

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

FACULTAD DE AGRONOMIA

EVALUACION DEL EFECTO DE NUEVE FUNGICIDAS RECOMENDADOS PARA
LEGUMINOSAS, SOBRE LA VIABILIDAD DEL Rhizobium japonicum Y SOBRE
LA FORMACION DE NODULOS EN PLANTAS DE SOYA (Glicine max)

TESIS

PRESENTADA A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA

FACULTAD DE AGRONOMIA

DE LA

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

POR

FREDY ADEMAR SAMAYOA ARGUETA

AL CONFERIRSELE EL TITULO DE

INGENIERO AGRONOMO

EN EL GRADO ACADEMICO DE

LICENCIADO EN CIENCIAS AGRICOLAS

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

Guatemala, Noviembre de 1985

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

RECTOR MAGNIFICO

Dr. Eduardo Meyer Maldonado

JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE AGRONOMIA

DECANO:	Ing. Agr. César Castañeda
VOCAL 1o.	Ing. Agr. Oscar Leiva
VOCAL 2o.	Ing. Agr. Jorge Sandoval
VOCAL 4o.	P.A. Leopoldo Jordán
VOCAL 5o.	P.A. Axel Gómez
SECRETARIO:	Ing. Agr. Alberto Castañeda

TRIBUNAL QUE PRACTICO EL
EXAMEN GENERAL PRIVADO

DECANO:	Dr. Antonio Sandoval S.
EXAMINADOR:	Ing. Agr. Gustavo Méndez
EXAMINADOR:	Ing. Agr. Gustavo Herrera
EXAMINADOR:	Ing. Agr. Rolando G. Aguilera
SECRETARIO:	Ing. Agr. Carlos Fernández



Referencia
Asunto

FACULTAD DE AGRONOMIA

Ciudad Universitaria, Zona 12.

Apartado Postal No. 1546

GUATEMALA, CENTRO AMERICA

Guatemala,
Noviembre 8 de 1985

Ing. Agr. César Castañeda
Decano, Facultad de Agronomía
Universidad de San Carlos de Guatemala
Ciudad Universitaria, zona 12

Señor Decano:

De manera atenta me dirijo a usted, para hacer de su conocimiento que en esta fecha he finalizado la asesoría del trabajo de investigación de tesis del estudiante FREDY ADEMAR SAMAYOA ARGUETA, con carnet No. 50439, quien efectuó el trabajo titulado "EVALUACION DEL EFECTO DE NUEVE FUNGICIDAS RECOMENDADOS PARA LEGUMINOSAS, SOBRE LA VIABILIDAD DEL Rhizobium japonicum Y SOBRE LA FORMACION DE NODULOS EN PLANTAS DE SOYA (Glicine max)".

El presente trabajo, considero, que llena los requisitos científicos obligatorios y constituye además un aporte importante al paquete tecnológico nacional e internacional en el uso de inoculantes, por lo que sugiero su aprobación.

Sin otro particular, me suscribo deferentemente,

"ID Y ENSEÑAD A TODOS"


Ing. Agr. Rolando G. Aguilera M.
Asesor

ROLANDO G. AGUILERA MERA
INGENIERO AGRONOMO
Colegiado 267

RGAM/em

Guatemala,
noviembre de 1985

Honorable Junta Directiva
Honorable Tribunal Examinador

Honorables Miembros:

De conformidad con lo que establece la ley orgánica de la Universidad de San Carlos de Guatemala, tengo el honor de someter a vuestra consideración el trabajo de tesis titulado:

"Evaluación del efecto de nueve fungicidas recomendados para leguminosas, sobre la viabilidad del (Rhizobium japonicum) y sobre la formación de nódulos en plantas de soya (Glicine max).

Como requisito previo a optar el título profesional de Ingeniero Agrónomo en el grado académico de Licenciado en Ciencias Agrícolas.

Esperando que sea merecedor de su aceptación, me suscribo de ustedes respetuosamente,



Prof. Fredy Ademar Samayoa Argueta

ACTO QUE DEDICO

A DIOS	Principio de Sabiduría
A MIS PADRES	María Irene Argueta Castañeda Porfirio Samayoa Martínez
A MI ESPOSA	Elena Arreaga de Samayoa
A MI HIJA	Luisa Fernanda Samayoa Arreaga
A MIS HERMANOS	Gloria Yolanda Mary de Jordán
A MIS SOBRINOS	Luis Felipe, Irene Alejandra Jorge Roberto, Elizabeth María
A MIS CUÑADOS	Edwin Roberto Jordán Vilma y Edna Arreaga Antonio y Estuardo Arreaga Elsa Arreaga de Martínez
A LAS FAMILIAS	Argueta Sosa Arreaga Canizales Hernández Samayoa Reyna Zimery
A MIS AMIGOS	Ing. Agr. Carlos Prado Dr. Alfredo Flores G. Lic. Marcos Antulio López Sosa
A LA ETERNA MEMORIA DE	Jesús Argueta y Clementina Sosa de Argueta (Q.E.P.D.)
A MI FAMILIA EN GENERAL	

TESIS QUE DEDICO

- A MI PATRIA GUATEMALA
- A QUETZALTENANGO
- A LA ESCUELA "VICENTE R. SANCHEZ"
- AL INSTITUTO GABRIEL ARRIOLA PORRES
- AL INSTITUTO NORMAL PARA VARONES DE OCCIDENTE (I.N.V.O.)
- A LA FACULTAD DE AGRONOMIA
- A LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA.

AGRADECIMIENTOS

A MI MADRE

Irene Argueta Castañeda
Agradecimiento por sus consejos y sacrificios
para ver culminado en ésta acto sus ilusiones.

A MI ESPOSA

Elena de Samayoa
Por su apoyo moral, para la finalización del
presente trabajo.

A MI ASESOR PRINCIPAL

Ing. Agr. Rolando Aguilera
Por su interés, dedicación y guía durante el
desarrollo de mi tesis.

A MIS PRIMOS

Edgar Samayoa
Terezo de Jesús Argueta
Por la ayuda que me brindaron en la época
de estudios.

POR SU COLABORACION

Departamentos de Microbiología, Fitopato-
logía y Química de la Universidad de San
Carlos de Guatemala.

Personal de la Unidad de Formación de Re-
cursos Humanos, del Ministerio de Agricul-
tura, Ganadería y Alimentación.

A

Todas las personas que de una u otra manera
colaboraron y que a la vez contribuyeron en
mi formación humana y profesional.

CONTENIDO

	Página
RESUMEN	1
I. INTRODUCCION	1
II. HIPOTESIS	2
III. OBJETIVOS	2
IV. REVISION DE LA LITERATURA	3
A. ASPECTOS GENERALES BASICOS A CONSIDERAR	3
1. Importancia de la fijación de Nitrógeno por el <u>Rhizobium</u> en las leguminosas	3
2. Características Microbiológicas del Rhizobium y Elementos que ayuda a su Nutrición	4
3. Características de los nódulos fijadores de nitrógeno	5
4. Factores que limitan y/o coadyuvan en la sim- biosis	5
B. ALGUNAS INVESTIGACIONES REALIZADAS E INFORMACION DE APOYO AL TEMA DE INVESTIGACION	6
1. Efectos de las sustancias químicas y del medio ambiente.....	6
2. Información Técnica de los Fungicidas	8
V. MATERIALES Y METODOS.....	12
1. Procedimiento	12
2. Localización ,.....	12
3. Material experimental	12
4. Metodología	13

	Página
VI RESULTADOS	21
VII DISCUSION DE RESULTADOS	30
VIII CONCLUSIONES	33
IX RECOMENDACIONES	34
X. BIBLIOGRAFIA	35
XI. APENDICE	37

INDICE DE TABLAS, CUADROS Y GRAFICAS

TABLAS:

1. Solución Nutritiva aplicada al suelo antes de la siembra	14
2. Medio de Cultivo para <u>Rhizobium</u>	15

CUADROS:

1. Lista de fungicidas, dosis, modo y tiempo de aplicación (invernadero)	16
2. Lista de fungicidas y dosis aplicados (Laboratorio).....	19
3. Valores de respuesta estadística, obtenidos en los análisis de las variables estudiadas.....	22
4. Valores promedio de rendimiento de peso de nódulos de 2 plantas/maceta, expresado en gramos	23
5. Valores promedio de rendimiento de peso seco de 2 plantas maceta, expresado en gramos	24
6. Datos de altura promedio de plantas por maceta, expresado en centímetros	25
7. Efecto de la dosis de fungicidas sobre el número de Rhizobios/cm ³ de caldo nutritivo (multiplicado X10 ⁵).....	26

CUADRO DEL APENDICE:**Página**

1. Resultados obtenidos para peso de nódulos/maceta con 2 plantas, expresado en gramos	38
2. Lista de fungicidas y dosis aplicados (laboratorio).	39
3. Resultados obtenidos para altura promedio/maceta con 2 plantas, expresado en centímetros	40
4. Resultados obtenidos para peso seco por maceta con 2 plantas, expresado en gramos	41

CUADROS DE ANALISIS DE VARIANZA:

5. Peso de nódulos	42
6. Tamaño de los nódulos expresado en porcentaje de nódulos grandes	42
7. Altura promedio de plantas/maceta	42
8. Peso de materia seca foliar	43
9. Detalle por tratamiento, dilución y repetición de la sobrevivencia de <u>Rhizobium/cm³</u> , de caldo nutritivo..	44
10. Número de colonias de <u>Rhizobium/cm³</u> , de caldo nutritivo.....	45

GRAFICAS:

1. Peso promedio de nódulos por 2 plantas	27
2. Peso de materia seca de 2 plantas/maceta.....	28
3. Altura promedio de 2 plantas/maceta	29

RESUMEN

La investigación nacional e internacional, en lo que se refiere al uso de los fungicidas en plantas leguminosas y su efecto en la nodulación y la bacteria Rhizobium, es muy escasa en tal sentido, el presente estudio se hace con el fin de contribuir proporcionando algo de información así como establecer el efecto que puedan tener algunos de los fungicidas usados en la actualidad para esta familia de plantas.

EL EXPERIMENTO SE EFECTUO EN DOS FASES:

- A. En la fase de invernadero, se evaluó el efecto de los fungicidas: metalaxil, trifenil acetato de estaño, pentacloronitrobenzeno, pirasophos, oxiclورو de cobre, chinomethionato, -diclofluanida, cloruro de mercurio metoxietílico y benomyl. En plantas de soya de la variedad Júpiter, inoculadas con la cepa de Rhizobium japonicum, CIAT 51.
- B. En la fase de laboratorio, se estudió la supervivencia del Rhizobium en contacto con los fungicidas mencionados, usando para la evaluación, el método de diluciones y conteo de colonias en cajas de petrf.

La investigación fue realizada en el invernadero y en laboratorio de Microbiología de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala y para el efecto se utilizó un diseño experimental de irrestricto azar en el invernadero, que contó con 10 tratamientos y 5 repeticiones, dando un total de 50 unidades experimentales.

Los parámetros analizados en la evaluación fueron los siguientes:

- a. Peso de nódulos por maceta
- b. Peso seco foliar
- c. Altura promedio de plantas por maceta
- d. Porcentaje de nódulos grandes

El análisis estadístico y la interpretación de los datos se resume así:

En la simbiosis Rhizobium japonicum y Glicine max, el análisis comparativo de las medias de tratamientos de los fungicidas: metalaxil - de acción sistémica y diclofluanida de acción superficial, mostraron ser en la mayoría de los casos superior al testigo, pudiendo así utilizarse con alta confiabilidad, no así los fungicidas de acción sistémica benomyl y pirasophos, que se presentaron por debajo del testigo.

En el laboratorio se utilizó el diseño experimental de irrestricto azar, que constó de 19 tratamientos con 3 repeticiones dando un total de 57 unidades experimentales. En cada unidad experimental se emplearon 3 diluciones de bacteria (1×10^5 , 1×10^6 , 1×10^7), lo que permitió tener un valor confiable de la población de cada unidad experimental.

El análisis estadístico marcó un efecto negativo, de todos los fungicidas sobre la población de bacterias cuando entraron en contacto directo con ellas. La disminución mínima causada fue de 43% con el fungicida oxiclóruo de cobre en dosis de 5 PPM, después de éste, la mortandad aumentó y llegó a ser total con cualquier dosis y producto de los empleados.

I. INTRODUCCION

En el estudio de las relaciones microbiológicas y específicamente en la ciencia de la Rhizobiología, la investigación que se ha hecho a nivel nacional es poca. La simbiosis de leguminosas y Rhizobium, representa un gran potencial para la obtención de alimentos ricos en proteínas a bajo costo, pudiendo las necesidades de la planta ser satisfechas a través de la fijación simbiótica de nitrógeno (12).

En nuestro medio se encuentran un buen número de cultivos de leguminosas y los adelantos tecnológicos y modernos han creado en el mundo una serie de sustancias sintéticas para ayuda de la comunidad. Dentro de estas sustancias están los "plaguicidas", los cuales son productos empleados para regular la influencia de las plantas y los animales nocivos sobre las plantas cultivadas (2). Ejemplo de un grupo de estos productos son los fungicidas, que se encuentran en una gama muy amplia en el mercado nacional.

Los productores informan al público de las cualidades de los productos y del largo proceso de selección que sufre cada uno antes de llegar al mercado, pero en la realidad, cuando van a ser utilizados en leguminosas, raramente existe una adecuada información relacionada con el efecto que causan éstos en el Rhizobium que es el micro-organismo más importante en la relación simbiótica de la fijación de nitrógeno. En función de lo anterior, el trabajo se enfoca en esta oportunidad a obtener información adecuada y de utilidad práctica sobre el efecto de algunos fungicidas usados en leguminosas.

El cultivo que se escogió para el trabajo, fue la soya (Glicine max), dada la importancia económica que se proyecta tendrá en Guatemala, en un breve plazo, aunque bien hubiera podido ser frijol u otra leguminosa la escogida para evaluar el comportamiento de los productos sobre la nodulación de la planta.

II. HIPOTESIS

TODOS LOS FUNGICIDAS EVALUADOS CAUSAN:

- A. Un efecto letal en la bacteria Rhizobium japonicum, cuando entran en contacto con ella.
- B. Disminución en el número de nódulos de Rhizobium, en relación simbiótica con plantas de soya (Glicine max.)

III. OBJETIVOS

A. GENERALES:

- 1.- Conocer el grado de acción letal de los fungicidas sobre la bacteria y el efecto sobre su aplicación en la relación simbiótica bacteria-planta.

B. ESPECIFICOS:

- 1.- Determinar bajo condiciones de laboratorio el efecto que causan nueve fungicidas para leguminosas en la viabilidad del Rhizobium japonicum, creciendo en un medio de cultivo puro.
- 2.- Determinar bajo condiciones de invernadero, el efecto que causan nueve fungicidas para leguminosas en la nodulación que produce el Rhizobium japonicum, en plantas de soya (Glicine max.).

IV. REVISION DE LITERATURA

A. ASPECTOS GENERALES BASICOS A CONSIDERAR:

1. Importancia de la Fijación de Nitrógeno por el Rhizobium en las Leguminosas:

Tomando en cuenta que el nitrógeno es un macronutriente esencial en el rendimiento de las leguminosas, se hace necesario buscar una forma práctica y barata de suplir el elemento en mención. La relación simbiótica entre microorganismos que fijan el nitrógeno y plantas bien desarrolladas, como el caso que nos ocupa; es una alternativa a la situación que se plantea.

La fijación simbiótica de nitrógeno se lleva a cabo por bacterias del género Rhizobium en asociación con las leguminosas (planta cuyo fruto es una legumbre; como la soya, el trebol, frijol, arveja, haba, etc.). (17).

Para que puedan fijar el nitrógeno, éstas bacterias tienen que establecerse en el interior de las células del tejido radicular de la planta huésped. La leguminosa, las bacterias y el nódulo constituyen el sistema biológico de este tipo de fijación del nitrógeno, y se designa como proceso simbiótico porque tanto las bacterias como las plantas se benefician con la asociación.

Las bacterias hacen aprovechable para la planta el nitrógeno atmosférico y en cambio se nutren ellas mismas a expensas de los tejidos del vegetal. Es de hacer notar que no todas las especies de Rhizobium producen nódulos y fijan nitrógeno con cualquier leguminosa, sino que existe cierta especificidad entre bacterias y leguminosas.

De la simbiosis Rhizobium-leguminosas se reportan datos que van de 100 a 200 Kg de nitrógeno por hectárea en los terrenos cultivados con éstas (5).

Para que se realice la formación de nódulos eficientes en las raíces, se requiere una alta población de Rhizobium específico en el suelo (19). Según Kolling (12) una leguminosa tiene gran utilidad práctica en la agricultura, únicamente cuando existe una asociación simbiótica efectiva con Rhizobium.

2. Características Microbiológicas del Rhizobium y Elementos que Ayudan a su Nutrición:

Los Rhizobium, son bacilos que miden 0.5 a 0.9 por 1.2 a 3.00 micras, móviles cuando son jóvenes y transformándose comúnmente en formas bacteroides; a) En los medios artificiales de cultivo que tienen calcoloides o glucósidos o en aquellos cuya acidéz es elevada o b) Durante la simbiosis en el nódulo radicular. Son gram negativos, aerobios, heterótrofos y crecen bien en medios suplementados con extracto de levadura, malta y otras materias vegetales. Se desarrollan mejor a temperaturas entre 25 y 30°C, con una variación de pH que oscila entre 6 y 7 (17).

El crecimiento de las especies Rhizobium en medio de extracto de levadura, se divide en 2 grupos. En el primero se localizan los de crecimiento rápido o productores de ácido, conteniendo de dos a seis flagelos perfrtricos y en el que se encuentran las siguientes especies: Rhizobium leguminosarum, Phaseoli, trifoli y melli-toli; en el segundo grupo, las de crecimiento lento, que poseen un solo flagelo polar o subpolar, dentro de los cuales están: Rhizo-bium japonicum y lupini (13).

De acuerdo con Vincent (20), los elementos nutricionales requeridos por el Rhizobium son:

Elemento	Requerimiento
Fe	0.005-0.1
Mg	0.1
Ca	0.025
Mg + Ca	0.5
Co.....	0.00001
Zn	0.0001-0.001
Mn	0.0001-0.01
K	0.06

3. Características de los Nódulos Fijadores de Nitrógeno:

Las observaciones de Dazzo en 1978 indican que para la formación de nódulos, se hace necesaria la infección de pelos radicales por el Rhizobio. Primero la raíz es colonizada y - al mismo tiempo que esto está sucediendo se da el fenómeno de adsorción de la bacteria (14).

Los siguientes pasos son la penetración, multiplicación y en consecuencia la formación de nódulo. En el caso de soya los nódulos pueden tener las siguientes características:(1):

- a) Una coloración rosada, si el nódulo está funcionando perfectamente, ahora, si el nódulo es de color blanco o verdoso, podría ser que su funcionamiento estuviese atenuado por algún factor externo o interno.
- b) En relación a su forma, son redondos y presentan varios sitios de actividad meristemática.
- c) El tamaño es variable, pero comparativamente en la planta los más grandes son los que mejor fijación pueden realizar.
- d) La distribución de los nódulos sobre las raíces, es de diferente manera; pero aquellos patrones de nodulación que presentan la mayoría de los mismos más próximos a la corona de la raíz, son los más efectivos.

4. Factores que limitan y/o coadyuvan en la Simbiosis:

Muchos factores como lo son: la temperatura, humedad del suelo, duración del día, intensidad de luz, bióxido de carbono, nutrición del huésped y varios factores biológicos pueden afectar el funcionamiento de los nódulos, pero también existen otros factores que aparte del funcionamiento del nódulo, pueden afectar la simbiosis y supervivencia del Rhizobium; dentro de estos factores se citan algunas propiedades del suelo tales como: Acidez, alcalinidad y presencia de elementos como el Fe, Cu, Mn, P, Ca y Mg (12).

Los efectos que se presentan en la simbiosis debido a la variación de los factores, de un lugar a otro, son muchos y varias investigaciones enfocadas al estudio de esta relación biológica han puesto de manifiesto que dentro de los principales - limitantes y/o coadyuvantes de la nodulación están:

- a) La deficiencia del fósforo, la cual se considera es tal vez el factor que más limita la fijación de nitrógeno (10).
- b) La presencia de otros microorganismos de la rizosfera estudiados por Hely y Brockwell en 1957, sugieren la posibilidad de que éstos actúen en contra de los Rhizobium en la rizosfera de las leguminosas (19).
- c) El nivel de pH del suelo del cual Royjera, citado por Graham (10), nos dice que un krasnozen (pH 4.8) con Ca 0 y Ca 0 + sales minerales, provoca grandes incrementos en la abundan-

cia de Rhizobium ssp, en la rizosfera del trébol rojo lo que da una explicación del fenómeno bien conocido de que el encajado permite la nodulación de leguminosas en suelos "Problema".

B. ALGUNAS INVESTIGACIONES REALIZADAS E INFORMACION DE APOYO AL TEMA DE INVESTIGACION:

1. Efectos de las sustancias químicas y del medio ambiente:

Las condiciones físico-químicas y del medio ambiente pueden afectar la vida y las actividades de las bacterias y otros microorganismos y el conocimiento de los efectos de las condiciones permite el desenvolvimiento de métodos para mejorar el ambiente que los afecta (4).

Vincent, citado por Graham (10) manifiesta que, algunos ensayos que han sido efectuados sobre la interacción de diferentes pesticidas con Rhizobium en el suelo o aplicados a la semilla, tales como: herbicidas, insecticidas y hormonas, no hacen mucho daño al Rhizobium o a la nodulación, en contraste con muchos fungicidas que son tóxicos y pueden causar fallas en la nodulación. Por otro lado Kolling (11), indica al igual que Vincent, que el efecto de los fungicidas, insecticidas y herbicidas pueden en muchas ocasiones perjudicar la formación de nódulos, y por lo tanto el rendimiento.

Dentro de la información que fue posible localizar en relación a este tema tenemos que: Los fungicidas, thiram y brassicol, parecen ser algo compatibles con Rhizobium, ambas sustancias son tóxicas a Rhizobium phaseoli, pero si las semillas son tratadas con estas sustancias y se siembran rápidamente después de la inoculación, normalmente nodulan bien (10).

Orozco (15) encontró que algunos tratamientos con fungicidas a las semillas (principalmente mercuriales), que buscan mejorar la germinación o controlar la transmisión de enfermedades, pueden resultar perjudiciales al establecimiento de Rhizobium, en aquellos suelos en donde se hace necesario inocular.

Graham (10), que ha trabajado mucho en leguminosas, pero principalmente frijoles, hace la cita siguiente: "En el trópico suelen tratar la semilla con productos químicos para prevenir el ataque de plagas y enfermedades en los primeros estadios de planta; pero tales productos pueden destruir en menos de 48 horas el Rhizobium phaseoli con que se inocula la semilla antes de la siembra, sin embargo el efecto sobre el Rhizobium no es igual para todos los productos. En varios ensayos de laboratorio y campo se ha encontrado que si bien el contacto de la semilla con P.C.N.B. (pentacloronitrobenceno), thiram o captán, reduce la supervivencia de la bacteria, el PCNB, permite que un grano de semilla mantenga vivas a 1000 células

del Rhizobium, hasta 48 horas, siendo el captán el menos tóxico".

En soya y maní, se recomiendan inoculantes granulados que son aplicados al suelo por debajo de la semilla y afuera del contacto del fungicida, esto indudablemente se hace como prevención al daño del producto del cual desafortunadamente no se tiene la referencia adecuada (9). Lo anterior corrobora el hecho de la escasa información, por lo demás existen tópicos generales en la literatura que dicen así: "El efecto de aplicación de herbicidas en el suelo antes de plantado y el tratamiento de semillas con fungicidas sobre la nodulación, no está bien definido, los resultados obtenidos han sido discordantes, siendo observados efectos inhibitorios sobre la formación de nódulos y otras observaciones más que no se ha verificado su efecto aún" (12).

Así mismo se han dedicado trabajos sobre los efectos de las pulverizaciones de productos químicos (fungicidas e insecticidas) sobre la microflora del suelo. Las sustancias químicas de este tipo pueden actuar de dos o tres formas posibles sobre la microflora del suelo. En primer lugar después de cualquier tratamiento por pulverizaciones es frecuente que una buena parte de la sustancia química quede directamente incorporada al suelo. En segundo lugar, las sustancias químicas en cuestión pueden ser absorbidas por la hoja y transportadas a otra parte de la planta, con lo cual el metabolismo de ésta puede resultar alterado y su "efecto de la Rhizosfera" quedar cambiado. En tercer lugar las sustancias químicas aplicadas a las hojas pueden ser transportadas y "exudadas", desde las raíces a la rizosfera y ejercer así efectos directos sobre la microflora de ésta (16).

Hallek y Cochrane en 1958, citados por Parkinson (16), pusieron de manifiesto que la aplicación de caldo bordelés a las hojas de Vicia faba producían un incremento en el contenido de cobre en el suelo y reducían las cantidades de bacteria que se encontraban en la rizosfera de dichas plantas.

El hecho de que las aplicaciones foliares de ciertas sustancias químicas provoquen cambios cualitativos y cuantitativos marcados en las microfloras de la rizosfera, indica que es éste un método experimental posiblemente importante de cara al estudio de la ecología de los microorganismos que viven en la región radical y de cara a intentar reducir los microorganismos que producen infecciones en la raíz (16).

Según Booges (4), en general las sustancias químicas pueden tener tres funciones: a) servir como nutrientes, b) Prevenir el crecimiento en un ambiente que de otra forma le sería favorable (función bacteriostática) y c) causar la muerte de la bacteria (función bactericida).

Payne y Fults en 1947, citados por Godoy (8), en un estudio en el que trabajaron con herbicidas e insecticidas, tales como: 2 4D, DDT y Colorado 9, reportaron que el número de nódulos bacteriales de la raíz del frijol común era afectado de la siguiente manera: El compuesto 2, 4D, en pequeñas cantidades (2 a 16 ppm de suelo) y DDT en concentraciones un poco mayores (127 ppm), decrecieron la nodulación. El insecticida Colorado 9, a la misma concentración no tuvo efecto decreciente en el número de nódulos.

Alaides Puppín Ruschel y Walter Francisco Da Costa, citados por Godoy (8) trataron la semilla de frijol (Phaseolus Vulgaris) con Gerasol 33, Caruchol 50, Arasan 75, Malagran, Uspulum, Semesan, Phostoxis y neantina, con la finalidad de ver los efectos de éstos productos sobre la inoculación de la semilla de frijol y recomendaron que los fungicidas semesan y neantina no deben ser usados en la desinfección de la semilla de frijol, cuando se pretende inocularlas con bacterias simbióticas fijadoras de nitrógeno.

Resumiendo, el efecto de una sustancia química sobre una bacteria puede ser evaluado cualitativamente, en términos de su influencia sobre la tasa de crecimiento o muerte. El método de conteo del número de células vivas es muy usado para esa evaluación (4).

2. Información Técnica de los Fungicidas:

- a) Metalaxil Mz 58, de acción sistémica. Es un fungicida con doble protección, porque contiene dos sustancias activas; la primera de las sustancias del producto penetra en el tejido vegetal en menos de una hora. Se distribuye junto con la savia protegiendo toda la planta y los brotes nuevos desde adentro, pese a las lluvias o al riego por aspersión el i.a. continúa su acción protectora. La segunda sustancia activa impide que los hongos infecciosos penetren en la planta y si por ejemplo una espora intenta penetrar después de una aspersión en las hojas incompleta, la primera sustancia activa comienza a actuar (6).
- b) Trifenil acetato de estaño 60%: Es un fungicida que se recomienda para aplicaciones preventivas y es aproximadamente 10 a 20 veces más efectivo su f.a. que el cobre, es efectivo en hortalizas y cultivos de importancia económica. En leguminosas controla Colletotrichum lindemuthianum, además de sus propiedades fungicidas posee un efecto pronunciado contra algas y caracoles acuáticos y se han comprobado efectos repelentes o "antifeeding", en un gran número de insectos. No penetra en las partes de las plantas destinada al

consumo humano o forraje, debido a que no tienen propiedades sistémicas. Son polvos mojables que contienen un 60% de las sustancias activas técnica; por su gran poder de adhesión garantiza un buen efecto residual por eso la adición de adherentes específicos no es necesaria en la mayoría de los casos, hay que evitar combinaciones con productos emulsionables o aceitosos (18).

- c) P.C.N.B 75% (pentacloronitrobenzeno). Es un poderoso fungicida orgánico para la desinfección de suelos y semillas; controla la mayoría de hongos patógenos de suelos que causan daños económicos, pueden mezclarse previamente con fertilizantes o productos granulados que actúan como insecticidas del suelo o nematicidas y obtener de esta manera una desinfección completa del suelo en donde crece el cultivo (18).
- d) Pirasophos 30 CE, de acción sistémica. Se destaca por su gran eficacia en el control de enfermedades de oidio (mildiu polvoriento). Es bien tolerado, por las plantas y puede ser empleado con mucho éxito en cultivo de leguminosas, es absorbido por el follaje y tallo tierno y distribuido (translocado) a toda la planta. La asimilación de este producto se efectúa esencialmente por el follaje, siendo la asimilación por las raíces inferiores, de manera que no está indicado para el tratamiento al suelo o a las semillas. Pirasophos es un concentrado emulsionable al 30%, que tiene magnífica acción preventiva. Su acción curativa en cultivos ya infestados se logra duplicando la dosificación preventiva. La acción del i.a. es rápida, una vez traslocado la lluvia no puede afectarlo, tiene propiedades preventivas y curativas, controla el mildiu polvoriento en tallos, hojas y frutos, es compatible con insecticidas líquidos y con algunos foliares. Es un ester cíclico del ácido fosfórico, de toxicidad moderada, las aplicaciones deben suspenderse 15 días antes de la cosecha (18).
- e) Oxicloruro de cobre 85%. Es un fungicida con 85% de i.a. y un 15% de dispersantes, adherentes y humectantes que poseen un gran poder de suspensión, estabilidad en la solución y mejor distribución al aplicarse sobre las plantas, asegurando la protección eficaz y duradera contra el daño de numerosas enfermedades producidas por hongos. Su efecto es preventivo, debe aplicarse antes de que las enfermedades se extiendan en el cultivo. Por su contenido de cobre participa como catalizador en la función clorofílica de la planta y como elemento menor corrige sus deficiencias. Es prácticamente atóxico para personas y animales domésticos.

Tiene muy buena adherencia a las hojas, por eso no es lavado ni aún por lluvias muy fuertes, es miscible con todos los insecticidas usuales. En los cultivos de frijol-leguminosas, controla: mancha angular de la hoja (Isariopsis griseola) mildiú (Peronos-

pora viciae), antracnosis (Colletotrichum lindemuthianum) y roya (Uromyces phaseoli) (3).

- f) Chinomethionato 25%. Es un fungicida de aspersión, presentado como polvo humectable con un contenido de 25% de Chino methionato como materia activa, demuestra un efecto especial contra los hongos de aïdio en diversos cultivos, especialmente con leguminosas en Erysiphe polygoni, teniendo a la vez un notable efecto inmediato tiene acción persistente con una residualidad hasta de 15 días y más; según las concentraciones empleadas y las condiciones climatológicas. Se mezcla fácilmente con agua, es inodoro, no perjudica el sabor de las frutas y tiene buena fitocompatibilidad con acción erradicante, es recomendable aplicarlo preventivamente, no debe mezclarse con preparados alcalinos ni con productos oleosos, e insecticidas usuales líquidos emulsionables, no agregue humectantes ni adherentes (3).
- g) Diclofluanida 50%. Es un potente fungicida, presentado en forma de polvo mojable con un 50% de diclofluanida como materia activa, es especialmente indicado como fungicida preventivo contra botritis y oïdios en diversos cultivos, pero con buen efecto sobre otras enfermedades y acción secundaria contra ácaros. Es miscible con insecticidas presentados en forma de polvos mojables (W.B) y polvos solubles (S.P), mezclas con otros fungicidas no son necesarios no se debe mezclar con productos emulsionables. No deben agregársele adherentes o esparcidores, ni aceites agrícolas. En leguminosas tiene buen efecto contra: antracnosis (Colletotrichum sp), y roya (Uromyces sp) (3).
- h) Cloruro de mercurio metoxietílico 3%. Es un desinfectante fungicida y bactericida a base de cloruro de mercurio metoxietílico, con un 3% de mercurio metálico como i.a., por lo tanto es venenoso a los humanos y animales. Elimina los micelios de los microorganismos patógenos en el suelo, esteriliza sus gérmenes y esporas adheridas a las semillas, proporciona a la simiente el ambiente aséptico durante el proceso de la germinación. Se puede usar como desinfectante en cualquier recipiente que no sea zinc y mezclar con otros fungicidas e insecticidas siempre y cuando se aplique inmediatamente. Cloruro de mercurio metoxietílico actúa específicamente contra enfermedades de trasplante y los patógenos del suelo de distintas familias y géneros como: Rhizobíaceas, actinomices, Rhizoctonia spongospora, Sclerotium y Fusariosis, que dañan en la primera fase de germinación y crecimiento de las leguminosas (3).

- i) Benomyl 50%. De acción sistémica. Es un fungicida preventivo con un 50% como materia activa, es eficaz contra enfermedades - fungosas como el mildiú y antracnosis en leguminosas, no debe - mezclarse con sustancias alcalinas ni con caldo bordelés (7).

V. MATERIALES Y METODOS

1. PROCEDIMIENTO:

Para poder llevar a cabo el estudio, fue necesario recabar información sobre los fungicidas más utilizados en leguminosas y que se encuentran vigentes en el mercado nacional.

La base de la selección fue fundamentalmente la variabilidad del ingrediente activo y su frecuencia en el uso y aceptación.

2. LOCALIZACION:

La evaluación del efecto de los fungicidas sobre la viabilidad del Rhizobium y la simbiosis bacteria-planta se realizó en el laboratorio de Microbiología y en el Invernadero de la Facultad de Agronomía; respectivamente. Ambas instalaciones pertenecen a la Universidad de San Carlos de Guatemala y están ubicadas en la ciudad capital.

3. MATERIAL EXPERIMENTAL:

- a. Rhizobium japonicum, Cepa CIAT 51, proporcionada por el Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) de Cali, Colombia.
- b. Plantas de soya de la variedad Júpiter, proporcionada por el ICTA, y recomendada por ser alta rendidora.
- c. Fungicidas: Metalaxil Mz 58 (Ridomil), Trifenil acetato de estaño 60% (Brestan), PCNB 75% (Brassicol), Pirasophos 30 CE (Afugan), Oxicloruro de cobre 85% (Cupravit), Chinomethionato 25% (Morestan), Diclofluanida 50% (Euparen), Cloruro de mercurio metoxietílico 3% (Agallol), Benomyl 50% (Benlate).
- d. Tubos de ensayo
- e. Cajas de petri
- f. Erlen meyer de 250, 500, 1000 y 4000 cc.
- g. Incubadora
- h. Hornillas eléctricas
- i. Agitadores
- j. Pipetas de 1, 5 y 10 cc.
- k. Autoclave

- l. Cámara de Petróff.
- m. Potenciómetro
- n. Macetas plásticas
- o. Botellas de Champagne
- p. Frascos de compota
- q. Tubos de ensayo con tapón de rosca
- r. Suelo
- s. Invernadero

4. METODOLOGIA:

La investigación realizada, requirió de una serie de pasos agrupados en forma separada mediante dos grandes fases.

- A. Fase de Invernadero
- B. Fase de Laboratorio

A. FASE DE INVERNADERO:

En esta fase se evaluó el efecto de la aplicación de fungicidas a la semilla y/o a la planta para conocer el resultado provocado en la simbiosis. Los pasos fueron los siguientes:

A.1 Análisis y preparación del suelo:

Al suelo utilizado se le agregó un tercio de arena blanca, luego se homogenizó y tamizó para obtener una mezcla con drenaje adecuado. Se prepararon macetas plásticas y cada una se identificó con su respectivo tratamiento y repetición.

Así mismo se envió una muestra al laboratorio de suelos del Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícola, para su análisis, mostrando un bajo nivel de nitrógeno y fósforo, por lo que fue necesario efectuar las enmiendas que se presentan a continuación en la tabla No. 1.

Tabla No. 1
SOLUCION NUTRITIVA APLICADA AL SUELO ANTES DE LA SIEMBRA

COMPUESTO	APLICADO EN SOLIDO	APLICADO EN SOLUCION	Grs. de Solución en 2000 Grs. de Suelo
T.S.P +	*		0.25
Ca CO ₃	*		1.00
K Cl	*		0.10
Mg SO ₄ 4H ₂ O		*	0.2
Mn SO ₄ 4H ₂ O		*	0.03
Cu SO ₄ 5H ₂ O		*	0.0074
Zn SO ₄ 7H ₂ O		*	0.0074
H ₂ SO ₄		*	0.0039
Na Mo O ₄ 2H ₂ O		*	0.002

+ = Triple Super Fosfato

Después de aplicar la solución nutritiva a cada maceta se dejó secar y luego se mezcló su contenido en una bolsa plástica para homogenizar la mezcla suelo-arena-nutrientes.

A.2 Recuperación de la Bacteria Liofilizada y Medio de Cultivo

Utilizado para el cultivo de Rhizobium:

La metodología empleada para lograr la reproducción de la bacteria, partiendo de ampollas liofilizadas con Rhizobium fue la que recomienda Vincent (20) y que en síntesis, consiste en colocar la bacteria liofilizada en un medio que contiene los productos que se mencionan en la siguiente tabla:

Tabla No. 2
MEDIO DE CULTIVO PARA RHIZOBIUM

REACTIVO	Grs/Lts.
K_2HPO_4	0.5
$Mg SO_4 \cdot 7H_2O$	0.2
Na Cl	0.2
Ca Cl_2	0.2
Fe Cl_3	0.01
Manitol	10.00
Extracto de levadura	4.00
Agar	20.00
Agua destilada	La necesaria para llevar a 1000 cc. de medio

Todo el medio esterilizado a 120 grados centígrados y a 20 lbs. de presión, durante 20 minutos en el autoclave.

A.3 Inoculación de la Semilla:

Para evitar que las semillas sembradas pudiesen ser portadoras de cualquier otro microbio, antes de ser inoculadas con Rhizobium, se desinfectaron así:

En una solución de bicloruro de mercurio al 0.1% acidificado con HCL grado reactivo, como lo demuestra Vincent (20), se colocaron las semillas durante un minuto, luego se hicieron 5 lavados a la semilla con agua esteril.

La semilla limpia se inoculó con la cepa de Rhizobium japonicum, CIAT 51 (para el inóculo se partió de cultivos puros de bacteria, sembrados en tubos de ensayo) e inmediatamente se procedió a la siembra de 5 semillas por maceta.

Después de su germinación se dejaron únicamente 2 plantas por maceta, que fueron las de mejor desarrollo.

A.4 Tratamientos Estudiados:

El siguiente cuadro, muestra los tratamientos, dosis, modo y tiempo de aplicación, de los diferentes fungicidas. (Cuadro No.1)

LISTA DE FUNGICIDAS, DOSIS, MODO Y TIEMPO DE APLICACION (Invernadero)

TRATAMIENTO + i.a.	DOSIS/MACETA CON 2 PLANTAS		DOSIS CO- MERCIAL/Ha.	MODO DE APLI- CACION	TIEMPO APLIC. DIAS
	Grs.	cc.			
Metalaxil Mz 58	0.012		3.90 Kg/ha	Asperjado	Cada 8
Trifenil acetato de estaño 60%	0.0012		0.40 Kg/ha	Asperjado	Cada 9
P.C.N.B 75%			0.03 Kg/ha	A la semilla previo a Inocular	
Pirasophos 30 CE		0.0007	0.25 lt/ha	Asperjado	Cada 8
Oxicloruro de Cobre	0.0008		2.80 Kg/ha	Asperjado	Cada 9
Chinomethionato 25%	0.06		20.00 Kg/ha	Asperjado	Cada 8
Diclofluani da 50%	0.006		1.5-3 Kg/ha	Asperjado	Cada 8
Cloruro de mercurio Metoxietílico 3%	0.0004		0.14 Kg/ha	Asperjado	Cada 8
Benomy 50%	0.0015		0.50 Kg/ha	Asperjado	Cada 8
Testigo					

+ = ingrediente activo

A.5 Diseño Experimental:

a. Irrestricto azar:

El diseño utilizado fue de irrestricto azar, constó de 10 tratamientos con 5 repeticiones, dando un total de 50 unidades experimentales.

b. Modelo Estadístico:

$$Y_{ij} = U + t_i + E_{ij}$$

donde:

Y_{ij} = Variable respuesta de la ij -ésima unidad experimental

U = Efecto de la media general

T_i = Efecto del i -ésimo tratamiento

E_{ij} = Efecto del error experimental a la ij -ésima unidad experimental.

A.6 Datos que se tomaron:

Los datos que se tomaron y que fueron motivo de discusión para el estudio, son los siguientes;

- a. Peso de nódulos por maceta
- b. Porcentaje de nódulos grandes
- c. Altura promedio de plantas por maceta
- d. Peso seco foliar.

A.7 Análisis Estadístico:

El análisis estadístico fue realizado para cada una de las variables estudiadas, con el modelo completamente al azar. Luego los resultados que así lo exigieron, se sometieron a la prueba de Tukey con significación del 5% para establecer qué tratamientos fueron favorables.

A.8 Manejo del Experimento:

Al estar colocadas las macetas plásticas y distribuidas al azar en la mesa del invernadero, se procedió a inocular la semilla con Rhizobium, como se explica en el inciso A.3; a los 10 días de la siembra, se procedió a hacer un raleo, dejando para el efecto las dos mejores plantas.

Seguidamente al raleo, se efectuó la primera aplicación de los fungicidas, a excepción de PCNB al 75%, que fue aplicado una vez y a la semilla antes de la siembra. Otro fungicida aplicado antes de la siembra fue el Cloruro de mercurio metoxietílico al 3%, el cual se aplicó al suelo 3 días antes de la siembra y cada 8 días después de la misma.

Los demás fungicidas se aplicaron 4 veces más, con una diferencia de aplicación de 8 y 9 días, como lo muestra el cuadro No.1.

Con respecto al riego, se realizó cada 2 días, procurando que cada maceta recibiera un máximo de 300 cc. de agua.

El control de malezas fue manual y para insectos no fue necesario.

Las plantas presentaron un 85% de floración a los 75 días, por lo que se procedió al corte para tomar datos. Esto consistió en cortar la planta al nivel del cuello del tallo para después colocarse en bolsas de papel previamente identificadas con cada tratamiento y repetición.

Seguidamente se procedió a extraer la raíz cuidadosamente y se colocaron en bolsas plásticas debidamente identificadas.

En el laboratorio se procedió a determinar el peso verde y seco de las plantas, así como los datos de nodulación de las raíces.

B. FASE DE LABORATORIO:

En esta fase se evaluó la supervivencia del Rhizobium en contacto con los fungicidas investigados. Se empleó el método de conteo directo de bacterias en cajas de petri, que básicamente utiliza como valor de medición, el crecimiento de colonias en medio de cultivo, que para este caso, fue tratado con 2 dosis diferentes de cada fungicida investigado.

B.1 Obtención y Cultivo de Rhizobium:

La bacteria fue facilitada por el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos, pero fue necesario cultivarla masivamente, por lo que se prepararon 3 erlenmeyer con 125 cc de caldo nutritivo para Rhizobium debidamente esterilizados, los que fueron inoculados con la cepa de Rhizobium CIAT 51, que se incubó a temperatura ambiente - durante 8 días. Durante la incubación se proveyó el oxígeno por medio de la agitación constante en una plancha magnética, después de los 8 días se realizó un conteo de la población bacteriana, utilizándose para ello una cámara de conteo tipo Petroff. La población que se observó fue de 3.6×10^9 bacterias por cc - de caldo. Realizándose a continuación una prueba de Gram, para determinar la pureza del cultivo.

B.2 Tratamientos Estudiados:

Los tratamientos estudiados se presentan en el cuadro siguiente:

Cuadro No. 2
LISTA DE FUNGICIDAS Y DOSIS APLICADOS (LABORATORIO)

FUNGICIDA i.a.	DOSIS EN PPM		TIEMPO DE APLICACION
	5	10	
Metalaxil Mz 58	*	*	Una vez al sembrar
Trifenil acetato de estaño 60%	*	*	Una vez al sembrar
PCNB 75%	*	*	Una vez al sembrar
Pirasophos 30 CE	*	*	Una vez al sembrar
Oxicloruro de cobre 85%	*	*	Una vez al sembrar
Chinomethionato 25%	*	*	Una vez al sembrar
Diclofluánida 50%	*	*	Una vez al sembrar
Cloruro de mercurio metoxietílico 3%	*	*	Una vez al sembrar
Benomyl 50%	*	*	Una vez al sembrar
Testigo	**	**	-----

* = PPM Aplicado a cada caja

** = No se aplicó fungicida

B.3 Diseño Experimental:

El diseño experimental fue irrestricto azar que constó de 19 tratamientos con 3 repeticiones, lo cual dió un total de 57 - unidades experimentales. En cada unidad experimental se emplearon 3 diluciones de bacteria (1×10^5 , 1×10^6 , 1×10^7), lo que permitió tener un valor confiable de la población de cada unidad experimental.

B.4 Modelo Estadístico:

$$Y_{ij} = U + T_i + E_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} = Variable respuesta de la ij -ésima unidad experimental

U = Efecto de la media general

T_i = Efecto del i -ésimo tratamiento

E_{ij} = Efecto del error experimental asociado a la ij -ésima unidad experimental.

B.5 Dato que se tomó:

El dato que se tomó en esta fase de investigación, fue el número de Rhizobios/cm³ de caldo nutritivo tratado.

B.6 Análisis estadístico:

El análisis efectuado para la variable estudiada, fue para el modelo de irrestricto azar y los resultados promediados de cada tratamiento se sometieron al valor comparador de Tukey.

B.7 Manejo del experimento:

Se prepararon 5,000 cc de medio nutritivo para Rhizobium (5 lt), los cuales se distribuyeron en 20 recipientes de 250 cc c/u, para luego ser esterilizados en el autoclave a 120°C y a 20 libras de presión durante 20 minutos.

Previo a esta evaluación se contó con lo siguiente:

- a. Tubos de ensayo con tapón de rosca con 99 y 100 cc de agua estéril para las diluciones de las concentraciones de bacteria, estando el número de tubos en función del número de tratamientos y diluciones efectuadas.
- b. Botellas con 250 cc de medio de cultivo para Rhizobium con agar.
- c. Pipetas estériles de 1, 5, y 10 cc, así como cajas de petri identificadas de acuerdo al tratamiento aplicado.

Con los materiales anteriores preparados y partiendo del caldo original de bacteria (ver sección B, fase de laboratorio inciso B.2), se procedió a hacer las diluciones del caldo, en una cámara de aislamiento.

A las botellas con 250 cc del medio de cultivo para Rhizobium se les colocó los distintos fungicidas a evaluarse con las dosis respectivas a cada tratamiento, seguidamente en las cajas petri se vertió el medio tratado y de acuerdo a las diluciones expresadas, se inocularon las cajas petri con 1 cc de suspensión de bacteria. El inóculo y el medio de cultivo se agitaron con movimientos rotativos y lineales, para distribuir la bacteria. El inóculo y el medio de cultivo se agitaron con movimientos rotativos y lineales, para distribuir la bacteria uniformemente y se esperó a que solidificara para luego colocar las cajas en un medio adecuado previamente desinfectado (no se colocaron las cajas en incubadora). Se esperó el desarrollo de las colonias y a los 13 días se efectuó el conteo.

VI. RESULTADOS

Los resultados presentados en los siguientes cuadros y gráficas son el resumen de los datos que se obtuvieron en el estudio y que sirven de base para la discusión de los mismos.

Cuadro N. 3

VALORES DE RESPUESTA ESTADISTICA, OBTENIDOS EN LOS ANALISIS DE LAS VARIABLES ESTUDIADAS

	EN INVERNADERO			EN LABORATORIO
	FUENTES DE VARIACION	Peso de Nódulos por maceta	Tamaño de Nódulos expresado en % de nódulos grandes	Altura \bar{X} de plantas
FUNGICIDA	** *	N.S.	** *	** *

** = ALTAMENTE SIGNIFICATIVO AL 1% DE PROBABILIDAD

N.S. = NO SIGNIFICATIVO AL 5% DE PROBABILIDAD

VALORES PROMEDIO DE RENDIMIENTO DE PESO DE NODULOS DE
2 PLANTAS POR MACETA, EXPRESADO EN GRAMOS

FUNGICIDA	\bar{X}	* % AUMENTO	** % DISMINUC	DIF.
Diclofluanida	5.99	17.91		A
Metalaxil	5.24	3.15		AB
Testigo	5.08	-----	-----	BC
Chinomethionato	5.06		0.39	BC
P.C.N.B.	4.98		1.97	BC.
Oxicloruro de cobre	4.79		5.71	BCD
Trifenil acetato de estaño.	4.55		10.43	BCD
Cloruro de Mercurio Metaxiletlico.	4.45		12.40	BCD
Benomyl	4.00		21.26	D
Pirasophos	3.11		38.78	E

* Porcentaje de aumento sobre testigo

** Porcentaje de disminución bajo el testigo

Cuadro No. 5

VALORES PROMEDIO DE RENDIMIENTO DE PESO SECO DE 2 PLANTAS POR MACETA EXPRESADO EN GRAMOS.

FUNGICIDA	\bar{X}	*% AUMENTO	** % DISMINUCION	DIF.
Metalaxil	10.62	15.43		A
Diclofluanida	9.98	8.48		A
P.C.N.B.	9.39	2.06		A
Testigo	9.20	-----	-----	A
Oxicloruor de Cobre	8.96		2.61	A
Chinomethionato	8.76		4.78	A
Trifenil acetado de Est.	7.94		13.70	AB
Benomyl	7.50		18.48	AB
Cloruro de Mercurio Metoxietílico	7.34		20.22	AB
Pirasophos	4.64		49.56	B

* Porcentaje de aumento sobre el testigo

** Porcentaje de disminución bajo el testigo

Cuadro No. 6

DATOS DE ALTURA PROMEDIO DE PLANTA POR MACETA EXPRESADO EN CENTIMETROS

FUNGICIDA	\bar{X}	* % AUMENTO	**% DISMINUCION	DIF
Chinomethionato	61.1	9.11		A
Trifenil acetato de Estaño	59.2	5.71		AB
Oxicloruro de cobre	59.0	5.36		AB
Metalaxil	58.8	5.00		AB
Metoxietílico Cloruro de Mercurio	58.5	4.46		AB
Testigo	56.0	----	-----	ABC
Diclofuanida	54.9		1.96	ABCD
Benomyl	53.3		4.82	BCD
Pirasophos	49.4		11.79	CD
P.C.N.B.	47.6		15.00	D

* Porcentaje de aumento sobre el testigo

** Porcentaje de disminución bajo el testigo

Observación: El cuadro que representa al porcentaje de nódulos grandes no se presenta, debido a que no existe diferencia significativa, tal como se manifiesta en el cuadro No. 3

Cuadro No. 7

EFFECTO DE LA DOSIS DE FUNGICIDAS SOBRE EL NUMERO DE RHIZOBIOS / cm^3 DE CALDO NUTRITIVO (MULTIPLICADO $\times 10^5$).

FUNGICIDA	DOSIS PPM	\bar{X} ($\times 10^5$)	* % AUMENTO	** % DISMINUCION	DIF.
Testigo	-----	8,774	-----	-----	A
Oxiocloruro de cobre	5	4995	-----	43.07	B
P.C.N.B.	5	4586	-----	47.73	B
Pirasophos	5	2740	-----	68.77	BC
Oxiocloruro de cobre	10	592	-----	93.25	C
Benomyl	5	167	-----	98.10	C
Benomyl	10	14	-----	99.84	C
Pirasophos	10	5	-----	99.94	C
Chinometeonato	5	2	-----	99.98	C
Trifenil acetato de Estaño	5	0	-----	100.00	C
Trifenil acetato de Estaño	10	0	-----	100.00	C
Metalaxil	5	0	-----	100.00	C
Metalaxil	10	0	-----	100.00	C
P.C.N.B.	10	0	-----	100.00	C
Diclofluanida	5	0	-----	100.00	C
Diclofluanida	10	0	-----	100.00	C
Cloruro de mercurio metoxietílico	10	0	-----	100.00	C
Cloruro de mercurio metocietílico	5	0	-----	100.00	C
Cloruro de mercurio metoxietílico	10	0	-----	100.00	C

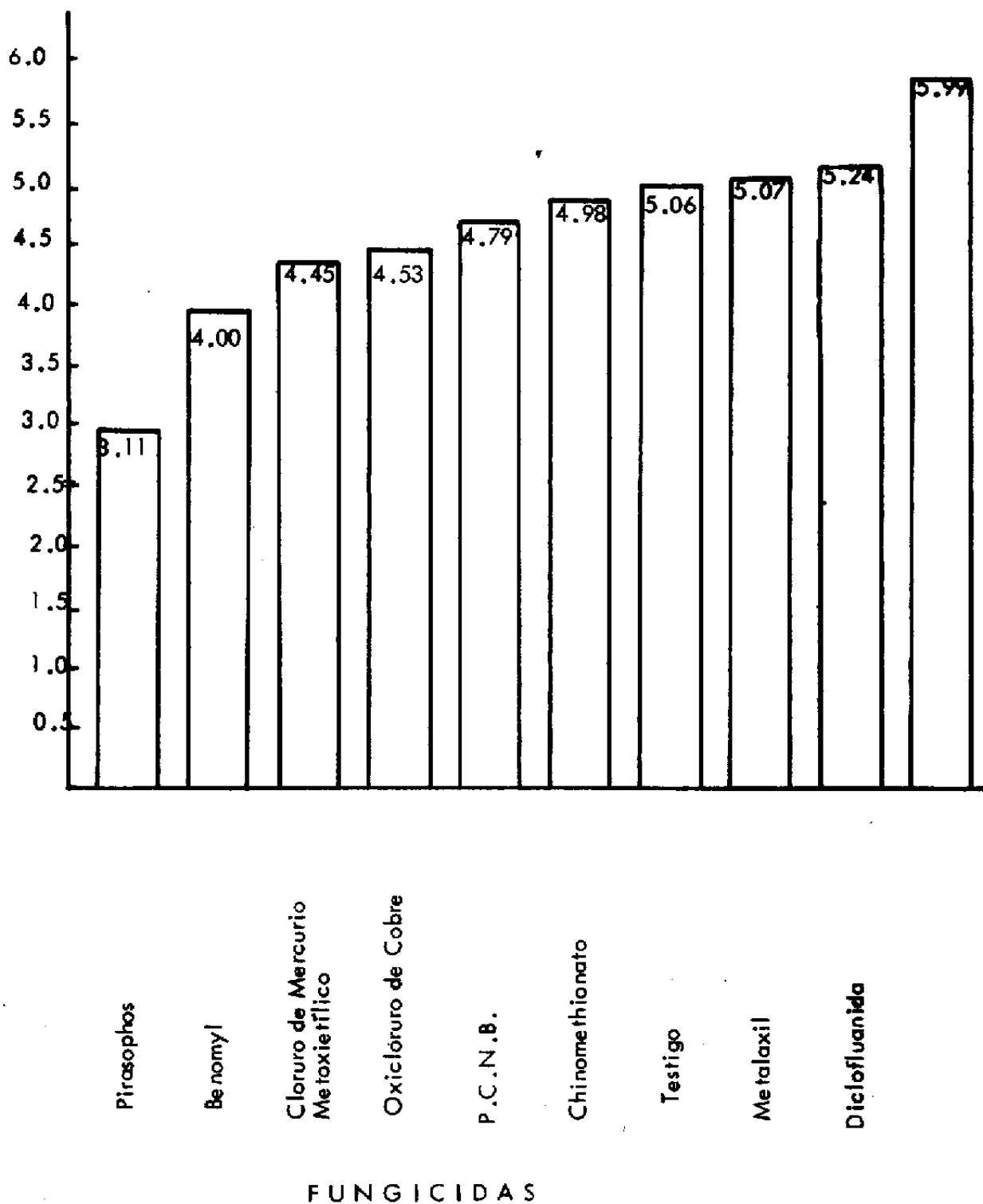
8774 = 100% de la población

* = porcentaje de aumento sobre el testigo

** = porcentaje de disminución bajo el testigo

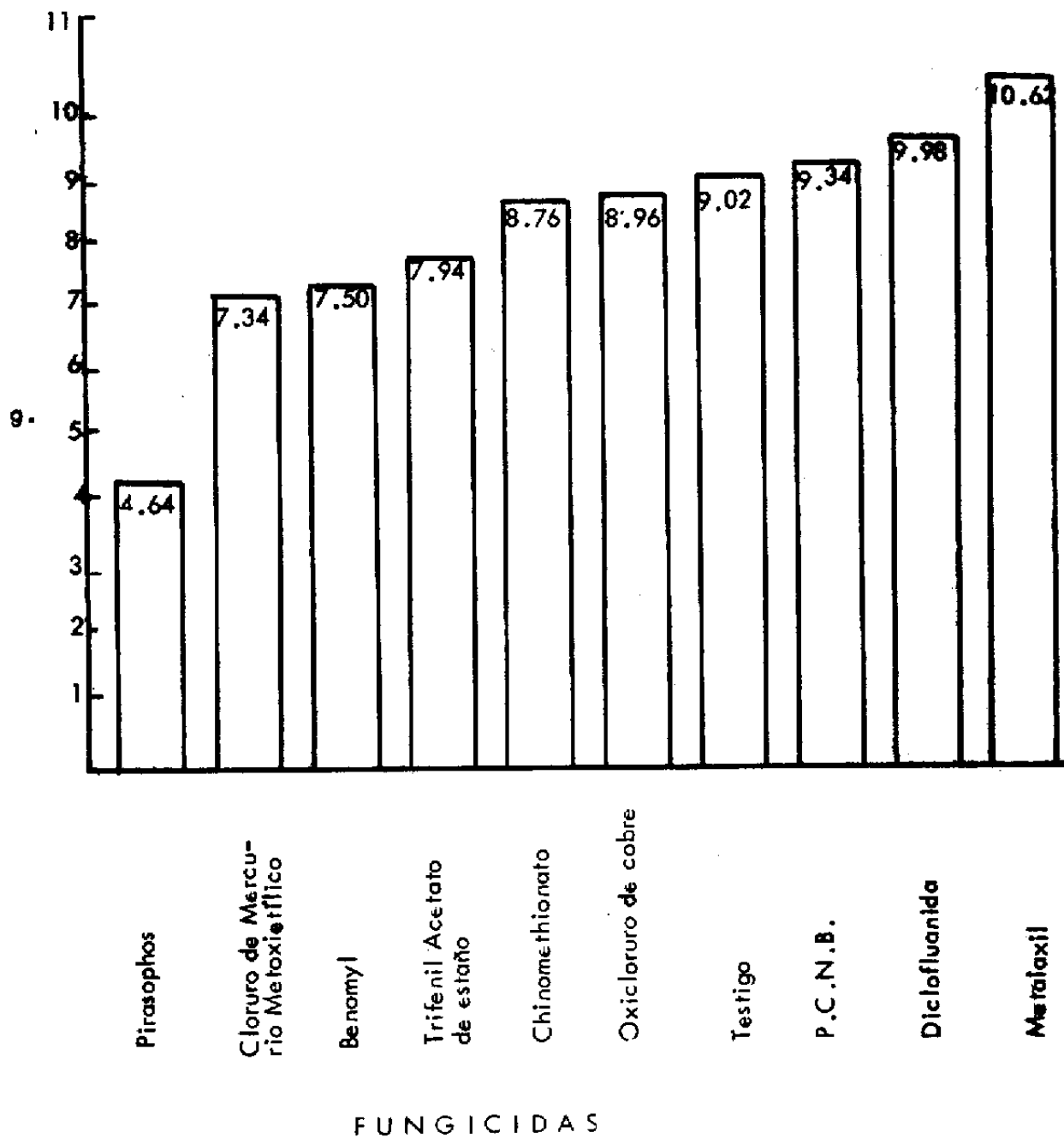
Gráfica No. 1

PESO PROMEDIO DE NODULOS POR DOS PLANTAS



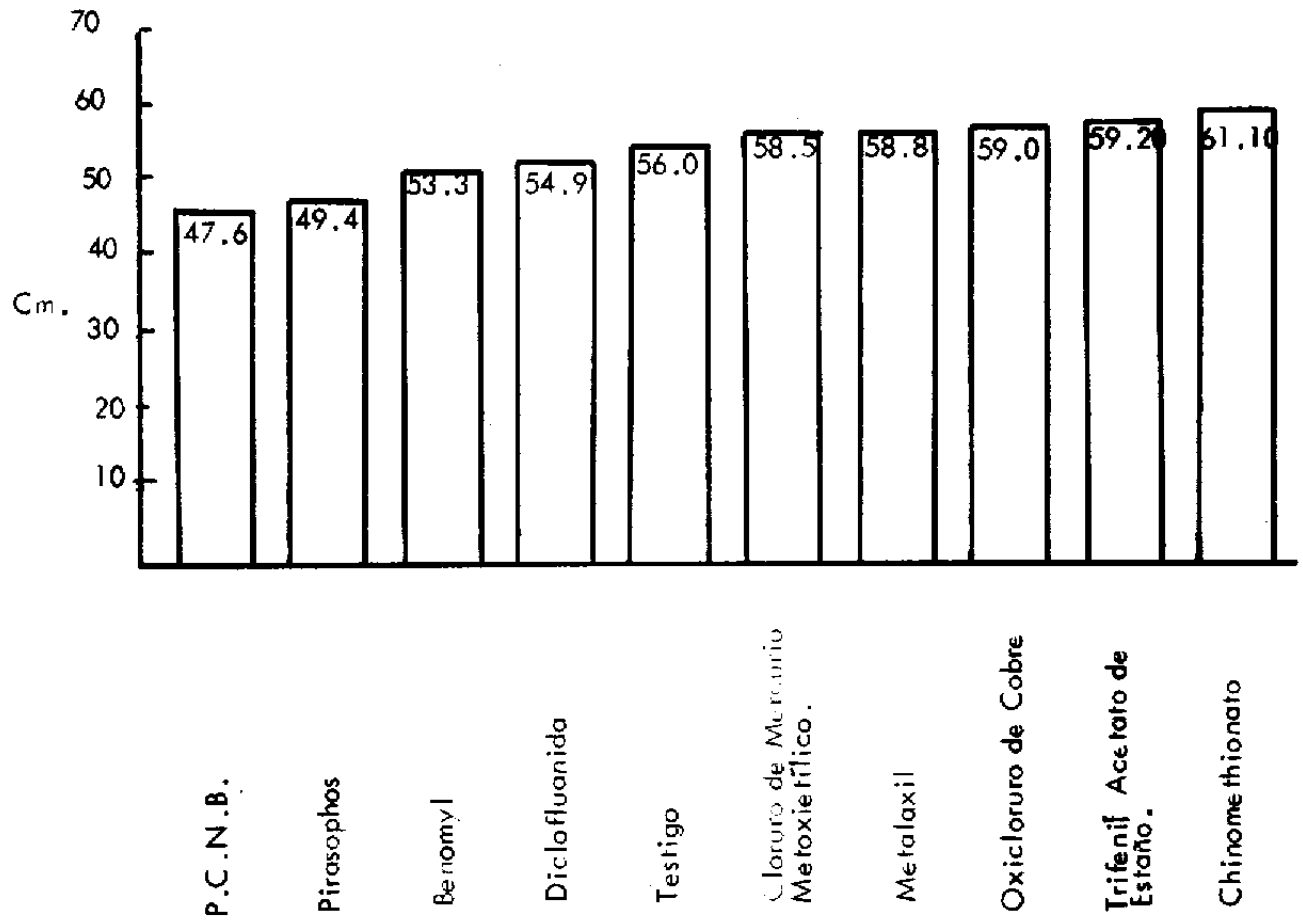
Gráfica No. 2

PESO DE MATERIA SECA DE 2 PLANTAS POR MACETA



Gráfica No. 3

ALTURA PROMEDIO DE 2 PLANTAS POR MACETA



VII DISCUSION DE RESULTADOS

La discusión de resultados se hará partiendo del análisis de aspectos individuales hacia el análisis de aspectos generales de las diferentes variables estudiadas, las cuales son: Peso de materia seca foliar, altura de plantas, peso, número y tamaño de nódulos y número de bacterias/cm³ de caldo nutritivo tratado con fungicidas.

Las primeras cuatro variables, son observaciones de plantas en el invernadero, siendo la última el efecto del fungicida sobre la bacteria creyendo en un medio de cultivo puro tratado con fungicida.

Mediante la observación del cuadro No. 3 se puede tener una información amplia del efecto de los fungicidas sobre el Rhizobium y se puede apreciar en qué variables hubo un efecto significativo y en cuales la aplicación de fungicidas no tuvo significancia. Esta observación nos permite seguir un lineamiento de discusión en forma organizada y sencilla así como nos evita la presentación de cuadros innecesarios en los que no se mostraría ninguna diferencia en los tratamientos.

A. EFECTO DE LOS FUNGICIDAS SOBRE LOS NODULOS:

En lo que respecta al peso de nódulos, éstos mostraron resultados altamente significativos entre tratamientos, lo cual no sucedió con la variable tamaño de nódulos, pues en ésta no existieron diferencias significativas entre tratamientos.

El análisis comparativo de las medias de tratamiento de la variable, peso de nódulos mostrada en el cuadro No. 4, manifestó que el fungicida de acción superficial, Diclofluanida no causa daño a la nodulación ya que la masa nodular fue superior al testigo, lo que hace altamente confiable su uso bajo este punto de vista.

Contrariamente a este fungicida los más dañinos a la nodulación fueron el Benomyl y Pirasophos, ambos sistémicos, los cuales redujeron en más de un 21% el peso nodular.

En los 7 fungicidas restantes no se observaron diferencias estadísticas, con respecto al testigo, y vale la pena mencionar que el fungicida Metalaxil de acción sistémica, fue superior a éste.

Lo observado es importante porque permite inferir, que, la acción sistémica de un fungicida no es razón suficiente para que se disminuya o aumente el pesonodular tal como ocurrió con Diclofluanida que lo aumentó y Benomyl y Pirasophos que lo disminuyó. Lo que implica la necesidad de hacer estudios fisiológicos detenidos, para llegar a determinar los efectos colaterales más minuciosamente.

B. EFECTO DE LOS FUNGICIDAS EN LA PARTE AEREA DE LA PLANTA:

El cuadro No. 3 muestra claramente que las variables: Peso seco de las plantas y altura de las mismas, mostraron diferencias altamente significativas.

El desarrollo de la planta, manifestado en este caso por el peso de las plantas (cuadro No. 5), fue únicamente disminuido ostensiblemente por el fungicida Pirasophos, el resto de fungicidas no mostraron disminuciones notorias a nivel estadístico.

En relación a la altura de plantas (cuadro 6), se encontró una respuesta muy similar al anterior parámetro. En últimos lugares estuvo Pirasophos, acompañado en este caso de P.C.N.B. El efecto de este último fungicida que de ordinario se aplica al suelo causó aparentemente un achaparramiento de las plantas pero el vigor de sus tallos y hojas parece que no disminuyó, dado los rendimientos de masa seca obtenidos.

C. EFECTO DE LAS DOSIS DE FUNGICIDAS SOBRE EL NUMERO DE BACTERIAS/CM³, DE CALDO NUTRITIVO TRATADO:

En la observación del cuadro No. 7, se puede apreciar el efecto que ocasionó el contacto directo de los fungicidas sobre el Rhizobium. Es de hacer notar que existe un efecto negativo, que ocasiona que todos los fungicidas causen disminución o muerte de la población de la bacteria cuando entran en contacto directo con ella. Se observa que la disminución mínima causada fue de 43% con el fungicida oxícloruro de cobre en dosis de 5 PPM, después de éste la mortandad aumentó y llegó a ser total con cualquier dosis y producto de los empleados.

Lo anterior implica la necesidad y cuidados que deben tenerse con los inóculos de Rhizobium, que pudiesen ser contaminados con los fungicidas empleados ya que ninguno garantiza la sobrevivencia de la bacteria en contacto con ellos.

D. ANALISIS GENERAL:

Los resultados observados hacen aceptables para su uso la mayor parte de fungicidas evaluados, pero aquellos que sus resultados estuvieron muy cerca del testigo, es decir un poco abajo de su media o arriba de ésta, tienen mayor garantía de ser utilizados, en el control de varias enfermedades fungales. La visión objetiva de los cuadros que expresan peso de nódulos, peso de plantas y tamaño de las mismas, pero principalmente peso de nódulos y plantas, colocan en primer lugar a los fungicidas Diclofluanida y Metalaxil. La razón no se puede explicar fácilmente y tal como se mencionó en el inciso "A", sería necesario establecer pruebas específicas y orientadas a la fisiología de las plantas y los procesos de transformación química que pudiesen presentar ambos productos.

Para el caso de fungicidas que disminuyen el peso de nódulos y vigor de la planta, como ha sucedido generalmente en Benomyl y Pirasophos, se podría inferir simplemente, la existencia de efectos colaterales negativos sobre la planta, que en sí tienen como efecto clásico la falta de elementos energéticos de la bacteria - en la raíz y en consecuencia la disminución del peso.

También cabría la posibilidad de pensar que el fungicida elabora productos inhibitorios en la rizosfera causando como consecuencias una disminución de su masa.

Ambas teorías sólo pueden ser comprobadas con estudios especiales, tal el caso del efecto observado con Diclofluanida y Metaxil.

En relación a la respuesta de supervivencia de Rhizobium, en contacto directo con los fungicidas y las respuestas observadas en la simbiosis, se puede decir que ambas son totalmente diferentes - y no se pueden relacionar bajo ningún punto de vista de éste experimento.

Bajo el punto de vista práctico, el simple hecho de saber que el huésped es protegido dentro del hospedante de la mayoría de - fungicidas es muy bueno y sólo deberá cuidarse de no aplicar un fungicida tóxico a la planta o de poner los fungicidas en contacto en los inoculantes.

VIII. CONCLUSIONES

- A. El análisis comparativo de las medias de tratamiento de la variable, peso de nódulos, manifestó que el fungicida de acción superficial Diclofluani-
da no causa daño a la nodulación ya que la masa nodular fue superior al
testigo, lo que hace altamente confiable su uso.
- B. Los fungicidas Pirasophos y Benomyl de acción sistemática se considera, son
los más dañinos a la nodulación ya que redujeron en más de 21% el peso no-
dular de la planta.
- C. El desarrollo vegetativo de la planta, sólo se vió afectado por el fungicida Pi-
rasophos y P. C. N. B. ya que uno causó disminución de peso seco y otro dis-
minución de altura.
- D. La viabilidad de la bacteria en medio de cultivo puro, se ve afectada por
todos los fungicidas con las dosis empleadas.

IX. RECOMENDACIONES

- A. Realizar ensayos similares a éste, probando otras leguminosas de importancia económica y alimentaria para el país.
- B. Utilizar los fungicidas cuyos resultados estuvieron muy cerca del testigo, es decir un poco abajo de su media ó arriba de ésta, con mayor confiabilidad.
- C. Comprobar éste experimento en condiciones de campo, para corroborar los resultados obtenidos en el presente trabajo.
- D. Tener suficiente cuidado con los inóculos de Rhizobium que pudiesen ser contaminados con los fungicidas empleados ya que ninguno garantiza la sobrevivencia de la bacteria en contacto directo con ellos.

X. BIBLIOGRAFIA

1. AGUILERA, R. Curso de microbiología. Guatemala, Universidad de San Carlos. Facultad de Agronomía, 1981. p. 12
2. AMADO DE ZEISSING, J. A. Investigaciones de insecticidas residuales en la fauna marina. Guatemala, Editorial Universitaria, 1973. (Colección Monografías, v.3)
3. BAYER DE GUATEMALA. Euparen 50 wp, Cupravit Forte 85 wp, Agallol 03 wp. Guatemala, 1983-84. Hojas despegables.
4. BOOGES, A. CH. Principios básicos de bacteriología. S.n.t. s.p.
5. BO, L.M. DEL. EL ABC de la agricultura. Barcelona, De Vecchi, 1976. pp. 51-53
6. CIBA GEIGY DE GUATEMALA. Metalaxil Mz 58. Guatemala, 1984. Hojas despegables.
7. DUPONT DE GUATEMALA. Benlate 50%. Guatemala, 1984. Hoja despegable.
8. GODOY HELGUERO, C. E. Efecto de cinco insecticidas sistémicos sobre la viabilidad del Rhizobium japonicum y el desarrollo nodular en plantas de soya (Glicine max). Tesis Ing. Agr. Guatemala, Universidad de San Carlos, Facultad de Agronomía, 1984. pp. 6-10.
9. GRAHAM, P. H. Problemas de la nodulación y fijación de nitrógeno en la simbiosis, Rhizobium-Phaseolus vulgaris. Cali, Colombia, CIAT, s.f. pp. 11-12.
10. _____ Programa de frijol. Cali, Colombia, CIAT, 1980. s.p.
11. KOLLING, J. Avaliação de nodulação em leguminosas. Porto Alegre, Brasil, Secretaría de Agricultura, 1980. 7p.
12. _____ Efeito de fatores não biológicos a nodulação e fixação do N₂. Porto Alegre, Brasil, Secretaría de Agricultura, Instituto de Pesquisas Agronômicas. s.f. p. 9

13. LEGUME RHIZOBIUM. Curso sobre rhizobium. Brasil, Nardi y Niftal, 1980. 100 p.
14. MORALES, V.M. y HUBBELL, D.H. Avances recientes en estudios del proceso de infección de las leguminosas por el rhizobium. México, 1978. p.2.
15. OROZCO, S.H. Manejo del cultivo de la soya. Guatemala, s.e. s.f. p.34.
16. PARKINSON, D. Microorganismos y raíces. s.n.t. p. 230.
17. PELCZAR, M.H. y REID, R.D. Microbiología. México, Mc Graw Hill, 1966. pp. 571-572.
18. QUIMICA HOECHST DE GUATEMALA. Afugan 30 C.E., Trifenil acetato de estaño 60, Brassicol 75. Guatemala, 1984. 2p.
19. VIDOR, C. Estudios ecológicos do rhizobium no solo curso rápido sobre tecnología de Rhizobium. Porto Alegre, Brasil, Centro de Recursos Microbiológicos, 1979. p. 1.
20. VICENT, J.M. Manual práctico de rhizobiología. Buenos Aires, AID, 1975. 325 p.

60 30
Ora Ramirez S



XI. APENDICE

Cuadro No. 1

Resultados obtenidos para Peso de Nódulos por Maceta con 2 plantas expresado en gramos.

FUNGICIDA APLICADO	REPETICION					MEDIA
	I	II	III	IV	V	
Metalaxil Mz 58	4.6962	5.2297	4.9611	5.6490	5.6827	5.24374
Trifenil Acetato de Estaño 60%	4.1466	3.4992	4.1752	5.1929	5.7522	4.55448
P. C. N. B. 75%	5.2002	4.5800	5.3421	4.7641	4.9951	4.9763
Pirasophos 30 CE	4.4939	1.8232	3.8240	2.6213	2.7928	3.11104
Oxixloruro de Cobre 85%	3.5953	4.2605	4.7689	5.3473	5.9615	4.7867
Chinomethionato 25%	4.5612	4.1331	6.0775	5.4911	5.03319	5.059218
Diclofuanida 50%	6.1579	5.9289	6.7646	5.7690	5.3218	5.98844
Cloruro de Mercurio Metioxiéfilico 3%	5.0155	4.5702	3.3994	4.9774	4.3107	4.4564
Benomyl 50%	3.9421	3.4809	3.1931	3.7003	5.6384	3.990996
Testigo	6.4106	6.0572	4.6962	3.7596	4.4565	5.07602

*Dosis Comercial (ver en materiales y métodos, cuadro de tratamientos para invernaderos)

Cuadro No. 2

Resultados obtenidos para tamaño de Nódulos por Maceta, expresado en % de Nódulos Grandes

FUNGICIDA APLICADO	REPETICION					MEDIA
	I	II	III	IV	V	
Metalaxil Mz 58	42.86	86	31.75	95.65	21.25	55.502
Trifenil Acetato de Estaño 60%	47.62	57.14	72.92	36.99	95.83	62.1
P. C. N. B. 75%	90	14.66	4.88	9.23	23.91	28.536
Pirasophos 30CF	23.68	12.5	43.55	40	93.55	42.656
Oxicloruro de Cobre 85%	38.46	7.37	19.67	65.38	82.89	42.754
Chinomethionato 25%	95.24	37.31	72.94	84.31	65.22	71.004
Diclofuanida 50%	60.42	32.41	44.44	28.57	54.55	44.078
Cloruro de Mercurio Met oxietílico 3%	80	47.76	69.05	85.71	91.89	74.882
Benomyl 50%	58.97	14.73	14.42	37.77	78.38	40.854
Testigo	49.45	75.41	43.37	19.61	62.30	50.028

*Dosis Comercial (ver en materiales y métodos, cuadro de tratamientos para invernaderos)

Resultados obtenidos para altura promedio por maceta con 2 plantas, expresado en Centímetros.

FUNGICIDA APLICADO	REPETICION					MEDIO
	I	II	III	IV	V	
Metalaxil Mz 58	56	55.5	64	60.5	58	58.8
Trifenil Acetato de Estaño 60%	60.5	56.5	57	58.5	63.5	59.2
P. C. N. B. 75%	53.3	52	45	44.5	43	47.6
Pirasophos 30 CE	59	36	54.5	43.5	54	49.4
Oxícloruro de cobre 85%	56.5	54	62.5	63	59	59
Chinomethionato 25%	56.5	62.5	57.5	69.5	59.5	61.1
Diclofuanida 50%	51.1	55	56.5	54	57.5	58.5
Cloruro de mercurio met'oxietílico 3%	62.5	57	58.5	57.5	57	58.5
Benomyl 50%	57.5	49	52	57.5	50.5	53.3
Testigo	50	57	59	61	53	56

*Dosis Comercial (ver en materiales y métodos, cuadro de tratamientos para invernadero.

Cuadro No. 4.

Resultados obtenidos para peso seco por macetas con 2 plantas expresado en gramos.

FUNGICIDA APLICADO *	REPETICION					MEDIA
	I	II	III	IV	V	
Metalaxil Mz 58	8.7	9.2	11.4	11.4	12.4	10.62
Trifemil acetato de Estaño 60%	7.5	7.1	7.7	8.3	9.1	7.94
P.C.N.B. 75%	12.3	10.0	8.0	8.1	8.3	9.34
Pirasophos 30 CE.	6.5	3.0	5.6	4.5	3.6	4.64
Oxicloruro de Cobre 85%	6.5	6.5	8.9	10.8	12.1	8.96
Chinomethionato 25%	12.0	5.5	9.8	11.2	5.3	8.76
Diclofuanida 50%	10.9	10.7	11.2	10.0	7.1	9.98
Cloruro de Mercurio Met oxietilico 3%	7.5	7.2	7.5	6.5	8.0	7.34
Benomyl 50%	8.4	6.6	6.4	6.2	9.9	7.5
Testigo	8.0	10.3	10.5	10.1	7.1	9.2

*Dosis Comercial (Ver en materiales y métodos, cuadro de tratamientos para invernaderos)

Cuadro No. 5 ANALISIS DE VARIANZA INCLUYENDO AL TESTIGO

Peso de Nódulos

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	Fc.
Tratamientos	9	27.065	3.007	20**
Error	40	6.020	0.150	
Total	49	33.085		

Cuadro No. 6

Tamaño de los Nódulos expresado en porcentaje de Nódulos Grandes.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	Fc.
Tratamientos	9	9536.21	1059.579	1.7166 N.S.
Error	40	24708.8	617.72	
Total	49	34245.01		

Cuadro No. 7

Altura Promedio de Pjantas/maceta

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	Fc.
Tratamientos	9	925.32	102.813	7.76**
Error	40	529.9	13.247	
Total	49	1455.22		

** =Significativo al 1% de Probabilidad.

N.S.=No significativo

Cuadro No. 8 ANALISIS DE VARIANZA INCLUYENDO AL TESTIGO

Peso de Materia Seca Foliar

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	Fc.
Tratamientos	9	128.333	14.26	4.74 **
Error	40	120.298	3.01	
Total	49	248.631		

CUADRO No. 9

DETALLE POR TRATAMIENTO, DILUCION Y REPETICION DE LA SOBREVIVENCIA DE *Rhizobium/cm³* DE CALDO NUTRITIVO

FUNGICIDA	Dosis en PPM	REPETICION Y DILUCION EMPLEADA										Med. de Rept.			X̄				
		I		II			III			I	II	III	Gral.						
		1X10 ⁵	1X10 ⁶	1X10 ⁷	1X10 ⁵	1X10 ⁶	1X10 ⁷	1X10 ⁵	1X10 ⁶	1X10 ⁷	1X10 ⁵	1X10 ⁶		1X10 ⁷					
Trifenil acetato de estaño	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	---
	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	---
Metalaxil	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	---
	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	---
P.C.N.B.	5	X	672	X	4032	152	X	4046	448	X	4263	2776	4586						
	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	---						
Pirasohos	5	4788	X	X	1245	X	X	2187	X	X	2187	1245	2740						
	10	6	0	0	4	0	0	6	0	0	6	4	5						
Oxicloruro de Cobre	5	X	720	12	X	X	17	X	547	X	3685	1700	4995						
	10	297	20	10	302	98	8	290	36	11	499	694	592						
Diclofluánida	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0						
	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0						
Chinomethionato	5	1	0	0	3	0	0	3	0	0	1	3	2						
	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0						
Cloruro de mercurio Metoxietílico	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0						
	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0						
Benomyl	5	X	20	0	X	15	0	X	15	0	X	150	167						
	10	10	0	0	8	0	0	24	0	0	10	8	14						
Testigo	Unico	9191	X	128	6615	X	90	6538	802	80	7510	7808	8774						

X= Cajas que se contaminaron

ANALISIS DE VARIANZA INCLUYENDO AL TESTIGO

Cuadro No. 10

NUMERO DE COLONIAS DE RHIZOBIUM/CM³ DE CALDO NUTRITIVO

F.V.	G.L.	S. C.	C. M.	Fc.
Tratamientos	18	3.170164×10^8	17612022	12**
Error	38	55915080	1471449.4	
Total	56	3.72273148×10^8		

** = SIGNIFICATIVO AL 1% DE PROBABILIDAD

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA



FACULTAD DE AGRONOMIA

Ciudad Universitaria, Zona 12.

Aparato Postal No. 1946

GUATEMALA, CENTRO AMERICA

Referencia

Asunto

"IMPRIMASE"

ING. AGR. CESAR A. CASTAÑEDA S.
DECANO

