

**Evaluación del efecto de seis tratamientos  
térmicos en la germinación de la albahaca  
dulce  
(*Ocimum basilicum*)**

**Marggie Nataly Quiroz Herrera**

**Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano**  
Noviembre, 2014

ZAMORANO  
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

**Evaluación del efecto de seis tratamientos  
térmicos en la germinación de la albahaca  
dulce  
(*Ocimum basilicum*)**

Proyecto especial de graduación presentado como requisito parcial para optar  
al título de Ingeniera Agrónoma en el  
Grado Académico de Licenciatura

Presentado por

**Marggie Nataly Quiroz Herrera**

**Zamorano, Honduras**

Noviembre, 2014

## **Evaluación del efecto de seis tratamientos térmicos en la germinación de la albahaca dulce (*Ocimum basilicum*)**

**Marggie Nataly Quiroz Herrera**

**Resumen:** *Peronospora belbahrii* produce la enfermedad de mildiu lanoso que afecta la producción de albahaca dulce (*Ocimum basilicum*). Esta enfermedad puede ser transmitida por la semilla y por ello se recomienda tratarla antes de sembrarla. El objetivo fue evaluar el efecto de tratamientos térmicos en la germinación de la albahaca dulce. En una primera fase de laboratorio, se trataron 300 semillas de tres variedades de albahaca, Italian Large Leaf, Nufar y Lettuce Leaf, con seis tratamientos térmicos que variaron en la temperatura y periodos de exposición de la semilla. Cien semillas provenientes de cada uno de estos tratamientos térmicos se usaron para evaluar los efectos en la germinación en platos Petri. Con la semilla restante de los tratamientos, se condujo otro experimento para medir los efectos en la germinación de las tres variedades de albahaca en condiciones de invernadero usando bandejas de germinación. Los efectos de los tratamientos se evaluaron a los 3, 7, 10 y 14 días después de siembra. Un segundo experimento en invernadero se condujo con la variedad Italian Large Leaf, que presentó la menor sensibilidad a los tratamientos térmicos en la primera fase. Se evaluaron cinco tratamientos y su efecto en la germinación: 1) Testigo 2) Agua a 38 °C por 10 min, seguido de agua a 44°C por 10 min, y 2°C por 5 min, 3) Agua 38°C por 10 min, seguido de agua a 56 °C por 20 min, y 2°C por 5 min, 4) *Trichoderma harzianum* y 5) *Bacillus subtilis*. En todos los experimentos se usó un diseño de bloques completos al azar. Los datos de germinación se analizaron mediante un Análisis de Varianza (ANDEVA), usando el Modelo Lineal General (GLM) y una prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ). Los tratamientos con inmersión en agua fría a 4 °C por 4 horas redujeron la germinación posiblemente a causa de una dormancia secundaria causada por las bajas temperaturas y el periodo largo de exposición. En la primera fase, el tratamiento con agua a 38 °C por 10 minutos seguido de agua a 44 °C por 10 minutos y agua fría a 2 °C por 5 minutos mostro los mayores porcentajes de germinación. En la segunda fase los tratamientos con *T. harzianum* y *B. subtilis* presentaron baja germinación, 20 y 22%, respectivamente. Se debe evaluar los tratamientos térmicos y la aplicación de *T. harzianum* y *B. subtilis* en el control de de *P. belbahrii* en la semilla de albahaca dulce.

**Palabras clave:** Agua caliente, *Bacillus subtilis*, tratamientos de semilla, *Trichoderma harzianum*.

## **Evaluation of the effect of six heat treatments on the germination of sweet basil (Ocimum basilicum)**

**Marggie Nataly Quiroz Herrera**

**Abstract:** *Peronospora belbahrii* causes basil downy mildew disease that affects the production of sweet basil (*Ocimum basilicum*). This disease can be transmitted by seed and it is therefore recommended to treat before planting. The objectives were to evaluate the effect of heat treatments on the germination of sweet basil. In the first phase of laboratory 300 seeds of three varieties of basil, Italian Large Leaf, Leaf Lettuce Nufar and treated with six heat treatments varying in temperature and exposure periods seed. One hundred seeds from each of these heat treatments were used to evaluate the effects on germination in Petri dishes. The remaining seed treatments, another experiment were conducted to measure the effects on the germination of the three varieties of basil in the greenhouse using germination trays. The effects of the treatments were evaluated at 3, 7, 10 and 14 days after planting. A second greenhouse experiment was conducted with the variety Italian Large Leaf, which presented the lowest sensitivity to heat treatments in the first phase and in this phase also evaluated five treatments and the effect on the germination : 1) Control 2) 38 ° C for 10 min , followed by 44 ° C for 10 min , and 2 ° C for 5 min , 3) 38 ° C for 10min , followed by 56 ° C for 20 min , and 2 ° C 5 min , 4 ) *Trichoderma harzianum* and 5) *Bacillus subtilis*. In all experiments used a randomized complete design blocks. The germination data were analyzed by analysis of variance (ANOVA) using the General Linear Model (GLM) and Tukey test ( $P \leq 0.05$ ). Treatment with immersion in cold water at 4 ° C for 4 hours reduced the germination possibly because of a secondary dormancy caused by low temperatures and the long period of exposure. In the first phase , treatment with water at 38 ° C for 10 minutes followed by 44 ° C for 10 minutes to 2 ° C cold water for 5 minutes I showed the highest percentage of germination. In the second phase treatment with *T. harzianum* and *B. subtilis* showed low germination, 20 and 22 %, respectively. Must evaluate the heat treatments and the application of *T. harzianum* and *B. subtilis* in controlling *P. belbahrii* in sweet basil seed.

**Keywords:** *Bacillus subtilis*, hot water, seed treatments, *Trichoderma harzianum*

## CONTENIDO

|                                      |           |
|--------------------------------------|-----------|
| Portadilla .....                     | i         |
| Página de firmas .....               | ii        |
| Resumen .....                        | iii       |
| Resumen .....                        | iv        |
| Contenido .....                      | v         |
| Índice de cuadros .....              | vi        |
| <b>1 INTRODUCCIÓN.....</b>           | <b>1</b>  |
| <b>2 MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>   | <b>4</b>  |
| <b>3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b> | <b>8</b>  |
| <b>4 CONCLUSIONES.....</b>           | <b>15</b> |
| <b>5 RECOMENDACIONES.....</b>        | <b>16</b> |
| <b>6 LITERATURA CITADA.....</b>      | <b>17</b> |

## ÍNDICE DE CUADROS

| Cuadros  | Página |
|--|--------|
| 1. Cuadro 1. Descripción de las temperaturas de los tratamientos térmicos para de las semillas de albahaca ( <i>Ocimum basilicum</i> ). .....  | 4      |
| 2. Cuadro 2. Descripción de los tratamientos utilizados en semilla de albahaca dulce ( <i>Ocimum basilicum</i> ) var. Italian Large Leaf con tratamientos térmicos y controladores biológicos..... | 6      |
| 3. Cuadro 3. Germinación de las semillas de Albahaca, variedad Basil Lettuce Leaf en Invernadero.....  | 8      |
| 4. Cuadro 4. Germinación de las semillas de Albahaca, variedad Italian Large Leaf en Invernadero.....  | 9      |
| 5. Cuadro 5. Germinación de las semillas de Albahaca, variedad Nufar en Invernadero.....   | 10     |
| 6. Cuadro 6. Germinación de las semillas de Albahaca, variedad Basil Lettuce Leaf en Agar Agua. ....   | 11     |
| 7. Cuadro 7. Germinación de las semillas de Albahaca, variedad Italian Large Leaf en Agar Agua .....   | 12     |
| 8. Cuadro 8. Germinación de las semillas de Albahaca, variedad Nufar en Agar Agua. ....  | 13     |
| 9. Cuadro 9. Germinación de la semilla de albahaca dulce ( <i>Ocimum basilicum</i> ) var. Italian Large Leaf con tratamientos térmicos y controladores biológicos. ....                            | 14     |

## 1. INTRODUCCIÓN

La albahaca dulce (*Ocimum basilicum*), es una especie nativa de Asia y África. Esta crece de forma silvestre y de forma perenne en algunas islas del Pacífico (Stobart 1982). Fue introducida desde la India hacia Europa por el Oriente Medio en el siglo XVI, y posteriormente a América en el siglo XVII (Stobart 1982). La albahaca es una hierba común en la cocina valorada por el sabor de su follaje y su aroma atractivo.

La producción de esta especie se da en interiores como exteriores, además requiere de poco mantenimiento. Existen enfermedades que pueden causar daños en las hojas reduciendo el rendimiento y su comercialización y en algunos casos alterar el sabor de la hoja (Tran T. 2011). El marchitamiento por *Fusarium* (*Fusarium oxysporum* f.sp. *basilicum*) fue considerada la enfermedad más destructiva de la albahaca. Sin embargo el mildiu lanoso causado por *Peronospora belbahrii*, es una nueva enfermedad en los Estados Unidos (Roberts et al. 2009). El mildiu lanoso había sido anteriormente reportado como una enfermedad muy destructiva en diferentes países y continentes (Belbahri et al. 2005; Garibaldi et al. 2004, 2005; Khateri et al. 2007; McLeod et al. 2006; Ronco et al. 2008). En Estados Unidos, el patógeno fue descubierto por primera vez en el invierno del 2007 (Roberts et al. 2009). Desde ese momento se ha dispersado a lo largo del este del país y en las regiones de producción comercial de albahaca ubicadas en el medio oeste y California (Wick y Brazee, 2009).

Mildiu lanoso (*Peronospora belbahrii*) requiere de altas humedades relativas (85% o más), temperaturas moderadas (10 a 25 °C) y lluvias prolongadas para esporular (Beckerman 2009). El oomiceto tiene su establecimiento en la parte inferior de la hoja y provoca lesiones que pueden llegar a ser muy severas y eventualmente matar a la planta. El síntoma más perceptible es la aparición de áreas cloróticas de color verde-amarillento en las hojas que pueden ser fácilmente confundibles con deficiencias nutricionales. Además, el envés de la hoja se cubre de esporas de color gris a violeta y las lesiones pueden llegar a convertirse en tejido necrótico con la posterior muerte de la hoja (McGrath 2013).

Se piensa que el mildiu lanoso (*Peronospora belbahrii*) es transmitido a través de la semillas y esporas dispersadas a largas distancias por corrientes de aire y a cortas distancias por salpicaduras de agua (McGrath 2014). Una forma de introducción de patógenos en un cultivo es a través de las semillas. Entre más temprano el patógeno ingresa al cultivo, mayor es el potencial de la enfermedad. Por esta razón es importante la desinfección de las semillas (Miller y Lewis 2005). Existen prácticas para la desinfección de semillas, que son eficaces en la erradicación de los patógenos, se utilizan soluciones desinfectantes con cloro y agua caliente, ácido clorhídrico y el fosfato trisódico (TSP).

El método de desinfección utilizado depende del tipo de semilla y patógeno. Para erradicar el marchitamiento por *Fusarium* (*Fusarium oxysporum* f.sp. *basilicum*) de la semillas de albahaca se recomienda el tratamiento que consiste en sumergir la semilla en agua fría durante cuatro horas, seguido de un tratamiento térmico con agua a una temperatura de 56 a 58 °C durante 20 min (Davis 1997). Sin embargo, este tratamiento reduce el porcentaje de germinación de las semillas. El tratamiento con agua caliente se recomienda rutinariamente para desinfectar semillas de hortalizas (University of Illinois et al. 2014). Sin embargo, ningún protocolo ha sido publicado para la semilla de albahaca. Para el establecimiento de un protocolo es necesario primero determinar qué tiempo y temperatura no reducen la germinación y el desarrollo del cultivo.

Existen disponibles otros tratamientos para el control de la incidencia de enfermedades causadas por hongos en la semilla como fungicidas biológicos, a base de hongos entomopatógenos o bacterias.

El género *Trichoderma* es un hongo cosmopolita, habitante natural del suelo y algunas de sus especies tienen la habilidad de producir enzimas que atacan o inhiben a hongos fitopatógenos y que lo hacen un excelente agente de biocontrol (Michel-Aceves et al., 2001). Su modo de acción es a través de la competencia por nutrientes y espacio con los hongos patógenos, secreta enzimas que inhiben su crecimiento, destruye sus estructuras y estimula la resistencia natural de las plantas (Trabanino R. 2003).

*Bacillus Subtilis* es una bacteria Gram positiva, produce endóspora que son termo resistentes y también resiste factores físicos perjudiciales como la desecación, la radiación y los desinfectantes químicos, produce enzimas hidrofílicas extracelulares que descomponen polisacáridos, ácidos nucleicos permitiendo que el organismo emplee estos productos como fuente de carbono y electrones, producen antibióticos como la bacitracina, polimixina, gramicidina y circulina, fermentan la caseína y el almidón y vive dentro de los límites de 55 a 70°C. Es un gran controlador biológico, *Bacillus subtilis* promueve el desarrollo de las plantas y previene las enfermedades del suelo causadas por *Sclerotium rolfsii*, *Fusarium* spp., *Verticillium* spp, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Phytophthora capsici*, *Pythium* spp (Cuervo J. 2010).

El proceso de germinación está influenciado tanto por factores internos como externos. Entre las fases de la germinación de la semilla, existe la imbibición, que es un proceso ligado a la absorción de agua por la semilla, se da por las diferencias de potencial hídrico entre la semilla y la solución de desinfección (Melgarejo y Suárez 2010). La capacidad de las semillas para retrasar el proceso de germinación hasta que las condiciones ambientales sean ideales, que permiten la sobrevivencia de las plántulas, es conocida como dormancia (Coopeland y McDonald 1995).

La dormancia puede ser clasificada en primaria y en secundaria (Fenner 2000). La dormancia primaria es común en las semillas, está dado por factores exógenos y endógenos (Melgarejo y Suárez 2010). Los factores exógenos hacen referencia a las condiciones ambientales básicas que determinan el proceso de germinación como disponibilidad de agua, luz y temperatura (Fenner 2000). La absorción de agua por parte de la semilla está directamente influenciada por la presencia de la testa y la permeabilidad

que ésta tenga al intercambio gaseoso (Bewley y Black 1994; Finch Savage y Leubner Metzger 2006). La dormancia secundaria se presenta cuando las semillas no dormantes encuentran condiciones que generan posteriormente la inducción de la dormancia. Este tipo de situaciones pueden ser causadas por la exposición de las semillas a condiciones que favorecen la germinación junto con la exposición a un factor que bloquea y restringe el proceso de germinación.

La temperatura está frecuentemente asociada con el proceso de germinación por afectar el porcentaje de germinación, la tasa diaria de germinación, la tasa de absorción de agua, la velocidad de las reacciones enzimáticas y el transporte de las sustancias de reserva (Probert 2010).

El objetivo de esta investigación fue evaluar seis tratamientos térmicos y su efecto en la germinación de la Albahaca dulce (*Ocimum basilicum*).

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

El primer experimento se llevó a cabo entre marzo y abril del 2014, en la Universidad Estatal de Louisiana (LSU), ubicada al sur de los Estados Unidos. El experimento se realizó en dos áreas, una en el Laboratorio de Fitopatología y Fisiología de Cultivos y la otra en un invernadero, ambos propiedad de la universidad.

Para este parte del experimento se utilizaron tres variedades de albahaca dulce, Italian Large Leaf, Nufar y Lettuce Leaf, todas las variedades utilizadas han demostrado ser susceptibles a Mildiu lanoso (*Peronospora belbahrii*) (Wyenandt et al. 2010). En el experimento se utilizaron 300 semillas de cada variedad por tratamiento, las cuales se sometieron a tratamientos con agua a diferentes temperaturas (Cuadro 1).

**Cuadro 1.** Descripción de las temperaturas de los tratamientos térmicos para de las semillas de albahaca (*Ocimum basilicum*).

| <b>Tratamiento</b>        | <b>Descripción</b>  |
|---------------------------|---|
| <b>Testigo</b>            | Ningún tratamiento  |
| <b>4C4h+56C20m</b>        | Agua fría a 4 °C por 4 horas, seguido agua a 56°C por 20 minutos                                    |
| <b>4C4h+38C10m+56C20m</b> | Agua fría a 4 °C por 4 horas, seguido agua a 38°C por 10 minutos, luego agua a 56°C por 20 minutos  |
| <b>38C10m+56C20m+2C5m</b> | Agua a 38°C por 10 minutos, seguido agua a 56° C por 20 minutos, luego agua fría 2 °C por 5 minutos |
| <b>38C10m+44C10m+2C5m</b> | Agua a 38°C por 10 minutos, seguido agua a 44°C por 10 minutos, luego agua fría 2 °C por 5 minutos  |
| <b>38C10m+50C30m+2C5m</b> | Agua a 38°C por 10 minutos, seguido agua a 50°C por 30 minutos, luego agua fría 2 °C por 5 minutos. |

Durante el proceso, las semillas estuvieron contenidas en un filtro tipo bola de 45 mm de diámetro, de esta manera se logró mayor homogeneidad en el tratamiento térmico. Luego el filtro que contenía las semillas fue inmerso en una bañera Dual Fisher Scientific Co®<sup>1</sup>,

<sup>1</sup> Bañera Dual Fisher Scientific Co®, equipada con dos contenedores de 1.32 y 2.64 galones, sus dimensiones son de 42 x 62 x 32 cm, fabricada por Thermo Fisher Scientific, Inc.

según el tratamiento correspondiente y de esta forma tuvo mejor control en las temperaturas del agua.

La temperatura del agua de los tratamientos fue monitoreada con un termómetro de vidrio, tanto en los tratamientos de agua caliente y agua fría. El agua fría que se utilizó en el experimento fue almacenada en un refrigerador a 4°C, para la aplicación de los tratamientos que requerían agua fría.

Las semillas después de ser tratadas, se colocaron en pantallas de secado elaboradas con un marco de madera de 25 × 25 cm el cual sujetó una malla negra de 18 × 14 mesh; y se secaron a una temperatura ambiente de 22 °C en el laboratorio durante 24 a 48 horas. Una vez que las semillas estuvieron secas, se transfirieron a sobres de papel manila de 107 × 60 mm, donde se etiquetaron con la variedad y el tratamiento respectivamente.

**Ensayos de germinación:** Después de los tratamientos con agua a diferentes temperaturas, 100 de las semillas tratadas se colocaron en 10 platos petri con un medio de agar-agua (AA); 10 semillas por plato. Los platos petri, se sellaron con cinta adhesiva PARAFILM®<sup>2</sup> y se mantuvieron a una temperatura de 22° C en el laboratorio. El porcentaje de germinación se determinó, mediante el conteo de las semillas germinadas en los 3, 7, 10 y 14 días después de la siembra.

Las 200 semillas restantes se dividieron en grupos de 50 y se sembraron en 4 bandejas de germinación de 144 celdas que contenían Fafard® Super-Fine Seed Germinating Mix<sup>3</sup>; Las semillas crecieron bajo condiciones normales de invernadero con una temperatura promedio de 21 ± 2 °C. Las bandejas de germinación fueron colocadas en un diseño de bloques completos al azar BCA. Se contaron el número de semillas germinadas a los 3, 7, 10 y 14 días después de la siembra.

**Análisis de los datos:** Las diferencias en el porcentaje de germinación de las plántulas entre tratamientos y variedades se realizó mediante un Análisis de Varianza (ANDEVA) usando el Modelo Lineal General (GLM) y una prueba de separación de medias de Tukey con un nivel de significancia estadística de 5% (P≤0.05). Utilizando el programa estadístico “Statistical Analysis System” (SAS).versión 9.4

**Evaluación de los tratamientos utilizados en semilla de albahaca dulce (*Ocimum basilicum*) var. Italian Large Leaf con tratamientos térmicos y controladores biológicos y su efecto en la germinación de la albahaca dulce.**

Esta parte del experimento se realizó entre los meses de Septiembre y Octubre del 2014, en la Unidad de Agricultura Orgánica de Zamorano, Honduras. El lugar está localizado a 30 km al este de Tegucigalpa, a 800 msnm con una precipitación promedio anual de 1200 mm y una temperatura promedio de 25 ± 2 °C.

---

<sup>2</sup> PARAFILM® M lámina de cierre extensible, fabricado por laboratorios Brand®

<sup>3</sup> Fafard® Mezcla para la germinación de semillas, contiene vermiculita y perlita; proporciona mayor porosidad y retención de agua.

Para este experimento se utilizó la variedad Italian Large Leaf que es la que presentó menor sensibilidad a cambios bruscos de temperatura en las primeras evaluaciones. Se evaluó el efecto en la germinación de la albahaca dulce var. Italian Large Leaf expuesta a dos tratamientos térmicos, Trichoderma harzianum y Bacillus subtilis y comparados con un testigo (Cuadro 2). Se utilizaron 200 semillas por tratamiento.

**Cuadro 2.** Descripción de los tratamientos utilizados en semilla de albahaca dulce (Ocimum basilicum) var. Italian Large Leaf con tratamientos térmicos y controladores biológicos

| <b>Tratamiento</b>           | <b>Descripción</b>  |
|------------------------------|---|
| <b>Testigo</b>               | Ningún tratamiento  |
| <b>38C10m+44C10m+2C5m</b>    | Agua a 38°C por 10 minutos, seguido agua a 44°C por 10 minutos, luego agua fría 2 °C por 5 minutos  |
| <b>38C10m+56C20m+2C5m</b>    | Agua a 38°C por 10 minutos, seguido agua a 56° C por 20 minutos, luego agua fría 2 °C por 5 minutos |
| <b>Trichoderma harzianum</b> | Trichoderma harzianum   |
| <b>Bacillus subtilis</b>     | Bacillus subtilis   |

Para esta segunda parte del estudio se utilizaron los dos tratamientos térmicos que presentaron menor reducción en la germinación. Los tratamientos térmicos fueron sometidos al mismo proceso que la primera parte del estudio.

Las semillas tratadas con Trichoderma harzianum recibieron 1.06 g de TRICHOZAM antes de la siembra el cual tiene una concentración de  $1.25 \times 10^9$  UFC/gramos de esporas. Las semillas tratadas con Bacillus subtilis recibieron 4.4 ml de Bacillus subtilis disueltos en 200 ml de agua destilada, disponiendo 1ml de la solución por cada semilla sembrada. Ambos productos fueron proporcionados por el Laboratorio de Control Biológico de la Escuela Agrícola Panamericana. Se siguió la recomendación establecida por dicho laboratorio.

Las 200 semillas por tratamiento se dividieron en grupos de 50 y se sembraron en 4 bandejas de germinación de 200 celdas que contenían medio de crecimiento estéril Pindstrup Plus® el cual contiene turba rubia. Las semillas crecieron bajo condiciones normales de invernadero. Las bandejas de germinación fueron colocadas en un diseño de bloques completos al azar BCA. Se contaron el número de semillas germinadas a los 3, 7, 10 y 14 días después de la siembra. Se evaluó el efecto de los tratamientos en la germinación de albahaca dulce (Ocimum basilicum).

**Análisis de los datos:** Las diferencias en la germinación se realizaron mediante un Análisis de Varianza (ANDEVA) usando el Modelo Lineal General (GLM) y una prueba de separación de medias de Tukey con un nivel de significancia estadística de 5% ( $P \leq 0.05$ ), utilizando el programa estadístico “Statistical Analysis System” (SAS) versión 9.4

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la primera evaluación de la variedad Basil Lettuce Leaf el día 3 el tratamiento que presentó mayor germinación fue el tratamiento 38C10m+44C10m+2C5m este tratamiento tuvo 46% de germinación. Seguido por el testigo con 21% de plantas germinadas. La menor germinación se presentó en el tratamiento 4C4h+38C10m+56C20m, obteniendo 0% de germinación en el día 3 y los porcentajes más bajos de germinación en los días 7,10 y 14. Los tratamientos que incluían agua fría por 4 horas a 4 °C presentaron bajos porcentajes de germinación en todos los días evaluados. El tratamiento con mayor porcentaje de germinación (65%) fue el tratamiento 38C10m+44C10m+2C5m (Cuadro 3).

**Cuadro 3.** Germinación de las semillas de Albahaca, variedad Basil Lettuce Leaf en Invernadero.

| Tratamiento        | Germinación acumulada (%) |      |       |      |
|--------------------|---------------------------|------|-------|------|
|                    | 3                         | 7    | 10    | 14   |
| Testigo            | 21 b §                    | 32 b | 38 b  | 40 b |
| 4C4h+56C20m        | 1 d                       | 10 c | 13 cd | 22 c |
| 4C4h+38C10m+56C20m | 0 d                       | 3 d  | 4 d   | 5 d  |
| 38C10m+56C20m+2C5m | 8 cd                      | 31 b | 38 b  | 40 b |
| 38C10m+44C10m+2C5m | 46 a                      | 56 a | 64 a  | 65 a |
| 38C10m+50C30m+2C5m | 14 bc                     | 25 b | 25 b  | 26 c |

§Valores en la columna, seguidos por letras iguales, no son estadísticamente diferentes (P<0.05).

Los resultados en la germinación de la variedad Basil Lettuce Leaf, se pudo deber a que al estar expuestas las semillas al agua caliente, iniciaron procesos metabólicos más tempranos debido a la disponibilidad de agua, esto acorde con la revisión de Kidd y West (1919) que analizaron las experiencias concernientes a la imbibición de las semillas concluyendo que las semillas remojadas en un mínimo de agua y después secadas a temperatura ambiente, imbiben y germinan más rápido que las no tratadas. Entre las fases de la germinación de la semilla, existe la imbibición, que es un proceso ligado a la absorción de agua por la semilla, se da por las diferencias de potencial hídrico entre la

semilla y la solución de desinfección. (Melgarejo y Suárez 2010). La poca germinación que presentaron los tratamientos que incluían agua fría a 4 °C por 4 horas, se presume que las semillas a esa temperatura sufrieron una dormancia secundaria al ser expuestas al agua fría, a esto podemos agregar que el choque térmico fue mayor para estos tratamientos ya que las semillas pasaron de 4 °C a 38 °C y 56 °C.

En la evaluación de germinación de la variedad Italian Large Leaf al día 3, el tratamiento que presentó mayor porcentaje germinación fue el tratamiento 38C10m+44C10m+2C5m, pero las diferencias no fueron significativas, sin embargo este mismo comportamiento fue observado en los días 7, 10 y 14 con el mismo tratamiento, presentando un porcentaje de 83% el día 14 (cuadro 4). En la variedad Italian Large Leaf el tratamiento que presentó menor porcentaje de germinación 66% fue el tratamiento 4C4h+38C10m+56C20m.

**Cuadro 4.** Germinación de las semillas de Albahaca, variedad Italian Large Leaf en Invernadero

| Tratamiento        | Germinación acumulada (%) |                  |                  |                  |
|--------------------|---------------------------|------------------|------------------|------------------|
|                    | 3                         | 7                | 10               | 14               |
| Testigo            | 42 a §                    | 65 <sup>ns</sup> | 67 <sup>ns</sup> | 68 <sup>ns</sup> |
| 4C4h+56C20m        | 44 a                      | 67 <sup>ns</sup> | 69 <sup>ns</sup> | 71 <sup>ns</sup> |
| 4C4h+38C10m+56C20m | 43 a                      | 58 <sup>ns</sup> | 63 <sup>ns</sup> | 66 <sup>ns</sup> |
| 38C10m+56C20m+2C5m | 48 a                      | 74 <sup>ns</sup> | 76 <sup>ns</sup> | 76 <sup>ns</sup> |
| 38C10m+44C10m+2C5m | 51 a                      | 77 <sup>ns</sup> | 82 <sup>ns</sup> | 83 <sup>ns</sup> |
| 38C10m+50C30m+2C5m | 41 a                      | 63 <sup>ns</sup> | 67 <sup>ns</sup> | 67 <sup>ns</sup> |

§Valores en la columna, seguidos por letras iguales, no son estadísticamente diferentes (P<0.05).

<sup>ns</sup> no significativo

En la evaluación de la germinación de la variedad Italian Large Leaf, los tratamientos térmicos no presentan diferencias significativas en el porcentaje de germinación de las semillas. Pero es importante recalcar que el tratamiento 38C10m+44C10m+2C5m presentó una germinación más alta en los días 3, 7, 10 y 14. Presumiblemente esta variedad es menos susceptible a cambios bruscos de temperatura.

En la evaluación de la germinación de la variedad Nufar en el día 3, el tratamiento 38C10m+44C20m+2C5m presentó el mayor porcentaje de germinación con 39%, siendo similar con el testigo (Cuadro 5). Los menores porcentajes de germinación se presentaron con los tratamientos que consisten en la aplicación de agua fría a 4 °C por 4 horas. Este mismo comportamiento fue observado en los días 7, 10 y 14 con los mismos tratamientos.

Al día 14 el mayor porcentaje de germinación, lo presento el testigo y el tratamiento 38C10m+44C10m+2C5m con 63% y 56%, respectivamente.

En la variedad Nufar las semillas que presentaron las germinaciones menores (39% y 46%) fueron las que se sometieron a tratamientos que incluían temperaturas a 4°C durante 4 horas.

**Cuadro 5.** Germinación de las semillas de Albahaca, variedad Nufar en Invernadero.

| Tratamiento        | Germinación acumulada (%) |       |        |        |
|--------------------|---------------------------|-------|--------|--------|
|                    | 3                         | 7     | 10     | 14     |
| Testigo            | 39 a §                    | 53 a  | 61 a   | 63 a   |
| 4C4h+56C20m        | 10 b                      | 23 b  | 34 c   | 39 c   |
| 4C4h+38C10m+56C20m | 28 ab                     | 36 ab | 43 bc  | 46 bc  |
| 38C10m+56C20m+2C5m | 31 ab                     | 45 a  | 51 abc | 53 abc |
| 38C10m+44C10m+2C5m | 39 a                      | 53 a  | 55 ab  | 56 ab  |
| 38C10m+50C30m+2C5m | 31 ab                     | 41 ab | 47 abc | 50 abc |

§Valores en la columna, seguidos por letras iguales, no son estadísticamente diferentes (P<0.05).

La poca germinación que presentaron los tratamientos que incluían agua fría a 4 °C por 4 horas, se presume que las semillas a esa temperatura sufrieron una dormancia secundaria al ser expuestas al agua fría, a esto podemos agregar que el choque térmico fue mayor para estos tratamientos ya que las semillas pasaron de 4 °C a 38°C y 56°C.

El porcentaje de germinación en la var. Italian large leaf no se vió tan afectada como la var nufar o var lettuce leaf, se presume que la var. Italian large leaf es mucho más tolerante a cambios bruscos de temperatura. En estas evaluaciones también podemos observar una clara tendencia que para todas las variedades los tratamientos que incluían agua a 4°C por 4 horas mostraron reducción en la germinación, en cambio en todas las variedades el tratamiento 38C10m+44C10m+2C5m tuvo los mejores porcentajes de germinación.

#### **Evaluación de la germinación en las tres variedades de albahaca en Platos Petri.**

En la primera evaluación de germinación de la variedad Basil Lettuce Leaf en el día 3, el tratamiento 38C10m+50C30m+2C5m tuvo el mayor porcentaje de germinación con 82% (Cuadro 6).

El menor porcentaje de germinación lo presentó el tratamiento 4C4h+38C10m+56C20m con 11% de germinación seguido por el tratamiento 4C4h+56C20m con 37% manteniéndose esta tendencia hasta el día 14. Los tratamientos 38C10m+50C30m+2C5m y 38C10m+44C10m+2C5m al día 14 tuvieron los porcentajes más altos en la germinación con 88% y 85% respectivamente.

**Cuadro 6.** Germinación de las semillas de Albahaca, variedad Basil Lettuce Leaf en Agar Agua.

| Tratamiento        | Germinación acumulada promedio por plato<br>(10 semillas) (%) |      |       |       |
|--------------------|---|------|-------|-------|
|                    | 3   | 7    | 10    | 14    |
| Testigo            | 83 a §  | 84 a | 88 a  | 90 a  |
| 4C4h+56C20m        | 37 b  | 44 b | 59 b  | 65 b  |
| 4C4h+38C10m+56C20m | 11 c  | 15 c | 34 c  | 37 c  |
| 38C10m+56C20m+2C5m | 53 b  | 60 b | 72 ab | 79 ab |
| 38C10m+44C10m+2C5m | 78 a  | 84 a | 85 a  | 85 a  |
| 38C10m+50C30m+2C5m | 82 a  | 85 a | 87 a  | 88 a  |

§Valores en la columna, seguidos por letras iguales, no son estadísticamente diferentes (P<0.05).

En la evaluación en la germinación en los platos Petri de la variedad Basil Lettuce Leaf podemos observar una reducción en la germinación con los tratamientos 4C4h+56C20m y 4C4h+38C10m+56C20m en comparación con el resto de los tratamientos, esto se puede deber a que el agua fría pudo generar una dormancia secundaria en la semilla como se mencionó anteriormente.

En la evaluación de germinación de la variedad Italian Large Leaf en el día 3, el tratamiento con mayor porcentaje de germinación fue el tratamiento 38C10m+44C10m+2C5m con 92%, seguido por el testigo que tiene el mismo porcentaje de germinación (Cuadro 7). Los tratamientos con agua a 4°C por 4 horas presentaron los porcentajes más bajos de germinación en todos los días evaluados. La mayor germinación después del testigo 99% la obtuvo el tratamiento 38C10m+44C20m+2C5m con 95% el día 14.

**Cuadro 7.** Germinación de las semillas de Albahaca, variedad Italian Large Leaf en Agar Agua

| Tratamiento               | Germinación acumulada promedio por plato<br>(10 semillas) (%) |       |                  |                  |
|---------------------------|---|-------|------------------|------------------|
|                           | 3   | 7     | 10               | 14               |
| <b>Testigo</b>            | 92 a §  | 96 a  | 98 <sup>ns</sup> | 99 <sup>ns</sup> |
| <b>4C4h+56C20m</b>        | 85abc   | 87 ab | 89 <sup>ns</sup> | 88 <sup>ns</sup> |
| <b>4C4h+38C10m+56C20m</b> | 70 c  | 79 b  | 86 <sup>ns</sup> | 88 <sup>ns</sup> |
| <b>38C10m+56C20m+2C5m</b> | 76 bc   | 84 ab | 89 <sup>ns</sup> | 93 <sup>ns</sup> |
| <b>38C10m+44C10m+2C5m</b> | 92 a  | 95 a  | 96 <sup>ns</sup> | 95 <sup>ns</sup> |
| <b>38C10m+50C20m+2C5m</b> | 86 ab   | 90 ab | 92 <sup>ns</sup> | 93 <sup>ns</sup> |

§Valores en la columna, seguidos por letras iguales, no son estadísticamente diferentes (P<0.05)

<sup>ns</sup> no significativo

En la evaluación de la germinación de la variedad Italian Large Leaf (Cuadro 7) podemos observar que al día 14 la germinación fue homogénea para todos los tratamiento con esto nos hace pensar que esta variedad de albahaca no es tan susceptible a cambios drásticos de temperatura.

En la primera evaluación de germinación de la variedad Nufar en el día 3, el tratamiento con mayor porcentaje de germinación fue el tratamiento 38C10m+44C10m+2C5m con 65%(Cuadro 8). En el día 3 los tratamientos con agua a 4°C por 4 horas presentaron bajos porcentajes de germinación 39% y 44%, esta tendencia de baja germinación se mantuvo hasta el día 14.

**Cuadro 8.** Germinación de las semillas de Albahaca, variedad Nufar en Agar Agua.

| Tratamiento        | Germinación acumulada promedio por plato<br>(10 semillas) (%) |                  |                  |                  |
|--------------------|---|------------------|------------------|------------------|
|                    | 3   | 7                | 10               | 14               |
| Testigo            | 64 ab §   | 83 <sup>ns</sup> | 84 <sup>ns</sup> | 85 <sup>ns</sup> |
| 4C4h+56C20m        | 39 c  | 70 <sup>ns</sup> | 73 <sup>ns</sup> | 75 <sup>ns</sup> |
| 4C4h+38C10m+56C20m | 44 bc   | 65 <sup>ns</sup> | 71 <sup>ns</sup> | 75 <sup>ns</sup> |
| 38C10m+56C20m+2C5m | 32 c  | 65 <sup>ns</sup> | 68 <sup>ns</sup> | 74 <sup>ns</sup> |
| 38C10m+44C10m+2C5m | 65 a  | 73 <sup>ns</sup> | 78 <sup>ns</sup> | 80 <sup>ns</sup> |
| 38C10m+50C20m+2C5m | 60 ab   | 69 <sup>ns</sup> | 70 <sup>ns</sup> | 77 <sup>ns</sup> |

§Valores en la columna, seguidos por letras iguales, no son estadísticamente diferentes (P<0.05).

<sup>ns</sup> no significativo

En la evaluación de la germinación de la variedad Nufar podemos observar que al día 14 la germinación fue homogénea para todos los tratamientos, pero en el día 3 las semillas que tuvieron la germinación mayor fueron las tratadas con el tratamiento 38C10m+44C10m+2C5m y esta tendencia de buena germinación se mantuvo hasta el día 14 con este mismo tratamiento.

El porcentaje de germinación en la var. Italian large leaf no se vió tan afectada como la var. nufar o var lettuce leaf, se presume que la var. Italian large leaf es mucho más tolerante a cambios bruscos de temperatura. En estas evaluaciones también podemos observar una clara tendencia que para todas las variedades los tratamientos que incluían agua a 4°C por 4 horas mostraron reducción en la germinación, en cambio en todas las variedades el tratamiento 38C10m+44C10m+2C5m tuvo altos porcentajes de germinación.

Debemos tener claro que los resultados que se obtienen en las condiciones ideales controladas en el laboratorio no son directamente aplicables sobre el terreno o en el vivero, donde sólo se puede ejercer un control limitado sobre las condiciones ambientales (FAO.s.f). Es por esta razón que siempre se verá disminuida la germinación en el vivero o en el campo, porque no se tiene absoluto control de las condiciones es por esto que cada viverista debe aplicar su propio factor de corrección, para convertir el potencial de germinación de un lote tal como viene determinado por los ensayos de laboratorio en la germinación efectiva sobre el terreno que puede esperar en las condiciones locales de su vivero (FAO.s.f).

**Evaluación de la germinación de la semilla de albahaca dulce (*Ocimum basilicum*) var. Italian Large Leaf con tratamientos térmicos y controladores biológicos.**

En la primera evaluación en el día 3 el tratamiento 3 con *Bacillus subtilis* fue el que presentó mayor porcentaje de germinación con 17% seguido por el tratamiento 38C10m+44C10m+2C5m con 10% (Cuadro 9). La segunda evaluación de la germinación en el día 7 el tratamiento 38C10m+44C10m+2C5m fue el que tuvo mayor porcentaje de germinación los días 7, 10 y 14 con 42%, 46% y 50% respectivamente. El tratamiento con menor porcentaje de germinación fue el tratamiento 38C10m+56C20m+2C5m con 6 % de germinación. El tratamiento con *Trichoderma harzianum* y *Bacillus subtilis* tuvieron un porcentaje de germinación de 20 y 22% respectivamente el día 14. Sin mostrar diferencias significativas entre tratamientos el día 14.

**Cuadro 9.** Germinación de la semilla de albahaca dulce (*Ocimum basilicum*) var. Italian Large Leaf con tratamientos térmicos y controladores biológicos.

| Tratamiento                  | Germinación acumulada (%) |       |       |       |
|------------------------------|---------------------------|-------|-------|-------|
|                              | 3                         | 7     | 10    | 14    |
| Testigo                      | 2 b <sup>§</sup>          | 31 ab | 32 ab | 41 ab |
| 38C10m+44C10m+2C5m           | 10 ab                     | 42 a  | 46 a  | 50 a  |
| 38C10m+56C20m+2C5m           | 0 b                       | 0 b   | 2 b   | 6 b   |
| <i>Trichoderma harzianum</i> | 3 b                       | 12 ab | 14 ab | 20 ab |
| <i>Bacillus subtilis</i>     | 17 a                      | 22 ab | 21 ab | 22 ab |

<sup>§</sup>Valores en la columna, seguidos por letras iguales, no son estadísticamente diferentes (P<0.05).

Se presume que la baja germinación mostrada por los tratamientos, pudo ser a causa de la variación en las condiciones ambientales que no pudieron ser controladas.

#### **4. CONCLUSIONES**

El tratamiento con agua a 38°C por 10 minutos + agua a 44°C por 10 minutos + agua fría 2 °C por 5 minutos no afectó la germinación de las semillas de albahaca (*Ocimum basilicum*).

Los tratamientos con inmersión en agua fría a 4°C fueron los que redujeron más la germinación.

## **5. RECOMENDACIONES**

No usar los tratamiento con agua fría a 4 °C por 4 horas + agua a 38°C por 10 minutos + agua a 56°C por 20 minutos y agua fría a 4 °C por 4 horas + agua a 56°C por 20 minutos debido a que reduce la germinación en la semilla de albahaca.

Evaluar el efecto que tiene el agua caliente en la semilla de albahaca como promotor de la germinación.

Evaluar la aplicación de *Trichoderma harzianum* y *Bacillus subtilis* en la prevención de *Peronospora belbahrii*.

Extender el periodo de evaluación en futuros experimentos.

## 6. LITERATURA CITADA

Beckerman, J. 2009. Diseases of Landscape Plants, Downy Mildew. Department of botany and plant pathology, Purdue University. Consultado el 29 de septiembre de 2014. Disponible en línea en <http://www.extension.purdue.edu/extmedia/BP/BP-68-W.pdf>.

Belbahri, L., Calmin, G., Lefort, F., Pawlowski, J. 2005. Phylogenetic analysis and real time PCR detection of a new *Peronospora* species responsible for downy mildew disease of sweet basil and sage. *Mycol. Res.* 109:1276–1287.

Bewley JD, Black M.1994. *Seeds: Physiology of development and germination*. Plenum press, New York, 445pp.

Coopeland LO, McDonald MB.1995. *Principles of seed science and technology*. Kluwer Academics Publishing Third edition, Massachusetts, USA. pp 59-111

Cuervo J.2010. Aislamiento y caracterización de *Bacillus* spp. Como fijadores biológicos de nitrógeno y solubilizadores de fosfatos en dos muestra de biofertilizantes.

Davis J.M., 1997. Basil (en línea). Consultado 22 de marzo de 2014. Disponible en <http://www.ces.ncsu.edu/hil/hil-125.html>

FAO. Sin fecha. Guía para la manipulation de semillas forestale (en línea) Consultado 18 de octubre de 2014. Disponible en <http://www.fao.org/docrep/006/ad232s/ad232s12.htm>  
Fenner, M .2000 .*Seeds the ecology of regeneration in plant communities*. Second edition. New York, CABI publishing. 410 pp

Finch-Savage WE, Leubner-Metzger G.2006. Seed dormancy and the control of germination. *New Phytologist* 171, 501-523

Garibaldi, A., Minuto, A., Gullino, M.L. 2005. First report of downy mildew caused by *Peronospora* sp. on basil (*Ocimum basilicum*) in France. *Plant Dis.* 89:683.

Garibaldi, A., Minuto, A., Minuto, G., Gullino, M.L. 2004. First report of downy mildew on basil (*Ocimum basilicum*) in Italy. *Plant Dis.* 84:1154.

Khateri, H., Calmin, G., Moarrefzadeh, N., Belbahri, L., Lefort, F. 2007 .First report of downy mildew caused by *Peronospora* sp. on basil in northern Iran. *J. Plant Pathol.* 89:S70.

Kidd F., West C. 1918. Physiological predetermination: the influence of physiological condition of seed upon the course of subsequent growth and upon the yield. I. The effects of soaking seed in water. *Ann. Applied Biol.* 5:1-10.

Kidd F., West C. 1919. Physiological predetermination: the influence of physiological condition of seed upon the course of subsequent growth and upon the yield. IV. Review of the literature. Chapter II. *Ann. Applied. BioI.* 5:220-251.

McGrath, M.T. 2013. Expect and prepare for Downy Mildew in Basil. Department of Plant Pathology and Plant-Microbe Biology, Cornell University. Consultado el 20 de septiembre de 2014. Disponible en línea en <http://vegetablemdonline.ppath.cornell.edu/NewsArticles/Basil%20Downy%20Mildew-2013.pdf>.

McGrath M, .2014. Expect and prepare for downy mildew in basil (en línea). Consultado 22 de marzo de 2014. Disponible en <http://vegetablemdonline.ppath.cornell.edu/NewsArticles/Basil%20Downy%20Mildew-2014.pdf>.

McLeod, A., Coertze, S., Mostert, L. 2006. First report of a *Peronospora* species on sweet basil in South Africa. *Plant Dis.* 90:1115.

Melgarejo, L.M y Suarez, D.2010.Experimentos de fisiología. Laboratorio de fisiología y bioquímica vegetal. Departamento de Biología. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia. 205pp

Michel–Aceves, A. C.; Otero–Sanchez, M. A.; Rebolledo–Dominguez, O.; Lezama–Gutierrez, R.; Ariza–Flores, R.; Barrios–Ayala, A 2005a. Producción y efecto antagónico de quitinasas y glucanasas por *Trichoderma* spp., en la inhibición de *Fusarium subglutinans* y *Fusarium oxysporum* in vitro. *Revista Chapingo, Serie Horticultura* 11(12): 273–278.

Miller S.A., Lewis M.I. 2005.Hot water treatment of vegetable seed to eradicate bacterial plant pathogen in organic production system.(en Línea). Consultado 15 de marzo de 2014. Disponible en <http://oardc.osu.edu/sallymiller/extension/factsheets/organicseedtrt.pdf>.

Muñoz, F. 2002. Plantas medicinales y aromáticas: estudio, cultivo en proceso. Ediciones Mundi-prensa. Madrid, España.

Probert ,RJ .2010. The role of temperature in the regulation of seed dormancy andgermination. Chapter 11. En: Fenner M. *Seeds the ecology of regeneration in plantcommunities*. Second edition. CABI Publishinbg. Wallinford U.K. 261-292 pp

Roberts, P.D., Raid, R.N., Harmon, P.F., Jordan, S.A., Palmateer, A.J. 2009 .First report of downy mildew caused by a *Peronospora* sp. on basil in Florida and the United States. *Plant Dis.* 93:199

Ronco, L., Rollán, C., Choi, Y.J., Shin, H.D. 2008 Downy mildew of sweet basil (*Ocimum basilicum*) caused by *Peronospora* sp. in Argentina. *BSPP New Disease*

Reports. (en Línea). Consultado 9 de septiembre de 2014. Disponible en <http://www.bspp.org.uk/ndr/jan2009/2008-57.asp>>.

Stobart T.1982.Herbs, Spices and Flavorings. Woodstock, NY: The Overlook Press.  
Trabanino R.2003. Hoja de Seguridad de TRICHOZAM® (En línea). Consultado 20 de septiembre de 2014. Disponible en: [http://cms.fideck.com/userfiles/duwest.com/webmaster/file/descargas\\_esp/agricola/Trichozam.pdf](http://cms.fideck.com/userfiles/duwest.com/webmaster/file/descargas_esp/agricola/Trichozam.pdf)

Tran T.2011.Basil Diseases (En línea). Consultado 19 de marzo de 2014. Disponible en <http://plantclinic.cornell.edu/factsheets/basildiseases.pdf>

University of Illinois, Purdue Extension, Iowa State University, K-State Research and Extension, University of Missouri Extension ,Ohio State University Extension. 2014. Midwest vegetable production guide for commercial growers. Estados Unidos. 210p.

Wick, R.L., Brazee, N.J. 2009. First report of downy mildew caused by a *Peronospora* species on sweet basil (*Ocimum basilicum*) in Massachusetts. *Plant Dis.* 93:318.

Wyenandt C.A., Simon J.E., McGrath M.T., Ward D.L.2010.Succeptibility of basil cultivars and breeding lines to downy mildew (*Peronospora belbahrii*).*Hort. Sciences.* Vol 45(9): 1416-1419.