

EVALUACIÓN *IN VITRO* DE TRES FUNGICIDAS Y TRES EXTRACTOS VEGETALES SOBRE EL CRECIMIENTO MICELIAL Y LA FORMACIÓN DE ESCLEROCIOS DE *RHIZOCTONIA SOLANI*

EVALUATION *IN VITRO* OF THREE FUNGICIDAS AND THREE VEGETAL EXTRACTS ON THE GROWTH MICELIAL AND THE TRAINING OF ESCLEROCIOS OF *RHIZOCTONIA SOLANI*

Yadira Flores¹, Alfredo Pacheco² y Isaac Mújica²

(1)Fundación La Salle de Ciencias Naturales Campus Cojedes. San Carlos, estado Cojedes.

Yaflo17@hotmail.com. Tlf. 0416 2347762.

(2)Universidad Nacional Experimental de los Llanos Occidentales "Ezequiel Zamora".

Vicerrectorado de Producción Agrícola, Guanare, estado Portuguesa.

Recibido: 15-03-2011 / Aceptado: 23-04-2011

RESUMEN

La investigación se llevo a cabo con el propósito de evaluar *In Vitro* tres fungicidas y tres extractos vegetales sobre el crecimiento micelial y la formación de esclerocios de *Rhizoctonia solani*. Se realizaron pruebas de efectividad para los fungicidas. Se utilizaron extractos de Mastranto (*Mentha rotundifolia*), Merey (*Anacardium occidentale*) y jengibre (*Zingiber officinale*). En el caso de los fungicidas se utilizó 1 gramo del ingrediente activo del producto y para los extractos se evaluaron en dosis de 3 ml. El diseño estadístico fue completamente aleatorizado con 7 tratamientos y 10 repeticiones, realizando las evaluaciones cada 24 horas para el crecimiento de la colonia y se contaron los esclerocios a los 7 y 15 días. Existen diferencias altamente significativas entre los tratamientos, donde los tres fungicidas ejercieron un control sobre el crecimiento micelial proveniente de esclerocios; pero el Indar 2 Of no controló el crecimiento del hongo y la formación de esclerocios provenientes de micelio; el mastranto y el merey no inhibieron el crecimiento micelial ni la formación de esclerocios en ninguno de los dos casos, al contrario del jengibre que controló efectivamente, ya que inhibió tanto el crecimiento micelial como la formación de esclerocios en ambos casos.

Palabras clave: Fungicida, control preventivo, *Rhizoctonia solanis kühn*, patógeno, extracto.

SUMMARY

The investigation was carried out in order to evaluate test-tube three vegetal fungicides and three extracts on the micelial growth and the formation of esclerocios of *Rhizoctonia solani*. Tests of effectiveness for fungicides were done. Mastranto (*Mentha rotundifolia*), Merey were used (*Anacardium occidentale*) and ginger (*Zingiber officinale*) extracts werw used. In the for fungicides 1 gram of the active ingredient of the product was used and for the extracts they were evaluated in 3 ml dose. The statistical design completely was randomized with 7 treatments and 10 repetitions, realising the evaluations every 24 hours for the growth of the colony and told the esclerocios to the 7 and 15 days. highly significant differences between the treatments exist, where the three fungicides exerted a control on the originating micelial growth of esclerocios; but Indar 2 Of did not control the growth of the fungus and the formation of originating esclerocios of mycelium; mastranto and the merey neither did not inhibit the micelial growth nor the formation of esclerocios in cases, unlike ginger that I control indeed, since the micelial growth as the formation of esclerocios in both cases inhibited so much.

Key words: Fungicide, preventive control, *Rhizoctonia solanis kühn*, pathogen, extract.

INTRODUCCIÓN

El patógeno *Rhizoctonia solani*, estado anamorfo de *Thanatephorus cucumeris* (A. B. Frank) Donk., perteneciente al grupo de anastomosis AG1-IA (Webster y Gunnell, 1992; Nass *et al.* 1995), se considera una grave amenaza en la producción eficiente y económica de maíz, ya que vive en forma saprofítica, posee gran capacidad de sobrevivencia mediante los esclerocios y ataca una amplia gama de hospederos cultivados y malezas (Damicone *et al.*, 1993; Webster y Gunnell, 1992). Unido a estas características, el progreso de la enfermedad denominada mancha bandeada del maíz, rizoctonia o rizoctoniosis es favorecido en plantaciones en condiciones de humedad y temperatura altas.

Rhizoctonia solani fue identificado causando daños en maíz por primera vez en el estado Portuguesa (Nass *et al.*, 1996), (citados por Rodríguez *et al.*, 1999) y en menos de seis años se ha constituido en un problema grave, desde el punto de vista de presentarse pérdidas por el orden del 75% y hasta más, dependiendo de su incidencia y severidad.

La manera como comúnmente se combaten tales pérdidas ocasionadas por los organismos fitopatógenos, es a través del uso de compuestos químicos (control químico), los cuales se caracterizan por tener una elevada eficacia y una gran rapidez en el control, pero también por su falta de especificidad eliminan organismos benéficos junto con los fitopatógenos, además causan contaminación ambiental y riesgos sobre la salud humana (Rey *et al.*, 2000).

Este problema ha ganado la atención de investigadores en diferentes áreas del cultivo, así como también de los productores, quienes demandan una respuesta rápida para superarlo, llegando incluso a considerarse potencialmente más importante que las limitantes abióticas y de manejo agronómico, por la dificultad en encontrar a corto plazo medidas culturales, controles químicos o resistencia genética para combatir el patógeno (Cabrera y García, 2000).

En virtud de esta situación se ha trabajado en la búsqueda de otras alternativas para el control de estos hongos en el campo, como el control biológico, cuya principal propiedad es la estabilidad ecológica. Este medio ofrece grandes perspectivas para minimizar el efecto de las enfermedades en la producción agrícola, sin agudizar los problemas de contaminación ambien-

tal que amenazan el balance ecológico en el presente y en el futuro inmediato. Por lo que se ha dado cada vez más importancia a los extractos de plantas como controladores, con el fin de dar nuevas alternativas, teniendo en cuenta los sistemas de defensas de las plantas, con la ventaja de ser biodegradables y contribuyendo además, a preservar el medio ambiente y la biodiversidad (Flores *et al.*, 2.006).

El uso de agentes biológicos es una estrategia promisorio para el control de enfermedades foliares y de patógenos que viven en el suelo, representando además una práctica compatible con los principios de manejo de sistemas agrícolas sustentables (Lo, 1998); es por ello que el presente trabajo tiene como objetivo general evaluar *In Vitro* tres fungicidas y tres extractos de plantas sobre el crecimiento de micelio y la formación de esclerocios de *Rhizoctonia solanis* kühn, aislado de maíz (*Zea mays*).

MATERIALES Y MÉTODOS

Prueba de efectividad para los fungicidas: Para los fungicidas se utilizó la técnica de Palazón (1983), (citado por Flores *et al.*, 2006). Se esterilizaron (autoclave durante 30 min a 15 lbs y 121 °C) tubos de ensayo con 15 ml del medio de cultivo artificial Papa-Agar-Dextrosa (PDA), colocándolos en baño de maría a 45 °C para mantenerlos en estado líquido y poder mezclar el fungicida a razón de 1 ml por tubo, se agitó y dispensó en cajas Petri. Una vez solidificado el medio se sembraron esclerocios y la colonia del hongo bajo estudio. Los productos químicos utilizados fueron: Onix S.C. (Carbendazin + Propiconazole), Straik 250 E.C. (Difenolnazole + Propilnazole) e Indar 2 of. S.C. (Fenbucanazole).

Prueba de efectividad para los extractos: Para preparar los extractos se utilizó la metodología propuesta por Guevara *et al.* (1999). Luego se tomaron 15 ml de PDA y se colocaron en tubos de ensayos esterilizados a los cuales se les agregó 3 ml de extracto de plantas, se taparon y mantuvieron en baño María a 45 °C, agitándolos suavemente para obtener la homogenización del PDA con los extractos vegetales, inmediatamente se dispensaron en capsulas de petri, una vez solidificado el medio se sembraron las colonias y esclerocios de *R. solani*.

Recopilación de datos: La medición del crecimiento del micelio se realizó con una regla graduada,

cada 24 horas, durante 3 días. Para determinar la formación de estructuras de reproducción (Esclerocios), se contaron a los 7 y 15 días respectivamente.

Diseño experimental: Se utilizó un diseño experimental completamente aleatorizado con 7 tratamientos para micelio y 7 para esclerocios y 10 repeticiones.

T1= testigo proveniente de micelio de *Rhizoctonia solani* Kühn

T2= Micelio de *Rhizoctonia solani* Kühn + 3 ml. de extracto de jengibre

T3= Micelio de *Rhizoctonia solani* Kühn + 3 ml. de extracto de mastranto

T4= Micelio de *Rhizoctonia solani* Kühn + 3 ml. de extracto de Merey

T5= Micelio de *Rhizoctonia solani* Kühn + 1 gr. Onix S.C.

T6= Micelio de *Rhizoctonia solani* Kühn + 1 gr. Straik 250 E.C.

T7= Micelio de *Rhizoctonia solani* Kühn + 1 gr. Indar 2 of S.C.

Pruebas estadísticas: Se realizó un análisis estadístico no paramétrico Kruskal-Wallis y la prueba de comparación de medias de rango MDS. Se utilizó el paquete estadístico Statistix 7.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Pruebas de efectividad para el crecimiento de micelio proveniente de esclerocios de *Rhizoctonia solani*.

En la cuadro 1 se observa que existen diferencias significativas entre los tratamientos durante los tres días de observación para el crecimiento micelial proveniente de esclerocios de *Rhizoctonia solani*.

Cuadro 1. Resumen de ANDEVA (Kruskal-Wallis) para crecimiento de micelio de *Rhizoctonia solani* khün; proveniente de esclerocios.

F de V	Valor de "F" y significación		
	Día 1	Día 2	Día 3
Trat: 6	63,3*	64.1 *	62.7*
Error 63			
Total 69			

ns= 95%

En la prueba de MDS de Rango (cuadro 2) se observa que los tratamientos con Jengibre, onix, indar

2 of y strike 250 inhibieron totalmente el crecimiento micelial durante los 3 días del ensayo, lo contrario ocurrió con los extractos de merey y mastranto quienes permitieron el crecimiento del micelio y se comportaron igual que el testigo. Esto se puede evidenciar en la figura 1.

Cuadro 2. Prueba de MDS de Rango para el crecimiento micelial de *Rhizoctonia solani* proveniente de esclerocios, sometida a 7 tratamientos durante 3 días

	Valor de "F" y significación		
	Día 1	Día 2	Día 3
T1 (Testigo)	61	59,6	55,5
T2 (jengibre)	20,5	20,5	20,5
T3 (Mastra)	53	57,5	50
T4 (Merey)	52,5	49,4	53
T5 (Onix)	20,5	20,5	20,5
T6 (Straik)	20,5	20,5	20,5
T7 (Indar)	20,5	20,5	20,5

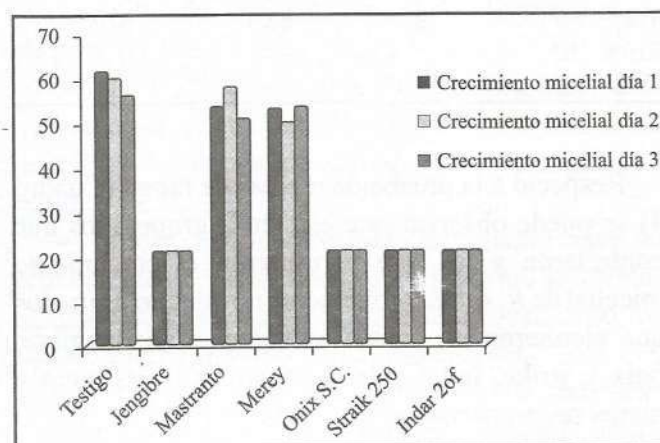


Figura 1. Crecimiento micelial proveniente de esclerocios de *Rhizoctonia solani*

Los resultados obtenidos en esta investigación concuerdan con los logrados por Rodríguez y Sanabria (2005), quienes probaron el extracto de dos genotipos de jengibre sobre el crecimiento del micelio de *R. solani*, resultando una inhibición total por parte del jengibre criollo para el día 3.

Referente a los fungicidas, Puente y Mejías (2003), evaluaron en campo al strike 250 para el control de *R. solani* en maíz reduciendo la incidencia de la enfermedad, prolongándose la efectividad hasta 45 días después de la aplicación, coincidiendo estos resultados con los obtenidos en la presente investigación donde este producto ejerció un control absoluto sobre el crecimiento micelial del hongo.

Otro fungicida promisorio fue onix SC, quien inhibió eficientemente el crecimiento del hongo. Resultados similares obtuvieron Muñoz *et al.* (2001) al probar este producto a nivel de siembras de maíz, donde el producto controló eficientemente al patógeno.

Pruebas de efectividad para el crecimiento de micelio proveniente de micelio de *Rhizoctonia solani*.

En el cuadro 3 se observa que estadísticamente existen diferencias significativas entre los tratamientos.

Cuadro 3. Resumen de ANDEVA (Kruskal-Wallis) para crecimiento de micelio de *Rhizoctonia solani* proveniente de micelio

F de V	Valor de "F" y significación		
	Día 1	Día 2	Día 3
Trat: 6	58,5*	62,3 *	62.8*
Error 63			
Total 69			

ns= 95%

Respecto a la prueba de medias de rango (Cuadro 4) se puede observar que existen 2 grupos, los que controlaron y los que permitieron el crecimiento micelial de *R. solani* proveniente de micelio. Entre los que ejercieron un control efectivo están; jengibre, ónix y strike. Indar y los extractos de mastranto y merey se comportaron igual al testigo.

Cuadro 4. Prueba de MDS de Rango para el crecimiento micelial de *Rhizoctonia solani*, proveniente de micelio sometida a 7 tratamientos observados durante 3 días.

	Valor de "F" y significación			
	Día 1	Día 2	Día 3	Grupos Homogéneos
T1	59,4	59,4	58,9	I
T7	50	50	56	I
T3	48,65	48,65	47,2	I
T4	43,95	43,9	35,9	I
T2	15	15	15	II
T5	15	15	15	II
T6	15	15	15	II

Estos resultados son similares a los obtenidos anteriormente (cuadro 2), salvo Indar 2 of, quien no controló el crecimiento micelial proveniente del micelio. Por lo cual este producto no se pudiera considerar dentro de un paquete de manejo integrado

del cultivo, debido a que *R. solani* es un hongo que produce estructuras de reproducción y resistencia que le permite vivir bajo condiciones adversas y se forman a partir del micelio, por lo tanto al no controlarse el crecimiento del micelio se forman los esclerocios.

Pruebas de efectividad para la formación de esclerocios proveniente de esclerocios de *Rhizoctonia solani*.

De los tratamientos evaluados los fungicidas Indar, Strike y Onix controlaron la formación de esclerocios al igual que el extracto de jengibre. El extracto de mastranto se comportó igual al testigo permitiendo la formación de esclerocios. El merey permitió la formación de esclerocios en menor cantidad que los 2 tratamientos antes mencionados (cuadro 5).

Cuadro 5. Prueba de MDS de Rango para la formación de esclerocios de *Rhizoctonia solani*, proveniente de esclerocios, observados a los 7 y 15 días.

Tratamientos	Día 7	Día 15
T1 (Testigo)	57,2	56,2
T7 (Indar 2of)	24,5	23,5
T3 (Mastranto)	57,2	58,4
T4 (Merey)	35,8	40,0
T5 (Onix S.C.)	24,5	23,5
T6 (Straik 250)	24,5	23,5
T2 (jengibre)	24,5	23,5

El merey permitió la formación de esclerocios provenientes de esclerocios menor a los 7 días, aumentando a los 15 días (Cuadro 6). Lo que no ocurrió con el extracto de mastranto en el cual crecieron 90 % de los esclerocios para los 7 primeros días de evaluación.

Referente a los fungicidas ónix, straik e indar inhibieron completamente el crecimiento de esclerocios cuando provenían de micelio. El único de los extractos que resultó efectivo fue jengibre inhibiendo la formación de estructuras de reproducción.

Cuadro 6. Porcentaje de formación de esclerocios provenientes de esclerocio, para los 7 tratamientos contados a los 7 y 15 días.

Tratamientos	Día 7	Día 15
T1 (Testigo)	80	90
T2 (jengibre)	0	0
T3 (Mastranto)	90	90
T4 (Merey)	30	50
T5 (Onix S.C.)	0	0
T6 (Straik 250)	0	0
T7 (Indar 2of)	0	0

Pruebas de efectividad para la formación de esclerocios proveniente de micelio de *Rhizoctonia solani*

En el cuadro 7, se puede observar que los tratamientos con jengibre, ónix y strike inhibieron la formación de esclerocios provenientes de micelio, los extractos de merey y mastranto y el fungicida Indar permitieron el crecimiento y formación de esclerocios.

Cuadro 7. Prueba de MDS de Rango para la formación de esclerocios de *Rhizoctonia solani*, provenientes de micelio, observados a los 7 y 15 días

	Día 7	Día 15
T1	63,8	61,7
T2	20,0	20,0
T3	52,6	52,8
T4	47,0	40,0
T5	20,0	20,0
T6	20,0	20,0
T7	25,1	26,6

En el cuadro 8, se puede visualizar en términos de porcentaje, que los tratamientos T1, T3 y T4 y T7; formaron gran cantidad de esclerocios más del 90%, demostrando que el tratamiento T2 (Jengibre), controló eficazmente a *R. solani*. Indar 2of controló parcialmente el hongo e incluso no inhibió el crecimiento de esclerocios.

Cuadro 8. Porcentaje de la formación de esclerocios provenientes de micelio, para los 7 tratamientos contados a los 7 y 15 días.

Tratamientos	Día 7	Día 15
T1 (Testigo)	100	100
T2 (jengibre)	0	0
T3 (Mastranto)	90	90
T4 (Merey)	90	100
T5 (Onix S.C.)	0	0
T6 (Straik 250)	0	0
T7 (Indar 2of)	20	30

CONCLUSIONES

- Los extractos de mastranto y merey, tuvieron un comportamiento igual al testigo permitiendo el crecimiento micelial y formación de esclerocios.

- El extracto de jengibre fue el más promisorio para el control de *R. solani*, ya que inhibió tanto el crecimiento del micelio como la formación de esclerocios

- Los fungicidas Onix S.C. y el Straik 250 E.C. mostraron un control en la inhibición del crecimiento micelial y formación de esclerocios del patógeno en estudio.

- Indar 2 of, controló el crecimiento micelial proveniente de esclerocios, pero permitió la formación de colonias del hongo proveniente de micelio, así como también la formación de esclerocios.

- A pesar de existir en Venezuela una gran cantidad de especies de plantas, los estudios orientados a detectar y entender los efectos de sustancias, sobre los hongos, son escasos.

RECOMENDACIONES

- Seguir evaluando las potencialidades del Jengibre en el control se *R. solani* y otros hongos fitopatógenos.

- Evaluar dosis de los fungicidas que resultaron promisorios, a fin de determinar la más efectiva contra el patógeno.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Cabrera, S., P. García. 2000. *Efecto de la mancha bandeada (Rhizoctonia solani Kühn) en siembras comerciales de maíz*. Revista UNELLEZ de Ciencia y Tecnología. (20):28-43.
- Damicone, J., M. Patel y W. Moore. 1993. *Density of sclerotia of Rhizoctonia solani and incidence of sheath blight in rice fields in Mississippi*. Plant Disease (77):257-260.
- Flores, Yadira, Mujica, Yinny y Rondon, Amado. 2006 *Evaluación in vitro de tres controladores del hongo Sclerotium rolfsii*. Memoria. vol.66, no.166.
- Guevara, Y., Maseli, A. y Sánchez, M.1999. *Uso potencial de extractos de plantas para el control de bacterias pertenecientes a los géneros Erwinia y pseudomonas*. Fonaiap, Resúmenes de los trabajos presentados en el XVI congreso venezolano de Fitopatología. [online]: <http://avepagro.org.ve/fitopato/index.php>
- Lo. C.T. 1998. General mechanisms of action of microbial biocontrol agents. Plan Pathol. Bull. 7:155-166
- Nass, H., L. Cedeño, C. Carrero, R. Cardona, H. Rodríguez y L. Alemán. 1995. *Rhizoctonia solani AG1-IA importante patógeno del arroz (Oryza sativa) en Venezuela*. Rev. For. Venez. 1:142-143. (Resumen).
- Puente, R., Virguez, J.2008. *Principales problemas fungosos en Maíz*. Un problema latente. Agrinova. [online]: <http://www.agrinova.com.ve/content/view/72/103/>
- Rey M., J. Delgado-Jarana, A. Rincón, M. Limón, T. Benítez. 2000. *Mejora de cepas de Trichoderma para su empleo como biofungicidas*. Rev. Iberoam. Micol. 17: 31-36
- Rodríguez, H., H. Nass, R. Cardona y L. Alemán. 1999. *Alternativas para controlar el añublo de la vaina foliar Rhizoctonia solani en arroz*. Fitopatol. Venez. 12:18-21
- Rodríguez, D. y M. E. Sanabria. 2005. *Efecto del extracto de tres plantas silvestres sobre la rizoctoniasis, la mancha sureña del maíz y los patógenos que la causan*. Interciencia 30 (12):739-744.
- Webster, R. y P. Gunnell. 1992. *Compendium of Rice Diseases*. APS Press. St. Paul, Minnesota.