillas de la zanahoria, especialmente aquellas deterioradas por alguna causa. Se puede indicar también que el Bacillus sp. (posiblemente Bacillus cereus) puede ir disminuyendo en efectividad, a medida que transcurre el tiempo después de su inoculación, debido a que las sustancias antibióticas que produce pueden perderse en alguna forma.

nicoe en dicho patógeno.

3. A nivel de laboratorio, en cajas Petri, con PDA, se obtiene mejor resultado con Trichoderma sp. y Bacillus sp. (posiblemente Bacillus cereus), contra Rhizoctonia solani. El hongo presenta un antagonismo de masa, mientras que la bacteria lo hace a distancia, produciendo una sustancia antibiótica, difusible en el medio.

4. Generalmente, el Aspergillus niger y el Acrostalagmus sp. producen invasión cuando el crecimiento de Rhizoctonia solani se debilita, debido a la falta de alimento.

5. En todos los casos de antagonismo, Rhizoctonia solani forma zonas de agudamiento, producidas por una agudación de crecimiento, como respuesta al agente del antagonismo.

V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

1. El desarrollo del hongo Rhizoctonia solani Kuehn. puede ser controlado por varios microorganismos del suelo.

2. En el presente trabajo, de un suelo infestado con Rhizoctonia solani se aislaron: Acrostalagmus sp., Aspergillus niger, Trichoderma sp. y la bacteria Bacillus sp. (posiblemente Bacillus cereus), que se comportaron como antagonicos de dicho patógeno.

3. A nivel de laboratorio, en cajas Petri, con PDA, se obtuvo mejor resultado con Trichoderma sp. y Bacillus sp. (posiblemente Bacillus cereus), contra Rhizoctonia solani. El hongo presenta un antagonismo de masa, mientras que la bacteria lo hace a distancia, produciendo una sustancia antibiótica, difusible en el medio.

4. Generalmente, el Aspergillus niger y el Acrostalagmus sp. producen invasión cuando el crecimiento de Rhizoctonia solani se debilita, debido a la falta de alimento.

5. En todos los casos de antagonismo, Rhizoctonia solani forma zonas de acordonamiento, producidas por una agropación de esclerotes, como respuesta al avance del antagonico.

6. En condiciones de suelo y mediante siembras de repollo, lechuga, remolacha y zanahoria, se observó que la bacteria Bacillus sp. (posiblemente Bacillus cereus) previno el desarrollo del Rhizoctonia solani y permitió porcentajes de germinación de 80.8%, 54.8%, 54.4% y 28.2%, respectivamente, en comparación con la germinación casi nula obtenida en suelo inoculado con Rhizoctonia solani.

7. Le sigue en efectividad para el control del Rhizoctonia solani, el hongo Trichoderma sp., aunque con el tiempo va perdiendo efectividad, debido tal vez a que las sustancias antibióticas se volatilizan.

8. Se comprueba que los hongos Aspergillus niger y Acrostalagmus sp. muestran una actividad baja contra Rhizoctonia solani, a medida que transcurre el tiempo después de la inoculación.

5.2 Recomendaciones

1. Comprobar la efectividad de Bacillus sp. (posiblemente Bacillus cereus) y del Trichoderma sp. contra otros patógenos del suelo, como son: Rhizoctonia maydis, Sclerotium rolfsii, Sclerotium cepivorum, Sclerotinia sclerotiorum, Botrytis cinerea y Rosellinia sp.

2. Estudiar la influencia de la materia orgánica y

sustancias azucaradas en la efectividad de los microorganismos antagonicos.

El presente trabajo se realizó en el laboratorio de Fito patología de la Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad de Maricao, entre octubre de 1969 y marzo de 1970, con el objeto de:

3. Estudiar la bacterización de semillas, como una forma de prevenir su pudrición por causa de patógenos del suelo.

4. Aislar y estudiar el efecto de otros microorganismos antagonicos del suelo.

5. Fomentar el control biológico de patógenos en el departamento de Maricao.

En cajas Petri con VDA, se hicieron siembras conjuntas y opuestas de los antagonicos con *B. subtilis*; además se los sembró sobre cultivos establecidos del patógeno. En todos los casos se observó un mejor comportamiento del hongo *Trichoderma* sp. y de la bacteria *Bacillus* sp. (posiblemente *Bacillus cereus*); el primero de ellos ejerció un antagonismo de masa, mientras la bacteria lo hizo a distancia. En todos los casos *B. subtilis* formó zonas de crecimiento constituidas por micelios, como una de las de los antagonicos.

Se hicieron inoculaciones por separado de los antagonicos con *B. subtilis* en suelo estabilizado para aplicar en el campo completamente al azar con 3 repeticiones.

Se hicieron 2 siembras de semillas de repollo y una de lechuga, repollo y lechuga. Se comprobó estadísticamente

VI. RESUMEN

El presente trabajo se realizó en el laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad de Nariño, entre Octubre de 1974 y Marzo de 1975, con el objeto de comprobar el efecto antagónico de los hongos Acrostalagmus sp., Aspergillus niger y Trichoderma sp. y de la bacteria Bacillus sp. (posiblemente Bacillus cereus), sobre Rhizoctonia solani, un patógeno común en el departamento de Nariño.

A nivel de laboratorio, en cajas Petri con PDA, se hicieron siembras conjuntas y opuestas de los antagonistas con Rhizoctonia solani; además se los sembró sobre cultivos establecidos del patógeno. En todos los casos se observó un mejor comportamiento del hongo Trichoderma sp. y de la bacteria Bacillus sp. (posiblemente Bacillus cereus); el primero de ellos ejerció un antagonismo de masa, mientras la bacteria lo hizo a distancia. En todos los casos Rhizoctonia solani formó zonas de acordonamiento constituidas por esclerotes, como una al avance de los antagonistas.

Se hicieron inoculaciones por separado de los antagonistas con Rhizoctonia solani en suelo esterilizado para aplicar un diseño completamente al azar con 5 replicaciones.

Se hicieron 2 siembras de semillas de repollo y una de lechuga, remolacha y zanahoria. Se comprobó estadísticamente

una mayor efectividad de la bacteria Bacillus sp. (posiblemente Bacillus cereus), ya que permitió porcentajes de germinación de: 80.8%, 54.8%, 54.4% y 28.2% para repollo, lechuga, remolacha y zanahoria respectivamente; lo siguió en efectividad el hongo Trichoderma sp. pues permitió una germinación de: 57% para repollo, 24% para lechuga, 32.8% para remolacha y 17.6% para zanahoria.

La efectividad de Aspergillus niger y de Acrostalagmus sp. fué baja. En todos los casos, el hongo Rhizoctonia solani solo determinó una germinación muy baja o nula.

Experiments were carried out conjoint and opposite seedlings of the Antiseptics with Rhizoctonia solani; moreover it was seedling on establish cultures of the pathogen. In every case it was observed a best behaviour of the Trichoderma sp. fungus and the Bacillus sp. (Bacillus cereus possibly); former accomplish a more antagonism, while the bacillus is made to distant. In every case Rhizoctonia solani formed zones of cutting constituted for colonies, how a reply to stop the advance of the antagonism.

It were carried out inoculations by disparted of the antagonism with Rhizoctonia solani in soil sterilized for to supply a completely new design with five replications.

Two seedlings of the cabbage studs and one of the lettuce, lettuce and carrot were carried out. It was concluded that

SUMMARY

The present work was carried out in the Phytopathology laboratory of the Agricultural Sciences Faculty, Nariño University, between October 1974 and March 1975, with the object to verify the antagonistic effect of the Acrostalagmus sp., Aspergillus niger, Trichoderma sp. fungi and the Bacillus sp. (Bacillus cereus possibly) on Rhizoctonia solani, a comun patogen in the department of Nariño.

To level of laboratory, in Petri dishes with PDA, its were carried out conjunct and opposite seedings of the antagonistics with Rhizoctonia solani; moreover it were seeding on establish cultures of the patogen. In every case it was observe a best behaviour of the Trichoderma sp. fungus and the Bacillus sp. (Bacillus cereus possibly); former accomplish a mass antagonism, while the bacillus its made to distant. In every case Rhizoctonia solani formed zones of cording constituted for sclerotes, how a reply to stop the advance of the antagonistics.

It were carried out inoculations by disparted of the antagonistics with Rhizoctonia solani in soil sterilized for to apply a completely azar design with five replications.

Two seedings of the cabbage seeds and one of the lettuce, beet-root and carrot were carried out. It was confirmed sta-

tistically a greater effectiveness of Bacillus sp. (Bacillus cereus possibly), because it permitted percentages of germination of: 80.8%, 54.8%, 54.4% and 28.2% for cabbage, lettuce, beet-root and carrot respectively; it was followed effectiveness by Trichoderma sp. fungus because permit a germination of 57% for cabbage, 24% for lettuce, 32.8% for beet-root and 17.6% for carrot.

The effectiveness of Aspergillus niger and Acrostalagmus sp. were down. In every case Rhizoctonia solani single, determined a germination very down or null.

VII. BIBLIOGRAFIA

1. ALBORNOZ, R. et al. Descripción ilustrada de algunos géneros de hongos de importancia agrícola en Colombia. Tesis Ing. Agr. Instituto Tecnológico Agrícola, Universidad de Nariño, Pasto, Colombia, 1969. 393p. (Mecanografiado).
2. ALEXANDER, M. Introduction to soil Microbiology. New York, Wiley, 1961. 462p.
3. BARNETT, N.L. Ilustred genera of imperfect fungi. 2nd ed. New York, Burgees, 1962. 235p.
4. BLASCO L., M. Microbiología de suelos. Turrialba, IICA, Costa Rica, 1970. 67p.
5. BULLA, A. Fitopatología y control de enfermedades. Palмира, Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agropecuarias, 1972. 133p. (Mimeografiado).
6. CERCOS, A. Los antibióticos y sus aplicaciones agropecuarias. Buenos Aires, Salvat, 1957. 475p.
7. DENNIS, Y. y WEBSTER, S. Antagonistic properties of species groups of Trichoderma. I Production of non-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).

8. HENIS, Y. y INBAR, J. Effect of Bacillus subtilis on growth and Sclerotium formation by Rhizoctonia solani. *Phytopathology* 58(7):933-938. 1968.
9. HORSFALL, H.G. y DIMOND, A.E. *Plant Pathology*. New York, Academic Press, 1960. (1):350p.
10. KENNETH, F., et al. Effect antagonistic on growth and survival of Rhizoctonia solani in soil. *Phytopathology* 57(9):591-601. 1967.
11. KOLTIN, P. y CHORIN-KIESCH. Alteration of fungal morphology induced by substance from Bacillus cereus. *Gen. microbiol.* 66(2):145-151. 1971. (Original no consultado compendiado en: *Review of plant Pathology* 51 (1):72. 1972).
12. SNEDECOR, G.W. *Métodos estadísticos*. Trad. del inglés por Angel Reinos Fuller. México, Continental, 1970. 626p.
13. VLAKHOVS, Z. Antagonistic correlation of soil bacterias and fungi with phytopathogenic fungi. *God. Sof. Univ. Biol. Fac.* 59(2):165-182. 1965. (Original no consultado compendiado en: *Review of Plant Mycology* 46 (10):563. 1967).
14. WAKSMAN, S. *Soil Microbiology*. New York, John Wiley, 1957. 356p.

A P E N D I C E

TABLA I

ANALISIS DE VARIANCIA PARA LOS PROMEDIOS DE GERMINACION DE PLANTAS DE REPOLLO DURANTE DOS SIEMBRAS, EN SUELO INOCULADO CON DIFERENTES MICROORGANISMOS ANTAGONICOS DEL

Rhizoctonia solani

FUENTES DE VARIACION Y	G. L.	S. C.	C. M.	F. C.	F. T.	
					5%	1%
SISTEMAS	1	19.75	19.75	0.29 ^{NS}	5.32	11.26
ERROR (a)	8	544.98	68.12			
TRATAMIENTOS	9	71,408.12	7,934.24	169.46 ⁺⁺	2.01	2.67
SISTEMAS x TRATAMIENTOS	9	1,549.93	172.21	0.46 ^{NS}	2.01	2.67
ERROR (b)	72	3,371.29	46.83			
TOTAL	99	76,894.07				

TABLA II

ANALISIS DE VARIANCIA PARA LOS PROMEDIOS DE GERMINACION EN PLANTULAS DE LECHUGA EN
SUELO INOCULADO CON DIFERENTES MICROORGANISMOS ANTAGONICOS DE Rhizoctonia solani

FUENTES DE VARIACION	G. L.	S. C.	C. M.	F. C.	F. T.	
					5%	1%
TRATAMIENTOS	9	11.809.19	1.312.13	34.07 ⁺⁺	2.12	2.88
ERROR	40	1.540.37	38.51			
TOTAL	49	13.349.56				

TABLA III

ANALISIS DE VARIANCIA PARA LOS PROMEDIOS DE GERMINACION DE PLANTULAS DE REMOLACHA EN
SUELO INOCULADO CON DIFERENTES MICROORGANISMOS ANTAGONICOS DE Rhizoctonia solani

FUENTES DE VARIACION	G. L.	S. C.	C. M.	F. C.	F. T.	
					5%	1%
TRATAMIENTOS	9	12.351.26	1.372.36	50.25 ⁺⁺	2.12	2.88
ERROR	40	1.092.27	27.31			
TOTAL	49	13.443.53				

TABLA IV

ANALISIS DE VARIANCIA PARA LOS PROMEDIOS DE GERMINACION DE PLANTULAS DE ZANAHORIA EN
SUELO INOCULADO CON DIFERENTES MICROORGANISMOS ANTAGONICOS DE Rhizoctonia solani

FUENTES DE VARIACION	G. L.	S. C.	C. M.	F. C.	F. T.	
					5%	1%
TRATAMIENTOS	9	4,307.00	478.56	24.57 ⁺⁺	2.12	2.88
ERROR	40	779.33	19.48			
TOTAL	49	5,086.33				

T
632.4
V297
Ej. 1

UNIVERSIDAD DE NARIÑO

Inventario: 16861

Autor: Miguel Vargas Rosero

Título: Comprobación de la



T
632.4
V297
Ej. 1

16861

Universidad de Nariño
Pasto (Nariño)

Universidad de Nariño
BIBLIOTECA
ALBERTO GUZMÁN GUERRERO

16861