



COLONIZACIÓN RADICAL POR LA MICORRIZA INIFAP^{MR} EN CEBADA TRATADA CON FUNGICIDA

[RADICAL COLONIZATION BY THE MYCORRHIZAL INIFAP^{MR} IN BARLEY TREATED WITH FUNGICIDE]

Oscar A. Grageda-Cabrera^{1*}, Sarahyt S. González-Figueroa¹, Ernesto Solís-Moya¹, MónicaG. Lozano-Contreras² and Arturo Díaz-Franco³

¹Campo Experimental Bajío, INIFAP, Carr. Celaya-San Miguel de Allende, Celaya, Guanajuato, C.P. 38110, México, Tel. 4616115323
email:grageda.oscar@inifap.gob.mx; sarahygonzalez@hotmail.com; solis.ernesto@inifap.gob.mx.

²INIFAP-Campo Experimental Mochochá, Yucatán, email: morbica@hotmail.com,

³Campo Experimental Río Bravo, INIFAP, Carr. Matamoros-Reynosa km 61, Río Bravo, Tamaulipas, C.P. 88900, México, Tel. 899341045
email:diaz.arturo@inifap.gob.mx.

* Corresponding author

RESUMEN

Se evaluó el efecto del tratamiento de semilla de cebada con el fungicida clorotalonil sobre la colonización radical por micorriza. Los tratamientos fueron: 1) Semilla con Micorriza INIFAP[®] una, dos y tres dosis y semilla sin inocular, y 2) Semilla con y sin fungicida. Se realizaron siembras mensuales de semillas con diferente tiempo de almacenamiento para evaluar el grado de colonización radical. Los resultados mostraron que el tratamiento de la semilla con clorotalonil no disminuyó significativamente la colonización radical por la Micorriza INIFAP[®], el tratamiento con clorotalonil presentó una media de colonización radical de 32.63% mientras que sin clorotalonil fue de 36.46%. Cuando la semilla se trató con clorotalonil la colonización radical por la Micorriza INIFAP[®] fue menor en el tratamiento con una dosis, los tratamientos con doble y triple dosis no presentaron diferencia significativa. El almacenamiento de la semilla disminuyó el porcentaje de colonización en forma progresiva. A través del tiempo de almacenamiento de la semilla inoculada, la colonización radical por la Micorriza INIFAP[®] se mantuvo constante y sin cambios durante los primeros seis meses; sin embargo, luego disminuyó en ca. 50% en un período de 10 meses, ya fuera tratada o no con fungicida.

Palabras clave: Clorotalonil; *Hordeum vulgare*; *Rhizoglyphus intraradices*.

SUMMARY

The effect of the treatment with the fungicide chlorothalonil on radical mycorrhizal colonization on barley seed was evaluated. An experiment was performed, the factors were as follows: 1) Mycorrhiza INIFAP[®] (uninoculated, one, two and three doses) and fungicide (with and without fungicide). Monthly sowings were conducted to determine the degree of colonization in the roots. The results showed that treatment of the seed with chlorothalonil was not significantly decreased by the radical mycorrhizal INIFAP[®] colonization, chlorothalonil treatment had a mean of 32.63% root infection whereas without chlorothalonil was 36.46%. When the seed was treated with chlorothalonil, the more affected in terms of root colonization by mycorrhizal INIFAP[®] was a dose, treatment with double and triple doses showed no significant difference between them. Storage of seed infection percentage decreased progressively. Through the time of the inoculated seed storage, root infection by mycorrhizal INIFAP[®] remained constant and unchanged for the first six months, but then decreased at ca. 50% over a period of 10 months, when treated or not treated with fungicide.

Key words: Chlorothalonil; *Hordeum vulgare*; *Rhizoglyphus intraradices*.

INTRODUCCIÓN

En México, el cultivo de la cebada se orienta básicamente a la elaboración de malta para la producción de cerveza (Financiera Rural, 2009; Molina, 1989; Zamora *et al.*, 2003). El contenido de proteína en el grano es un factor que varía ampliamente con las condiciones ecológicas y edafológicas del lugar donde se cultivó y es generalmente el índice más importante para predecir la calidad de la malta. Existe una limitante en los niveles de proteína, pues cantidades menores de 10.5% en el mosto no proporcionan alimento suficiente para que se desarrollen normalmente las levaduras, lo que propicia que se produzcan fermentaciones alcohólicas deficientes, y contenidos superiores a 13.5% se acompañan de turbidez en los mostos. Además, con la finalidad de que el mosto se separe fácilmente del grano durante el proceso, se demanda un grano pobre en gomas o carbohidratos del tipo glucocanos (CPCAC, 2005).

La superficie dedicada al cultivo de cebada es muy variable. Anualmente se siembran alrededor de 350,000 ha. La producción se encuentra concentrada en cinco estados: Guanajuato (33.9%), Hidalgo (27.3%), Tlaxcala (14.6%), Estado de México (7.9%) y Puebla (6.7%). El promedio anual de producción en riego es de 218,051 t y para temporal de 372,569 t. Guanajuato es el estado que produce el 94.1% en modalidad de riego en tanto que Hidalgo produce el 97.3% en la modalidad de temporal. Derivado de lo anterior, la producción de cebada no presenta una tendencia definida, ya que se encuentra asociada directamente con el rendimiento y la volatilidad del precio (Financiera Rural, 2009; Zamora *et al.*, 2008).

La venta de la cebada maltera, normalmente se realiza a través de contratos o acuerdos con "IMPULSORA AGRÍCOLA, S.A." (IASA). IASA actúa como intermediario entre los productores y la empresa cervecera desde 1958 y otorga créditos con garantía prendaria y aval, con pago al momento de la entrega de la cosecha. El abastecimiento de semilla y la recomendación del manejo del cultivo son proporcionados por IASA; los fertilizantes, insecticidas, herbicidas y fungicidas son adquiridos con distribuidores locales (CPCAC, 2005).

La cadena entre la demanda de cebada y producción de cerveza ha creado una de las sinergias más importantes para el desarrollo agrícola del país que consiste en impulsar permanentemente el desarrollo de una variedad mejorada de cebada maltera para lograr una alta calidad agronómica e industrial; esto se ha desarrollado desde 1961 cuando la industria maltera mexicana y el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias (INIFAP) celebraron el primer convenio de colaboración

dirigido al mejoramiento del cultivo de cebada maltera del país. Recientemente, entre IASA e INIFAP existe la inquietud de incluir el uso de biofertilizantes en el paquete tecnológico de la producción de cebada; más específicamente, inocular la semilla de cebada con micorriza.

La cebada es susceptible a muchas enfermedades causadas por hongos, el mejor control es la generación de variedades resistentes, pero no se cuenta con variedades resistente a todas ellas; algunas de estas pueden ser transmitidas en la semilla, entre las que destacan carbón desnudo, carbón vestido, helmintosporiosis y fusariosis, por lo que es muy común tratar la semilla con fungicidas (Solano *et al.*, 2009). Debido a que la Micorriza INIFAP[®] es un hongo y la semilla de cebada se trata con fungicidas, existe desconocimiento sobre la efectividad de la simbiosis entre la interacción específica pesticida-cultivo-biofertilizante (Fernández *et al.*, 2011; Hernández-Dorrego y Mestre, 2010). El pesticida recomendado por IASA es el clorotalonil. Por tal motivo, el objetivo de la presente investigación fue evaluar el efecto del tratamiento de la semilla de cebada con el fungicida clorotalonil sobre la colonización radical por la Micorriza INIFAP^{MR} a diferentes tiempos de almacenamiento.

MATERIALES Y MÉTODOS

La semilla de cebada var. Esmeralda se trató con clorotalonil, un fungicida de contacto, preventivo y curativo que controla una amplia gama de enfermedades fúngicas que afectan a cultivos de hortalizas, cereales, cítricos y frutales. Este producto no es tóxico para mamíferos ni aves, pero es extremadamente tóxico para peces.

La dosis utilizada fue de 250 mL por 100 kg semilla, para verificar que el tratamiento fuera uniforme se le agregó colorante rodamina. Después de siete días, se separaron cuatro grupos de 250g de semillas tratadas con el fungicida y cuatro de 250g con semillas no tratadas, se procedió a la inoculación con Micorriza INIFAP[®] que contenía una concentración de 40 esporas g⁻¹ de suelo, la dosis utilizada fue de 1 kg por cada 50 kg de semilla. Los tratamientos se muestran en la tabla 1.

Se hicieron evaluaciones del porcentaje de colonización radical por la micorriza a los 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 y 10 meses después del almacenamiento, con una modificación de la técnica de clareo y tinción de raíces micorrizadas (Phillips y Hayman, 1970). Antes de la siembra y en cada evaluación, se realizó una prueba de germinación a todos los tratamientos.

Se empleó un diseño completamente al azar con tres repeticiones, cada unidad experimental consistió en vasos de poliestireno de 12 onzas con sustrato previamente esterilizado con bromuro de metilo (mezcla suelo:arena 1:1), la densidad de siembra fue de 10 de semillas por unidad experimental. Se realizó un muestreo destructivo de las unidades experimentales a los 20 días después de la siembra para determinar el porcentaje de colonización radical de las 10 plantas (Kormanik, 1980).

Tabla 1. Tratamientos evaluados en el experimento.

No.	Tratamientos
1	Semilla no tratada.
2	Semilla no tratada e inoculada con una dosis de micorriza.
3	Semilla no tratada e inoculada con doble dosis de micorriza.
4	Semilla no tratada e inoculada con triple dosis de micorriza.
5	Semilla tratada con clorotalonil y sin micorriza.
6	Semilla tratada con clorotalonil e inoculada con una dosis de micorriza.
7	Semilla tratada con clorotalonil e inoculada con doble dosis de micorriza.
8	Semilla tratada con clorotalonil e inoculada con triple dosis de micorriza.

Los datos se analizaron con un análisis de varianza de tres factores para un diseño completamente aleatorizado y la diferencia significativa entre medias se determinó a $\alpha \geq 0.05$ por la prueba de Tukey (SASInstitute, 1990).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Existieron diferencias significativas en el porcentaje de colonización en todas las variables analizadas, como se observa en la tabla 2.

Referente a la colonización radical promedio por la Micorriza INIFAP® en plantas de cebada cuya semilla se trató con y sin clorotalonil, se observaron diferencias significativas (Tabla 3). El tratamiento de la semilla con el fungicida disminuyó la colonización radical en 2.42%, ésta disminución es pequeña; sin embargo, es el promedio de todos los tiempos de muestreo, al analizar cada tiempo de muestreo individualmente se observarán diferencias mayores entre tratamientos.

Tabla 2. Cuadrados medios de las variables analizadas.

Fuente de variación	gl	Cuadrado medio
Dosis de clorotalonil (DC)	1	385.45*
Dosis de micorriza (DM)	3	31465.67**
Meses de almacenamiento (MA)	10	1967.49**
DC x DM	3	51.24**
DMxMA	30	468.70**
DC x MA	10	19.65**
DC x DM x MA	30	19.23**
Error	176	6.44

**Diferencias altamente significativas a $p \geq 0.05$, C.V.= 8.21

Tabla 3. Promedio de colonización radical por la Micorriza INIFAP® en plantas de cebada.

Tratamientos de semilla	Colonización radical (%)
Sin clorotalonil	32.11 a*
Con clorotalonil	29.69 b

*Valores con la misma letra son estadísticamente iguales, Tukey $p \geq 0.05$, $s = 2.53$

En la tabla 4 se muestra el porcentaje de colonización radical al aplicar diferentes dosis de Micorriza INIFAP®. Observamos diferencias significativas entre tratamientos, se puede destacar que al duplicar o triplicar la dosis se incrementa la colonización radical en aproximadamente 15% en comparación con la dosis recomendada, pero no existen diferencias entre los tratamientos con dos o tres dosis, lo que significa que con dos dosis hay suficiente inóculo para infectar al máximo la raíz.

Se han obtenido resultados contrastantes en el efecto de los pesticidas sobre la colonización radical por micorrizas. Campagnac *et al.* (2010), mencionan que el fenpropimorph afecta negativamente la colonización. Hwang *et al.* (1993), obtuvieron porcentajes de colonización radical superiores en presencia del fungicida metalaxyl a dosis pequeñas. Por su parte, Powell *et al.* (2009), han reportado que al aplicar glifosato se incrementa la colonización radical por micorrizas en cultivos de sorgo y soya.

Los resultados de colonización radical a través el tiempo de almacenamiento se presentan en la tabla 5. Existieron diferencias significativas, a medida que incrementa el tiempo de almacenamiento de la semilla inoculada (tratada o no tratada con el fungicida), la efectividad para infectar la raíz disminuye progresivamente. La disminución en el

porcentaje de colonización que se dio desde el momento de la inoculación hasta los 10 meses de almacenamiento fue de un 26%.

Tabla 4. Promedio de colonización radical utilizando distintas dosis de biofertilizante micorrícico.

Dosis de micorriza	Colonización radical (%)
0	0 c*
1	30.98 b
2	46.31 a
3	46.31 a

*Valores con la misma letra son estadísticamente iguales, Tukey $p \geq 0.05$, $s = 2.53$

Esta disminución probablemente se debe a que la micorriza inoculada en la semilla no se encuentra bajo las mismas condiciones herméticas de almacenamiento que en su envase original y va perdiendo viabilidad.

Asimismo, podemos observar que el porcentaje de germinación de la semilla disminuye a través del tiempo, en un período de 10 meses disminuyó en ca. 20%, siendo más afectada cuando se trató con clorotalonil (Figura 1).

Estos datos nos indican que no es recomendable tratar con clorotalonil e inocular la semilla de cebada y almacenarla por mucho tiempo. Se recomienda inocular antes de la siembra, o como máximo, inocular cinco meses antes de la siembra para perder menos del 50% de efectividad en la colonización.

Tabla 5. Colonización radical por Micorriza INIFAP® en cebada almacenada durante diez meses.

Tiempo de almacenamiento (mes)	Colonización radical (%)
0	46.79 a*
1	41.50 b
2	39.25 b
3	36.04 c
4	33.16 d
5	29.00 e
6	26.75 e
7	23.54 f
8	22.58 fg
9	20.66 g
10	20.66 g

*Valores con la misma letra son estadísticamente iguales, Tukey $p \geq 0.05$, $s = 2.53$

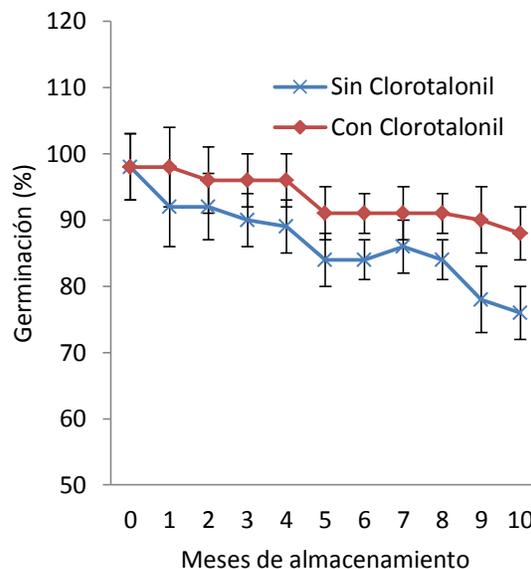


Figura 1. Pérdida de germinación a través del tiempo de almacenamiento de la semilla de cebada tratada con y sin clorotalonil.

En cuanto al porcentaje de colonización entre las dosis de biofertilizantes con y sin el tratamiento de semilla con clorotalonil, se presentaron diferencias significativas (Tabla 6). Observamos que la aplicación de clorotalonil disminuyó significativamente el porcentaje de colonización; sin embargo, no existieron diferencias en el porcentaje de colonización radical entre una y dos dosis de micorriza, ya sea en plantas con semilla tratada o no tratada con el fungicida.

Tabla 6. Interacción entre las dosis de biofertilizantes y la colonización radical.

Dosis de biofertilizante	Colonización radical (%)
Sin clorotalonil	
0	0.00 d*
1	32.09c
2	48.18a
3	48.18a
Con clorotalonil	
0	0.00 d
1	29.87c
2	44.45b
3	44.45b

*Valores con la misma letra son estadísticamente iguales, Tukey $p \geq 0.05$; $s = 1.20$

El almacenamiento afectó el porcentaje de colonización radical tanto en plántulas de semillas tratadas como no tratadas con el fungicida (Tabla 7). Se observa que se redujo en *ca.* 50% la efectividad de la colonización durante un período de 10 meses de almacenamiento (Figura 2).

Tabla 7. Efecto del tiempo de almacenamiento sobre la colonización radical por Micorriza INIFAP®.

Tratamiento / Tiempo de almacenamiento de semilla (meses)	de	Colonización radical (%)
Sin clorotalonil		
0		47.91a*
1		41.50b
2		41.50b
3		37.00 c
4		33.16d
5		29.00 e
6		29.00 e
7		24.50f
8		24.50f
9		22.58fg
10		22.58fg
Con clorotalonil		
0		45.66a
1		41.50b
2		37.00c
3		35.08cd
4		33.16d
5		29.00 e
6		24.50f
7		22.58fg
8		20.66hg
9		18.75 h
10		18.75h

*Valores con la misma letra son estadísticamente iguales, Tukey $p \geq 0.05$; $s = 0.93$

En la Figura 3 se muestra que independientemente de la cantidad de micorriza con que se inocule la semilla, después de 5 meses de almacenamiento se produce el mismo porcentaje de colonización en plántulas de semillas tratadas como no tratadas con el fungicida. La Micorriza INIFAP® está compuesta de suelo con esporas, hifas y raíces micorrizadas (Grageda-Cabrera y González-Figueroa, 2010).

Los resultados obtenidos mostraron que el porcentaje de germinación de la semilla disminuyó y fue el mismo que el obtenido a los 10 meses de almacenamiento cuando se trató con clorotalonil e inoculada con micorriza; sin embargo, el porcentaje de colonización radical fue el mismo que el obtenido al inicio (tiempo 0) del ensayo.

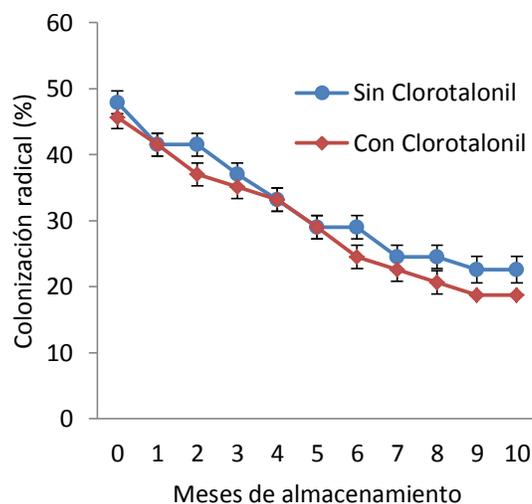


Figura 2. Colonización radical a diferentes tiempos de almacenamiento de la semilla.

Estos resultados nos indican que la micorriza inoculada a la semilla pierde viabilidad conforme pasa el tiempo de almacenamiento, y seguramente algunos componentes del biofertilizante (esporas, hifas o raicillas micorrizadas) bajan en efectividad debido a la aireación y exposición a cambios de humedad o producción de compuestos producidos por la semilla en almacenamiento; sin embargo, no existen reportes al respecto.

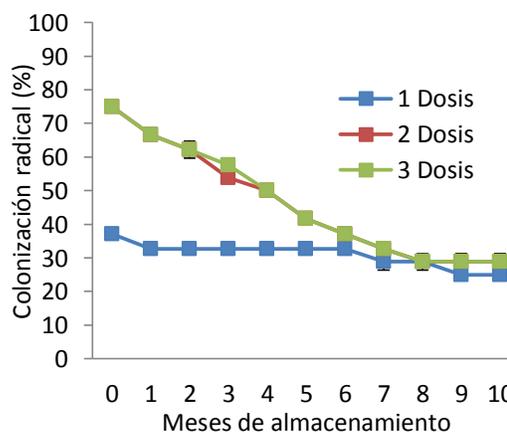


Figura 3. Colonización radical a diferentes tiempos de almacenamiento aplicando 1, 2 y 3 dosis de Micorriza INIFAP®.

CONCLUSIONES

El tratamiento de la semilla con clorotalonil disminuyó significativamente el porcentaje de colonización radical por la Micorriza INIFAP® en un 2.42%; sin embargo, debido a que la evaluación se

realizó a los 20 dds, esa disminución se puede recuperar al desarrollarse el cultivo.

Cuando la semilla se trató con clorotalonil, el tratamiento más afectado en cuanto a colonización radical por la Micorriza INIFAP[®] fue el de una dosis. Los tratamientos con doble y triple dosis no presentaron diferencia significativa entre ellos.

El almacenamiento de la semilla disminuyó significativamente el porcentaje de germinación en forma progresiva y directamente relacionada con el tiempo de almacenamiento, independientemente si estaba tratada con fungicida y micorriza.

A través del tiempo de almacenamiento de la semilla inoculada, la colonización radical por la Micorriza INIFAP[®] disminuye en *ca.* 50% en un período de 10 meses, ya sea tratada o no con fungicida.

Cuando la semilla de cebada se trate con clorotalonil, se sugiere duplicar la dosis de inoculación con Micorriza INIFAP[®].

Agradecimientos

A la Dirección de Bioeconomía de SAGARPA por el apoyo otorgado para la realización de este trabajo a través del convenio No. S2341HA4310111.

REFERENCIAS

- Campagnac, E., Lounès-Hadj, A., Debiane, D., Fontaine, J., Laruelle, F., Garçon, G., Verdin, A., Durand, R., Shirali, P., and Grandmougin-Ferjani, A. 2010. ArbuscularMycorrhiza Partially Protect Chicory Roots Against Oxidative Stress Induced by Two Fungicides, Fenpropimorph and Fenhexamid. *Mycorrhiza* 20: 167-178.
- Fernández, V.R., Veitía, R.M. y Rodríguez, R.Y. 2011. Compatibilidad entre nuevos plaguicidas químicos sistémicos y el hongo micorrizógeno *Glomusintraradices* Schenk y Smith. *Fitosanidad*. 15: 99-105.
- Financiera Rural. 2009. Dirección General Adjunta de Planeación Estratégica y Análisis Sectorial. Monografía Cebada.4 pp.
- Grageda-Cabrera, O.A. y González-Figueroa, S.S. 2010. Micorriza INIFAP^{MR}, preguntas y respuestas. Desplegable para productores No 21. INIFAP. México.
- Hernández-Dorrego, A. and Mestre, J. 2010. Evaluation of Some Fungicides on Mycorrhizal Symbiosis Between Two Glomus Species from Commercial Inocula and Allium porrum L. Seedlings. *Spanish Journal of Agricultural Research* 8: 43-50.
- Hwang, S. F., Chakravarty, P. and Prevost, D. Effects of Rhizobia, Metalaxyl, and VA Mycorrhizal Fungi on Growth, Nitrogen-Fixation, and Development of Pythium Root-Rot of Sainfoin. *Plant Dis.* 77: 1093-1098.
- Kormanik, P.P., Bryan, W.C., and Schultz, R.C. 1980. Procedures and equipment for staining large numbers of plant roots for endomycorrhizal assay. *Can. J. Microbiol.* 26: 536-538.
- Molina, C.J.L. 1989. La cebada. Editorial Mundi Prensa. Madrid, España.
- Powell, J.R., Campbell, R.G., Dunfield, K.E., Gulden, R.H., Hart, M.M., Levy-Booth, D.J., Klironomos, J.N., Pauls, K.P., Swanton, C.J., Trevors, J.T. and Antunes, P.M. 2009. Effect of glyphosate on the tripartite symbiosis formed by *Glomusintraradices*, *Bradyrhizobiumjaponicum* and genetically modified soybean. *Applied Soil Ecology.* 41: 128-138.
- SAS Institute Inc. 1990. SAS/STAT user's guide, version 6, 4th edn. SAS Institute, Cary, NC.
- Solano, S.H., Zamora, D.M., Gámez, V.P., García, R., J.J., Sánchez, C.R., Ireta M.J., Díaz, E.F. y Garza, G.R. 2009. Alina, nueva variedad de cebada maltera para riego en El Bajío. *Agricultura Técnica en México.* 35: 471-473.
- Zamora, D.M; Solano, H.S. y Sevilla, P.E. 2003. La Cebada Maltera (*Hordeumvulgare*L.) cereal fundamental en la historia del Campo Experimental Valle de México. *In: reseña histórica, SAGARPA-Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), Centro de Investigaciones de la Región Centro (CIRCE), Campo Experimental Valle de México (CEVAMEX). Chapingo, Estado de México, México. Publicación Especial No. 1. p. 31-38.*
- Zamora, D.M; Solano, H.S., Gómez, R.N., Rojas, M.I., Ireta, M.J., Garza, G.R. y Ortiz, T.C. 2008. Adabella: variedad de cebada maltera para valles altos de la mesa central de México. *ATM.* 34: 491-493.