

**Desarrollo de una metodología para
demostrar los efectos benéficos de la
Micorriza Vesículo Arbuscular en la
reducción de daños causados por *Rhizoctonia
solani* en plantas cultivadas**

Wilmer Mauricio Rodríguez

ZAMORANO

Carrera de Ciencia y Producción Agropecuaria
Noviembre, 2005

ZAMORANO
Carrera de Ciencia y Producción Agropecuaria

**Desarrollo de una metodología para
demostrar los efectos benéficos de la
Micorriza Vesículo Arbuscular en la
reducción de daños causados por *Rhizoctonia
solani* en plantas cultivadas**

Proyecto especial presentado como requisito parcial para optar
al título de Ingeniero Agrónomo en el Grado
Académico de Licenciatura

Presentado por

Wilmer Mauricio Rodríguez

Zamorano, Honduras
Noviembre, 2005

El autor concede a Zamorano permiso
para reproducir y distribuir copias de este
trabajo para fines educativos. Para otras personas
físicas o jurídicas se reservan los derechos de autor.

Wilmer Mauricio Rodríguez

Zamorano, Honduras
Noviembre, 2005

Desarrollo de una metodología para demostrar los efectos benéficos de la Micorriza Vesículo Arbuscular en la reducción de daños causados por *Rhizoctonia solani* en plantas cultivadas

Presentado por:

Wilmer Mauricio Rodríguez

Aprobado por:

Juan Carlos Rosas, Ph.D.
Asesor Principal

Abelino Pitty, Ph.D.
Coordinador de Área
Temática Fitotécnica

Gloria Arévalo, Ms.c.
Asesora

Abelino Pitty, Ph. D.
Director Interino Carrera
de Ciencia y Producción
Agropecuaria

Jorge Venegas, Ing. Agr.
Asesor

George Pilz, Ph.D.
Decano Académico Interino

Kenneth L. Hoadley, D.B.A.
Rector

DEDICATORIA

A Dios Todopoderoso por darme la sabiduría y el coraje para poder seguir adelante con mis metas.

A mis padres Lilian Rodríguez y Julio César Interiano, por brindarme el apoyo incondicional en todo momento y por animarme a salir adelante.

A mi hermano por ser motivo de superación.

A mis abuelitos Aminta Montúfar y José María Rodríguez, quienes siempre han sido un motivo de inspiración y me han brindado la confianza y la fortaleza para seguir luchando contra todos los obstáculos que se me presentan.

A mi abuela Angélica Ventura (QDDG) por sus valiosos consejos y motivarme a ser un buen profesional

A mis familiares que siempre estuvieron pendientes de mí y me dieron consejos para afrontar los retos cotidianos.

A mis amigos y compañeros de la EAP y a todas aquellas personas que me apoyaron y estuvieron siempre a mi lado brindándome su ayuda en todo momento.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por darme la fuerza para seguir adelante y no fracasar en mis propósitos de superación.

A toda mi familia por brindarme siempre su apoyo incondicional.

Al Dr. Juan Carlos Rosas por brindarme su ayuda y tiempo necesario para poder realizar este trabajo.

Al Ing. Jorge Venegas y al Ing. Byron Reyes por apoyarme y estar a la disposición siempre que los necesité.

A la Ing. Gloria Arévalo por apoyarme en la realización de este trabajo.

A Damián Pulla, mi compañero de cuarto durante los cuatro años, por escucharme y animarme siempre.

A mi Chaparrita bella por estar siempre a mi lado y brindarme su apoyo y confianza.

A Food for Progress y Banco de Occidente por financiar mis estudios en esta institución.

A la Familia Pilz por brindarme su apoyo y ánimos para salir adelante.

A Luz Henríquez y Tomasa Colindres por darme apoyo moral y laboral para la realización de este trabajo.

A mis compañeros del PIF por compartir conmigo inolvidables momentos.

Al Ing. Claudio Trabanino por brindarme siempre consejos oportunos y su sincera amistad.

A todos mis compañeros y amigos de la EAP que me hicieron sentir siempre como en mi hogar.

RESUMEN

Rodríguez, W. 2005. Desarrollo de una metodología para demostrar los efectos benéficos de la Micorriza Vesículo Arbuscular en la reducción de daños causados por *Rhizoctonia solani* en plantas cultivadas. Proyecto especial del Programa de Ingeniero Agrónomo, Zamorano, Honduras. 31p.

Actualmente se está deteriorando el medio ambiente por la utilización indiscriminada de pesticidas por tratar de reducir los daños ocasionados por patógenos. El objetivo de este estudio fue desarrollar una metodología para determinar el efecto que ejerce la micorriza vesículo- arbuscular (VAM) en la tolerancia en plantas cultivadas (tomate, crisantemo y frijol común) a la infección y daño causado por *R. solani*. Se realizó un primer ensayo para determinar la concentración adecuada del patógeno que pudiera causar daños similares a los observados en campo. Se utilizaron concentraciones de 10^2 , 10^3 y 10^4 unidades formadoras de colonia (ufc) del hongo *R. solani* para la conducción del estudio bajo condiciones de laboratorio e invernadero. Se estableció un diseño de bloques completos al azar (BCA). El segundo ensayo se realizó con la concentración determinada en el ensayo 1. Se sembraron tres plantas por macetero y se establecieron cuatro repeticiones por cada cultivo. Los tratamientos que se evaluaron fueron los efectos simples de con y sin *R. solani* (+Rs, -Rs) y Mycoral[®] (+My, -My), y sus respectivas interacciones (+Rs+My, +Rs-My, -Rs+My y -Rs-My). Se utilizó un diseño de bloques completos al azar con un arreglo factorial de 2×2 . Para el análisis estadístico se hizo un Análisis de Varianza (ANDEVA) y una separación de medias con la prueba de DUNCAN ($P < 0.1$). Se inoculó con Mycoral[®] a razón de 3.5 g por plántula antes de transplante y 20 g por planta en la etapa de transplante. Se hizo un análisis destructivo del ensayo evaluando: altura final, número de hojas, peso seco de follaje y raíces, severidad (escala de 1 a 9) e incidencia de daño causado por *R. solani*, y número de esporas de micorriza presentes. El patógeno no presentó problemas en su utilización como inóculo en laboratorio y en los ensayos en invernadero. La concentración de 10^4 ufc fue la que mejor mostró el daño ocasionado por *R. solani*. Las principales diferencias significativas favorables para la micorriza se observaron para las variables de severidad e incidencia en los tres cultivos. El número de esporas fue igual en las cuatro interacciones para los tres cultivos. La altura, el peso seco de raíces y follaje y el número de hojas no presentaron una tendencia en alguna interacción específica. Se concluyó que Mycoral[®] presentó una reducción en el daño causado por *R. solani*. Se recomendó llevar el ensayo hasta la etapa de producción para evaluar los rendimientos en cosecha.

Palabras clave: crisantemo, frijol, tomate, inoculación, incidencia y severidad de daños

ÍNDICE DE CONTENIDO

PORTADILLA	i
AUTORÍA	ii
PÁGINA DE FIRMAS	iii
DEDICATORIA	iv
AGRADECIMIENTOS	v
RESUMEN	vi
ÍNDICE DE CONTENIDO	vii
ÍNDICE DE CUADROS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	x
INTRODUCCIÓN	1
MATERIALES Y MÉTODOS	3
UBICACIÓN DEL ESTUDIO	3
MATERIALES	3
TRATAMIENTOS	3
METODOLOGÍA	4
Ensayo 1: Determinación de la concentración de inóculo de <i>R. solani</i>	4
Siembra	4
Inoculación con <i>R. solani</i>	4
Inoculación con Micorriza	4
Riego	4
Fertilización	4
Control sanitario	4
Variables analizadas y sus mediciones	4
Diseño Experimental	5
Ensayo 2: Efecto de la Micorriza en el control de <i>R. solani</i>	5
Siembra	5
Inoculación con <i>R. solani</i>	5
Inoculación con micorriza	5
Variables analizadas y su medición	6
Diseño Experimental	6
Análisis Estadístico	6
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	8
ADAPTACIÓN DEL MANEJO DE <i>R. SOLANI</i> A CONDICIONES DEL LABORATORIO E INVERNADERO	8
ANÁLISIS DE SUSTRATO	8
ENSAYO 1: Determinación de la concentración de <i>R. solani</i>	9
ENSAYO 2: Efecto de la Micorriza en el control de <i>R. solani</i>	9

Altura.....	9
Número de hojas.....	11
Peso seco de follaje	12
Peso seco de raíz.....	13
Severidad	14
Número de esporas de micorriza	15
Incidencia de daño causado por <i>R. solani</i>	16
CONCLUSIONES	18
RECOMENDACIONES	21
BIBLIOGRAFÍA	22
ANEXOS	22

ÍNDICE DE CUADROS

1. Análisis de sustrato para los dos ensayos	8
2. Severidad de daño causado por la concentración de 10^4 ufc de <i>R. solani</i> en plantas de tomate, crisantemo y frijol inoculadas con Mycoral [®] , EAP Zamorano, Honduras, 2005.	9
3. Efecto de <i>R. solani</i> y Mycoral [®] en variables evaluadas en tomate, EAP Zamorano, Honduras, 2005.....	10
4. Efecto de <i>R. solani</i> y Mycoral [®] en variables evaluadas en crisantemo, EAP Zamorano, Honduras, 2005.	10
5. Efecto de <i>R. solani</i> y Mycoral [®] en variables evaluadas en frijol. EAP Zamorano, Honduras, 2005.....	11

ÍNDICE DE FIGURAS

1. Distribución del Ensayo 1 en el invernadero.....	5
2. Distribución del Ensayo 2 en el invernadero.....	7
3. Altura final en los cultivos de tomate, crisantemo y frijol.	11
4. Número total de hojas en la planta al final de cuatro semanas.....	12
5. Peso seco del follaje, datos promedios de cada tratamiento.....	13
6. Peso seco de las raíces, datos promedios de cada tratamiento	14
7. Severidad de daño ocasionado por <i>Rhizoctonia solani</i>	15
8. Número de esporas de micorriza presentes en los cuatro tratamientos.....	16
9. Porcentaje de incidencia de daño causado por <i>Rhizoctonia solani</i> en el cultivo de tomate, crisantemo y frijol.....	17

1. INTRODUCCIÓN

Actualmente la utilización de pesticidas químicos en la agricultura está siendo muy cuestionada por organizaciones ambientales debido a la contaminación ambiental que éstos generan. Se afirma que los métodos utilizados actualmente para la producción agrícola están degenerando la tierra. Por efecto de la utilización de pesticidas y plaguicidas, se rompe el equilibrio con la naturaleza y los ecosistemas, se acelera la erosión del suelo y la pérdida de sus minerales (Morales 1998).

La micorriza vesículo arbuscular (VAM) es un hongo que actúa en simbiosis con las raíces de las plantas, condición que le permite obtener sustratos metabolizables del huésped vegetal, y de manera recíproca la planta se beneficia del nutrimento suministrado por el microorganismo sin que éste sufra interacción con el medio (Alarcón y Ferrera 2000).

La micorriza ha tenido grandes aportes a la nutrición vegetal como un biofertilizante y se ha demostrado mediante estudios que existe un efecto positivo en el crecimiento y producción de los cultivos (Córdova 2003).

En la actualidad el enfoque de las micorrizas se está orientando mucho hacia la protección vegetal (Raddatz 2001). Estos hongos son microorganismos que estimulan el desarrollo del sistema radicular de los vegetales, potencializando la nutrición y controlando el ataque de microorganismos patógenos como pueden ser los hongos y nematodos establecidos en el suelo (Sparks 2003).

El hongo se introduce por un lado en la raíz y por el otro lado (la parte externa de la hifa) tiene un contacto íntimo con el suelo. Las hifas del hongo transportan (con los pelos absorbentes) agua, micro y macroelementos a la raíz de la planta. Por su parte el hongo recibe carbohidratos, producto de la fotosíntesis de la planta (Raddatz 2003b).

La infección de la micorriza produce cambios físicos, bioquímicos y fisiológicos en las raíces colonizadas que conducen a un mejor estado de la planta y contribuyen a aliviar las situaciones de estrés vegetal de carácter abiótico (metales pesados y salinidad) y bióticos incluyendo la compensación de daños, actuación de mecanismos de defensa y cambios microbianos en la rizósfera (Jaizme y Rodríguez 2004).

Dentro de los hongos que causan mayor daño en la etapa de plántulas a una gran cantidad de cultivos está *Rhizoctonia solani*. En su estado asexual produce la enfermedad de la mustia hilachosa en el cultivo del frijol común (Martínez 2003). La dispersión de este hongo ocurre mediante el movimiento de suelo, agua o partes de la planta y herramientas contaminadas (Instituto Colombiano de Agricultura 2004).

En el presente estudio se trató de desarrollar un sistema que permitirá evaluar el efecto de las micorrizas vesículo- arbusculares sobre los daños causados por los patógenos en

las plantas cultivadas utilizando para ello inoculaciones del hongo *R. solani* en plantas de tomate, crisantemo y frijol común. Los cultivos de tomate, frijol y crisantemo son susceptibles al daño ocasionado por *R. solani*; este microorganismo causa lesiones y disminución en el desarrollo vegetativo de los cultivos, lo que provoca una merma en los rendimientos esperados.

El objetivo general fue desarrollar una metodología para determinar el efecto que ejerce la micorriza vesículo arbuscular en la tolerancia del tomate, crisantemo y frijol común a la infección y daño que ocasiona el hongo *R. solani*.

Como objetivos específicos se tuvo: adaptar el manejo, inoculación y evaluación de *R. solani* a condiciones de laboratorio e invernadero; determinar la concentración adecuada de inóculo de *R. solani* que pueda causar daño en los tres cultivos y evaluar el efecto de la micorriza vesículo arbuscular en la reducción de la infección y daño causado por *R. solani* en tomate, crisantemo y frijol común.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

UBICACIÓN DEL ESTUDIO

El estudio se llevó a cabo en el Laboratorio de Biotecnología y los invernaderos pertenecientes al Programa de Investigaciones en Frijol, ubicados en la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano a 30 Km al este de Tegucigalpa, Honduras.

MATERIALES

Inóculo de micorriza vesículo-arbuscular (VAM): Mycoral[®]

Inóculo de *Rhizoctonia solani*

Maceteros de 10 lb de capacidad

Sustrato pasteurizado (relación 2:1 de tierra agrícola:arena)

Semillas de tomate, variedad "Bute"

Semillas de frijol, variedad "Pinto xs36"

Esquejes de crisantemo, variedad "Fire Island"

Jeringas de 10 ml

Beakers de 50 ml

Bolsas de papel

Cámara de flujo laminar

Balanza digital (para pesar en gramos)

Horno de secamiento (Fisher modelo 350G)

Regla graduada en cm

Cloro al 5%

TRATAMIENTOS

Ensayo 1: Determinación de la concentración de inóculo de *R. solani*

-Concentración de *R. solani*: 10^2 , 10^3 y 10^4 unidades formadoras de colonia (ufc).

-Inoculación con VAM: con y sin Mycoral[®]

Ensayo 2: Efecto de la Micorriza en el control de *R. solani*

- Inoculación con *R. solani*: con y sin *R. solani*

- Inoculación con VAM: con y sin Mycoral[®]

METODOLOGÍA

Ensayo 1: Determinación de la concentración de inóculo de *R. solani*.

Siembra

Se emplearon 120 plantas de tomate, 120 de crisantemo de la Unidad de Propagación del Zamorano. Las camas de siembra y los maceteros se desinfectaron con cloro al 5% para evitar cualquier tipo de contaminación. Se pasteurizó el medio de siembra y se realizó un análisis de sustrato en la unidad de suelos de la EAP, Zamorano, en el cual se determinó: pH, relación suelo:agua; 1:1; materia orgánica (MO) por el método de Walkley & Black, % N total como el 5% de (MO); P, K, Ca, Mg, Cu, Fe, Mn, Zn extraídos por la solución extractora de Mehlich 3; medidos por medio de absorción atómica y P por colorimetría.

Las 120 plantas de frijol se sembraron un día después del trasplante de las de tomate y crisantemo. Se utilizaron semillas pregerminadas para asegurar la germinación y disminuir el tiempo de emergencia.

Inoculación con *R. solani*

Se reactivó el patógeno de *R. solani* en condiciones de laboratorio de acuerdo con el procedimiento de aislamiento (Martínez 2003), para luego realizar las diluciones respectivas y las concentraciones necesarias para el estudio.

Las inoculaciones con las tres concentraciones de *R. solani* (10^2 , 10^3 y 10^4 ufc) se hicieron un día después de la siembra, aplicando directamente 4 ml de inóculo con una jeringa a la zona radicular de los tres cultivos.

Inoculación con Micorriza

En este ensayo se inocularon con Mycoral[®] la mitad de las plantas de cada cultivo.

Riego

El riego se suministró en forma diaria en pequeños volúmenes de manera que las plantas no estuvieran anegadas ni en estrés hídrico.

Fertilización

Sólo se aplicó fertilizante durante la etapa de plántulas en invernadero (triple 20, 200 ppm en el agua de riego, tres veces por semana). Durante los ensayos, no se efectuó ninguna aplicación de fertilizantes, debido a que el cultivo solo pasó 5 semanas en evaluación y también para no afectar el desarrollo de la micorriza ya que ésta actúa mejor en condiciones de estrés.

Control sanitario

Se realizaron dos aplicaciones de Confidor (imidacloprid) a razón de 15 g por bomba de 15 litros con el objetivo de controlar la mosca blanca.

VARIABLES ANALIZADAS Y SUS MEDICIONES

- Presencia de infección de *R. solani*.

Se analizó mediante observación, la presencia o ausencia de infección causada por *R. solani* en las tres concentraciones.

- Severidad de daño causado por *R. solani*

Se evaluó que porcentaje de la raíz y del tallo estaba dañado por *R. solani* y se le asignó un valor en la escala de 1-9, donde 1 correspondió a la planta sana, y 9 a la planta totalmente enferma (Anexo 1).

Diseño Experimental

El diseño se hizo en bloques completos al azar (BCA) con medidas repetidas en el tiempo, teniendo como unidad experimental cada macetero (Fig. 1).

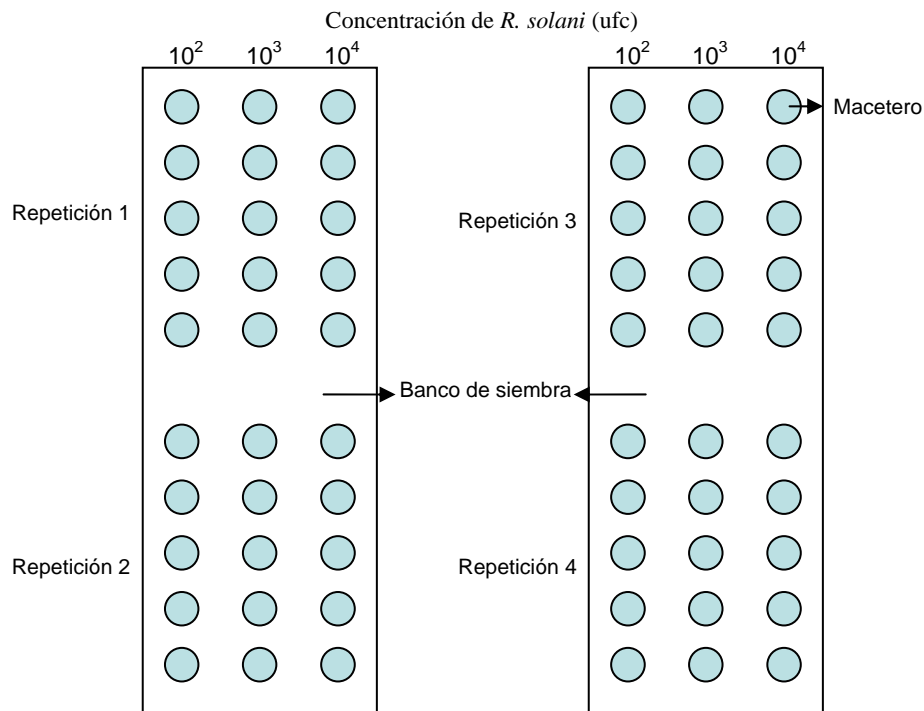


Figura 1. Distribución del Ensayo 1 en el invernadero.

Ensayo 2: Efecto de la Micorriza en el control de *R. solani*

Siembra

Se llevó a cabo de igual forma que el ensayo 1, con la diferencia que se sembraron tres plantas por macetero. Se utilizaron 192 plantas de cada cultivo.

Inoculación con *R. solani*.

La inoculación se hizo un día antes de la siembra para simular de manera más real las condiciones de campo, en las que el hongo ya se encuentra presente en el suelo.

Se aplicaron 20 ml de inóculo por cada macetero en forma diluida para formar una mezcla homogénea con los primeros 5 cm de sustrato.

Inoculación con micorriza

La micorriza se inoculó al momento de la siembra, aplicando 20 g por planta en el sitio exacto de siembra para asegurar la cobertura a todo el pilón de la planta.

El riego, fertilización y control sanitario se efectuaron de la misma manera que en el ensayo 1.

Variables analizadas y su medición

Todas las variables fueron evaluadas al final del ensayo, haciendo un análisis destructivo de los cultivos.

- Altura de la planta

Medida con una regla desde la base del tallo hasta el ápice de la planta

- Número de hojas

Éstas se contaron desde la primera hoja (verde o seca), hasta la última hoja totalmente abierta

- Peso seco del follaje

Pesado después de 48 horas en el horno de secamiento a 70°C

- Peso seco de raíces

De igual manera se dejaron 48 horas en un horno de secamiento a 70°C

- Severidad de daño causado por *R. solani*

Se evaluó de acuerdo a la escala planteada en el ensayo 1 (Anexo 1)

- Incidencia del daño causado por *R. solani*

Se tomó simplemente si había o no presencia de daños causados por *R. solani* en los tres cultivos.

- Número de esporas de micorriza presentes

Se utilizó el protocolo de A.G. Jarstfer (Universidad de Florida) para conteo de esporas.

Diseño Experimental

Se utilizó un diseño experimental de bloques completos al azar (BCA) con estructura factorial de 2×2. La unidad experimental estuvo conformada por seis plantas de cada tratamiento, haciendo un total de 16 unidades experimentales por cada cultivo.

Dentro de cada bloque se hizo una randomización a los tratamientos para que quedaran ubicados completamente al azar (Fig. 2).

Análisis Estadístico

Se utilizó el programa SAS[®] (Statistical Analysis System) para el análisis de todas las variables, se trabajó con la prueba Duncan para la separación de medias a un nivel de probabilidad de 0.10.

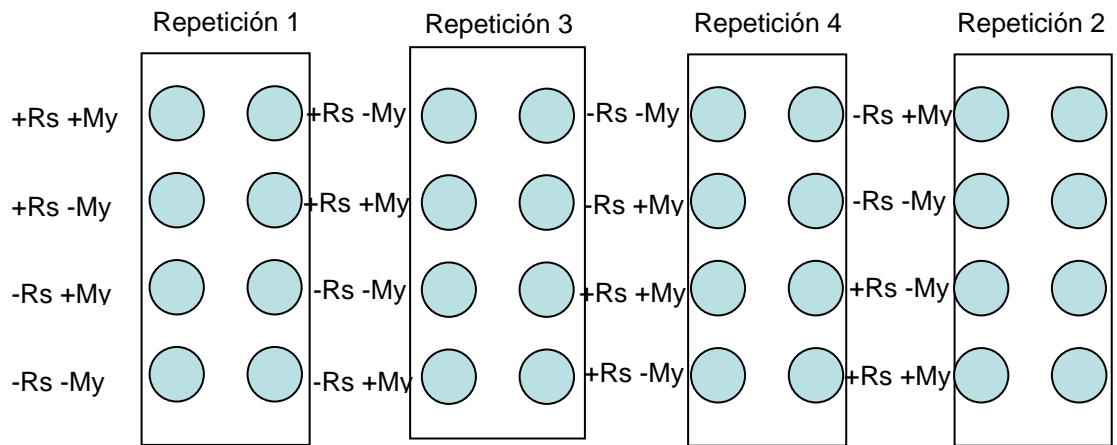


Figura 2. Distribución del Ensayo 2 en el invernadero.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

ADAPTACIÓN DEL MANEJO DE *R. SOLANI* A CONDICIONES DEL LABORATORIO E INVERNADERO

El patógeno se recolectó en el lote de Zorrales, en el Zamorano. La muestra se tomó de plantas de frijol que presentaba los síntomas característicos del ataque de *R. solani* y aplicando los postulados de Koch para asegurarse que era el patógeno de interés.

El hongo se conservó en semillas de remolacha y posteriormente se reactivó en agar-agua permaneciendo por un periodo de 48 horas en dicho medio. Luego se sembró en un medio PDA (Papa Dextrosa Agar) en el cual también permaneció por 48 horas; y por último, se aisló en medio nutritivo V8 del cual se preparó la concentración final después de 48 horas de permanecer en el medio de cultivo.

ANÁLISIS DE SUSTRATO

Se elaboró un análisis del sustrato para excluir los posibles efectos debido a excesos o deficiencias de nutrientes que pudieran causar antagonismo en la asociación planta-micorriza (Cuadro 1).

El pH es de 6.43, éste se encuentra en un nivel adecuado ya que para los tres cultivos el rango óptimo oscila entre 5.5 y 6.5.

El K, Mn y Fe, se encuentran con una concentración alta, lo cual puede generar desbalances nutricionales en el sustrato.

El Zn se encuentra bajo; el P, Ca, Mg y Cu se encuentran en niveles adecuados, lo cual es favorable para la asociación micorriza- planta.

Cuadro 1. Análisis de sustrato para los dos ensayos

Muestra	pH (H ₂ O)	% M.O.	% N total	ppm (Extractable)							
				P	K	Ca	Mg	Cu	Fe	Mn	Zn
Sustrato	6.43	4.04	0.20	26	516	1720	210	2.1	282	178	1.4
Rango medio		2.00	0.20	13	150	1000	180	1.70	56	28	1.70
		4.00	0.50	30	280	2500	250	3.40	112	112	3.40

M.O.= materia orgánica

ppm= partes por millón

ENSAYO 1: Determinación de la concentración de *R. solani*

Por medio de observación de la intensidad del daño en la base del tallo de las plantas se determinó que la concentración de *R. solani* que causó daños similares a los observados en el campo fue la de 10^4 ufc.

En términos de severidad de daño causado por *R. solani* la micorriza aplicada en este ensayo no mostró diferencias significativas entre las plantas inoculadas y las no inoculadas en los tres cultivos (Cuadro 2).

Cuadro 2. Severidad de daño causado por la concentración de 10^4 ufc de *R. solani* en plantas de tomate, crisantemo y frijol inoculadas con Mycoral[®], EAP Zamorano, Honduras, 2005.

Cultivo	Mycoral [®]	Severidad de daño
Tomate	con	2.61
	sin	3.0
	ANDEVA	0.403 ^{ns}
Crisantemo	con	3.06
	sin	2.94
	ANDEVA	0.85 ^{ns}
Frijol	con	5.0
	sin	4.63
	ANDEVA	0.708 ^{ns}

^{ns} = no significativos

ENSAYO 2: Efecto de la Micorriza en el control de *R. solani*

Altura

Tomate

No se observó efectos significativos de la inoculación con *R. solani* en la altura de las plantas de tomate. En cambio las plantas sin Mycoral[®] tuvieron mayor altura que las inoculadas con Mycoral[®] ($P < 0.07$) (Cuadro 3). En cuanto a la interacción de los tratamientos de inoculación con *R. solani* y Mycoral[®] (R x M), no se observó diferencias significativas.

Esto se pudo deber a que el ataque de *R. solani* no fue muy severa para causar una reducción significativa de altura. Sin embargo se menciona que las solanáceas presentan un crecimiento muy reducido en ausencia de la micorriza arbusculares y dependen de una buena inoculación con micorriza para asegurar una nutrición adecuada (Rivera *et al* 2003).

Cuadro 3. Efecto de *R. solani* y Mycoral® en variables evaluadas en tomate, EAP Zamorano, Honduras, 2005.

Tratamiento	Altura	No. Hojas	P.S. follaje	P.S. raíz	severidad	NE	Incidencia [£]
<i>R. solani</i>							
Con	66,8	12,15	8,44	1,11	2,02	9,75	52,085
Sin	66,9	12,27	9,15	1,26	1,17	10,13	10,42
ANDEVA	0,944	0,783	0,135	0,0542*	0,0058*	0,873	<0,001*
Mycoral®							
con	64,8	12,31	7,81	1,16	1,42	10,5	37,5
Sin	68,8	12,1	9,78	1,21	1,77	9,38	25,00
ANDEVA	0,0736*	0,647	0,0008*	0,513	0,1908	0,634	<0,0001*
Rs x My							
ANDEVA	0,294	0,0438*	0,115	0,0962*	0,0196*	0,710	<0,0001*

* = Existe diferencia significativa a una $P < 0.1$

P.S. = Peso Seco

NE = Número de esporas de micorriza

£ = Número de plantas infectadas por *R. Solani*

Crisantemo

No hubo diferencias debido a la inoculación con *R. solani* en la altura de plantas de crisantemo; sin embargo se observó que las plantas no inoculadas crecieron mejor que las inoculadas con Mycoral® ($P < 0.01$) (Cuadro 4). En cuanto a la interacción, no se observó diferencias significativas, siendo igual que en el caso de tomate.

Cuadro 4. Efecto de *R. solani* y Mycoral® en variables evaluadas en crisantemo, EAP Zamorano, Honduras, 2005.

Tratamiento	Altura	No. Hojas	P.S. follaje	P.S. raíz	severidad	NE	Incidencia [£]
<i>R. solani</i>							
Con	32,4	62,9	3,75	0,796	3,25	9,88	87,50
Sin	34,0	63,2	3,75	0,66	1,52	7,88	31,25
ANDEVA	0,14	0,91	1,0	0,089	0,0004*	0,486	<0,0001*
Mycoral®							
con	31,7	54,2	3,5	0,779	2,56	7,88	66,70
Sin	34,7	71,9	4,0	0,679	2,21	9,88	52,10
ANDEVA	0,0142*	< 0,0001*	0,355	0,195	0,347	0,486	<0,0001*
Rs x My							
ANDEVA	0,68	0,0672*	0,7922	0,373	0,469	0,434	<0,0001*

* = Existe diferencia significativa a una $P < 0.1$

P.S. = Peso Seco

NE = Número de esporas de micorriza

£ = Número de plantas infectadas por *R. solani*

Frijol

Se observó una mayor altura entre las plantas sin la doble inoculación (- Rs - My) con respecto a las plantas de tomate inoculadas con *R. solani* pero si con Mycoral® (+Rs + My), pero no hubo diferencias entre estas y las otras dos interacciones (Cuadro 5, Fig. 3). Aquí se observa que hay un efecto positivo de la micorriza en contrarrestar el daño causado por *R. solani* ya que dicha interacción se mostró igual que el testigo (- Rs - My).

Cuadro 5. Efecto de *R. solani* y Mycoral® en variables evaluadas en frijol. EAP Zamorano, Honduras, 2005.

Tratamiento	Altura	No. Hojas	P.S. follaje	P.S. raíz	severidad	NE	Incidencia [£]
<i>R. solani</i>							
Con	103,3	12,47	2,53	4,02	5,16	12,88	65,63
Sin	108,7	13,84	2,83	4,10	1,56	11,38	59,38
ANDEVA	0,615	0,124	0,353	0,587	<0,001*	0,627	<0,0001*
Mycoral®							
con	105,9	13,03	2,71	4,01	3,09	14,5	96,88
Sin	106,1	13,28	2,64	4,11	3,63	9,75	28,13
ANDEVA	0,986	0,769	0,844	0,508	0,186	0,14	<0,0001*
Rs x My							
ANDEVA	0.0858*	0.0651*	0.0668*	0,530	0.0616*	0,627	<0,001*

* = Existe diferencia significativa a una $P < 0.1$

P.S. = Peso Seco

NE = Número de esporas de micorriza

£ = Número de plantas infectadas por *R. solani*

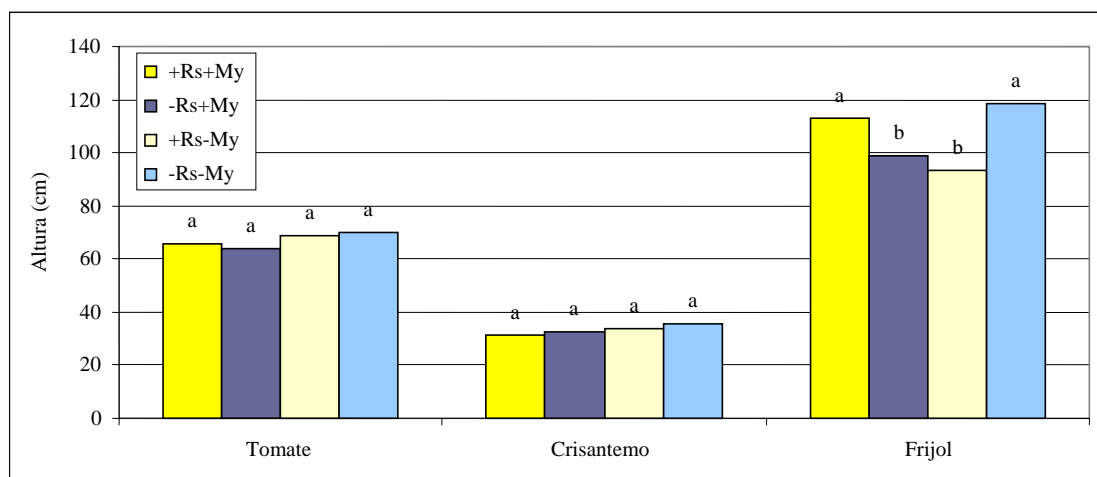


Fig. 3: Altura final en los cultivos de tomate, crisantemo y frijol.

(+): con; (-): sin; (Rs): *Rhizoctonia solani*; (My): Micorriza.

Número de hojas

Tomate

No se presentaron diferencias en el número de hojas en los efectos simples de los tratamientos (Cuadro 3). Por otro lado, se encontró diferencias en las interacciones ($P < 0.043$) observándose un mayor número de hojas en plantas sin los tratamientos de doble inoculación (-Rs -My) y con los tratamientos de doble inoculación (+Rs +My), con respecto a plantas inoculadas con *R. solani* y sin Mycoral® (+Rs -My) (Fig. 4). Entre las mencionadas interacciones se observa un ligero efecto de la micorriza en un mayor número de hojas cuando está presente *R. solani*; según Rivera *et al* (2003) las micorrizas mantienen una interacción antagónica con los hongos patógenos

Crisantemo

No hubo diferencias en el número de hojas debido a la inoculación con *R. solani*; sin embargo, el tratamiento sin micorriza produjo un número significativamente mayor de

hojas ($P < 0.001$) en crisantemo (Cuadro 4). Por otro lado, las interacciones con y sin inoculación con *R. solani* y sin Mycoral[®] (+Rs -My y -Rs -My) presentaron plantas con mayor número de hojas que las inoculadas con Mycoral (+Rs +My y -Rs +My) (Fig. 4). Aparentemente, los efectos en número de hojas son menores a los cambios en altura y peso.

Frijol

No se observaron diferencias debidas a los efectos simples de las inoculaciones con *R. solani* y de Mycoral[®] en el número de hojas de frijol, pero si de la interacción de estos dos factores (Cuadro 5). Las plantas de la interacción sin inoculación con *R. solani* y Mycoral[®] (-Rs -My) presentaron más hojas que las de con *R. solani* y sin Mycoral[®] (+Rs -My) pero estas no fueron diferentes a las otras interacciones (Fig. 4). Aquí no se ve un efecto marcado de la micorriza, pero se aprecia que en el tratamiento en el que no interviene la micorriza, la cantidad de hojas por planta es la más baja.

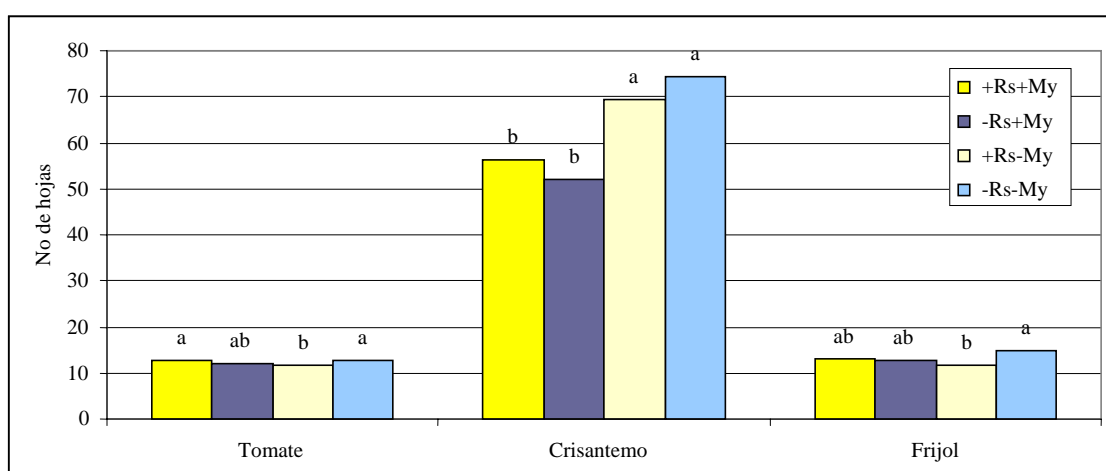


Fig. 4: Número total de hojas en la planta al final de cuatro semanas.

(+): con; (-): sin; (Rs): *Rhizoctonia solani*; (My): Micorriza

Peso seco de follaje

Tomate

No se observó diferencias por la inoculación con *R. solani*, pero las plantas sin inoculación con Mycoral[®] tuvieron mayor peso seco de follaje ($P < 0.0008$) que las inoculadas (Cuadro 3). A nivel de interacción no se presentó efecto sobre esta variable (Fig. 5).

En este caso el efecto del patógeno como el de la micorriza no fue lo suficiente como para causar un efecto significativo en las plantas para esta variable.

Crisantemo

No se presentó ninguna diferencia significativa en cuanto a los efectos de los factores individuales o las interacciones (Cuadro 4; Fig. 5).

Frijol

No hubo efectos de los factores simples de *R. solani* ni de Mycoral[®] en el peso seco de follaje de frijol, pero si de la interacción de estos dos factores ($P < 0.067$). Las plantas sin la inoculación doble (-Rs -My) tuvieron mayor peso seco de follaje que las

inoculadas con *R. solani* y sin Mycoral[®] (+Rs -My), pero ambas no fueron diferentes en peso seco que las otras dos interacciones (+Rs +My y -Rs +My) (Fig. 5).

Es obvio que la interacción (+Rs -My), haya presentado el menor peso debido al daño ocasionado por el patógeno, ya que no hubo presencia de micorriza que pudiera disminuir dicho efecto en la planta.

Estudios hechos con nematodos han comprobado que la población se ve bastante reducida si la planta está inoculada con micorriza y el mismo efecto puede suceder con respecto al daño ocasionado por hongos patógenos (Raddatz 2003b).

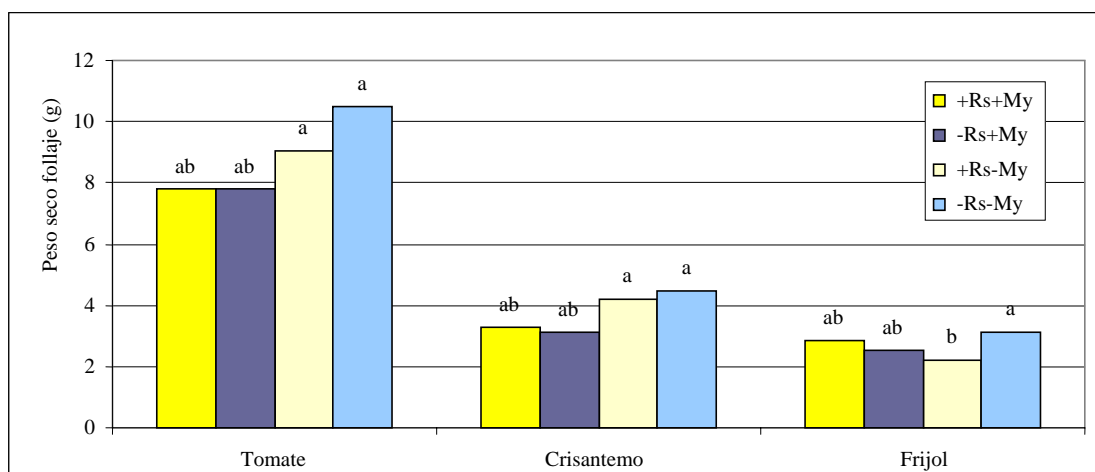


Fig. 5: Peso seco del follaje, datos promedios de cada tratamiento ($P < 0.1$).

(+): con; (-): sin; (Rs): *Rhizoctonia solani*; (My): Micorriza.

Peso seco de raíz

Tomate

Esta variable presentó una diferencia significativa ($P < 0.05$) a favor del tratamiento sin *R. solani*, pero no hubo diferencias por el efecto simple del Mycoral[®] (Cuadro 3). Se observaron diferencias en la interacción de estos dos factores ($P < 0.09$); el tratamiento sin la doble inoculación (-Rs -My) fue superior en peso seco de raíces a los inoculados con *R. solani* con (+Rs +My) y sin (+Rs -My) Mycoral[®], pero no al tratamiento sin *R. solani* y con Mycoral (-Rs +My) (Fig. 6).

En este caso la *R. solani* afectó el comportamiento de las interacciones ya que las inoculadas con este patógeno presentaron el menor peso seco de raíz.

Según las últimas investigaciones, el incremento de la raíz de una planta no sólo se da si la raíz esta siendo colonizada por la micorriza, sino también ocurre por su mera presencia en el suelo (Raddatz 2003a).

Crisantemo

No se presentó ninguna diferencia significativa en peso seco de raíces debido a los efectos de los factores simples o la interacción de estos factores en plantas de crisantemo (Cuadro 4; Fig. 6).

Este resultado se pudo deber al corto periodo en que se llevó a cabo el ensayo.

Frijol

No se observaron diferencias significativas en el peso de raíces en las plantas de frijol (Cuadro 4; Fig. 6). De igual manera se puede decir que el periodo de evaluación fue corto ya que las raíces tienen un desarrollo lento.

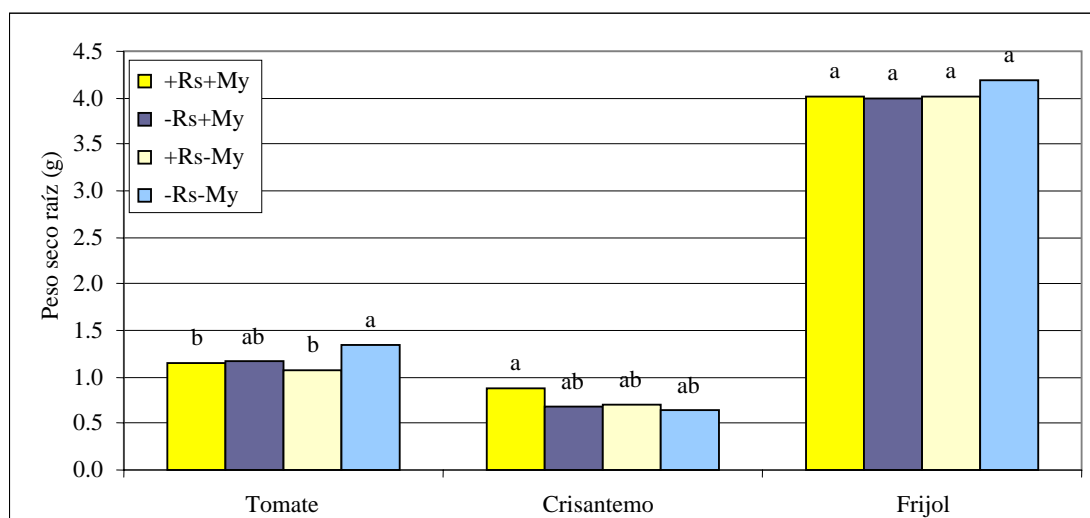


Fig. 6: Peso seco de las raíces, datos promedios de cada tratamiento ($P < 0.1$).

(+): con; (-): sin; (Rs): *Rhizoctonia solani*; (My): Micorriza.

Severidad

Tomate

La severidad de daño causado por *R. solani* en tomate fue significativa en el factor de inoculación con este patógeno ($P < 0.006$), pero no se observaron diferencias en los efectos simples de la inoculación con Mycoral® (Cuadro 3). Del mismo modo, se presentaron diferencias en la interacción de estos dos factores ($P < 0.019$), observándose una mayor severidad del daño en las plantas de tomate inoculadas con *R. solani* y sin Mycoral® (+Rs - My) que las que recibieron la doble inoculación (+Rs +My) o no fueron inoculadas con este patógeno (-Rs +My y -Rs -My) (Fig. 7).

Se observa claramente que la micorriza tuvo un efecto favorable al disminuir el daño causado por el patógeno. Desde que las micorrizas forman parte de la rizosfera, es lógico que ellas puedan afectar la incidencia y severidad de enfermedades de la raíz (Linderman 2000). Uno de los tipos de micorriza que tiene un efecto antagónico con *R. solani* es la *Glomus sp.* (Mukerji et al 2000).

Crisantemo

La severidad de daño fue más severa en plantas de crisantemo inoculadas con *R. solani* ($P < 0.0001$); pero no hubo efectos debidos a la inoculación con Mycoral® ni la interacción de estos dos factores (Cuadro 4; Fig. 7) que en los demás tratamientos, en este caso, en el tratamiento (+Rs+My) no se observó el efecto de la micorriza (Fig. 7). Esto se pudo deber a que el primero en colonizar la raíz fue el patógeno ya que se dice que la micorriza debe colonizar la raíz ojalá en forma temprana y completa antes del ataque del hongo dañino (Raddatz 2003a).

Frijol

Las plantas de frijol inoculadas con *R. solani* presentaron mayor severidad de daños ($P < 0.001$) que las no inoculadas con este patógeno (Cuadro 4). No hubo efectos de la inoculación con Mycoral[®] pero sí de la interacción de los dos factores en la cual (+Rs - My) tuvo una mayor severidad de daño y las interacciones sin *R. solani* fueron las que tuvieron menor incidencia (Fig. 7). Este es un resultado deseable ya que también se observa un efecto favorable de la micorriza en el control del patógeno.

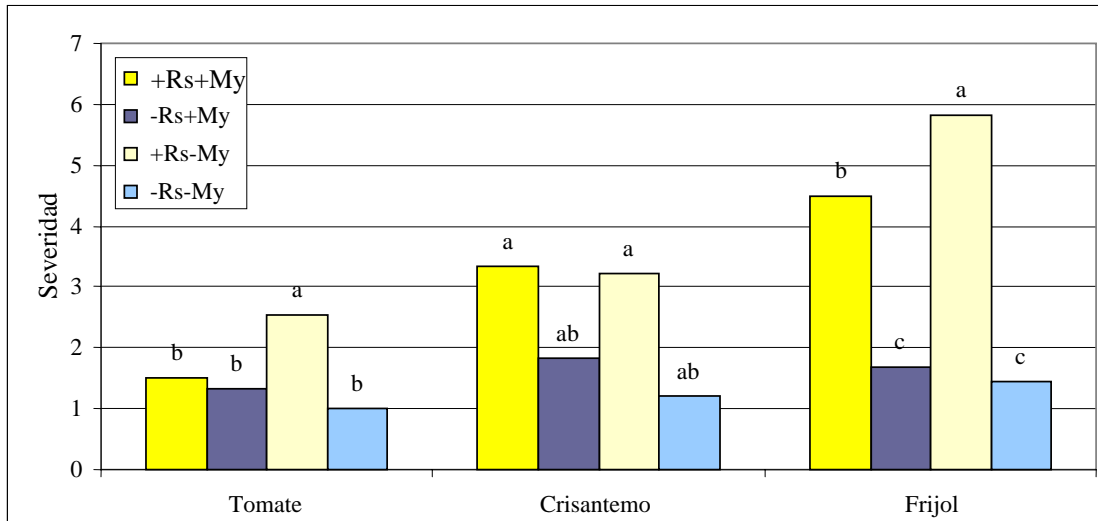


Fig. 7: Severidad de daño ocasionado por *Rhizoctonia solani* (Escala de 1 a 9, donde 1= planta totalmente sana, y 9= planta totalmente enferma) ($P < 0.1$).

(+): con; (-): sin; (Rs): *Rhizoctonia solani*; (My): Micorriza.

Número de esporas de micorriza

Tomate

No se observaron diferencias en el número de esporas de muestras del medio donde se crecieron las plantas de tomate debido a los efectos de los factores simples o de la interacción (Cuadro 3; Fig. 8).

Crisantemo

De la misma manera, no hubo diferencias significativas entre tratamientos ni entre interacciones (Cuadro 4; Fig. 8).

Frijol

Igualmente no se observaron diferencias significativas entre tratamientos ni entre la interacción (Cuadro 5; Fig. 8).

Tanto en los tratamientos inoculados como no inoculados con Mycoral[®] se observaron esporas en los tres cultivos (Cuadro 2, 3 y 4). Estos resultados pudieron deberse a contaminaciones con micorrizas nativas o de remanentes de inóculo debido a que en el invernadero donde se llevó a cabo este estudio se había usado anteriormente para incrementar las cepas base con las que se elabora el inoculante Mycoral[®].

También se puede atribuir la presencia de esporas de micorriza nativa ya que hay esporas en los tratamientos en los que no hubo inoculación con Mycoral[®], pero no se pudo determinar si es micorriza nativa o seleccionada.

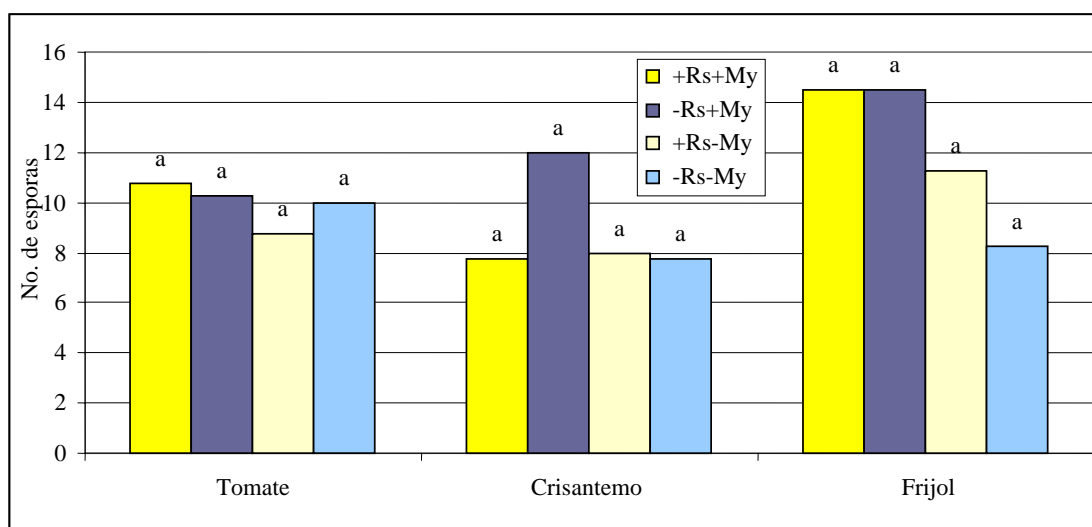


Fig. 8: Número de esporas de micorriza presentes en los cuatro tratamientos. (+): con; (-): sin; (Rs): *Rhizoctonia solani*; (My): Micorriza.

Incidencia de daño causado por *R. solani*

Tomate

Como se esperaba, las plantas de tomate inoculadas con *R. solani* presentaron mayor incidencia de la enfermedad ($P < 0.001$) que las no inoculadas (Cuadro 3). Por otro lado, las plantas inoculadas con Mycoral[®] presentaron mayor incidencia del patógeno ($P < 0.0001$). También se presentaron diferencias significativas en la interacción ($P < 0.0001$), observándose una mayor incidencia en plantas inoculadas con *R. solani* pero sin Mycoral[®] (+Rs -My) que aquellas con Mycoral[®] (+Rs +My) y las no inoculadas con *R. solani* y con (-Rs +My) y sin Mycoral (-Rs -My) (Fig. 9). En presencia de micorriza, en tomate se redujo la incidencia de la enfermedad causada por hongos (Caron *et al* 1986).

Crisantemo

En plantas de crisantemo se observaron las mismas diferencias en la incidencia del daño debidas a la inoculación con *R. solani* ($P < 0.0001$), el efecto simple de la inoculación con Mycoral ($P < 0.0001$) y los debidos a la interacción ($P < 0.0001$) (Cuadro 4; Fig. 9). Cuando hay micorriza presente el número de plantas dañadas por hongos es menor (Linderman y Pflieger 2000).

Frijol

Al igual que en tomate y crisantemo, se observaron diferencias significativas en la incidencia de los daños en plantas de frijol debidos a los efectos simples de la inoculación con *R. solani* ($P < 0.0001$), la inoculación con Mycoral[®] ($P < 0.0001$) y la interacción de estos factores simples ($P < 0.0001$) (Cuadro 5; Fig. 9). El número de plantas dañadas fue menor. En todos los casos que VAM ha disminuido el ataque de enfermedades a la raíz, generalmente la micorriza se ha establecido antes de la

invasión del patógeno, ésto se ha demostrado con ensayos con *R. solani* y *Pythium* en *Euphorbia pulcherrima* (Stewart y Pflieger 1985).

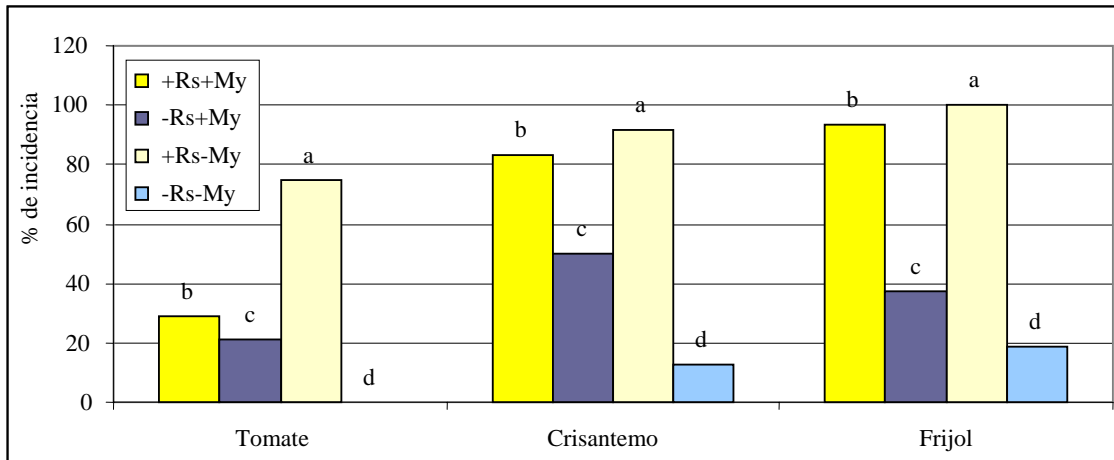


Fig. 9: Porcentaje de incidencia de daño causado por *Rhizoctonia solani* en el cultivo de tomate, crisantemo y frijol.

(+): con; (-): sin; (Rs): *Rhizoctonia solani*; (My): Micorriza.

4. CONCLUSIONES

La metodología desarrollada para determinar el efecto de la micorriza vesículo arbuscular para el control de *R. solani* en plantas cultivadas, permitió observar que la micorriza reduce el daño causado por dicho patógeno.

La activación y el manejo del hongo *R. solani* no presentaron inconvenientes en condiciones de laboratorio e invernadero.

La concentración de *R. solani* que causó mayor daño en las plantas fue la de 10^4 ufc.

El Mycoral[®] ayudó a reducir la severidad del daño causado por *R. solani* en tomate y frijol pero no en crisantemo.

El Mycoral[®] disminuyó el porcentaje de incidencia de daño ocasionado por *R. solani* en los tres cultivos.

El número de esporas de micorriza presentes fue similar en los tres cultivos y en las cuatro interacciones.

Las variables de altura, número de hojas y el peso seco de follaje y raíces, no tuvieron una tendencia clara de respuesta a las interacciones.

5. RECOMENDACIONES

Realizar ensayos similares en áreas aisladas para evitar cualquier contaminación de esporas de micorriza

Inocular el patógeno con mayor anticipación haciendo una dilución con los primeros 10 cm de sustrato.

Llevar el ensayo hasta la etapa de producción para evaluar rendimientos de cosecha.

Evaluar concentraciones más altas de *R. solani* para ver si se encuentran mayores severidades y así observar mejor el efecto del porcentaje de control que ejercen las micorrizas.

6. BIBLIOGRAFÍA

Alarcón, A.; Ferrera, R. 2000. Ecología, fisiología y biotecnología de la micorriza arbuscular. Colegio de Postgraduados. Montecillo. Mundi Prensa. México. 251 p.

Caron, M.; Fortín, J.; Richard, J. 1986. Effect of phosphorus concentration and *Glomus* intraradices on fusarium crown and root rot of tomatoes. *Phytopathology*. 76: 942-946.

Córdova, M. 2003. Biocontrol de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* por Trichozam® (*Trichoderma harzianum*) y Mycoral® (micorriza vesículo arbuscular) en el cultivo de tomate. Tesis Ing. Agr. Zamorano, Honduras. 25 p.

Instituto Colombiano de Agricultura. 2004. *Tanatephorus cucumeris* (en línea). Colombia. Consultado 20 nov. 2004. Disponible en: <http://www.ica.gov.co/servicios/cerfito/plagas/crisantemo/crisendemica/37.htm>

Jaizme, M.; Rodríguez, A. 2004. La micorriza como bioprotector. XVI reunión internacional. ACORBAT 2004. Publicación especial. Oaxaca de Juárez, Oaxaca, México.

Linderman, R.; Pflieger, F. 2000. Mycorrhizae and Olano health. Role of VAM fungi in biocontrol. Edit. APS PRESS. Minnesota USA. 344p.

Martínez, J. 2003. Manejo de aislamientos de *Rhizoctonia solani* y evaluación de la resistencia a mustia hilachosa en frijol. Tesis Ing. Agr. Zamorano, Honduras. 26 p.

Morales, L. 1998. Agricultura sostenible en el contexto social, económico y ambiental. (en línea). Armenia, Colombia. Consultado 24 nov. 2004. Disponible en: <http://www.monografias.com/trabajos14/agricult-sostenible/agricult-sostenible.shtml>

Mukerji, K.; Chamola, B.; Singh, J. 2000. Mycorrhizal biology. *Mycorrhizosphere: Interaction between rhizosphere microflora on VAM fungi*. Edit Plenum Publisher. New York, USA. 336 p.

Raddatz, E. 2001. VAM, y la resistencia de las plantas contra causantes de daños. Internacionales conferencias on mycorrhizae. Documento. Cali, Colombia. 47 p.

Raddatz, E. 2003a. La simbiosis de la planta con micorriza es un principio fundamental de la vida vegetal. International Conferences on Mycorrhizae. Documento. Cali, Colombia. 8p.

Raddatz, E. 2003b. Nuevas tecnologías para cultivar y reforestar. International Conferences on Mycorrhizae. Documento. Cali, Colombia. 13 p.

Rivera, R.; Fernández, F.; Hernández, A.; Martín, J.; Fernández, K. 2003. El manejo efectivo de la simbiosis micorrízica, una vía hacia la agricultura sostenible. Edit. Inca. La Habana, Cuba. 166p.

Sparks, D. 2003. Advances in Agronomy. The role of AM fungi in sustainable farming system. Crop Nutrition. University of Delaware, Newark, Delaware. Volumen 79.

Stewart, E.; Pflieger, F. 1985. Selection and utilization of micorrhizal fungi in vegetation of iron mining wastes. US. Department of the Interior Final Project Report. 64p.

7. ANEXOS

Anexo 1. Escala de severidad de daño ocasionado por *R. solani* en el cultivo de frijol

1= Planta sana

9= Planta muerta

Escala de severidad de daño causado por *Rhizoctonia solani* en frijol

