"Manejo de la Roya Asiática de la Soja (*Phakopsora pachyrhizi*)
por la Resistencia Sistémica Adquirida con aplicación de ácido salicílico".

Tesina del alumno

MIGUEL ANGEL LAVILLA.

Este trabajo ha sido presentado como requisito para la obtención del título de:

INGENIERO AGRÓNOMO

Carrera: Ingeniería Agronómica

Escuela de Ciencias Agrarias, Naturales y Ambientales. Universidad Nacional del N.O. de la Provincia de Buenos Aires.

Pergamino, 08 de Julio de 2010



"Manejo de la Roya Asiática de la Soja (*Phakopsora pachyrhizi*)
por la Resistencia Sistémica Adquirida con aplicación de ácido
salicílico".

Tesina del alumno

MIGUEL ANGEL LAVILLA

Aproba	ida por e	ıırıbun	ai Evaiua	dor de 10	esina	

Escuela de Ciencias Agrarias, Naturales y Ambientales, Universidad Nacional del N.O. de la Provincia de Buenos Aires.

Codirector: Ing. Agr. Daniel O. Giménez.

Director: Ing. Agr. Antonio Ivancovich.



AGRADECIMIENTOS

Andrea Rubio;
Catalina Améndola;
Florencia Santangelo;
Hernán Russian;
Javier Baldomá;
Marcela Russiti;
Mariana Fernández;
Flavia Franchi
Centro Documental Estación Experimental Agropecuaria (E.E.A.) Pergamino;
Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (I.N.T.A.) Pergamino;
Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires (U.N.N.O.B.A.)



<u>INDICE</u>

Introducción General	5
Tipos de estrés en plantas	6
Estrés Biótico	7
Interacción planta-patógeno	7
Respuestas generales frente al estrés	9
¿Cómo funciona el Ácido Salicílico?	10
Ensayos con Ácido Salicílico	11
Objetivo General	13
Objetivos Específicos	13
Hipótesis	13
Materiales y Métodos	13
Resultados	15
Conclusión	16
Bibliografía	17
Anexos	22



INTRODUCCIÓN GENERAL

La soja *(Glycine max)* es el principal cultivo agrícola de la zona pampeana y el más importante rubro de exportación de nuestro país. La superficie sembrada de este cultivo en la campaña 2009-2010 alcanzó las 18.343.272has, con una producción de 52.676.620Tn (SAGPyA¹, campaña 2009/10), en las cuales los rendimientos teóricos, rara vez son alcanzados porque las plantas están frecuentemente sometidas a situaciones de estrés.

Los programas de mejora genética vegetal, buscan como objetivo general el aumento de rendimiento, sin descuidar la calidad, con el fin de satisfacer las necesidades crecientes de alimentos en el mundo. El aumento del rendimiento puede obtenerse en forma directa, a partir de la selección de individuos que muestren una mejor expresión de algunos de los caracteres relacionados con los componentes de ese rendimiento. Otra manera de aumentar la producción sería en forma indirecta, a través de la identificación y selección de individuos con buen comportamiento frente a situaciones de estrés (Satorre, E.H. et al., 2005). Otra forma en que se podría aumentar la resistencia genética a enfermedades, también indirectamente, es aplicando ácido salicílico (AS) induciendo la Resistencia Sistémica Adquirida (RSA) (Agrios, G.N., 2005).

En este trabajo se hará referencia al estrés biótico provocado por la Roya de la Soja, enfermedad causada por el hongo *Phakopsora pachyrhizi*, originaria de Asia (RAS) y su control por medio del AS (Agrios, G.N., 2005). Sugiriendo para una futura tesis ensayos comparativos entre AS y fungicidas, en la cual se tendría que evaluar los costos económicos y los efectos terapéuticos frente a la RAS de cada tratamiento, así como

¹ SAGPyA: Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos.



también podría compararse el efecto combinatorio de distintas dosis de fungicida con la dosis de AS analizada en esta tesis para soja.

TIPOS DE ESTRÉS EN PLANTAS

Las plantas son organismos incapaces de moverse de un lugar a otro en busca del nicho más adecuado para su crecimiento; por lo tanto, están sometidas frecuentemente a situaciones de estrés ambiental. El concepto de estrés implica la presencia de un factor externo a la planta, provocado por el entorno cambiante, que ejerce una influencia negativa para su óptimo crecimiento y desarrollo (Azcón–Bieto, J. y Talón, M., 2008).

A nivel celular el metabolismo posee sus propios mecanismos homeostáticos² que tienden a minimizar esos cambios. Una situación que perturbe dichos mecanismos más allá del límite de su capacidad reguladora, genera que la planta se estrese. Ante estas situaciones desfavorables, se generan respuestas de diferente magnitud. Según Azcón—Bieto, J. y Talón, M., (2008) el término respuesta tiene un significado amplio y se define como cualquier alteración, tanto estructural como funcional, que se produce en las plantas como consecuencia de un estrés.

² Homeostasis: es la capacidad que poseen los mecanismos de mantener sus funciones dentro de valores normales, cuando una alteración moderada trata de alterarlos (Azcón–Bieto, J. y Talón, M., 2008).



ESTRÉS BIÓTICO.

INTERACCIÓN PLANTA-PATÓGENO

El cultivo de soja está siendo amenazado por la RAS en el continente americano, incluyendo la Argentina. Esta enfermedad fue detectada en Hawai en 1994, en Brasil y Paraguay en 2001, en Argentina en 2002, y más recientemente en Bolivia y Uruguay. En Argentina la enfermedad estuvo limitada a las provincias de Misiones y Corrientes durante 2002 y 2003, mientras que en 2004 fue detectada, además en las provincias de Chaco, Formosa, Santa Fe y Entre Ríos, Santiago del Estero, Catamarca, Tucumán y Salta (Ivancovich A. *et al.*, 2004).

<u>Síntomas de la enfermedad:</u> Aparecen en el envés de la hoja, lesiones de color amarillo que posteriormente tornan al marrón y marrón-rojizo. Los síntomas progresan desde las hojas inferiores hacia las superiores y pueden presentarse en cualquier momento del ciclo del cultivo, aunque se hace más evidente en los Estados Fenológicos (EF) posteriores a la floración.

Los síntomas de la RAS pueden confundirse con los causados por la mancha marrón (Septoria glycines) y la pústula bacteriana (Xanthomonas axonopodis pv. Glycines). (Ivancovich A. et al., 2004).

Epidemiología: *Phakopsora pachyrhizi* es un patógeno biotrófico, que no sobrevive en los rastrojos infectados, sino en las plantas espontáneas de soja y en numerosos hospedantes alternativos de este hongo.



Se han citado 31 especies en 17 géneros de leguminosas que son hospedantes de P. pachyrhizi en la naturaleza, y 24 especies en 19 géneros que son hospedantes de ambas especies de *Phakopsora*, entre las que se pueden mencionar : kudzu (*Pueraria* lobata), trébol (Melilotus spp.), lupino (Lupinus hirsutus), poroto (Phaseolus vulgaris), caupi (Vigna unguiculata), etc. La germinación de la espora ocurre con menos de seis horas de rocío y temperaturas entre 8° y 36° C, con un óptimo entre 16° y 24° C. La infección ocurre también con un mínimo de 6 hs. de rocío y temperaturas entre los 11° y 28° C, con un óptimo entre 19° y 24° C. Con tempera turas de 22° a 27° C los urediniosoros maduran de 6 a 7 días y se produce una nueva generación de urediniosporas. En condiciones favorables, dígase tiempo fresco y húmedo, es posible progresar desde una infección inicial a una de 90% en 3 semanas. Las urediniosporas, pueden sobrevivir hasta 50 días, y son fácilmente dispersadas por el viento, lo que posibilita a la enfermedad que pueda ser diseminada a grandes distancias geográficas. El agente causal de la RAS es un patógeno policíclico, con capacidad de producir abundante urediniosporas bajo condiciones ambientales favorables. Penetra en forma directa a través de la cutícula y la epidermis del hospedante, lo que hace que la infección sea rápida y fácil. El nivel de pérdida causada por la RAS depende del EF en que comienzan los síntomas, y de la severidad de los mismos (Ivancovich, A. y Couretot, L., 2008).



RESPUESTA GENERAL FRENTE AL ESTRÉS

Las plantas desarrollan un complejo mecanismo coordinado de defensa frente al ataque de patógenos que, a nivel de la célula atacada, incluye:

- 1. La Producción de especies reactivas de oxígeno (H_2O_2, OH^-, O_2^-) ; que induce el estrés oxidativo en la célula, provocando su muerte (Taiz, L. & Zeiger, E., 2006; Azcón–Bieto, J. y Talón, M., 2008).
- 2. La acumulación de AS y ácido benzoico; que inhiben la producción de catalasa, aumentando los radicales libres en la zona de infección, estimulando la síntesis y liberación de etileno. Esta hormona provoca apoptosis, por medio de las enzimas hidrolíticas que degradan las células de esa zona (Taiz, L. & Zeiger, E., 2006; Azcón–Bieto, J. y Talón, M., 2008).
- 3. La fortificación de la pared celular agregándole lignina; lo cual impide el ingreso de nuevos patógenos (Hammond-Kosack, K. E. & Jones, J.D.G., 2000).
- 4. Un aumento de la actividad de la lipoxigenasa; que estimula la formación de ácido jasmónico, agente de la Resistencia Sistémica Inducida (Taiz, L. & Zeiger, E., 2006).
- 5. La producción de compuestos antimicrobianos (fitoalexinas) de origen fenólico que inhiben el crecimiento y la reproducción de los patógenos (Taiz, L. & Zeiger, E., 2006).
- 6. La síntesis de proteínas PR³ (*"Pathogenesis Related proteins"*), relacionadas con la patogénesis (Taiz, L. & Zeiger, E., 2006).

³ <u>Proteínas PR</u>: Estas proteínas fueron descubiertas en 1970 en plantas de tabaco (*Nicotiana tabacum L.*) infectadas con el virus del mosaico de tabaco (TMV), y se observó que eran fuertemente inducidas *de novo* durante la RH (Gregory, B M. *et al.*, 2003).



Los sucesos enumerados anteriormente culminan en la Respuesta Hipersensible (RH) que consiste en la muerte celular programada de las células atacadas, formando lesiones necróticas, para frenar la invasión del patógeno al resto de la planta. Estos mecanismos de defensa que se desencadenan son <u>independientes del patógeno específico</u>, aunque los tiempos de duración y la intensidad de la respuesta, puedan ser diferentes y la activación de los mismos induzca finalmente la RSA en la planta (Taiz, L. & Zeiger, E., 2006; Hammond-Kosack, K. E. & Jones, J.D.G., 2000; Durrant, W. E., & Dong, X., 2004).

¿CÓMO FUNCIONA EL ÁCIDO SALICÍLICO?

El AS funciona como el mensajero interno natural de las plantas, es decir, que cuando una planta es atacada por una plaga, genera AS para advertir, que está siendo afectada y de ese modo, responderá con la suba de sus defensas. Por ejemplo: chitinasas, beta-1,3-glucanasas, PR-1, PR-5, ácido jasmónico, letucinina, rishitina, entre otras (Dangl, J. L., *et al.*, 2000; Hammond-Kosack, K. E. & Jones, J.D.G., 2000; Durrant, W. E., & Dong, X. 2004).

El AS aplicado externamente tiene el efecto de activador de la RSA. La debilidad del mismo se encuentra determinada por ser muy breve su vida dentro de la planta (EDA⁴, 2008). Al ser inmovilizado en las paredes celulares, se vuelve necesaria su aplicación rutinaria durante toda la vida del cultivo para poder así, mantener altos niveles de resistencia. La ventaja de su fijación rápida es que si se sobredosifica, el daño no es permanente y se repone rápidamente de 7 a 10 días como máximo (EDA, 2008). En contraposición a esta postura, ensayos realizados por Roy Navarre, en tabaco (*Nicotiana*

⁴ EDA: Entrenamiento y Desarrollo de Agricultores.



tabacum L.) mostraron que al aplicarle AS la RSA puede permanecer activo por semanas y aún meses (Asociación Argentina de Protección Vegetal y Ambiental. Buenos Aires. 2004).

El AS es altamente móvil dentro de la planta; por ese motivo protege partes no cubiertas en la aplicación foliar y es factible aplicarlo por el sistema de riego ya que será absorbido por el sistema radicular y luego distribuido así por toda la planta (EDA, 2008).

El uso del AS es preventivo, no curativo. Según estudios hechos, se afirma que aumenta el control que ejercen los fungicidas, bactericidas, nematicidas o insecticidas, de allí que no tendrá el control deseado por sí sólo. (EDA, 2008).

Los cultivos donde se aplique el AS tendrán un manejo integrado. Si la planta no está saludable y fuerte, al aplicarle AS va a utilizar parte de su energía en resistencia, mermando su producción. También en estas condiciones, la sobredosificación del AS puede estresarla, causando pérdidas en el rendimiento potencial (EDA, 2008).

ENSAYOS CON ÁCIDO SALICÍLICO

Los experimentos para el control de Sigatoka Negra (*Mycosphaerella fijiensis Morelet*) en banano (*Musa sapientum*) aplicando AS, a través de la RSA, han demostrado que fueron eficientes en invernáculo, mientras que a campo fue aún superior (30%) (Zuluaga Amaya, C. M. *et al.*, 2007).

En crisantemo (*Chrysanthemum morifolium* Ramat) se efectuaron aplicaciones conjuntas con los productos MYC (Mycotrol®) y VEK (Vektor®) y su combinación con NF (Nufilm®) o Ácido Acetil Salicílico. Se observó reducción significativa (Tukey,p≤0.05), en la severidad de Roya Blanca (*Puccinia horiana*. Hem) y en la incidencia de insectos plaga.



(Aquino-Hernández O., Disponible en: www.biotropic.com. consultado 15 de mayo de 2010).

El AS no sólo induce la RSA; además incita modificaciones fisiológicas favorables para las plantas, cuando se asperja en una concentración de 10-8 molar. En soja por ejemplo, incrementa el tamaño de las raíces, la altura de la planta, el número de vainas y granos por planta, el peso de los granos y el porcentaje de aceite, con respecto a los tratamientos sin AS (World Intellectual Property Organization, consultado: 28 de Enero, 2009).

En Honduras se ha visto el efecto positivo del uso del AS utilizando las siguientes dosis: en tomate (*Lycopersicum esculentum*) 100 gramos de AS/200 litros de agua cada 7 días, ayuda a controlar: Septoria (*Septoria lycopersici*), Alternaria (*Alternaria solani*), Mancha y peca bacteriana (*Pseudomonas syringae*), algunos virus. (EDA, 2008); en pepino (*Cucumis sativus*) 100 gramos de AS /200 litros de agua cada 7 días, ayuda a controlar Mildiu Lanoso (*Pseudoperonospora sp*), Mancha Bacteriana (*Pseudomonas spp.*), Antracnosis (*Colletotrichum oligochaetum*), algunos virus. (EDA, 2008); en cebolla (*Allium cepa L.*) 50 gramos de AS /200 litros de agua cada 7 días, ayuda a controlar: Alternaria (*Alternaria porri*) (EDA, 2008).



OBJETIVO GENERAL

Incorporar el uso de AS al manejo integrado de la RAS.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Evaluar el control sistémico de la RAS producido por AS.

Evaluar la eficacia de los momentos de aplicación del AS para el control de la RAS.

HIPÓTESIS

Aplicaciones con AS disminuye la severidad de la RAS por la inducción de la RSA.

MATERIALES Y MÉTODOS

En condiciones de laboratorio se evaluó el grado de control del AS sobre la RAS, mediante un diseño en bloques completamente aleatorio. Para cada tratamiento (anexo 1) se prepararon cuatro macetas con cuatro plantas de soja cada una, y con tres repeticiones.

Las macetas fueron sembradas con semillas de soja, que llegaron en cuarenta y cinco días aproximadamente al EF V2, según escala de Fehr y Caviness (1971).



El tratamiento 1 fue el testigo blanco, es decir, que no fue inoculado con RAS, ni aplicado con AS. El tratamiento 2 fue el testigo con RAS, pero sin AS. Los tratamientos 3 y 4 fueron asperjados con AS cuando las plantas llegaron al EF V2. A los diez días posteriores a la primer aplicación de AS se le sobreaplicó al tratamiento 4. A los cuatro días de la última aplicación con AS se inocularon los tratamientos 2; 3 y 4 con RAS.

El AS se formuló utilizando una probeta de 1litro, en la cual se colocó 0,05 g de AS y un litro de agua, proporcionando también a la solución el tensioactivo TWIN 20, para un mayor contacto del producto con la hoja (dos gotas, ≈ 0,1‰). Cuando se realizó la aspersión, se calculó su cantidad con un aspersor de volumen conocido (88ml). La superficie del área a asperjar se midió con una cinta métrica, dando un valor de 0,5712 m², siendo la dosis por Ha de 77g de AS/200 lts. de agua.

El inóculo se preparó utilizando un elermeyer con hojas infectadas con RAS, en 100 ml de agua y dos gotas de TWIN 20 (para despegar más fácilmente las esporas de las hojas). Esta solución se agitó durante 10–15 minutos y se utilizó una muselina para filtrar y eliminar impurezas (Anexo 6). También en esa solución se midió la concentración de esporas en un microscopio con una cámara de Neubauer (anexo 7) y se determinó la viabilidad de las esporas, con el objeto a de ajustar la cantidad a utilizar en 50.000 esporas viables por ml de agua (Anexo 8). La determinación de la viabilidad se efectuó colocando unas gotas de la solución (esporas de RAS y agua), en una caja de Petri con un medio pobre en nutrientes, como el Agar agua (AA) (Anexo 9).

Para llevar a cabo la inoculación, los tratamientos fueron individualizados por bandeja (cada uno con dos macetas). Posteriormente cada bandeja se recubrió con una bolsa negra para crear una cámara húmeda que se mantuvo en oscuridad (de 24 a 48



hs). Una vez pasado ese tiempo cada una de ellas se destapó y se ubicó según el diseño experimental.

La primera evaluación del número de urediniosoros en 8 hojas, tomadas al azar en cada tratamiento y su repetición, se realizó a los 15 días (anexo 10). Los resultados obtenidos fueron analizados estadísticamente con la prueba de ANOVA (infostat, 2008). Se determinó si hubo diferencias significativas entre los tratamientos con AS y los testigos, mediante el test estadístico de "Duncan" (p ≤0,05).

La segunda evaluación se realizó a los siete días de la primera, determinando la cantidad de urediniosoros y efectuando iguales análisis estadísticos.

Para su mejor visualización e interpretación, se fotografió el dorso de las hojas de cada uno de los tratamientos. De esta manera se observaron perfectamente los urediniosoros y las urediniosporas, que permite determinar el efecto del AS sobre el control de la enfermedad (Anexo 11).

RESULTADOS y DISCUSIONES

Los resultados han demostrado que los tratamientos con AS reducen la expresión de la RAS

Esto se observa claramente en las dos fechas de evaluación indicando que el número de urediniosoros en el tratamiento infectado con RAS fue superior y estadísticamente significativo (Duncan ≤0.05) con respecto a los tratamientos con AS y RAS, demostrando que el AS generó reducción de la enfermedad expresada en sus síntomas y signos mediante la RSA (Anexos 2, 3, 4 y 5).



En comparación con los ensayos de Honduras, en cultivares de tomate, pepino y cebolla, en donde con las dosis utilizadas controlaron enfermedades diversas, como sucede en el experimento que hemos llevado adelante con dosis similares, comprobamos la eficacia del AS para la inducción de la RSA en soja y el control de la RAS.

Comparando los ensayos realizados en crisantemo (*Chrysanthemum morifolium Ramat.*) y por EDA (Honduras), donde ambos utilizan el AS combinado con otros productos terapéuticos y de ese sólo modo pueden controlar diversas enfermedades. El presente trabajo afirma que hay una reducción de la severidad de la RAS aún cuando el AS se aplica sin combinarlo con otros productos fúngicos.

La duración de la RSA frente a la RAS conforme a lo que hemos experimentado, es similar al trabajo realizado en tabaco (*Nicotiana tabacum L.*) en los Estados Unidos, pero no resulta coincidente con los ensayos efectuados por EDA, en Honduras, donde los efectos terapéuticos del AS sólo duran una semana.

CONCLUSIÓN:

- De este trabajo se concluye que con una sola aplicación de AS se reduce la severidad de la RAS por la inducción de la RSA.
- Los resultados de este trabajo no demostraron ni los costos económicos, ni el sinergismo con otros productos fitosanitarios para la implementación de esta estrategia para manejar la RAS. Se sugiere la ampliación en estos aspectos en futuros estudios.



BIBLIOGRAFÍA:

- Agrios, G. N. Plant Pathology. 5th.ed. Burlington, MA., London : Elsevier, Academic Press, 2005. 922 p.
- Aquino-Hernández O. Efecto de hongos entomopatogenos, ácido acetil salicílico y cubierta epidermal en la severidad de Roya Blanca (*Puccinia horiana*) e incidencias de plagas en crisantemo (*Chrysanthemum morifolium* Ramat.) Colegio de Postgraduados, Instituto de Fitosanidad, Km 35.5 Carr. México-Texcoco, Montecillo, Edo, de México, México CP 56230. Disponible en: www.biotropic.com. [consultado: 15 de mayo de 2010]
- Asociación Argentina de Girasol. Buenos Aires. 2004. Factibilidad técnica determinando la metodología a emplearse. En: Estudio sobre el impacto económico de la eventual utilización de eventos transgénicos de girasol en Argentina. Disponible en: http://www.asagir.org.ar. [consultado: Septiembre, 2009].
- Asociación Argentina de Protección Vegetal y Ambiental. Buenos Aires. 2004. N°
 16 . p 8. Disponible en: http://www.asaprove.org.ar. [consultado: Octubre, 2009].
- Azcón–Bieto, J. y Talón, M. Fundamentos de Fisiología Vegetal. Madrid : Mc Graw-Hill. Interamericana, 2008.



- Bray, E. A.; Bailey-Serres, J; Weretilnyk, E. Capter 22. Responses to Abioto Stresses. p 1158-1203 In: Buchanan, B. B., Gruissem, W. and Jones, R. L. Biochemistry and Molecular Biology of Plants. Marylan: American Society of Plant Biologist, 2000.
- Dangl, J. L.; Dietrich, R. A.; Thomas, H., 2000. Senescence and Programmed Cell Death. p 1044-1100. In: Buchanan, B. B.; Gruissem, W. and Jones, R. L. Biochemistry and Molecular Biology of Plants. Marylan: American Society of Plant Physiologist.
- Durrant, W. E., & Dong, X. (2004). Systemic acquired resistance. Annual Review of Phytopathology 42: 185–209.

Entrenamiento y Desarrollo de Agricultores. Honduras. 2008. El uso del acido salicílico y fosfonatos (fosfitos) para la activación del sistema de resistencia adquirida de la planta. Disponible en : http:// www.hondurasag.org y http://www.fintrac.com. [consultado: Septiembre, 2009].



- Fehr, W. R., Caviness, C. E., Burmood, D. T. and Pennington, J. S. 1971. Stege of development descriptions for soybeans. *Glycine Max* (L.). Merr. Crop Sci. 11:929 -931.
- Goellner, K. and Conrath, U. 2008. Priming: it's all the warld to induced disease resistance. Eur. J. Plant Pathol. vol.121 pp.233-242.
- Gregory, B.M.; Bogdanove, A.J. and Sessa, G., (2003). Understanding the Functions of Plant Disease Resistance Proteins. Annual Review Plant Biology 54: 23-61.
- Hammond-Kosack, K. E. and Jones, J. D.G. Responses to Plant Pathogens. 2000, p 1002-1156. In: Buchanan, B. B.; Gruissem, W. and Jones, R. L. Biochemistry and Molecular Biology of Plants. Marylan: American Society of Plant Physiologist.
- Infostat. 2008. Grupo infostat. F.C.A. U.N.C. Argentina
 - Ivancovich, A.; Botta, G.; Vallone, S.; Salines, L.; Formento, N.; Gadban, L.;
 Bonacic, I.; De Souza, J.; Guerra, G.; Guillin, E.; Cracogna, M. y Lago, M., 2004;
 Prevención y control de la Roya de la Soja en Argentina. Buenos Aires. INTA., 4p.



- Ivancovich, A. y Couretot, L., Roya de la soja, 2008. En : Taller de diagnóstico y manejo de enfermedades de soja. Pergamino : Estación Experimental Agropecuaria, p 11 – 13.
- Taiz, L. & Zeiger, E. Plant physiology. 4 th ed. [Estados Unidos] : Sinauer Associates, Inc. Publisher, 2006.

Lopez Lopez M. J., 1992. Mecanismos de resistencia inducida por compuestos químicos frente a la podredumbre blanda en tubérculo de patata. [resumen]. Tesis doctoral, Departamento de Microbiología, Programa de Doctorado: Microbiología II. Universidad Complutense de Madrid. Disponible en: http://www.cibernetia.com/tesis_es/CIENCIASAGRARIAS/FITOPATOLOGIA_AGRICOLA/CONTROL_QUIMICO_DE_ENFERMEDADES_DE_LAS_PLANTAS/1.

[consultado: Septiembre, 2009]

Lopez Tejeda, R.; Rodríguez Camacho, V.; Gutierrez Oronado, M. A., 1998.
Aplicación de ácido salicílico para incrementar el rendimiento agronómico en tres variedades de trigo. Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal. Universidad Autónoma del Estado de México 16: 43 – 48.
Disponible en: http://redalyc.uaemex.mx. [consultado: Enero, 2010].



- Secretaria de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos. Argentina. Dirección de Coordinación de Delegaciones. 2008. Disponible en : http:// www.sagpya.mecon.gov.ar . [consultado: Octubre 2009].
- Satorre, E.H.; Benech Arnold, R.L.; Slafer, G.A.; De la Fuente, E.B.; Miralles, D. J.;
 Otegui, M. E.; Savin, R., Producción de Granos : Bases funcionales para su manejo. Buenos Aires : Editorial Facultad de Agronomía, 2003, 783p.

- World Intellectual Property Organization. Suiza. Utilization of salycylates to increase the bioproductiviti in plants. Disponible en: http://www.wipo.int [consultado: 28 de Enero, 2009].
- Zuluaga Amaya, C. M.; Patiño Hoyos, L.F. y Collazos Villa, J.C. (2007) Integracion de inducción de resistencia con bacteria quitinolíticas en el control de la sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis Morelet*) en banano. Revista Facultad Nacional de Agronomía. Medellín 60 (2) 1 13.



ANEXOS



Anexo 1

TRATAMIENTOS

- 1- Testigo blanco (sin la hormona AS ni RAS)
- 2- Testigo con RAS, pero sin AS
- 3- Inoculación del patógeno luego de catorce días del asperjado con 0,05 g/l de AS.
- 4- Asperjado con 0,05g/l de AS; a los diez días, una segunda aplicación con la misma dosis de AS y a los cuatro días inoculación del patógeno

DISPOSICION DE LOS TRATAMIENTOS EN LA CAMARA

Α С D В IA1 IC3 ID4 IB2 \parallel IIA4 IIB3 IIC1 IID2 Ш IIIA1 IIIB2 IIIC4 IIID3

Las letras representan las columnas; los números romanos los bloques y los números arábigos los tratamientos.

Anexo 2



Tabla 1: Efecto del Acido salicílico sobre el número de urediniosoros por hoja, en dos fechas de evaluación

TRATAMIENTOS	Número de Uredin	iosoros por hoja (*)
	28-09-09	02-10-09
1- Testigo blanco (sin la hormona AS ni		
RAS)	0	0
2- Testigo con RAS, pero sin AS	150 B (**)	239 B
3- Inoculación del patógeno luego de		
catorce días del asperjado con 0,05 g/l	40.4	25.4
de AS.	19 A	35 A
4- Asperjado con 0,05g/l de AS; a los		
diez días, una segunda aplicación con		
la misma dosis de AS y a los cuatro	29 A	39 A
días inoculación del patógeno		

^(*) Promedio de observaciones en 8 hojas y tres repeticiones por tratamiento. (**) Letras distintas indican diferencias significativas (p≤0,05).

ANEXO 3

NUMERO DE UREDINIOSOROS POR HOJA Y PROMEDIO DE UREDINIOSOROS POR TRATAMIENTO, EN LA EVALUACION1. 28/09/2009



DI COLIES	TDATAMIENTOS	UREDINIOSOROS POR HOJA								PROMEDIOS
BLUQUES	ES TRATAMIENTOS		В	С	D	Е	F	G	Н	PROMEDIOS
I	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
I	2	55	87	80	73	176	185	70	220	118
I	3	29	21	15	16	30	24	5	9	19
I	4	56	10	25	18	33	27	29	30	29
II	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
II	2	25	300	250	210	210	120	70	510	212
II	3	30	5	0	6	15	3	40	7	13
II	4	14	54	14	12	37	20	35	10	25
III	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
III	2	90	210	120	130	55	63	230	170	134
III	3	29	40	25	26	33	10	18	43	28
III	4	37	61	64	12	57	12	20	3	33

ANEXO 4

NUMERO DE UREDINIOSOROS POR HOJA Y PROMEDIO DE UREDINIOSOROS POR

TRATAMIENTO, EN LA EVALUACION 2. 2/09/2009

PI COLIES	TRATAMIENTOS	UREDINIOSOROS POR HOJA								PROMEDIOS
BLOQUES	TRATAMIENTOS	Α	В	С	D	Ε	F	G	Н	PROMEDIO3
I	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
I	2	105	202	119	120	230	196	120	315	176
- 1	3	40	65	15	19	35	32	40	49	37
I	4	63	12	30	26	48	29	59	69	42
II	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
II	2	100	500	350	258	300	180	120	700	314
II	3	70	12	0	22	23	8	53	10	25
II	4	26	70	22	15	35	27	52	10	32
III	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
III	2	210	523	220	352	70	80	300	230	248
III	3	90	44	52	40	45	20	25	55	46



III	4	40	69	80	21	65	26	50	10	45

ANEXO 5

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R²Aj	CV
LOG10 urediniosoros	9	0.944599	0.889198	8.649642

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC Tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	Valor p	
Modelo	1,366743	4	0,341686	17,050281	0,0089	
BLOQUES	0,017293	2	0,008646	0,431459	0,6766	
TRATAM	1,349450	2	0,674725	33,669104	0,0031	
Error	0,080160	4	0,020040			
Total	1,446902	8				

Test: Duncan Alfa: 0,05

Error: 0,0200 gl: 4

<u>BLOQUES Medias n</u>

I 1,599247 3 A



II 1,612487 3 A
III 1,698144 3 A

Letras distintas indican diferencias significativas(p<=0,05)

Test: Duncan Alfa: 0,05

Error: 0,0200 gl: 4

TRATAMIENTOS	Medias	n		
3	1,279823	3	Α	
4	1,455268	3	Α	
2	2,174787	3		В

Letras distintas indican diferencias significativas(p<=0,05)

Promedio de urediniosoros por tratamiento.

Test: Duncan Alfa: 0,05

Error: 0,0200 gl: 4

TRATAMIENTOS	Medias	n		
3	19.046843	3	Α	
4	28.527782	3	Α	
2	149.550201	3		В

Letras distintas indican diferencias significativas(p<=0,05)



Evaluación 2

Análisis de la varianza

Variable		N	R ²	R²Aj	CV
LOG10_ure	diniosoros	9	0,955752	0,911504	6,766286
Cuadro de	Análisis de l	la Vari	anza (SC Tip	o III)	
F.V.	SC	gl	CM	F	Valor p
Modelo	1,337137	4	0,334284	21,599848	0,0057
BLOQUES	0,020174	2	0,010087	0,651783	0,5688
TRATAM.	1,316963	2	0,658482	42,547914	0,0020
Error	0,061905	4	0,015476		
Total	1,399042	8			

Test: Duncan Alfa: 0,05

Error: 0,0155 gl: 4

 BLOQUES
 Medias
 n

 II
 1,798885
 3
 A

 I
 1,811728
 3
 A



III 1,905124 3 A

Letras distintas indican diferencias significativas (p<=0,05)

Test: Duncan Alfa: 0,05

Error: 0,0155 gl: 4

TRATAMIENTOS	Medias	n		
3	1,542197	3	Α	
4	1,594837	3	Α	
2	2,378704	3		В

Letras distintas indican diferencias significativas (p<=0,05)

Promedio de urediniosoros por tratamiento.

Test: Duncan Alfa: 0,05

Error: 0,0155 gl: 4

TRATAMIENTOS	Medias	n		
3	34.849536	3	Α	
4	39.340240	3	Α	
2	239.168511	3		В

Letras distintas indican diferencias significativas(p<=0,05)



Los promedios de los urediniosoros fueron transformados a log10, para que cumplan los supuestos de homogeneidad y distribución normal de los residuales y poder así, realizar el análisis de varianza.

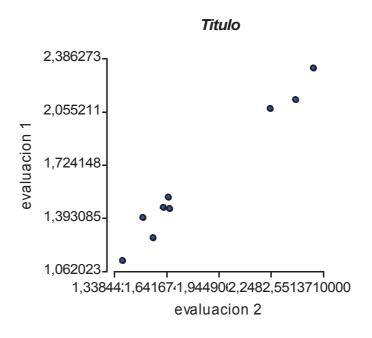
CORRELACIÓN DE LOS DATOS

Coeficientes de Sendero (Path Analysis)

Variable dependiente: evaluación 1

Efecto	Via	Coeficientes	valor p
Evaluación 2	2	Directa	0,99
r total		0,99	5,5E-07

Diagrama de dispersión





Con los datos de correlación podemos asumir que los datos de la evaluación 2 siguen evolucionando en la misma medida, con respecto a la evaluación 1.