

# CONTROL BIOLÓGICO DE LA AGALLA DE CORONA EN PLANTAS DE CRISANTEMO CON LA CEPA K-84 DE *AGROBACTERIUM RADIOBACTER* VAR *RADIOBACTER* (BEIJERINCK & VAN DELDEN) CONN.

Gerardo Garzón \*  
Germán Arbeláez \*\*

## 1. RESUMEN

A partir de plantas de crisantemo de las variedades Surf, Yellow Garland y Circus afectadas por la agalla de corona en la Sabana de Bogotá, se obtuvieron 3 aislamientos bacteriales de *A. radiobacter* var. *tumefaciens* Smith & Townsend, los cuales se caracterizaron e identificaron mediante observaciones macroscópicas y microscópicas y la realización de pruebas fisiológicas y bioquímicas en el laboratorio; para probar la patogenicidad de dichos aislamientos se inocularon en plantas de tomate, en discos de zanahoria y de remolacha.

Se realizaron 2 ensayos para determinar el efecto de la cepa K-84 de *A. radiobacter* var. *radiobacter* sobre la enfermedad ocasionada por 2 aislamientos patógenos de *A. radiobacter* var. *tumefaciens* en plantas de crisantemo o de las variedades Circus, Yellow Garland y Surf. El primer ensayo se desarrolló en bancos de enraizamiento con esquejes sin enraizar y el segundo ensayo se hizo con esquejes enraizados y colocados en materas.

Los 3 aislamientos patógenos presentaron un alto porcentaje de infección en las variedades Circus y Yellow Garland, mientras que la variedad Surf fue la menos afectada.

La cepa K-84 fue más efectiva en el ensayo de materas que en el ensayo en bancos de enraizamiento por la fácil lixiviación de la bacteria con el agua de riego. Se encontró un mejor control de la cepa K-84 para los aislamientos patógenos pertenecientes al biotipo 2.

La inmersión en presiembra de los esquejes en una solución de cloro y el uso continuo de este elemento en el agua de riego fueron el mejor tratamiento para el control de la agalla de corona en bancos de enraizamiento y en materas.

## 2. INTRODUCCION

En la última década la producción de flores para la exportación en Colombia ha tenido una actividad preponderante, no sólo para el sector agropecuario sino para la economía del país.

---

\* Ingeniero Agrónomo, Jardines de los Andes.

\*\* Profesor Asociado, Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.

Recientemente se han registrado numerosas enfermedades y plagas en este tipo de exportación agropecuaria, afectando sensiblemente la rentabilidad. Una de las enfermedades más importantes desde el punto de vista económico en cultivos de rosa y de crisantemo es la agalla de corona, causada por la bacteria **Agrobacterium radiobacter** var. **tumefaciens**, la cual ha sido descrita y observada en todo el mundo desde el siglo pasado.

La enfermedad fue introducida al país hace varios años en material propagativo infectado de rosa y de crisantemo. En 1973 se registró la agalla de corona en algunos cultivos de crisantemo para exportación en el Departamento de Antioquia; en la Sabana de Bogotá durante el año de 1979 se presentaron grandes pérdidas económicas en cultivos de rosa, apareciendo posteriormente la enfermedad en plantas de crisantemo (2,6). Con el tiempo la enfermedad en cultivos de flores de exportación se ha incrementado, debido a diferentes factores, tales como la insuficiencia de las medidas sanitarias utilizadas, la modificación de ciertas técnicas de cultivo, la multiplicación de variedades particularmente susceptibles a la enfermedad y la introducción de nuevas cepas patogénicas de la bacteria, todo esto unido a la ausencia de productos químicos para controlar la enfermedad.

Desde hace algunos años se ha demostrado la protección de plantas jóvenes con la cepa K-84 de **Agrobacterium radiobacter** var. **radiobacter** como antagonista de algunas cepas de **A. radiobacter** var. **tumefaciens**. En varios trabajos se ha confirmado que la acción de la cepa antagonista se debe a la producción de una bacteriocina denominada Agrocín. Miller y Miller (5) obtuvieron buenos resultados en el control de la enfermedad mediante el tratamiento del suelo con la cepa K-84, al igual que Kerr (4) en plantas y esquejes de crisantemo.

El objetivo de este trabajo fue determinar el resultado del tratamiento de la cepa K-84 sobre razas de la cepa patógena prevalentes en la Sabana de Bogotá y observar la reacción a dicho tratamiento en las variedades de crisantemo Circus, Surf y Yellow Garland bajo condiciones de invernadero, con el fin de precisar la eficacia del control biológico en nuestro medio.

### 3. MATERIALES Y METODOS

#### 3.1. Obtención de la Bacteria Patógena

La obtención de aislamientos de la bacteria patógena se realizó a partir de agallas jóvenes de un mes de crecimiento presentes en la corona y en las raíces de las plantas de crisantemo de las variedades Surf, Dixe, Yellow Garland y Circus procedentes de diferentes viveros de la Sabana de Bogotá.

Para los aislamientos se utilizaron los medios de cultivo Papa-Dextrosa-Agar (PDA), Agar Nutriente (AN) y Extracto de Levadura-Dextrosa-Carbonato de calcio (YDC) con pH7. Las cajas de Petri se incubaron a una temperatura de 29°C.

#### 3.2. Caracterización e Identificación de la Bacteria.

##### 3.2.1 Pruebas de Patogenicidad

A cada uno de los cultivos bacteriales obtenidos se les comprobó la patogenicidad mediante inoculación de la suspensión bacterial sobre rodajas de zanahoria (**Daucus carota** L.) y de remolacha (**Beta vulgaris** L.) de 5 mm. de espesor. De las rodajas de zanahoria y de remolacha que presentaron agallas sobre la superficie, se aisló la bacteria para proceder a su identificación y caracterización.

### 3.2.2 Clasificación de la Bacteria.

El género, la especie y el biotipo se determinaron mediante observaciones macroscópicas y microscópicas y la realización de pruebas fisiológicas y bioquímicas, siguiendo los procedimientos establecidos en el Manual de Bergey 8a. Edición (1) y la Guía de Laboratorio para identificación de bacterias fitopatógenas de Schaad (7).

Para la identificación de biotipos de **Agrobacterium radiobacter** var. **tumefaciens** y la cepa K-84 se utilizaron las pruebas de diagnóstico propuestas por Kerr y Panagopolos, citados por Faivre-Amiot (3).

### 3.2.3 Obtención y Propagación de la Cepa K-84

La cepa K-84 de **Agrobacterium radiobacter** var. **radiobacter** fue enviada por el Dr. Larry W. Moore de Oregon State University, Corvallis, Oregon, U.S.A. Como medios de cultivo para la replicación de la bacteria se utilizaron Papa-Dextrosa-Agar, Caldo Nutritivo, Agar Nutritivo, Extracto de Levadura-Dextrosa-Agar-Carbonato de Calcio, D-1 Agar, Papa-Dextrosa-Agar 5% de carbonato de calcio. Para cada uno de los medios se efectuaron tres repeticiones en tubos de ensayo y tres repeticiones en cajas de Petri.

### 3.3. Ensayos en Invernaderos

Los ensayos se desarrollaron en el laboratorio y en los invernaderos con cubierta plástica de la Facultad de Agronomía, simulando las condiciones comerciales en las cuales se produce el crisantemo en la Sabana de Bogotá.

Se desarrollaron dos ensayos para observar el comportamiento de la cepa K-84 sobre los aislamientos patogénicos provenientes de plantas de crisantemo enfermas.

El inóculo que se utilizó en los dos experimentos se obtuvo de un cultivo bacterial de 3 días de crecimiento del cual se prepararon suspensiones homogéneas de la bacteria en caldo nutritivo (CN) hasta obtener concentraciones cercanas a  $1.7 \times 10^{10}$  células bacteriales por mililitro, las cuales se determinaron por medio de densidades ópticas.

El primer ensayo se realizó en camas de enraizamiento utilizando esquejes sin enraizar de crisantemo de variedades susceptibles a la agalla de corona: Circus, Surf y Yellow Garland. En el segundo ensayo se buscó probar el control biológico de la cepa K-84 al ser aplicada en diferentes estados de crecimiento de las plantas de crisantemo bajo condiciones de invernadero. El material vegetal se sembró en materas de 1kgr. de capacidad; como sustrato en camas de enraizamiento se utilizó escoria coquizada, mientras que en el segundo ensayo las materas se llenaron con suelo rico en materia orgánica en mezcla con roca dolomítica y con cascarilla de arroz.

Bajo condiciones de invernadero los tratamientos en materas para las 2 cepas de **A. radiobacter** var. **tumefaciens** fueron iguales a los desarrollados en las camas de enraizamiento.

Los tratamientos desarrollados fueron:

T<sub>0</sub> : Testigo. Sin Inoculación.

T<sub>1</sub> : Aplicación de **A. radiobacter** var. **tumefaciens** al sustrato.

T<sub>2</sub> : Aplicación simultanea de **A. radiobacter** var. **tumefaciens** al sustrato y de la cepa K-84 a esquejes sin enraizar.

- T<sub>3</sub> : Inmersión de esquejes sin enraizar en una suspensión de la cepa K-84 y 8 días después de la siembra aplicación de una suspensión de la cepa patógena.
- T<sub>4</sub> : Inmersión de esquejes sin enraizar en una suspensión de la cepa K-84 y 15 días después de la siembra aplicación de una suspensión bacterlal de la cepa patógena.
- T<sub>5</sub> : Inmersión de los esquejes sin enraizar en una suspensión de la cepa K-84.
- T<sub>6</sub> : Aplicación de *A. radiobacter* var. *tumefaciens* al sustrato, más agua clorada a los esquejes sin enraizar.

Cada tratamiento correspondió a una materia sembrada con 3 esquejes; se efectuaron 3 repeticiones para todos los tratamientos.

En los tratamientos T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub> y T<sub>6</sub> de cada aislamiento patógeno, se asperjaron 10 ml. de suspensión bacterlal sobre la escoria estéril para simular la presencia de dicha bacteria bajo condiciones naturales de una cama de enraizamiento. En el tratamiento 6 se preparó agua clorada mediante la aplicación de hipoclorito de sodio del 15% hasta obtener una concentración de 200 ppm de cloro en donde se sumergieron los esquejes durante 30 segundos y posteriormente fueron sembrados.

El testigo no recibió inoculación de ninguna de las cepas patógenas ni de la cepa K-84.

En los tratamientos 3, 4 y 5 se aplicó la cepa K-84 a los esquejes de crisantemo y se sembraron en las materas con sustrato estéril; al cabo de 8 a 15 días, según el tratamiento, se halaron las plantas hacia arriba tratando de romper varias raíces para causar heridas y 24 horas después se hicieron las inoculaciones con la cepa patógena por riego directo sobre el sustrato.

## 4. RESULTADOS Y DISCUSION

### 4.1 Aislamiento de la Bacteria

La maceración de agallas, su posterior filtrado y estriado en el medio de cultivo fue el método más confiable para lograr el aislamiento de la bacteria. Después de continuas replicaciones en los diferentes medios utilizados, se observó que el medio más adecuado para la obtención de cultivos puros fue el YDC, pH7.

### 4.2 Caracterización e Identificación de la Bacteria

#### 4.2.1 Pruebas de Patogenicidad.

El mejor método para la inoculación de las rodajas de zanahoria y de remolacha fue el de tomar una lupada de cultivo puro de 24 horas de crecimiento en YDC y su estriado posterior con una aza sobre la superficie de la rodaja.

Sobre las rodajas de zanahoria se presentaron diversos tipos de crecimiento bacterlal; en ocasiones se observaron pudriciones causadas principalmente por *Pseudomonas* procedentes de aislamientos de la variedad Dixie; de igual manera se observó en algunos discos no inoculados, racimos cristalinos diminutos que al ser vistos al estereoscópio presentaban la formación caracterfstica de un crecimiento celular.

Al igual que en el trabajo de Ovalle, Benincore y Arbeláez (9), se llegó a establecer que la rodaja de remolacha presentaba pequeños tumores brillantes, lisos, rojizos en la superficie, alcanzando su máximo crecimiento a los 30 días de inoculado.

El aislamiento procedente de la variedad *Circus* presentó un 84% de patogeneidad en zanahoria, mientras que los aislamientos de las variedades Yellow Garland y Surf alcanzaron apenas un 50%. Para la remolacha los resultados de patogeneidad fueron *Circus* 50%, Yellow Garland 20% y Surf 33%.

Al inocular rodajas de zanahoria y de remolacha con la cepa K-84 de ***Agrobacterium radiobacter*** var. ***radiobacter*** no se observaron los síntomas característicos de la formación de tumores desarrollados por los aislamientos patógenos.

#### 4.2.2 Clasificación de la Bacteria

A cada uno de los aislamientos patógenos se les denominó así: A-1 Yellow Garland, A-2 *Circus*, A-3 Surf.

Los análisis realizados para establecer la identificación de los cultivos obtenidos a partir de agallas y compararlos con la cepa K-84 no patógena se caracterizaron dentro del género ***Agrobacterium***.

En las pruebas de diagnóstico de biotipos se estableció que la cepa K-84 y el aislamiento A-1 pertenecían al biotipo 2, mientras que los aislamientos patógenos A-2 y A-3 fueron del biotipo 1.

La identificación del biotipo de cada aislamiento obtenido es importante para la posible utilización de la cepa K-84, debido a que se ha encontrado un control más eficiente de la enfermedad ocasionada por aislamientos pertenecientes al biotipo 2 (8).

#### 4.3 Reproducción de la Cepa K-84

El medio de cultivo donde crecieron bien las bacterias no patógenas fue el PDA más 5% de  $\text{CaCO}_3$ ; las colonias bacteriales a las 48 horas se caracterizaron por ser blancas, circulares, enteras, lisas y abundantes sobre la superficie del medio.

#### 4.4 Ensayo en invernadero

Los 2 aislamientos de ***A. radiobacter*** var. ***tumefaciens*** inoculados en plantas de las 3 variedades de crisantemo presentaron un alto porcentaje de infección principalmente en las variedades *Circus* (66%) y Yellow Garland (58%); la variedad Surf fue la menos afectada con un 27% de infección.

La observación y cuantificación de las agallas se efectuó a los 112 días después de la inoculación. Los tumores encontrados se desarrollaron en la raíz y en la corona de las plantas inoculadas.

##### 4.4.1 Ensayo en Bancos de Enraizamiento

En este ensayo se presentó una mayor incidencia de la enfermedad en las variedades *Circus* y Yellow Garland; en la variedad Surf la infección fue baja (Tabla 1). Este comportamiento se debe a la procedencia de los aislamientos inoculados, es decir, que el aislamiento A-1 procedente de la variedad Yellow Garland ocasionó un mayor número de agallas en la variedad Yellow Garland, mientras que el aislamiento procedente de la variedad *Circus* lo hizo en plantas de la variedad *Circus*. Tanto el aislamiento A-1 como el aislamiento A-2 causaron tumores en la variedad Surf (Tabla 1).

TABLA 1

RESULTADOS DEL CONTROL DE LA CEPA K-84 SOBRE 2 AISLAMIENTOS DE *Agrobacterium radibacter* VAR *tumefaciens* EN 3 VARIETADES DE CRISANTEMO ENSAYO EN BANCOS DE ENRAIZAMIENTO

VARIEDAD	Tratamiento	A-1 (Biotipo 2)				A-2 (Biotipo 1)			
		Plantas con agallas	No. Agallas		Plantas con agallas	No. Agallas			
			Raiz	Corona		Raiz	Corona		
CIRCUS	T <sub>0</sub>	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9
	T <sub>1</sub>	6/9	4/9	2/9	7/9	3/9	4/9	3/9	4/9
	T <sub>2</sub>	2/9	1/9	1/9	2/9	0/9	2/9	0/9	2/9
	T <sub>3</sub>	2/9	0/9	2/9	4/9	0/9	4/9	0/9	4/9
	T <sub>4</sub>	1/9	1/9	0/9	6/9	1/9	5/9	1/9	5/9
	T <sub>5</sub>	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9
	T <sub>6</sub>	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9
SURF	T <sub>0</sub>	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9
	T <sub>1</sub>	4/9	2/9	2/9	3/9	2/9	1/9	2/9	1/9
	T <sub>2</sub>	0/9	0/9	0/9	1/9	0/9	0/9	1/9	0/9
	T <sub>3</sub>	1/9	0/9	1/9	2/9	1/9	1/9	1/9	1/9
	T <sub>4</sub>	2/9	1/9	1/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9
	T <sub>5</sub>	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9
	T <sub>6</sub>	0/9	0/9	0/9	1/9	0/9	1/9	0/9	1/9
YELLOW GARLAND	T <sub>0</sub>	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9
	T <sub>1</sub>	8/9	0/9	8/9	4/9	2/9	2/9	2/9	2/9
	T <sub>2</sub>	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9
	T <sub>3</sub>	1/9	0/9	1/9	1/9	0/9	1/9	0/9	1/9
	T <sub>4</sub>	2/9	0/9	2/9	3/9	1/9	2/9	1/9	2/9
	T <sub>5</sub>	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9
	T <sub>6</sub>	1/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9
TOTAL		30/189	10/189	20/189	34/189	11/189	23/189	11/189	23/189

La mayor cantidad de agallas se observó en la corona de las plantas (67%), lo cual permite establecer que la herida en la base de los esquejes sin enraizar fue el punto de entrada de la bacteria patógena (Tabla 1).

Aplicaciones preventivas del aislamiento K-84 en el momento de la siembra (Tratamiento  $T_2$ ), redujeron la incidencia de la enfermedad en las variedades Circus y Surf; en la variedad Yellow Garland se observó un control total de la enfermedad (Tabla 1).

La cepa K-84 de *A. radlobacter* var. *radlobacter* perdió efectividad con el tiempo en el sustrato. En los tratamientos  $T_3$  y  $T_4$  se observó una disminución en el grado de control, a medida que aumentó el tiempo entre la inmersión de los esquejes en la solución con la cepa K-84 y la inoculación de la bacteria patógena por ser fácilmente lixiviada por el agua de riego.

Las plantas de los tratamientos testigo ( $T_0$ ) e inoculadas con la cepa K-84 (Tratamiento  $T_5$ ) no desarrollaron agallas en ninguna de las variedades, y tampoco se observaron diferencias en su desarrollo con las plantas infectadas (Tabla 1).

El mejor tratamiento en bancos de enraizamiento para todas las variedades se obtuvo mediante la inmersión de los esquejes en una solución que contenía 200 ppm. de cloro (Tratamiento  $T_6$ ) (Tabla 1). El riego se efectuó durante todo el ensayo con la solución nutriente disuelta en agua con 6 ppm. de cloro.

Mientras que la cepa K-84 actúa con mayor eficiencia sobre el biotipo 2 que sobre el biotipo 1, el cloro ejerció su acción preventiva independiente del biotipo de la bacteria patógena.

El aislamiento A-1 procedente de la variedad Yellow Garland ocasionó mayor infección que el aislamiento A-2 obtenido de la variedad Circus. Ninguno presentó especificidad al hospedante inoculado (Tabla 1).

#### 4.4.2 Ensayo en Materas

Al igual que en el ensayo de enraizamiento se observó un alto grado de infección en las variedades Circus y Yellow Garland, siendo menor en la variedad Surf (Tabla 2).

Del número total de agallas presentes en las plantas, el 93% se localizó en la raíz y el 7% en la corona (Tabla 2); este resultado confirma que una siembra inadecuada con maltrato de raíces ocasiona heridas favorables para la penetración de la bacteria en los tejidos de la planta, y la posterior formación de tumores.

La acción preventiva de la cepa K-84 se incrementó a medida que la planta avanzó en edad (Tratamientos  $T_2, T_3, T_4$ ) contrario a lo encontrado en bancos de enraizamiento. En este caso el sustrato creó condiciones favorables a nivel de la rizósfera para el mantenimiento y reproducción de la bacteria antagonista con el fin de competir con los aislamientos patógenos aplicados posteriormente (Tabla 2).

En general, la aplicación de cloro a los esquejes enraizados (Tratamiento  $T_6$ ) fue el mejor tratamiento observado, ya que se redujo la enfermedad en un 95% en comparación al testigo inoculado con la cepa patógena (Tratamiento  $T_0$ ).

El aislamiento patógeno A-1 procedente de la variedad Yellow Garland fue el más agresivo y a su vez el más controlado por la cepa K-84 por pertenecer ambos al biotipo 2.

**TABLA 2**

RESULTADOS DEL CONTROL DE LA CEPA K-84 CON 2 AISLAMIENTOS DE *Agrobacterium radbacter VAR tumefaciens* EN 3 VARIETADES DE CRISANTEMO. ENSAYO EN MATEROS

VARIEDAD	Tratamiento	A-1 (Biotipo 2)				A-2 (Biotipo 1)			
		Plantas con agallas	No. Agallas		Plantas con agallas	No. Agallas			
			Raíz	Corona		Raíz	Corona		
CIRCUS	T <sub>0</sub>	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9
	T <sub>1</sub>	4/9	4/9	0/9	7/9	6/9	1/9	0/9	0/9
	T <sub>2</sub>	2/9	2/9	0/9	5/9	5/9	0/9	0/9	0/9
	T <sub>3</sub>	2/9	1/9	1/9	4/9	4/9	0/9	0/9	0/9
	T <sub>4</sub>	0/9	0/9	0/9	3/9	3/9	0/9	0/9	0/9
	T <sub>5</sub>	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9
	T <sub>6</sub>	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9
SURF	T <sub>0</sub>	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9
	T <sub>1</sub>	3/9	2/9	1/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9
	T <sub>2</sub>	0/9	0/9	0/9	2/9	2/9	0/9	0/9	0/9
	T <sub>3</sub>	1/9	1/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9
	T <sub>4</sub>	1/9	1/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9
	T <sub>5</sub>	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9
	T <sub>6</sub>	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9
YELLOW GARLAND	T <sub>0</sub>	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9
	T <sub>1</sub>	6/9	6/9	0/9	3/9	3/9	0/9	0/9	0/9
	T <sub>2</sub>	0/9	0/9	0/9	1/9	1/9	0/9	0/9	0/9
	T <sub>3</sub>	0/9	0/9	0/9	1/9	1/9	0/9	0/9	0/9
	T <sub>4</sub>	1/9	1/9	0/9	2/9	2/9	0/9	0/9	0/9
	T <sub>5</sub>	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9
	T <sub>6</sub>	1/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9	0/9
TOTAL		21/189	19/189	2/189	28/189	26/189	2/189	2/189	2/189



El sitio donde se adquiriera la infección determinará la incidencia de la enfermedad en las plantas. Los resultados demostraron que la infección en los bancos de enraizamiento ocasionó un mayor número de plantas enfermas que cuando el inóculo se hallaba presente en las camas de producción.

## 5. CONCLUSIONES

1. Los aislamientos de **A. radiobacter** var. **tumefaciens** pertenecientes a los biotipos 1 y 2 presentaron un alto porcentaje de infección en las variedades Circus y Yellow Garland mientras que la variedad Surf fue la menos afectada por dichos aislamientos.
2. El mayor número de agallas en los bancos de enraizamiento se presentó en la corona de las plantas inoculadas, mientras que en el ensayo en materas se observaron más agallas en las raíces de las plantas.
3. El control de la enfermedad con la aplicación preventiva de la cepa K-84 en el ensayo en materas fue más efectiva que la aplicación efectuada en bancos de enraizamiento.
4. En los bancos de enraizamiento la cepa K-84 perdió efectividad a medida que transcurría el tiempo por ser fácilmente lixiviada por el agua de riego.
5. La inmersión de los esquejes enraizados al momento de la siembra en una suspensión bacteriana con la cepa K-84 ocasionó el mejor control de las cepas patógenas y su acción aumentó con el tiempo.
6. El sitio en donde las plantas adquirieron la infección determinó la incidencia de la enfermedad. Se encontró que la infección en bancos de enraizamiento ocasionó un mayor número de plantas enfermas, en comparación cuando el inóculo se encontró en el sustrato de las materas.
7. El aislamiento patógeno proveniente de la variedad Yellow Garland fue el aislamiento más agresivo y a su vez el más afectado por la cepa K-84, por pertenecer al biotipo 2.
8. De los medios de cultivo utilizados para la multiplicación de la cepa K-84, el PDA más 5% de Carbonato de Calcio fue el mejor para el crecimiento de la bacteria.
9. La inmersión de los esquejes en una solución con 200 ppm. de cloro antes de la siembra y el uso continuo y moderado de Cloro en el agua de riego, se constituyeron en el mejor tratamiento para prevenir la agalla de la corona en el ensayo de bancos de enraizamiento y en el ensayo en materas.

## 6. BIBLIOGRAFIA

1. ALLEN, O.N. and J.J. HOLDING. 1974. **Agrobacterium** p. 264-267. In R.E. Buchanan and N.E. Gibbons (eds). **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology** 8th edition. The Williams and Wilkins, Baltimore.
2. FAIVRE: AMIOT, A. 1979. Conferencia sobre los tumores de **Agrobacterium** y el problema de la agalla de corona. Mimeografiado Asocolflores. Bogotá.
3. FAIVRE: AMIOT, A. J. ROUX et M. L. FAIVRE. 1982. Lutte biologique contre **Agrobacterium tumefaciens** (Schmit et Townsend) Conn agent de la galle du collet du

chrysantheme a l'side de la souche K-84 D'**Agrobacterium radiobacter** (Beijerinck et Van Delden) (**Conn. Acta Horticulturae** 125: 233-237).

4. Kerr, A. 1980. Biological control of crown gall through production of Agrocín 84. *Plant Disease* 64: 25-30.
5. MILLER, H.H., J.W. MILLER and G.L. CRANE. 1975. Relative susceptibility of chrysanthemum cultivars to **Agrobacterium tumefaciens**. *Plant Disease Reporter* 59: 576-581.
6. MOORE, L.W. 1979. La agalla de corona y su relación con la producción de rosas en Colombia. Mimeografiado Asocolflores. Bogotá.
7. MOORE, L.W., A. ANDERSON and C. KADO. 1980. **Agrobacterium** p. 17-25. In N.W. Schaad. *Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria*. American Phytopathological Society. St. Paul. Minnesota.
8. MOORE, L.W., and G. WARREN. 1979. **Agrobacterium radiobacter** strain 84 and biological control of crown gall. *Phytopatology* 17: 163-179.
9. OVALLE, G., G. BENINCORE and G. ARBELAEZ. 1984. Patogenicidad de **Agrobacterium tumefaciens** en algunas especies de plantas de flores de exportación. *Agronomía Colombiana* 2: 89-95.