

Determinación del efecto de Micorriza Vesículo-Arbuscular, Mijo (*Pennisetum glaucum*) y Oxamyl en el control de nematodos en el cultivo de Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni)

Julia Adriana Calderón Díaz

Zamorano, Honduras
Noviembre, 2005

ZAMORANO
CARRERA DE CIENCIA Y PRODUCCION AGROPECUARIA

**Determinación del efecto de Micorriza Vesículo-Arbuscular, Mijo
(*Pennisetum glaucum*) y Oxamyl en el control de nematodos en el cultivo
de Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni)**

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

Presentado por:

Julia Adriana Calderón Díaz

Zamorano, Honduras
Noviembre, 2005

La autora 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.

Julia Adriana Calderón Díaz

Honduras
Noviembre, 2005

Determinación del efecto de Micorriza Vesículo-Arbuscular, Mijo (*Pennisetum glaucum*) y Oxamyl en el control de nematodos en el cultivo de Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni)

Presentado por:

Julia Adriana Calderón Díaz

Aprobada

Antonio Jaco, Agr. Lic. Admón. Agr.
Asesor Principal

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

José María Miselem Laca, MSc
Asesor

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

Gloria Arévalo de Gauggel, MSc
Asesor

George Pilz, Ph.D
Decano Académico

Kenneth L. Hoadley, DBA
Rector

DEDICATORIA

- A mami y papi por todos los esfuerzos que han hecho por mi, por sus consejos y por su cariño.
- A mis hermanas Susana, Evelyn, Marlene, Jacqueline y Andrea por su incondicional apoyo y por ser las chicas más maravillosas que podré conocer.
- A mi cuñado Petrovich por ser mi gran y fiel amigo y por confiar siempre en mi.
- A mi sobrinito Rubén por alegrar las vidas de mi familia y por permitirme sentirme orgullosa de ser su madrina.
- A mi querido Xulzi por su hermosa amistad y cariño, porque a pesar de la distancia está siempre cerca de mi.
- A Begpy.

AGRADECIMIENTOS

- A Dios y a María Santísima por el don de la vida, por siempre guiar mis pasos y ayudarme a realizar mis sueños.
- A mami y papi por brindarme su apoyo y cuidarme en todo momento.
- A mis hermanas Susana, Marlene, Jacqueline y Andrea porque más que mis hermanas son mis amigas.
- A mi hermana Evelyn por confiar plenamente en mi, por creer que soy capaz de grandes cosas y por apoyar y contribuir a mi gran “aventura” en Zamorano.
- A Petrovich por su paciencia y sus enseñanzas.
- A Lily, Mayela, Zenaida, Tzeytel, Karina, Carolina y Vanesa por ser mis amigas de la vida
- A Luisa Marín e Indira Villanueva por el tiempo que vivimos y compartimos juntas y por tener siempre una sonrisa para compartir con los demás.
- A Ismael, Luis, Víctor, Carlos y Jozer porque mas que parte de mi colonia son parte de mi familia.
- A Massiel, Johanna, Melina, Paola, Marcela Lemus, Claudia Montoya, Sergio, Santos, José Claire, Isaac, Ronal Batallas, Elena, Fernando y Daniel por los hermosos momentos que pasamos juntos en la EAP.
- Al Ing. Miselem y a Doña Gloria por haber sido unos angelitos en mi vida y por todas sus enseñanzas en la realización de esta tesis.
- Al Grupo 18B y a Javier Montenegro de tercer año por su ayuda en la instalación del ensayo.
- A los estudiantes de segundo año que contribuyeron en este ensayo durante su Aprender-Haciendo.

AGRADECIMIENTOS A LOS PATROCINADORES

- A INSAFORP por financiar parcialmente mis primeros tres años de estudio en Zamorano.
- Al fondo de becas FANTEL por financiar parte de mis primeros tres años y todo el cuarto año estudio en Zamorano.
- Al DICTA por proporcionarme las plántulas de Stevia y la semilla de mijo con las cuales se realizó este estudio.

RESUMEN

Calderón, J. 2005. Determinación del efecto de Micorriza Vesículo-Arbuscular, Mijo (*Pennisetum glaucum*) y Oxamyl en el control de nematodos en el cultivo de Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni). Proyecto Especial del Programa de Ingeniería en Ciencia y Producción Agropecuaria, Zamorano, Honduras. 17 p.

El género *Meloidogyne* sp. incluye las especies más importantes de fitonematodos en la agricultura alrededor del mundo; recibe el nombre de nematodo nodulador de la raíz, lo cual se refiere a los nódulos característicos asociados con este tipo de nemátodos. Los objetivos buscados en este estudio fueron determinar el mejor tratamiento para el control de *Meloidogyne* sp. y el efecto de la micorriza en el crecimiento de las plantas en el cultivo de *Stevia rebaudiana* B que es una planta susceptible al ataque de esta especie. Se aplicaron seis tratamientos: Stevia como testigo, Vydate[®], Mycoral[®], Mijo (*Pennisetum glaucum*), Mycoral[®] y Mijo y un testigo de Mijo. En cada uno de los tratamientos se midió la cantidad de larvas de *Meloidogyne* sp. cada 22 días durante un período de 66 días con el método de centrifugación y flotación en solución azucarada, la tasa de multiplicación de las larvas, el porcentaje de control de cada tratamiento y el crecimiento de las plantas durante el mismo período de tiempo. Todos los tratamientos son iguales en el control de nemátodos sin embargo, fueron mejor que el testigo en el cual no hubo control (-147%). Así mismo, el tratamiento inoculado con Mycoral[®] tuvo el 63% de control, Vydate[®] controló un 62%, Stevia + Mijo 61%, Stevia + Mycoral[®] + mijo 61% y el Mijo (Testigo) 56%. Todos los tratamientos son iguales en el número de larvas de *Meloidogyne* sp, sin embargo, presentan menor número de larvas con respecto al testigo. Se presentaron diferencias significativas en el crecimiento de las plantas entre los tratamientos, siendo las plantas inoculadas con Mycoral[®] las que presentaron mayor crecimiento. Para seguir con este estudio se recomienda evaluar diferentes concentraciones de Mycoral[®] para determinar la cantidad de este producto que proporcione los mejores efectos de control sobre el número de larvas de *Meloidogyne* sp. y la altura de las plantas y continuarlo hasta producción para observar su efecto en esta variable.

Palabras clave: *Meloidogyne* sp, Mycoral[®], Oxamyl.

CONTENIDO

Portadilla.....		i
Autoría.....		ii
Página de firmas.....		iii
Dedicatoria.....		iv
Agradecimientos.....		v
Agradecimientos a los patrocinadores.....		vi
Resumen.....		vii
Contenido.....		viii
Índice de Cuadros.....		ix
Índice de Anexos.....		x
1	INTRODUCCION.....	1
2	REVISION DE LITERATURA.....	3
2.1.	Nematodo nodulador de la raíz (<i>Meloidogyne</i> sp).....	3
2.1.1	Clasificación zoológica del género <i>Meloidogyne</i> sp.....	3
2.1.2.	Ciclo de vida de las especies de <i>Meloidogyne</i> sp.....	3
2.2.	Micorriza vesículo-arbuscular (Mycoral [®]).....	4
2.3.	Oxamyl (Vydate [®]).....	4
2.4.	Mijo o sorgo perla (<i>Pennisetum glaucum</i>).....	5
2.5.	<i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni.....	5
2.5.1.	Clasificación botánica.....	5
2.5.2.	Descripción botánica.....	5
2.5.3.	Propagación.....	6
2.5.4.	Plagas.....	6
3	MATERIALES Y METODOS.....	7
3.1	Ubicación del experimento	7
3.2	Multipliación de nemátodos.....	7
3.3	Instalación del experimento.....	7
3.4	Infección por micorriza.....	8
3.5	Tratamientos.....	8
3.6	Variables medidas.....	8
3.7	Diseño experimental y Análisis estadístico.....	8

4	RESULTADOS Y DISCUSION.....	9
4.1	Porcentaje de infección de micorriza.....	9
4.2	Número de larvas y tasa de multiplicación de <i>Meloidogyne</i> sp.....	9
4.3	Control de larvas de <i>Meloidogyne</i> sp.....	10
4.4	Crecimiento de las plantas de Stevia.....	11
4.5	Costos de aplicación de Mycoral [®] vs Vydate [®]	11
5	CONCLUSIONES.....	12
6	RECOMENDACIONES.....	13
7	BIBLIOGRAFIA.....	14
8	ANEXOS.....	16

INDICE DE CUADROS

Cuadro

1. Número de larvas y tasa de multiplicación de <i>Meloidogyne</i> sp por tratamiento.....	9
2. Control de larvas de <i>Meloidogyne</i> sp. por tratamiento.....	10
3. Crecimiento de las plantas de <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni por tratamiento....	11
4. Costos de aplicación .de Mycoral [®] vs Vydate [®]	11

INDICE DE ANEXOS

Anexo

1. Protocolo de extracción de nematodos por el método de centrifugación y flotación en agua azucarada..... 16
2. Análisis de infección de micorriza..... 17

1. INTRODUCCION

Los nemátodos son los animales multicelulares más numerosos que actualmente viven en la Tierra hay unas 80,000 especies descritas. Las especies de vida libre son abundantes, incluyen los que se alimentan de bacterias, de hongos, y de otros nemátodos. Existen libres en el mar, suelos húmedos y aguas continentales, siempre en sitios con algún grado de humedad, especialmente en hábitats en los que hay una intensa descomposición de materia orgánica. También incluyen a numerosos e importantes endoparásitos de plantas o de animales (Tamayo 1997).

Los nemátodos viven en grandes densidades. En un metro cuadrado de suelo de cultivo se pueden encontrar unos 10 millones de nemátodos, en el suelo de un bosque unos 8 millones y en el suelo de un prado unos 7 millones por metro cuadrado. La población del suelo decrece rápidamente a mayor profundidad y el número de individuos es mayor junto a las raíces de las plantas (Tamayo 1997).

Existen muchas especies parásitas que exhiben todos los grados de parasitismo y atacan a todos los grupos de plantas y animales. Las formas libres son en general incoloras y las parásitas blanquecinas. Los fitoparásitos pueden encontrarse en los frutos, en las grietas de la corteza o formando agallas en las raíces (Tamayo 1997).

Las micorrizas son hongos benéficos del suelo que establecen una simbiosis con las raíces y así alimentan mejor a las plantas. El uso de micorrizas presenta algunos beneficios tales como el incremento en rendimiento y productividad, mejor calidad del fruto y adelanto de la cosecha, mejor crecimiento radical y foliar, mejor absorción de fósforo y otros nutrimentos, mayor tolerancia a enfermedades y al ataque de parásitos, mejor tolerancia a la falta de agua y a la presencia de sales, también mejora la estructura del suelo (EAP Zamorano 2001).

El mijo (*Pennisetum glaucum*) es una planta originaria de Asia y África, y que se puede encontrar en lugares de suelos secos y pobres, siendo una planta que no requiere grandes cantidades de agua para su supervivencia, es tolerante a suelos arenosos y ácidos, puede utilizar el nitrógeno, el fósforo y el potasio residuales y, por lo tanto, no necesita los niveles de la fertilización requeridos por otros granos (Animallis 2002; Buntin *et al* 2004).

La Stevia, planta nativa del Este de Paraguay (cordillera del Amambay) y del Estado de Paraná en Brasil, pertenece a la familia de las compositaceas de la orden de las campanulales. Fue clasificada por primera vez en 1905 por el Dr. Moisés Bertoni llamándola *Stevia rebaudiana* en honor al Dr. Ovidio Rebaudi, químico paraguayo, aunque ésta fue descubierta por los indígenas Guaranís de Paraguay que la usaban para endulzar el té de mate desde antes de la llegada de los españoles a América (Gilbert 2002; Oddone 1999; Ministerio de Agricultura y Ganadería Paraguay)

La Stevia o Ka á He'e envuelve más de 300 especies de las cuales sólo *Stevia rebaudiana* Bertoni ha sido domesticada como un cultivo y contiene componentes dulces (10-14% en las hojas) llamados Steviosidos, que es un glucósido aproximadamente 300 veces más dulce que la sucrosa (Lyakhovkin *et al* 1993; Oddone 1999).

El objetivo principal de este estudio fue determinar el efecto del uso de micorriza vesículo arbuscular, Oxamyl y mijo (*Pennisetum glaucum*) en el control de nemátodos del género *Meloydogine* sp. en el cultivo de Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni). Como objetivos específicos se tuvo determinar la cantidad de *Meloydogine* sp. por tratamiento y determinar el efecto de los tratamientos en el crecimiento de las plantas de Stevia

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Nemátodo nodulador de la raíz (*Meloidogyne* spp)

El género *Meloidogyne* spp. incluye las especies más importantes de fitonemátodos en la agricultura alrededor del mundo; recibe el nombre de nemátodo nodulador de la raíz, lo cual se refiere a los nódulos característicos asociados con este tipo de nemátodos y tiene mucha importancia en la agricultura tropical (Bernal *et al.* 2002)

Los nemátodos producen hernias radiculares que pueden causar la muerte de la planta. Su ataque se agrava severamente cuando los nutrientes del suelo están limitados o cuando las plantas están bajo estrés ambiental (Lyakhovkin *et al.*, 1993; Oddone 1999).

Machos, hembras y larvas poseen un estilete que consiste en una punta cónica, una columna derecha y tres nódulos. El estilete puede ser sacado por medio de músculos adheridos a los nódulos y es usado para perforar las células de las plantas (Sasser y Taylor 1983).

2.1.1 Clasificación zoológica del género *Meloidogyne* sp.

Phylum	Nemata
Clase	Secernentea
Orden	Tylenchida
Superfamilia	Tylenchoidea
Familia	Meloidogynidae
Subfamilia	Meloidogyninae
Género	Meloidogyne

2.1.2. Ciclo de vida de las especies de *Meloidogyne* sp.

El ciclo de vida de las especies de *Meloidogyne* se divide en dos partes:

- 2.1.2.1. **Preparasítico:** Inicia con un huevo, la mayoría de la veces en estado unicelular ovipositado por una hembra completa o parcialmente incrustada en la raíz hospedera. Pocas horas después comienza el desarrollo. En el primer estadio larval puede moverse dentro del huevo pero no es muy activa. La muda se da dentro del huevo y luego la larva emerge a través de un agujero en un extremo del cascarón por medio de pinchazos repetidos con el estilete. La larva del segundo estadio puede dejar o no inmediatamente la masa de huevos (Sasser y Taylor 1983).

2.1.2.2. Parasítico:

- Penetración de las raíces: Las larvas del segundo estadio penetran la raíz a través de la caliptra y se mueven entre las células no diferenciadas hasta colocar sus cabezas cerca de la zona de elongación celular y sus cuerpos en la corteza (Sasser y Taylor 1983).
- Desarrollo de estadios parasíticos: Se forman células gigantes y agallas, aumenta el ancho de la larva (Sasser y Taylor 1983).

2.2. Micorriza vesículo-arbuscular (Mycoral[®])

Se conoce con el nombre de micorriza a la asociación mutualista establecida entre las raíces de la mayoría de las plantas y ciertos tipos de hongos que habitan en el suelo. Básicamente se trata de una simbiosis universal, no solo por el hecho que casi todas las especies vegetales son susceptibles a ser micorrizadas, sino también porque las micorrizas pueden estar presentes en la mayoría de hábitats naturales. Alrededor de un 95% de las especies de plantas conocidas constituyen de forma natural y constante esta simbiosis con los hongos, ya que el mutualismo proporciona una relación ventajosa para ambos organismos (Hernández 2000).

Actualmente se han clasificado siete diferentes tipos de micorriza de acuerdo a los criterios estructurales, funcionales y taxonómicos, estas son: Ectomicorrizas, Endomicorrizas o micorrizas arbusculares, Ectendomicorrizas, Arbutoides, Monotropoides, Ericoides y Orquidioides (Hernández 2000).

Existe una directa influencia de la micorriza sobre los nemátodos actuando como un nematicida muy eficaz, ecológico e inofensivo para el hombre. Así mismo, la micorriza cuenta con la ventaja que el micelio está presente en todas las partes y lugares donde se encuentra la raíz durante todo el tiempo de su vida (Raddatz 2003).

En muchos ensayos se ha comprobado, que la población de nemátodos en la zona radicular se reduce si la plantas están bien equipadas con micorriza. Todavía no se conoce la causa exacta de este fenómeno (Raddatz 2003).

2.3. Oxamyl (Vydate[®])

Es un plaguicida de amplio espectro que demuestra actividad insecticida, acaricida y nematicida. Pertenece a la familia de los carbamatos que son potentes inhibidores de la enzima acetilcolinesterasa, la cual es vital para el funcionamiento normal del sistema nervioso de los insectos (Davidson 1999; Edifarm 2001).

El oxamyl muestra una actividad sistémica completa cuando es aplicado al follaje, es traslocado hacia las raíces vía floema. Cuando es aplicado al sistema radicular o base de la planta, es traslocado al follaje vía xilema. Dentro de la planta se mueve en mayor proporción hacia los puntos de crecimiento como meristemos y raíces nuevas. Es usado para controlar plagas en varios cultivos vegetales, frutales y ornamentales (Davidson 1999; Edifarm 2001).

2.4. Mijo o sorgo perla (*Pennisetum glaucum*)

El mijo es un cultivo anual, germina bien en las temperaturas del suelo de 41-50 °C. Emerge entre los 2-4 días después de la siembra bajo condiciones favorables, florece a los 40-50 días y la planta alcanza la madurez fisiológica a los 75-85 días. El mijo no requiere grandes cantidades de agua para su supervivencia, puede utilizar el nitrógeno, el fósforo y el potasio residuales y se puede producir en una variedad amplia de suelos que se extienden desde arcillosos hasta arenosos; sin embargo, la planta se desarrollan mejor en suelos profundos y bien drenados (Animallis 2002; Buntin *et al* 2004).

El mijo usado en rotación de cultivos con papa y tabaco ha mostrado un excelente control de los nemátodos que causan lesiones en las raíces reduciendo las poblaciones de nemátodos en el suelo y en las raíces después de un año de rotación. Se alcanza el mayor efecto represivo de los nemátodos cuando los residuos del mijo permanecen en la tierra, puesto que los nemátodos se alimentarán de ellos (AERC Inc. 2004)

2.5. *Stevia rebaudiana* Bertoni

2.5.1. Clasificación botánica

Orden	Campanulales
Tribu	Eupatorieas
Familia	Compositae
Género	Stevia
Especie	rebaudiana

2.5.2. Descripción botánica

La Stevia es una planta arbustiva de 40 hasta 80 cm de altura, tallo anual subleñoso de color parduzco, sin ramificaciones durante el primer año, abundantes ramificaciones a partir del segundo, raíz pivotante poco profunda; hojas cortamente pecioladas, casi sésiles, ovales o lanceoladas, bordes aserrados, tomentosas, las distales agrupadas en número de tres o cuatro, color verde intenso en el envés y verde azulado y lustroso en el haz; flores hermafroditas, pequeñas, corola de color blanco, distribuidas en panículas terminales. Florece durante primavera y otoño (Herbotecnia 2005; Molero 1984).

La Stevia crece espontánea en áreas con clima subtropical, subhúmedo, con precipitaciones entre 1,200 y 1,800 mm distribuidas durante todo el año y temperaturas promedios superiores a 20° C. Es muy poco resistente a la falta de agua. La temperatura apropiada para su cultivo es entre 15 y 30° C, sin riesgo de heladas posteriores al momento de brotación. La temperatura mínima para la germinación es 20° C. Crece muy bien en suelos arenosos húmidos con un pH de 6.5 – 7.5, no salinos. Puede desarrollarse en suelos arcillosos con buen drenaje; no son convenientes los suelos con excesos de humedad ni los de alto contenido de materia orgánica, principalmente por problemas fúngicos (Gilbert 2002; Herbotecnia 2005; Lyakhovkin *et al* 1993; Oddone 1999; Ministerio de Agricultura y Ganadería Paraguay).

Así mismo, la Stevia es una planta de días cortos, la floración con fotoperíodos de 11 y 12.5 horas ocurre a los 46.4 y 92.6 días después de la siembra respectivamente. Se ha determinado que el fotoperíodo crítico para este cultivo es de 13-14 horas (Ministerio de Agricultura y Ganadería Paraguay).

2.5.3. Propagación

La multiplicación de la Stevia puede realizarse en forma sexual o asexual:

- Semillas
- Retoños y matas
- Estacas
- Micropropagación (Molero 1984)

2.5.4. Plagas

Pocos insectos y otros animales son los que atacan y dañan a la planta de Stevia, sin embargo, cabe mencionar algunos de los cuales sí dañan el cultivo:

- Pulgones o áfidos
- Orugas del follaje y cortadoras (Lepidópteros)
- Cochinillas o chinches harinosas
- Minadores de las hojas (Dípteros)
- Babosas (Moluscos)
- Hormigas
- Cigarritas, saltahojas (Homópteros)
- Arañas rojas
- Hongos
- Nemátodos del género *Meloidigyne* sp. los cuales causan hernias radiculares (Molero 1984).

3. MATERIALES Y METODOS

3.1 Ubicación del experimento

El estudio se realizó entre el 8 de julio y el 11 de septiembre de 2005 en las instalaciones de Zona Tres de Horticultura de la Escuela Agrícola Panamericana Zamorano, localizada en el Valle del Yeguaré. Está a 30 km de Tegucigalpa, en el departamento de Francisco Morazán, Honduras, situado a 14° latitud norte y 87° longitud oeste, a una altura de 800 msnm, con una precipitación anual promedio de 1,100 mm y una temperatura promedio de 24° C.

3.2 Multiplicación de nemátodos

Se recolectó tierra con historial de problemas de nemátodos según registros de la sección de Horticultura de la Escuela Agrícola Panamericana y se llenaron 30 bolsas negras de polietileno de 41 x 47.5 cm capacidad de 19 L; en estas bolsas se sembró lechuga durante 25 días a fin de inocular nemátodos colocándolos en un cultivo hospedero de esta plaga.. Antes del transplante de la Stevia, se realizó un análisis de nemátodos a la tierra de las bolsas donde estaba sembrada la lechuga, la cual se mezcló con el sustrato donde se transplantó la Stevia. Este análisis se realizó con el método de centrifugación y flotación en solución azucarada (Anexo 1). Con base en este análisis se determinó que por cada 100 g de tierra contaminada se agregó 650 larvas de *Meloydogine* sp. obtenidas de la tierra en la cual estuvo sembrada la lechuga, agregándose un total de 454 g de tierra contaminada por bolsa.

3.3 Instalación del experimento

Se preparó el sustrato para la siembra de las plantas con compost, casulla de arroz y arena en la proporción de 3:2:1 respectivamente. Se llenaron 60 bolsas negras de polietileno de 41 x 47.5 cm con capacidad de 19 L con el sustrato.

Se transplantó una planta de Stevia por bolsa obtenidas del vivero experimental de la Dirección de Ciencia y Tecnología Agrícola (DICTA) de la Secretaría de Agricultura y Ganadería (SAG) de Honduras y de éstas, 20 plantas fueron inoculadas con 30 g de micorriza vesículo arbuscular cada una antes del transplante, en 30 bolsas se sembró mijo y 10 bolsas se trataron con 24 cc de Vydate® disueltos en 2 litros de agua (25 cc de solución por bolsa, 3 L/ha) antes de la siembra.

Las plantas de Stevia se fertilizaron con 18-46-0 y 0-0-60, aplicando 2.27 g y 1.36 g respectivamente al drench en 100 cc de agua, divididas en tres aplicaciones: al momento del transplante, a los 30 días y a los 66 días.

3.4 Infección por micorriza

Se tomó una muestra del tratamiento de Stevia y Mycoral[®] la cual fue llevada al laboratorio de Biofertilización de la Escuela Agrícola Panamericana Zamorano para realizar un análisis de infección por micorriza en este tratamiento (Anexo 2).

3.5 Tratamientos

- 1) Stevia sembrada como testigo
- 2) Stevia inoculada con Mycoral[®]
- 3) Stevia y Mijo a razón de una planta de Stevia : una planta de mijo
- 4) Stevia inoculada con Mycoral[®] y Mijo a razón de una planta de Stevia : una planta de mijo
- 5) Stevia tratada con Vydate[®] antes de la siembra y
- 6) Mijo (*Pennisetum glaucum*) sembrado como testigo.

3.6 Variables medidas

En cada uno de los tratamientos se midió la cantidad de larvas de *Meloydogine* sp. cada 22 días durante un período de 66 días con el método de centrifugación y flotación en solución azucarada, la tasa de multiplicación de las larvas (población final/población inicial), el crecimiento de las plantas (altura final – altura inicial) y el porcentaje de control de cada tratamiento durante el mismo período de tiempo.

3.7 Diseño experimental y Análisis estadístico

Cada tratamiento tuvo diez repeticiones, siendo cada planta una unidad experimental con un diseño completo al azar.

Para el análisis estadístico se utilizó el programa estadístico Statistical Analysis System (SAS, 2003), con una separación de medias LSD, en el cual el nivel de significancia requerido fue de 0.05.

4. RESULTADOS Y DISCUSION

4.1 Porcentaje de infección de micorriza

El porcentaje de infección de micorriza en las raíces para el tratamiento de Stevia y Mycoral[®] fue de 51.42%, considerándose arriba del 30% de infección como un valor alto.

Este resultado, demuestra que la micorriza vesículo arbuscular establece una excelente simbiosis con las plantas de Stevia.

4.2 Número de larvas y tasa de multiplicación de *Meloidogyne* sp.

En el nivel de infección de *Meloidogyne* sp. todos los tratamientos son iguales a excepción del testigo en los tres muestreos realizados (Cuadro 1).

La tasa de multiplicación de *Meloidogyne* sp. en testigo de Stevia se acerca considerablemente a los valores por Medina *et al* (1992) de 2.6 veces la tasa de multiplicación de este nematodo con respecto a su población inicial, no así el resto de los tratamientos.

Cuadro 1. Número de larvas a diferentes edades del cultivo y tasa de multiplicación de *Meloidogyne* sp. por tratamiento en 100 cc de suelo en el cultivo de Stevia en Zamorano, Honduras.

Tratamiento	Número de larvas de <i>Meloidogyne</i> sp				Tasa de multiplicación de <i>Meloidogyne</i> sp.
	Días de evaluación.				
	0	22	44	66	
Stevia (Testigo)	650	1445 ^a	2075 ^a	1607 ^a	2.47
Stevia + Vydate [®]	650	206 ^d	252 ^b	241 ^b	0.37
Stevia + Mycoral [®]	650	792 ^b	307 ^b	237 ^b	0.37
Stevia + Mijo	650	355 ^{cd}	300 ^b	247 ^b	0.38
Stevia + Mycoral [®] + mijo	650	287 ^{cd}	262 ^b	248 ^b	0.38
Mijo (Testigo)	650	435 ^c	313 ^b	283 ^b	0.44

*Tratamiento con distinta letra significa que hay diferencias significativas. LSD (P≤0.05)

4.3 Control de larvas de *Meloidogyne* sp.

Para el control de las larvas de *Meloidogyne* sp. todos los tratamientos son iguales a excepción del testigo donde no hubo ningún control. En este caso, el Vydate® no obtuvo el mayor control de nematodos puesto que sólo se realizó una aplicación al momento de la siembra mientras lo recomendado es hacer otra aplicación a los siete días. (Cuadro 2). Estos valores se encuentran por debajo a los reportados en valle de Willamette por Ingham (1993) del 80% cuando se usa Vydate® líquido. Esto puede deberse a las condiciones en las cuales fue realizado el estudio.

Cuadro 2. Control de larvas de *Meloidogyne* sp. por tratamiento

Tratamiento	Control,%
Stevia (Testigo)	-147 ^a
Stevia + Vydate®	62 ^b
Stevia + Mycoral®	63 ^b
Stevia + Mijo	61 ^b
Stevia + Mycoral® + mijo	61 ^b
Mijo (Testigo)	56 ^b

*Tratamiento con distinta letra significa que hay diferencias significativas. LSD ($P \leq 0.05$)

Este efecto puede deberse a que la simbiosis es una convivencia muy estrecha en la cual se ocasionan miles de cambios en el metabolismo tanto de la micorriza como en el metabolismo de la planta. Estos cambios se expresan en un contenido variado de compuestos en las células, incluyendo fitohormonas y, aparentemente esta “dieta variada” no es aceptada por los nemátodos por lo que se reproducen menos, el número baja, hay menos ataque a la planta y por ende mejores rendimientos (Raddatz 2003).

4.4 Crecimiento de las plantas de Stevia

El crecimiento de las plantas de *Stevia rebaudiana* tuvo diferencia significativa entre tratamientos con respecto al testigo de Stevia (Cuadro 3). Estos valores se encuentran dentro del rango de crecimiento para el primer año del cultivo reportados en Paraguay por Molero (1984) entre 40-80 cm.

El tratamiento con Mycoral® presenta la mayor altura y no muestra diferencia significativa con el tratamiento de Mycoral® + Mijo. Así mismo, éste último tratamiento no muestra diferencias con respecto a los otros tratamientos.

Cuadro 3. Crecimiento de las plantas de *Stevia rebaudiana* Bertoni por tratamiento

Tratamiento	Altura de las plantas, cm		
	Inicial	Final 66 días pos trasplante	Crecimiento 66 días
Stevia (Testigo)	14	39	24 ^b
Stevia + Vydate [®]	16	39	22 ^b
Stevia + Mycoral [®]	16	52	35 ^a
Stevia + Mijo	16	39	23 ^b
Stevia + Mycoral [®] + mijo	17	45	28 ^{ab}

*Tratamiento con distinta letra significa que no hay diferencias significativas. LSD (P≤0.05)

4.5 Costos de aplicación de Mycoral[®] vs Vydate[®]

El Vydate[®] tiene un menor costo que el del Mycoral[®] en cuanto a la aplicación del producto. Sin embargo, el efecto que tiene el Mycoral[®] sobre la planta perdura mas tiempo y sólo debe aplicarse sólo al momento del trasplante, no así el Vydate[®] que debe aplicarse tres veces

Cuadro 4. Costos de aplicación de Mycoral[®] vs Vydate[®] por hectárea

Insumo	USDolar/ha
Vydate [®]	65.25
Mycoral [®]	1272.53

Tasa de cambio L.18.86

4. CONCLUSIONES

- Todos los tratamientos son iguales en el control de nemátodos sin embargo, fueron mejor que el testigo en el cual no hubo control (-147%). Así mismo, el tratamiento inoculado con Mycoral[®] tuvo el 63% de control, Vydate[®] controló un 62%, Stevia + Mijo 61%, Stevia + Mycoral[®] + mijo 61% y el Mijo (Testigo) 56%.
- Todos los tratamientos son iguales en el número de larvas de *Meloidogyne* sp, sin embargo, presentan menor número de larvas con respecto al testigo.
- Se presentaron diferencias significativas en el crecimiento de las plantas entre los tratamientos, siendo las plantas inoculadas con Mycoral[®] las que presentaron mayor crecimiento.
- El mijo es una alternativa ecoamigable para el control de nemátodos noduladores de la raíz.

5. RECOMENDACIONES

- Evaluar diferentes concentraciones de Mycoral[®] para determinar la cantidad de este producto que proporciona los mejores efectos de control sobre el número de larvas de *Meloidogyne* sp. y la altura de las plantas.
- Llevar el cultivo de Stevia hasta cosecha y determinar como los tratamientos aplicados en este estudio afectan el rendimiento del cultivo.
- Realizar análisis proximal para establecer el efecto de la micorriza sobre la cantidad de steviósido producido por las plantas.

BIBLIOGRAFÍA

AERC Inc. 2004. Canadian forage Pearl Millet (CFPM) 101 for control of nematodes in Potato and Tobacco. Consultado 9 de julio de 2005 (en línea) www.aerc.ca

Animallis. 2002. La alimentación en psitácidas III: tipos de semillas y sus propiedades. Consultado 4 de junio de 2005 (en línea) www.animallis.net

Bernal, B. Fernández, E. Vázquez, L. 2002. Manejo de plagas en la agricultura orgánica. La Habana, Cuba. Consultado 20 de agosto de 2005 (en línea) www.aguascalientes.gob.mx

Buntin, D. Dozier, W. Hanna, W. Lee, D. Timper, G; Wilson, J. 2004. Pearl Millet for Grain. University of Georgia College of Agricultural and Environmental Sciences-USDA-ARS Cooperating. 8 p.

Castaño-Zapata, J. Del Río-Mendoza. L. 1997. Nemátodos fitoparásitos: Manual para el diagnóstico de hongos, bacterias, virus y nemátodos fitopatógenos. Centro editorial Universidad de Caldas- Zamorano. 210 p.

Davidson, M. 1999. Oxamyl. Florida State University. United States of America. Consultado 25 de agosto de 2005 (en línea) www.microscopy.fsu.edu

Edifarm. 2001. Vadeagro Edifarm® Centroamérica, Panamá y República Dominicana. Edifarm Internacional Centroamérica. Guatemala, Guatemala. 668p.

EAP Zamorano, 2001. Mycoral®: micorriza arbuscular, biofertilizante que favorece el desarrollo de las plantas. Programa de Biotecnología Aplicada, Carrera de Ciencia y Producción Agropecuaria. Zamorano, Honduras. (Trifolio)

Gilbert, P. 2002. Guía del cultivo de la Stevia o Ka'a He'é. Consultado 1 de junio de 2005 (en línea) www.abc.com.py

Herbotecnia. 2005. Cultivo de Caá Heé- yerba dulce. Consultado 4 de junio de 2005 (en línea) www.herbotecnia.com.ar

Hernández, A. 2000. Las micorrizas. Madrid, España. Consultado 25 de agosto de 2005 (en línea) www.terralia.com

Ingham. 1993. Control del nematodo nodulador de la raíz con Vydate®. Consultado 19 de septiembre de 2005 (en línea) www.mint.ippc.orst.edu

Lyakhovkin, A; Mai, A; Tran, L. 1993. Cultivation and utilization of Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni). Agricultural publishing house Hanoi. Vietnam. 44 p.

Medina, F. Crozzoli, R. Rivas, D. 1992. Control del nematodo *Meloidogyne incognita* en yuca con diferentes biocidas. Universidad Central de Venezuela, Facultad de Agronomía, Dpto. de Zoología Agrícola. Venezuela. 29 p.

Ministerio de Agricultura y Ganadería Paraguay. Plan nacional de Stevia Paraguay. Paraguay. 108 p.

Molero, F. 1984. El Ka'a He'e, *Stevia rebaudiana* Bertoni: Análisis Bibliográfico y Anotaciones Hortícolas. Proyecto Paraguay minifundio crop intensification. Paraguay. 75 p.

Oddone, B. 1999. Technical manual on “ How to grow Stevia” (“The sweet herb of Paraguay”). Guarani Botanicals, Inc. USA. 29 p.

Raddatz, E. 2003. La simbiosis de la planta con Micorriza es un principio fundamental de la vida vegetal (Conferencia). Colombia.

SAS Institute. 2003. SAS® user guide: Statistical version 6.8 Edition. SAS Institute Inc., Cary, INC. USA.

Sasser, J; Taylor, A. 1983. Biología, identificación y control de los nematodos de nódulo de la raíz (Especies de Meloidogyne). Proyecto internacional de Meloidogyne. Departamento de fitopatología de la Universidad del Estado de Carolina del Norte-USAID. 111p.


Tamayo, M. 1997. Nematodos. Universidad Católica del Maule. Talca, Chile. 15p.

8. ANEXOS

Anexo 1. Protocolo de extracción de nematodos por el método de centrifugación y flotación en agua azucarada (Castaño-Zapata *et al* 1997)

- 1) Tome 100 gramos de suelo
- 2) Viértalos en el tamiz # 20 que debe estar ubicado sobre el recipiente recolector.
- 3) Abra el grifo de agua, hasta lograr una presión alta, para que el suelo sea lavado a través del tamiz. Deshaga los terrones que queden sobre el tamiz y elimine los residuos retenidos (tenga cuidado de no derramar o sobrellenar el recipiente recolector).
- 4) Deje en reposo la suspensión obtenida por 1.5 minutos.
- 5) Pase la solución a través del tamiz # 400 con cuidado de no derramar solución fuera del tamiz, ni verter el sedimento. No es necesario recolectar el agua que pase a través del tamiz.
- 6) Concentre los nematodos en el tamiz, lavando primero con el frasco lavador las paredes del tamiz y luego de afuera hacia adentro en el fondo del tamiz. Se recogen los nematodos de modo que quede bien limpio el tamiz.
- 7) Recolecte los nematodos en un tubo de ensayo, lavando los nematodos a través del embudo. Cuide de no rebalsar el tubo de ensayo.
- 8) Centrifugue por dos minutos a 2200 r.p.m. En caso de ser una sola muestra no olvide que se debe ubicar como mínimo dos tubos de ensayo para equilibrar el peso en la centrífuga.
- 9) Bote el sobrenadante dejando en el tubo solamente el sedimento que contiene los nematodos.
- 10) Con el dedo elimine los residuos que quedan en la parte superior del tubo.
- 11) Vierta sobre el sedimento del tubo, solución azucarada en una cantidad de un poco más de la mitad del tubo (no debe llenarse completamente).
- 12) Cubra el tubo y agítelo hasta disolver el sedimento.
- 13) Centrifugue nuevamente por dos minutos a 2200 r.p.m.
- 14) Pase el sobrenadante a través de una esquina del tamiz # 400 cuidando de no verter el sedimento.
- 15) Remueva rápidamente a los nematodos la solución de agua azucarada hasta que el agua pare de salir amarilla.
- 16) Recolecte los nematodos en un tubo de ensayo a través del embudo.

Anexo 2. Análisis de infección de micorriza.



ZAMORANO

ZAMORANO
CARRERA DE CIENCIA Y PRODUCCIÓN AGROPECUARIA
LABORATORIO DE BIOTECNOLOGÍA - BIOFERTILIZACIÓN

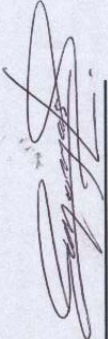
SOLICITANTE:	Julia Calderón
INSTITUCIÓN:	CCPA
Descripción:	Ensayo Stevia
Fecha ingreso:	26/09/2005
Fecha egreso:	28/09/2005

RESULTADO DE ANÁLISIS (Interpretación):
 A = alto (> 30 esporas/ml; > 30% infección)
 M = medio (21-30 esporas/ml; 21-30% infección)
 B= bajo (≤ 20 esporas/ml; ≤ 20% infección)

# Muestra	Tipo de muestra	No. Esporas	% Infección
376	Muestra 1	-	51.42

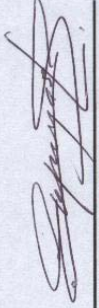
OBSERVACIONES:

Responsable



Ing. Jorge Venegas F.

Jefe de Laboratorio



Ph.D. Juan Carlos Rosas