

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA



Evaluación de los Herbicidas: Paraquat y Glifosato sobre el Crecimiento de
(*Rhizoctonia solani* Kühn) en Papa (*Solanum tuberosum*) "in vitro"

Por:

CRISTINA TREJO RAMOS

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Saltillo, Coahuila, México.

Marzo, 2018

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA

Evaluación de los Herbicidas: Paraquat y Glifosato sobre el Crecimiento de
(*Rhizoctonia solani* Kühn) en Papa (*Solanum tuberosum*) "in vitro"

Por:

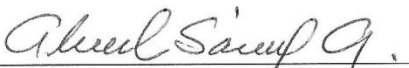
CRISTINA TREJO RAMOS

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

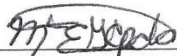
INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Aprobada por el Comité de Asesoría:



M.C. Abiel Sánchez Arizpe

Asesor Principal



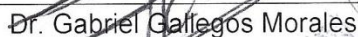
Dra. Ma. Elizabeth Galindo Cepeda

Coasesor



Ing. José Luis Arispe Vázquez

Coasesor



Dr. Gabriel Gállegos Morales
Coordinador de la División de Agronomía



Saltillo, Coahuila, México.

Marzo, 2018.

DEDICATORIA

Primeramente agradezco a **DIOS** por estar presente en mi vida, darme salud para lograr esta etapa importante en mi vida. **GRACIAS MI DIOS.**

De igual forma con mucho amor y cariño a quienes brindaron su tiempo, apoyó incondicional, quienes hicieron de mí una mujer de bien. **A USTEDES MI ETERNO AGRADECIMIENTO.**

Con cariño y amor a mis padres por estar presentes en mi vida, motivándome y apoyándome en cada etapa de mi formación, especialmente a la mujer maravillosa que me dio la vida y que siempre ha estado conmigo, gracias a su sacrificio hoy soy lo que soy, Gracias Madre mía, **TE AMO.**

Mis padres: J. Marcial Eugenio Trejo Montoya & Ma. Catalina Margarita Ramos Martínez

A mis hermanos por motivarme en momentos difíciles, especialmente a mi hermana Reina Trejo Ramos, quien fue mi compañera hasta el día de hoy: Margarita, José Gelasio, Ana María, Lydia y Reina Trejo Ramos

Con mucho amor y cariño a mi novio, por su confianza y apoyo incondicional, Por las palabras de aliento en momentos difíciles en mi vida, por motivarme a salir adelante en mi carrera profesional. A él con mucho amor: Saúl Hernández Hernández.

A mi “ALMA MATER” por mi formación profesional.

AGRADECIMIENTOS

A mi asesor M.C. Abiel Sánchez Arizpe, por su valiosa orientación y revisión de este trabajo.

A la Dra. Elizabeth Galindo Cepeda por su tiempo y dedicación para la orientación y revisión de este trabajo.

Al ing. José Luis Arispe Vázquez, por su valiosa orientación y revisión de este trabajo, por la ayuda incondicional en el análisis estadístico de este trabajo.

A la laboratorista y de más personal del Departamento de Parasitología, de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, por la ayuda brindada, para hacer posible este trabajo.

A todas aquellas personas que de una u otra manera participaron en la elaboración de este trabajo de Investigación.

ÍNDICE DE CONTENIDO	Pág.
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS.....	iv
ÍNDICE DE FIGURAS.....	viii
INDICE DE CUADROS	ix
RESUMEN	x
INTRODUCCIÓN	1
JUSTIFICACIÓN.....	2
OBJETIVO	2
HIPÓTESIS	2
REVISIÓN DE LITERATURA	3
<i>Agente Causal Rhizoctonia solani.....</i>	<i>3</i>
Clasificación taxonómica de <i>R. solani</i> según Agrios (2005).	3
Características morfológicas del hongo.....	4
Condiciones climáticas que favorecen a <i>R. solani</i>	4
Epidemiología de <i>R. solani</i>	4
Enfermedades ocasionadas por <i>R. solani</i> Kühn.	5
Síntomas de la enfermedad ocasionadas por <i>R. solani</i> Kühn.	6
Grupos de Anastomosis (GA) de <i>R. solani</i>	7
Descripción de los grupos de anastomosis.....	7
Control	8
Glifosato.....	9
Antecedentes.....	9
Descripción del glifosato	9
Composición química.....	10

Estructura química	10
Mecanismo de acción	10
Regulación y toxicología	11
Efecto de la aplicación de glifosato en los agroecosistemas	11
Paraquat	13
Descripción	13
Estructura química	13
Modo de acción del paraquat.....	14
Toxicología	14
Instrucciones de uso.....	15
Destino en el Ambiente	18
Suelo.....	18
Agua	18
Aire	19
Biota.....	19
MATERIALES Y MÉTODOS.....	20
Aislamiento del patógeno.....	20
Herbicidas utilizados	21
Preparación de los tratamientos	22
Medición del crecimiento micelial de <i>R. solani</i>	23
Identificación de <i>R. solani</i>	24
ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	25
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	26
CONCLUSIÓN	29
BIBLIOGRAFÍA	30

APÉNDICE..... 35

ÍNDICE DE FIGURAS

Pág.

FIGURA 1: Micelio de <i>Rhizoctonia solani</i> que muestra la ramificación de ángulo recto y la constricción en la base de la ramificación.....	4
FIGURA 2: Ciclo biológico de <i>R. solani</i> , el agente causal de la “costra negra” de la papa.....	5
FIGURA 3: Síntomas y signos en planta y tubérculos de papa.....	6
FIGURA 4: Grupos de anastomosis de <i>R. solani</i>	8
FIGURA 5: Estructura química del glifosato.....	10
FIGURA 6: Estructura química del paraquat.....	13
FIGURA 7: Departamento de Parasitología donde se ubica el Laboratorio de Fitopatología.....	20
FIGURA 8: Cepa de <i>R. solani</i> pura.....	21
FIGURA 9: Implante de <i>R. solani</i> en medio contaminado.....	23
FIGURA 10: Crecimiento radial de <i>R. solani</i> basado en cuatro puntos cardinales.....	23
FIGURA 11: Medición de crecimiento radial del <i>R. solani</i> en medios contaminados con los herbicidas.....	26
FIGURA 12: Identificación del hongo <i>R. solani</i>	26

INDICE DE CUADROS

	Pág.
CUADRO N° 1: Instrucciones de uso del paraquat.....	15
CUADRO N° 2: Preparación de tratamiento <i>Rhizoctonia solani</i> + glifosato a diferentes dosis.....	21
CUADRO N° 3: Preparación de tratamientos <i>Rhizoctonia solani</i> + paraquat a diferentes dosis.....	22
CUADRO N° 4: Comparación de medias del factor A.....	27
CUADRO N° 5: Comparación de medias del factor B.....	28
CUADRO N° 6: Análisis de Varianza por factoriales para el crecimiento micelial de <i>R. solani</i> , a las 192 horas, expuesto a los herbicidas.....	35
CUADRO N° 7: Tabla de comparación de medias del factor A X B.....	35
CUADRO N° 8: Porcentaje de inhibición de <i>R. solani</i> expuesto al glifosato y al paraquat.....	36

RESUMEN

Los productores de papa tienden a pérdida del 10 al 74% por problemas parasitológicos, siendo el cultivo de mayor importancia económica para el país, considerando el consumo en fresco y procesado, esto ha conllevado a buscar alternativas para el manejo de enfermedades entre las cuales se destacan las pudriciones de la raíz, existiendo diversos patógenos, agentes causales como es el patógeno *Rhizoctonia solani* Kühn , el objetivo de este trabajo es comprobar el efecto de los herbicidas sobre el crecimiento del hongo *in vitro*, en el cual se utilizaron dos herbicidas: Paraquat y Glifosato a diferentes dosis de concentración que corresponden a 10 ppm, 100 ppm, 1000 ppm y 10000 ppm, donde se puso a competir al hongo mediante la técnica de medio envenenado, efectuando registros de crecimiento radial del hongo cada 24 horas con la finalidad de demostrar su efecto fungicida. El hongo se identificó mediante las claves morfológicas de Barnett y Hunter, y las de Ogoshi. Los resultados se analizaron mediante un análisis de varianza con arreglo factorial (A x B) con dos niveles el factor A y cinco niveles en el factor B. El paraquat presenta efecto de inhibición en todas las dosis con un promedio del 97.66% a diferencia del glifosato que solo presento inhibición del 99.89% en la dosis alta.

Palabras claves: *Rhizoctonia solani*, Paraquat, Glifosato, *in vitro*.

INTRODUCCIÓN

En México la producción agrícola está afectada por un gran número de problemas parasitológicos, siendo las enfermedades un factor de suma importancia en la pérdida económica de las regiones agrícolas del país, estimando un 10% de la pérdida total.

Los productores enfrentan un problema serio en la producción debido a las pérdidas ocasionadas por cuestiones climáticas, plagas y enfermedades, que dañan al 74% de las unidades de producción.

El manejo fitosanitario de los cultivos comprende una red de interacciones tan complejas que es difícil anticipar en qué momento se presentara un brote infeccioso o el incremento en la población de una plaga y las consecuencias de daño que estos patógenos puede provocar en el desarrollo y crecimiento de los cultivos, viéndose afectada en el rendimiento de la cosecha. Entre las enfermedades causadas por hongos destacan las pudriciones de la raíz, existiendo diversos patógenos, agentes causales como es el patógeno *Rhizoctonia solani* Kühn y *Fusarium solani* f sp *phaseoli* (Burk) (Sagarpa, 2017).

De acuerdo con el atlas agroalimentario 2015 de la Sagarpa, en el lapso del 2004 al 2014 la producción de papa aumento en promedio anual 1.1 % destacando Sonora, Sinaloa y Veracruz que generan más de la mitad de la producción. Siendo el consumo per cápita anual nacional del tubérculo es de 14.9 kg. La tendencia anual en el consumo mundial de papa es la preferencia de la papa procesada sobre el consumo en fresco, por ejemplo, en estados unidos más del 50% de la papa se destina al procesamiento; para los casos de Colombia y Panamá, para este mismo mercado se utiliza entre el 15 y 30% de su producción (Espinoza, 2016).

Millikan y Fields (1964) Hallaron que 2,4-D inhibe drásticamente el crecimiento de *R. solani*, a un que Rodríguez *et al.* (1966) encontraron que el paraquat (dicloruro del 1-1-dimetil-4,4'-Bipiridilo) inhibe el crecimiento de *R. solani* bajo condiciones

de laboratorio y aplicando el mismo producto en el campo un día después de la siembra, observó un control muy reducido del mismo hongo (Jairo, 2017).

El propósito de este trabajo es para determinar qué efecto tienen los herbicidas glifosato y paraquat sobre el crecimiento de *R. solani* "in vitro".

JUSTIFICACIÓN

Debido a las pérdidas económicas causadas por hongos fitopatógenos presentes en el suelo pueden repercutir severamente en el desarrollo de cultivo de alta importancia económica para el país, anualmente disminuyendo la cantidad y calidad de las cosechas.

OBJETIVO

Determinar la efectividad del glifosato y paraquat bajo condiciones de laboratorio para el control de *Rhizoctonia solani* in vitro.

HIPÓTESIS

Se espera encontrar un efecto favorable de ambos herbicidas con una inhibición superior al 50% del microorganismo.

REVISIÓN DE LITERATURA

Agente Causal *Rhizoctonia solani*

R. solani persiste en suelo como saprófito en tejidos infectados o por colonización saprófita en plantas muertas en las cuales puede permanecer en latencia por largo periodo de tiempo (Ulacio *et al.*, 2002; Fernández, 2011).

R. solani (Teleomorfo: *Thanatephorus cucumeris* [Frank]) es la especie más importante de *Rhizoctonia* ya que afecta a una gran variedad de cultivos en todo el mundo (Pascual, 2000 citado por Fernández, 2011).

“Torres (2002) Menciona que ocasionalmente produce esporas sexuales conocidas como basidiosporas, lo cual ubica a *T. cucumeris* en la clase Basidiomicetes, ubicada actualmente como Phylum *Basidiomycota*” (Fernández, 2011).

Una particularidad del hongo es que pertenece a un grupo de anastomosis (GA). Estos GA se diferencian entre sí morfológicamente, fisiológica y serológicamente. Se conocen ocho grupos de anastomosis de *R. solani*, de los cuales cinco afectan a la papa, (GA2, GA3, GA4, GA5 Y GA7), los más importantes son GA3 que forman esclerocios en la superficie de los tubérculos y soporta temperaturas bajas. GA4, es más patogénico y soporta temperaturas altas (CIP, 1999 citado por Medina, 2014).

Clasificación taxonómica de *R. solani* según Agrios (2005).

Hongo superior

Subdivisión: Deuteromycotina

Clase: Agonomycetes

Orden: Agonomycetales (Myceliales)

Género: *Rhizoctonia*

Características morfológicas del hongo

En la base anamórfica que se ubica dentro de Phylum Basidiomycota, género *Rhizoctonia* (anamórfo). Presenta un micelio castaño oscuro con hifas algo gruesas, posee ramificaciones en ángulo recto, constricciones en el punto de origen de la ramificación de la hifa y formación de una septa en el punto de origen (Agrios, 2005; Barahona, 2012). Ver figura 1.

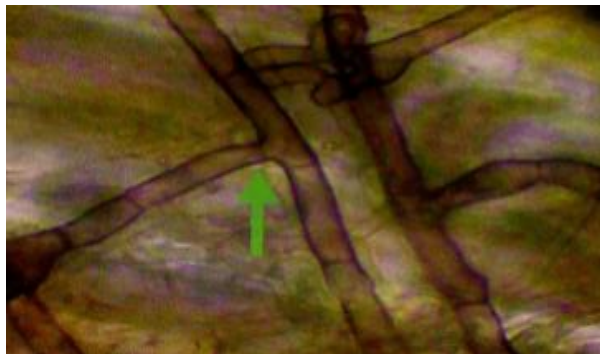


Figura 1: Micelio de *R. solani* que muestra la ramificación de ángulo recto y la constricción en la base de la ramificación.

Condiciones climáticas que favorecen a *R. solani*.

La temperatura óptima de desarrollo de la enfermedad es de 18°C y se ve favorecida por la presencia de humedad alta en el suelo y en el ambiente. Siendo su mínima de 8°C y una máxima de 35°C (Apablaza, 2000).

Epidemiología de *R. solani*

(Oyala *et al.*, 1994 citado por Zúñiga, 2006), indica que *R. solani* puede sobrevivir en la tierra como esclerocio, en asociación con residuos de cosecha, o de manera saprofita en la materia orgánica. Las fuentes primarias de inóculo son los esclerocios y las hifas, o cuando se presenta el estado telomorfo *T. cucumeris*, las basidiosporas. El patógeno puede ser diseminado por semilla, material trasplantado, las corrientes de aire, y por salpique de la lluvia en la tierra. La

humedad es un factor muy importante en la epidemiología de *R. solani*. Ver figura 2.

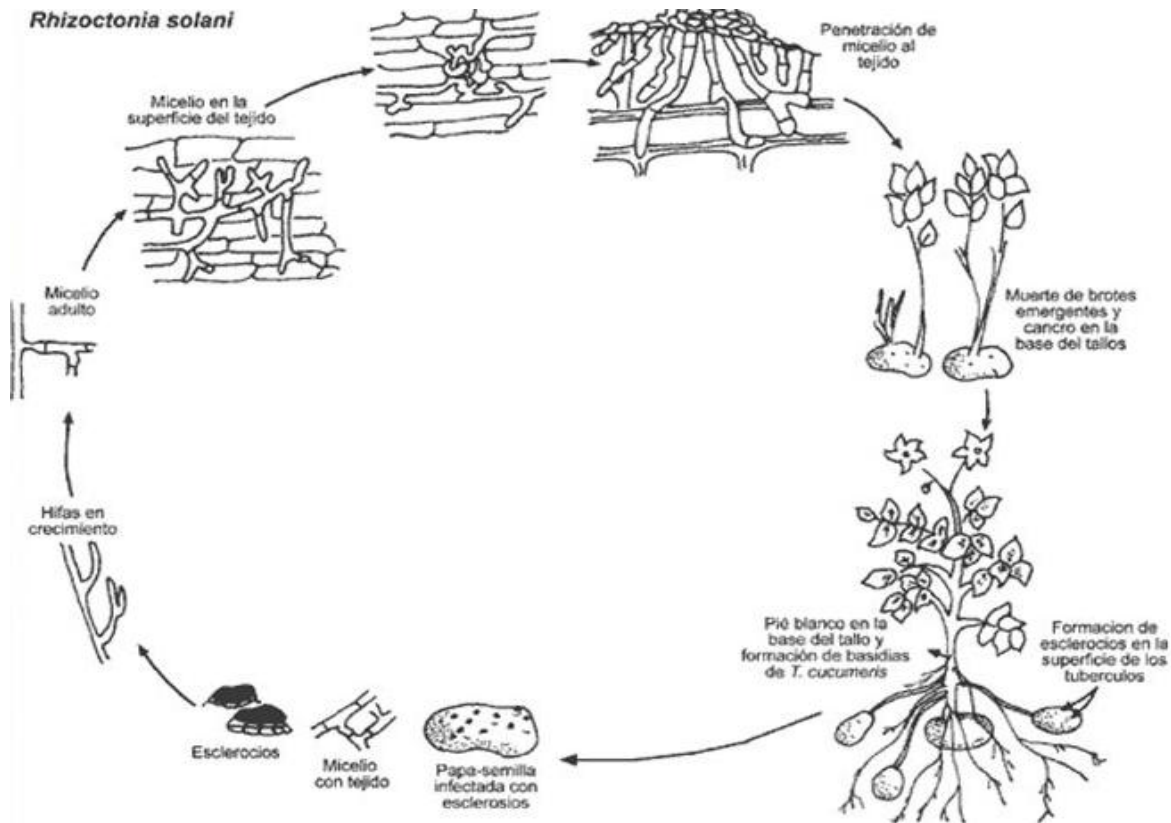


Figura 2: Ciclo biológico de *R. solani*, el agente causal de la “costra negra” de la papa. AGRIOS (2005).

Enfermedades ocasionadas por *R. solani* Kühn.

Esta enfermedad se presenta en todo el mundo, produciendo pérdidas de un 20 a un 50% en siembra directa, viéndose reflejado en la maduración y principalmente en el rendimiento. Causando la marchitez en cultivos como: algodón, frijol, papa, chícharo, crucíferas, tabaco, clavel, gladiola, cebolla, ajo, esparrago, soya, berenjena, tomate y chile. En condiciones favorables ataca plántulas antes de que hayan emergido o poco después de la emergencia del suelo, por lo que es un problema que se debe ejercer acciones de control (López, 1994).

Síntomas de la enfermedad ocasionadas por *R. solani* Kühn.

Los síntomas que este patógeno presenta es la necrosis en partes tiernas de plantas jóvenes, tallos y estolones, esta patología conocida como “cancro negro”, presentándose los daños más severos en primavera poco después de la plantación y es un problema serio puesto que las plantas jóvenes crecen infectadas también, dando como resultado desigualdad en el crecimiento, plantas débiles y fallas de emergencia (Ver figura 3) suscitándose una gran diversidad de síntomas secundarios, Incluyendo el retardo del crecimiento, arrocetamiento del ápice, necrosis cortical del tejido leñoso, pigmentación púrpura de las hojas y formación de tubérculos aéreos, además se puede observar sobre la línea del suelo una capa blanco-plomiza, dándole a la superficie una apariencia polvorienta y es una enfermedad llamada “pie blanco”. El principal daño en tubérculos es la presencia de esclerocios de color negro a castaño oscuro estos toman forma de terrones, de ahí su nombre “costra negra” otros síntomas que presentan son agrieta duras, malformaciones y concavidades y necrosis en el extremo de unión con estolón (Castro *et al.*, 2011).



Figura 3: Síntomas y signos en planta y tubérculos de papa

A: Tallos de papa con pie blanco; B: Necrosis o “cancro” en brotes; C: Tubérculos aéreos; D: Esclerocios sobre tubérculos de papa (Foto digitales: autor Proyecto Fondo SAG 24-10-100, Universidad Austral de Chile; Patricia Castro U., Ing. Agrónomo, Universidad Austral de Chile).

Grupos de Anastomosis (GA) de *R. solani*.

“Los esfuerzos por dividir *R. solani* en agrupaciones lógicas entran en por lo menos dos categorías: 1) la anastomosis hifal y diferencias en el patogenicidad y 2) la apariencia física del medio (Stevent and Jones, 1993)” (Zúñiga, 2006).

Descripción de los grupos de anastomosis

“**GA-1:** Este grupo está en tres subgrupos y se encuentra distribuido a nivel mundial. Se ha caracterizado en base a su morfología colonial y su patogenicidad. Siendo los subgrupos los siguientes: **AG-1-IA** (es llamado de tipo 2 o Sasaki), **AG-1-IB** (Es llamado tipo 1 o microesclerocios) y el **AG.1.IA**, causa el tizón de la vaina de arroz y mancha café de pastos (Zúñiga, 2006).

“**AG-1-IB** causa tizones en diversos hospederos y el **AG-1-IC**, es patógeno de suelo y causa Damping off en muchos hospederos (Mew y Rosales, 1986 citado por Zúñiga, 2006).

GA-2: Este también cuenta con tres subgrupos en base a su patogenicidad y requerimientos nutricionales. Los subgrupos son los siguientes: **GA 2-1** (ataca principalmente cultivos de invierno) **GA2-2-IIIB**, **GA 2-2 IV**. El **GA 2-1** es patógeno del suelo y aéreo, produce *Damping off* y pudriciones de raíz. El **GA 2-2 IIIB** es patógeno de suelo y causa pudriciones de raíz en remolacha (Olaya *et al.*, 1994).

“También ha sido reportado el zacate bermuda (*Cynodon dactylon*) como hospedero del **GA 2-2** (Zarlengo *et al.*, 1994 citado por Zúñiga, 2006).

De acuerdo a CIP, 1999 citado por Medina, 2014 mencionó cinco grupos de anastomosis que afectan a la papa los cuales son: GA2, GA3, GA4, GA5, GA7, más sin embargo los más importantes son GA3 que forman esclerocios en la superficie de los tubérculos y tolera temperaturas bajas, y GA4 es más patogénico y soporta temperaturas altas, ver figura 4.

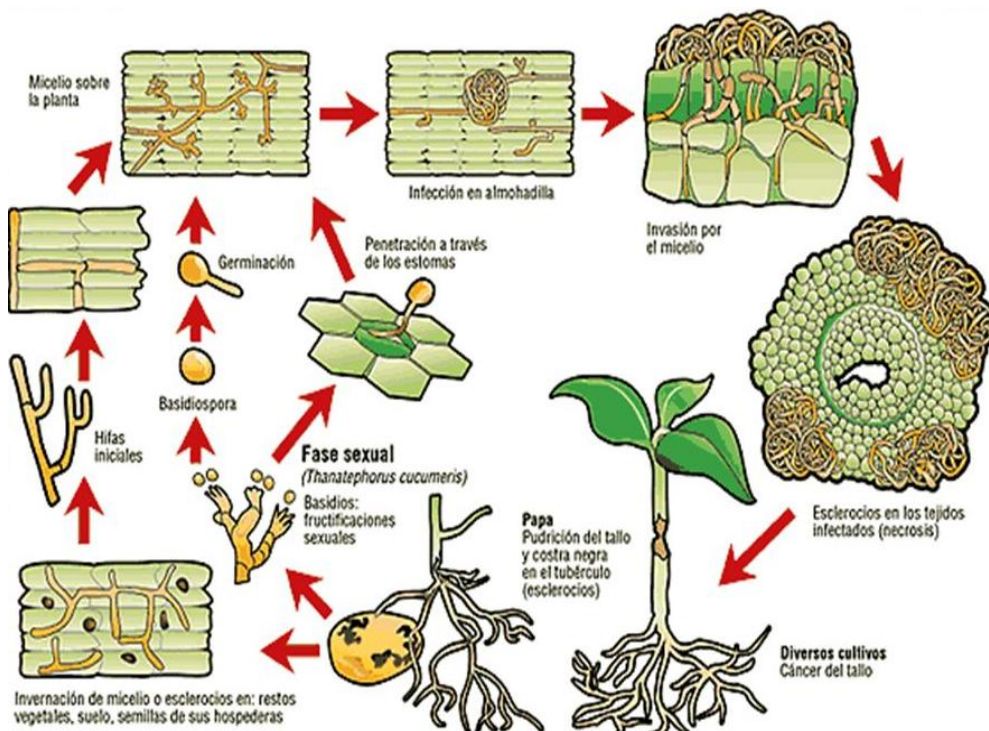


Figura 4: Grupos de anastomosis de *R. solani*.

Control

La prevención de la enfermedad depende de iniciar con el uso de semillas libres de esclerocios o desinfectadas con contaminantes químicos antes de ser llevadas a campo (plantación), por tanto es muy importante efectuar la rotación apropiada de cultivos, aproximadamente en un lapso de 2 a 3 años preferentemente con gramíneas. La incidencia del hongo en la planta disminuye con el desarrollo del follaje, y en base a esto se recomienda realizar prácticas que favorezcan la rápida emergencia de los tallos como: 1) sembrar en suelos templados; 2) plantar superficialmente las semillas (profundidad de 8-10cm); 3) usar semillas pre brotadas (Castro y Contreras, 2011; Medina, 2014).

Además, sembrar en suelos con buen drenaje y minimizar el periodo de permanencia de los tubérculos en el suelo una vez cortado el follaje. Para finalizar, eliminar o quemar los restos de cosecha. Esta práctica es válida para eliminar el micelio del hongo que se encuentra en restos de tallos y estolones infectados en el campo después de la cosecha (CIP, 1999, citado por Medina, 2014).

Glifosato

Antecedentes

Estudios realizados a campo y en condiciones controladas han encontrado efecto del glifosato sobre la actividad de diferentes microorganismos del suelo. Por ejemplo, en condiciones de laboratorio se ha encontrado disminuciones del crecimiento micelial de *Fusarium solani*, *Pythium spp* y *Trichoderma viride* frente a concentraciones altas del herbicida (Civeira, 2012).

Vargas *et al.*, 2002 realizaron estudios *in vitro* donde evaluaron al herbicida glifosato sobre el crecimiento de *R. solani*, donde menciona que a dosis altas causó inhibición total del crecimiento del hongo. Donde en el tratamiento de 1.000mg/L del herbicida el crecimiento se redujo entre el 84 y 65 % respecto al testigo. La dosis más baja que causó inhibición del crecimiento del hongo estuvo alrededor de 2500 mg/L el herbicida, y la concentración de cerca de 300 mg/L sería la dosis más alta sin efecto sobre el crecimiento de *R. solani*.

En Colombia además de usarse como herbicida se ha demostrado que es un excelente desecante de granos y por vía aérea como madurante en la caña de azúcar y en los programas de erradicación de cultivos ilícitos erradicando simultáneamente cultivos alimenticios y especies silvestres, sin que se hayan estudiado los verdaderos impactos de su utilización sobre la salud de las personas y el medio ambiente (Nivia, s. f).

Descripción del glifosato

El glifosato retarda la etapa de emergencia de la plántula, deformaciones en las hojas primarias (cotiledones), aumenta la formación de antocianinas en los cotiledones (rasgos de falta de luz), desarrollo desproporcionado de la raíz, senescencia tardía de los cotiledones (retraso en el crecimiento de las plantas) y

deformación de las hojas en comparación a las plantas donde no se aplica el glifosato (Civeira, 2012).

Composición química

El glifosato es una sal isopropilamina de (N-(fosfonometil) glicina), con un peso molecular de 228,18 gr/mol, el cual es un herbicida no selectivo, sistémico de acción foliar, es decir, que ingresa a la planta a través de las hojas para después migrar a otras partes del tejido vegetal donde será mínimamente metabolizado (Eslava *et al.*, 2007; Cofepris, 2009).

La Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS) autoriza el uso del glifosato en acciones urbanas, de jardinería y agrícola. En este último para la destrucción de maleza de los cultivos de maíz frijol, trigo, cítricos, tomate, vid, sorgo y papa entre otros. Es comercializado con los nombres de Aquamaster, Faena, Mamba, Glifos, y otros, en presentaciones de concentrado soluble, solución concentrada y solución acuosa las cuales se expanden en concentraciones de 350 a 750 gramos de ingrediente activo por litro o por kilogramo (Cofepris, 2009).

Estructura química

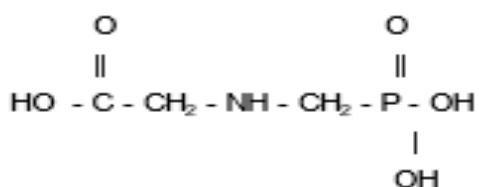


Figura 5: Estructura Química del Glifosato.

Mecanismo de acción

El mecanismo de acción del glifosato es por medio de la inhibición de la biosíntesis de aminoácidos aromáticos en las plantas (triptófano, fenilamina y tirosina mediante la inhibición de las enzimas 5-enolpiruvilshikimato-3-fosfato-

sintetasa (EPSPS), con lo que se reduce la producción de proteínas y el desarrollo de las mismas (Eslava *et al.*, 2007; Cofepris, 2009).

Regulación y toxicología

En el marco regulatorio mexicano COFEPRIS en el Catálogo de Plaguicidas (2009), consideran al glifosato como un herbicida de la clasificación fosfometilglicina grado IV de toxicidad (ligeramente tóxico), con DL50 (oral en ratas) mayor a 5000 mg kg⁻¹, ingesta diaria admisible (IDA) de 0,3mg kg⁻¹ y límite máximo residual (LMR) en maíz y frijol, de 0,1 y 0,2 mg kg⁻¹ respectivamente. En efectos a la salud por exposición aguda lo clasifica como ligeramente irritante dérmico y oral, y severo irritante de los ojos. Mientras que en exposición crónica no se han encontrado efectos en la salud en estudios realizados en animales.

COFEPRIS, mencionó que el glifosato es ligeramente tóxico a aves y ligeramente persistente (14 a 22 días), lo cual varía con lo expuesto por Smith y Aubin (1993), mencionan que el glifosato fue metabolizado en suelos húmedos no estériles con un tiempo promedio de vida de 30 a 40 días.

En estudios realizados demostraron la presencia de residuos de glifosato después de haber sido aplicado en alimentos tales como: fresa, arándanos, cereales, frambuesa, lechugas, zanahorias y cebada (Cain, 1992 citado por Salazar *et al.*, 2011).

Efecto de la aplicación de glifosato en los agroecosistemas

Civeira, 2012 mencionó que cantidades significativas de glifosato aplicado a plantas no objetivo llegan al suelo como resultado del contacto directo, del lavado desde las hojas y de la exudación de las raíces de la maleza tratada, a hora bien los residuos de glifosato (90 %) se encuentran a los 15 cm de profundidad del suelo, lo que representa una amenaza importante para la actividad microbiana, reciente mente se observó la deriva de un (12 %) de la dosis comúnmente

aplicados de glifosato que afectaron el crecimiento de tallos y la actividad de nódulos (fijadores de nitrógeno) en plantas de soja resistentes a glifosato especialmente durante la etapa de desarrollo vegetativo. Se han efectuado experimentos de invernáculos donde se analizó el potencial de re movilización del glifosato por el fertilizante fosforado en suelos y su efecto sobre toxicidad de plantas de soja (*Glycine max*) dando como resultado toxicidad por glifosato. Además se observó:1) menor volumen de biomasa en plantas; 2) menor porcentaje de germinación de semillas; 3) menor acumulación de la enzima indicadora de toxicidad del glifosato; 4) bajo estatus nutricional de la planta.

Existe gran disparidad en la literatura acerca de la capacidad de retención del glifosato por distintos tipos de suelo, lo mismo que para su degradación. A sí mismo en bibliografías se menciona que el glifosato posee alta propensión a ser retenido por las partículas del suelo, ya que se carga eléctricamente y se absorbe con fuerza a la materia orgánica con ello abandona el agua y permanece inmóvil o presenta poca movilidad en el suelo. Es importante mencionar que el glifosato permanece en residuos (tejidos vegetales) de plantas muertas por su aplicación, permaneciendo por un lapso de ocho a nueve días. Sin embargo estudios realizados en Canadá reportan que la vida media del glifosato en el suelo o agua es de 60 días. Ahora bien, si el glifosato no se degrada fácilmente en agua estéril, en presencia de bacterias y hongos se descompone y da lugar a un ácido de baja toxicidad y probablemente a dióxido de carbono, según la EPA. Se ha documentado la degradación de este ácido o molécula de fosforo inorgánico, que no tiene acción herbicida ni efecto toxico para organismos acuáticos en la concentración que se originaria por el uso en la agricultura, sin embargo el glifosato también se ha documentado como un limitante para la absorción de nutrientes tales como Fe y Mn en las plantas no objetivo, reflejándose en deficiencia nutricional y menos posibilidad de crecimiento de vegetación. Sin embargo, en suelos muy ricos en materia orgánica, el glifosato puede unirse a compuestos orgánicos solubles en agua y conservar cierta movilidad que lo puede llevar tanto a niveles más profundos del suelo como hacia aguas superficiales. En esas aguas puede intoxicar a organismos que se alimentan por filtración

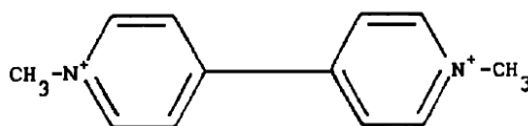
(crustáceos y moluscos) o a otros que ingieren cantidades significativas de suelo durante su alimentación normal, como peces, aves, anfibios y hasta algunos mamíferos. La adsorción del glifosato, y por lo tanto su movilidad varían con el tipo de suelo. En aquellos ricos en óxidos de hierro, como los de Misiones, es mayor, lo que disminuiría su degradación química o biológica. La presencia de cobre disminuye la absorción, por la formación de compuestos del herbicida con ese metal (Civeira, 2012).

Paraquat

Descripción

Es un herbicida post- emergente de contacto, no selectivo, especialmente indicado para el control de una gama amplia de maleza tales como gramíneas y de hoja ancha en frutales y cultivos bajos, en cualquier época del año. Actúa rápidamente sobre la maleza, resistiendo lluvias que puedan caer entre los 30 minutos y una hora después de la aplicación. Controla maleza en condiciones de falta de humedad, baja temperatura y baja luminosidad, cuando los herbicidas sistémicos (por ejemplo: el glifosato) no tienen buena actividad o simplemente su acción es muy lenta. Se inactiva totalmente al entrar en contacto con el suelo y no se lixivia ni bioacumula. Es usado en barbechos químicos, siembra directa (cero labranzas), presembrado, preemergencia y entre las hileras de los cultivos. También es utilizado para renovación de empastadas, sin efectuar labores culturales (Syngenta, 2016).

Estructura química



1,1- dimetil-4,4 dipiridilo

Figura 6: Estructura Química del Paraquat

Modo de acción del paraquat

El paraquat actúa por contacto sobre partes verdes del vegetal y es activado por la luz solar para formar compuestos oxigenados como el peróxido de hidrógeno. Actúa como disruptor de las membranas celulares, desintegrando el plasmalema por polimerización de los componentes lipídicos insaturados, lo que resulta en una rápida necrosis tisular (Füerst *et al.*, 1990 citado por Della, 2004)

El movimiento del herbicida a través de la parte aérea del vegetal ocurre rápidamente, distribuyéndose predominantemente por el xilema, ya que el daño celular y la rápida transpiración impide que este producto tenga una amplia distribución por el floema.

El paraquat es reducido a radical catión estable en los cloroplastos, por un proceso de transferencia de un electrón que es revertido por el oxígeno molecular generando peróxido de hidrogeno. Este producto y su radical catión comprende un sistema redox (Sustres, 2002; Della, 2004).

“La energía para la reacción química de reducción proviene de la fotólisis del agua, o de la respiración en la oscuridad. Una vez formados los radicales inician un conjunto de reacciones, que en presencia de oxígeno, promueve la destrucción de compuestos celulares esenciales. Este herbicida tiene un potencial de reducción similar al de las reacciones de transferencia de electrones asociadas al fotosistema I. La reducción del herbicida también puede ocurrir en el fotosistema II, pero con menor extensión que en el fotosistema I (Schmidt, 1997)” (Della, 2004).

Toxicología

“EPA (2000) menciona que al ingerir una dosificación adecuada, el paraquat afecta el tracto gastrointestinal, como el riñón, hígado, corazón y otros órganos, poniendo en riesgo la vida. La DL50 en humanos es aproximadamente 3 a 5 mg/kg, lo cual se traduce a tan sólo 10 a 15 ml en una solución al 20%. Es muy

importante recalcar esto debido a que los pulmones son el primer blanco del paraquat, y los efectos pulmonares representan la manifestación más letal y menos tratable de la toxicidad. Sin embargo la toxicidad por inhalación es muy rara. Que el mecanismo principal lo es la generación de radicales libres que oxidan el tejido pulmonar”.

Aunque el edema pulmonar agudo y los daños al pulmón pueden ocurrir unas cuantas horas después de exposiciones agudas severas, la lesión tóxica retrasada de la fibrosis pulmonar, principal causa de muerte, ocurre más comúnmente entre 7 a 14 días posteriores a la ingestión (Alcívar, 2015).

Instrucciones de uso

Se recomienda su uso sobre maleza gramíneas y de hoja ancha: pasto quila (*Agrostis* spp.), bromo (*Bromus* spp.), pasto bermuda (*Cynodon dactylon*), hualcacho (*Echinochloa crus-galli*), ballica (*Lolium* spp.), chépica (*Paspalum* spp.), maicillo (*Sorghum halepense*), bledo (*Amaranthus* spp.), bolsita del pastor (*Capsella bursa-pastoris*), correhuela (*Convolvulus arvensis*), quingüilla (*Chenopodium album*), chamico (*Datura stramonium*), galega (*Galega officinalis*), malva (*Malva parviflora*), manzanilla (*Matricaria chamomilla*), sanguinaria (*Polygonum aviculare*), verdolaga (*Portulaca oleracea*), rábano (*Raphanus raphanistrum*), zarzamora (*Rubus ulmifolius*), quilloy-quilloy (*Stellaria media*), verónica (*Veronica persicae*) y chufa (*Cyperus esculentus*), de acuerdo a los siguientes programa de tratamientos, cuadro 1 (Syngenta ,2016).

Cuadro 1: Instrucciones de uso del paraquat.

Cultivos	Dosis (L/ ha)	Observaciones
Frutales Pomáceos (Manzano, Peral, Membrillero) Frutales de Carozo (Almendro, Cerezo, Ciruelo, Damasco, Duraznero, Guindo, Nectarino) Frutales Cítricos (Clementina, Lima,		Aplicar sobre las malezas, hasta 5 veces en la temporada, alternando con productos de diferente modo de acción, cuidando estrictamente no aplicar

<p>Limonero, Mandarino, Naranja, Pomelo, Tangelo, Tangerina) Frutales menores (Arándano, Frambuesa, Frutilla, Mora) Otros frutales (Nogal, Kiwi, Baby Kiwi, Chirimoyo, Granado, Higo, Avellano, Caqui, Castaño, Papayo, Olivo, Palto, Pecano, Pistacho, Mango, Níspero, Vides)</p>	<p>1,5-3,0 (0,75-1,0 L/100 L de agua)</p>	<p>GRAMOXONE® SUPER sobre corteza inmadura o partes verdes de las plantas. En huertos jóvenes aplicar con campana protectora de boquillas, mientras la corteza del árbol esté inmadura.</p>
<p>Praderas de Alfalfa</p>	<p>1,5-3,0</p>	<p>Aplicar durante la latencia invernal o inmediatamente después del corte. No aplicar durante los 6 primeros meses del establecimiento de la alfalfa. Aplicar hasta 3 veces durante la latencia alternando con productos de diferente modo de acción.</p>
<p>Cultivos de Siembra directa: - Avena Trigo, Cebada, Centeno, Triticale - Garbanzo, Frejol, Lenteja, Maíz, Maravilla, Papa, Remolacha, Sorgo, Soya - Ají, Ajo, Arveja, Acelga, Achicoria, Betarraga, Brócoli, Cebolla, Endivia, Endibia, Espinaca, Haba, Lechuga, Melón, Nabo, Perejil, Pepino, Pimiento, Poroto verde, Puerro, Rábano, Radicchio, Salsifí, Sandía, Tomate, Zanahoria, Zapallo</p>	<p>1,5-3,0</p>	<p>Aplicar en presiembra o preemergencia de cultivos sobre las malezas presentes. Aplicar antes de realizar la siembra o antes de la emergencia del cultivo. No aplicar con el cultivo presente. Aplicar 1 vez en la temporada.</p>

<p>Cultivos de plantación o trasplante: - Acelga, Achicoria, Ají, Ajo, Alcachofa, Apio, Berenjena, Betarraga, Brócoli, Camote, Cebolla, Coliflor, Endivia, Espárrago, Lechuga, Orégano, Pepino dulce, Pimiento, Puerro, Radicchio, Repollito de Bruselas, Repollo, Sandía, Tomate</p>	<p>1,5-3,0</p>	<p>Aplicar en preplantación o pretrasplante sobre las malezas presentes. Aplicar con malezas presentes antes de realizar la plantación o el trasplante del cultivo. No aplicar con el cultivo presente. Aplicar 1 vez en la temporada.</p>
<p>Entre hileras de cultivos: Alcachofa, Espárrago, Melón, Sandía, Zapallo</p>	<p>1,5-3,0</p>	<p>Realizar aplicaciones dirigidas a las malezas presentes entre las hileras de cultivo, cuidando estrictamente de no tocar el cultivo. Aplicar 1 vez en la temporada.</p>
<p>Desecante para facilitar la cosecha: Maíz, Trigo.</p>	<p>2,0-3,0</p>	<p>Aplicar 2 a 3 semanas antes de la cosecha o cuando las semillas tengan menos de un 35% de humedad (madurez fisiológica). Aplicar una vez en la temporada.</p>
<p>Renovación de empastadas: Alfalfa, Trébol, Vicia, Lotera, Ballica, Avena, Festuca.</p>	<p>2,0-3,0</p>	<p>Además de controlar malezas permite renovar empastadas, sin efectuar labores culturales.</p>
<p>Bordes de caminos, canales secos (sin agua) y sitios industriales.</p>	<p>3,0-4,0</p>	<p>Aplicar en toda la superficie, con buen mojamiento y repitiendo el tratamiento según necesidad.</p>

Destino en el Ambiente

Suelo

Este herbicida es fuertemente absorbido por el suelo, coloides y materias orgánicas de las partículas, de tal modo que disminuye su biodisponibilidad para las plantas, lombrices de tierra y microorganismos. Principalmente por estar inmóvil en los suelos resulta muy persistente. Los residuos pueden permanecer de manera indefinida y ser transportados por escorrentías junto con el sedimento. Bajo condiciones de campo, el residuo es lentamente redistribuido, registrándose valores de degradación de 5-10% por año (Who, 1996).

No produce efectos adversos sobre la microflora y otros organismos edáficos, o sobre el crecimiento de los cultivos a niveles normales y altos de aplicación. Los microorganismos pueden degradar de forma rápida al paraquat libre, pero la descomposición química del producto adsorbido es relativamente lenta y poco importante. La foto descomposición se produce en las plantas tratadas al ser expuestas a la luz solar y continúa aún después que la planta muere. Siendo los productos menos tóxicos que el compuesto original. Además el paraquat no muestra alto riesgo de contaminación de aguas subterráneas. Sólo puede llegar al agua por la erosión. El producto penetra adsorbido en las partículas sólidas del suelo, quedando temporalmente en suspensión y luego se deposita en los sedimentos del lecho de los sistemas acuáticos (Della, 2004).

Agua

En el medio acuático el paraquat es absorbido por los sedimentos o material en suspensión y por la vegetación acuática. En este último caso, al descomponerse los tejidos es liberado y fijado al sedimento. Su persistencia es mayor en este caso que en el suelo, por la limitada disponibilidad de oxígeno. En aplicaciones para controlar malezas acuáticas, a dosis normales 1 mg/L la concentración puede

bajar a la mitad del nivel inicial en 36 horas y por debajo de 0,01 mg/L en menos de 2 semanas.

A la dosis recomendada para el control de maleza acuática, puede causar un daño indirecto al aumentar la cantidad de materia vegetal muerta en el cuerpo de agua, cuya putrefacción consume gran cantidad de oxígeno disuelto, produciendo ambientes hipóxicos (Peña *et al.*, 2001; Della, 2004).

Aire

WHO, 1996 menciona que este herbicida no es volátil. La cantidad del producto en el aire es insignificante bajo condiciones normales de uso, se registran de 0,0004 a 0,001 mg/m³ en las partículas del aire (Della, 2004).

Biota

Por su carácter herbicida es tóxico para vegetación terrestre y acuática. La maleza acuática puede bioacumular al compuesto. Siendo moderada a altamente tóxica para muchas especies de peces, incluyendo la trucha arcoíris y bagre o siluro del canal (WSSA, 1994; Della, 2004).

Es levemente tóxica para abejas y no produce efectos dañinos en aves bajo condiciones normales de uso (Walker y Keith, 1992; Della, 2004).

No hay evidencias de acumulación de paraquat en lombrices de tierra (*Lumbriculus terrestris*) y en nematodos fitófagos (Göllener, 1989; Della, 2004).

MATERIALES Y MÉTODOS

Este trabajo se realizó en el Laboratorio de Fitopatología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Buenavista, Saltillo, Coahuila.



Figura 7: Departamento de Parasitología donde se ubica el Laboratorio de Fitopatología.

Aislamiento del patógeno

Se colectaron tubérculos de papa con síntomas de este patógeno (esclerocios), posteriormente se procedió a hacer cortes del material enfermo de más o menos 1 cm² puestos en cajas Petri desinfectados con hipoclorito de sodio al 2 % durante 5 minutos, seguidamente se depositaron en otra caja Petri que contenía agua destilada estéril durante 5 minutos, esto con la finalidad de desinfectar el material vegetal, a fin de evitar que llevara otros patógenos (contaminantes) sin interés por último se colocó en toalla papel estéril para el secado. La siembra consto en colocar pedazos de material vegetal con síntomas de ± 1 cm de longitud separados de una distancia igual, en medio de cultivo PDA, por último se sellaron las cajas con parafilm, y se incubaron a una temperatura de 28 °C.

Se estuvo revisando constantemente el crecimiento del hongo con la finalidad de identificar cepas contaminadas y en caso de que se presentarán se procedía a resembrar en cajas de PDA estériles, hasta lograr la obtención del cultivo puro del hongo como se ilustra en la figura 8.



Figura 8: Cepa de *R. solani* pura.

Herbicidas utilizados

Los herbicidas usados fueron glifosato y paraquat en rangos de concentración de 10, 100, 1000 Y 10000 ppm, sobre el hongo ya mencionado, los tratamientos fueron obtenidos mediante la combinación de las concentraciones y el hongo respectivo. Ver cuadro 2 y 3.

Cuadro n^o 2		<i>Glifosato con R. solani</i>	
Tratamientos	Ppm	ml. de herbicida en 200 ml de PDA	
I	10	0.002	
II	100	0.0245	
III	1000	0.245	
IV	10000	2.45	
V	Testigo	Hongo	

Cuadro n° 3		Paraquat con <i>R. solani</i> .	
Tratamientos	ppm	ml. de herbicida en 300 ml de PDA	
I	10		0.0027
II	100		0.0276
III	1000		0.2762
IV	10000		2.762
V	Testigo		Hongo

Preparación de los tratamientos

Se pesó en una balanza analítica 3.9 gramos de PDA y se vació a un matraz de 250 ml y se aforo con agua destilada a 100 ml (se prepararon 5 matraces, que corresponde a los 4 tratamientos y el testigo absoluto), se colocó los matraces en una autoclave (15Lbs/pulg² durante 15 minutos para su esterilización).

Se preparó los tratamientos con el herbicida glifosato de la siguiente manera: en el primer matraz se agregó con una micro pipeta (10-100 microlitros) 0.00245ml del herbicida glifosato para la concentración de 10 ppm, se agito y se vació en 6 cajas Petri esterilizadas, y se marcaron para su posterior identificación, se mantuvieron en la cámara bioclimática por 24 horas con la finalidad de que solidifique el medio (PDA), posteriormente en la cámara bioclimática con el sacabocado esterilizado se obtuvo el implante del hongo que se colocó en la caja Petri (medio tratado con glifosato), se selló con parafilm se marcó con 4 puntos cardinales para medir el crecimiento radial del hongo para el tratamiento 1, se preparó los tratamientos con sus respectivas dosis de glifosato, siendo los siguientes tratamientos: 2 (0.0245 ml, 3 (0.245 ml) y 4 (2.45 ml) como se muestra en el cuadro 1, comparados con un testigo absoluto sin herbicida solo PDA y el implante del hongo (*R. solani*) como se ilustra en la Figura 9.

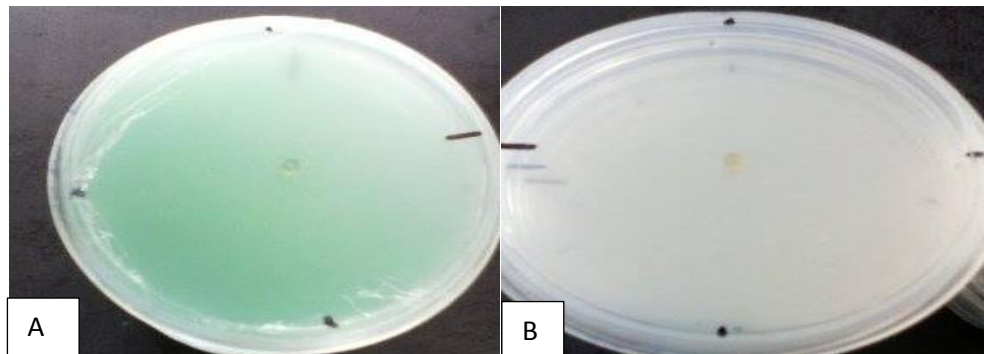


Figura 9: Ímplate de *R. solani* en medio contaminado

- A) Implante en medio contaminado con herbicida(Paraquat)
- B) Implante en medio contaminado con herbicida (Glifosato)

Se efectuó el mismo procedimiento para la preparación de los tratamientos tratados con el herbicida paraquat a diferentes dosis de concentración del herbicida como se mostró en el cuadro 1 y 2 las cantidades de herbicidas que se usaron para obtener las concentraciones 10, 100, 1000 y 10,000 más un testigo que corresponde a los tratamientos I, II, III Y IV respectivamente. El estudio se efectuó bajo una temperatura de 28°C.

Medición del crecimiento micelial de *R. solani*.

Para ambos casos se midió el crecimiento radial de los hongos, cada 24 horas de los 4 puntos cardinales como se muestra en la figura 10, sacando una media por repetición por tratamiento. Se terminó cuando el testigo lleno la caja Petri.

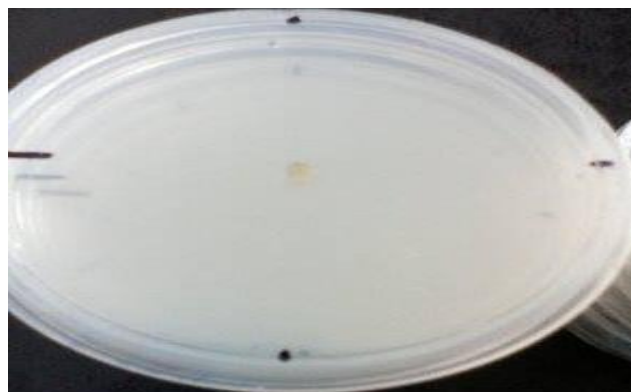


Figura 10: Crecimiento radial de *R. solani* basado en cuatro puntos cardinales.

Identificación de *R. solani*

Para la identificación, se procedió a hacer una monta del hongo en estudio obtenido de la cepa a las 192 horas donde *R. solani* ya no mostró crecimiento micelial, con una aguja de disección se obtuvo micelio y se colocó sobre el portaobjetos, previamente agregando un poco de agua destilada y se uniformizó el micelio en el portaobjetos posteriormente se colocó el cubreobjetos, finalmente se observó en el microscopio compuesto a 40x , con la finalidad de observar bien la estructura micelial del hongo. Se identificaron con las claves morfológicas de Barnett y Hunter 1998 y Procurando observar las claves taxonómicas características (Ogoshi, 1987 citado por López, 2011).

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados se procesaron mediante un análisis de varianza con arreglo factorial (A x B) con dos niveles el factor A y cinco niveles en el factor B en el programa estadístico de Nuevo León (FAUANL) versión 2.5.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se identificó al hongo *Rhizoctonia solani*, mediante las claves taxonómicas de Barnett y Hunter 1998 y Procurando observar las claves taxonómicas características (Ogoshi, 1987 citado por López, 2011), donde se puso a competir con dos herbicidas por la técnica de medio envenenado a diferentes dosis (ppm), y se procedió a realizar la medición del crecimiento radial del micelio, Ver figura 11 y 12.



Figura 11: Medición de crecimiento radial del *R. solani* en medios contaminados con los herbicidas

A) Crecimiento Radial a las 72 horas expuesto a glifosato a una concentración de 100ppm.

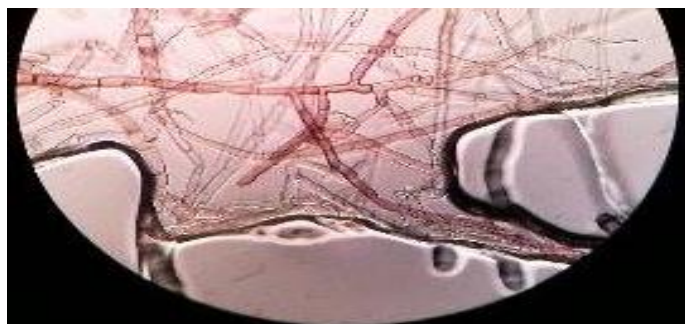


Figura 12: Identificación del hongo *R. solani* de esclerocios de papa. Foto tomada por Cristina Trejo Ramos.

En base al análisis estadístico, se observó diferencia significativa en los tratamientos ($P > F = 0.000$), con un coeficiente de variación del 30.65 %. Ver cuadro 6 en el apéndice.

De acuerdo a la comparación de medias del factor A, existe diferencia estadística entre tratamientos, siendo el mejor con la mayor inhibición del crecimiento de *R. solani* sobre medio contaminado el tratamiento 2 (herbicida: paraquat) con una media de 0.3457 cm a diferencia del tratamiento 1 (herbicida: glifosato) con una media de 1.3902 cm como se muestra en el cuadro N° 4.

CUADRO N° 4: Comparación de medias del factor A

Tratamiento	Media	Agrupación
Glifosato	1.3902	A
Paraquat	0.3457	B

*Letras iguales no son estadísticamente diferentes según la prueba de Tukey al 0.05 de probabilidad.

Rodríguez *et al.*, (1966) encontraron que el paraquat (dicloruro del 1-1-dimetil-4,4'-Bipiridilo) inhibe el crecimiento de *R. solani* bajo condiciones de laboratorio, como se obtuvo en el presente trabajo de investigación. Más sin embargo aplicando paraquat en el campo un día después de la siembra, observó un control muy reducido del mismo hongo.

López (1985) mencionó que el paraquat inhibe marcadamente a *R. solani* a menor concentración y en base a tiempo *R. solani* es más sensible al producto, lo cual en este experimento se mostró control en ambas dosis de concentración, Para el caso del glifosato el producto favorece el crecimiento de *R. solani* a menor concentración (10ppm); pero a concentraciones mayores 100, 1000 y 10000 ppm, inhibe el crecimiento micelial lo cual coincide con los resultados obtenidos en este trabajo, como se muestra en el cuadro N° 8 del apéndice.

Donde efectivamente el paraquat presenta efecto de inhibición sobre el patógeno a diferencia del glifosato que estimula el crecimiento de *R. solani*.

En la comparación de medias del factor B, se aprecia diferencia estadística en la dosis de 10,000 ppm que corresponde a la letra C con una media de 0.0026 cm, a diferencia del resto de las dosis, que va de 0.7531 a 0.8849 cm relacionadas a la letra B, en comparación con el testigo con una media de 1.8357 cm que concierne a la letra A.

Mostrando mayor efecto de inhibición (Dosis: 10000 ppm) sobre el patógeno comparado con el resto de las dosis siendo la mejor dosis, como se muestra en el cuadro N° 5.

CUADRO N° 5: Comparación de medias del factor B

Dosis(ml)	Media	Agrupación
Testigo	1.8357	A
100	0.8849	B
10	0.8635	B
1,000	0.7531	B
10,000	0.0026	C

*Letras iguales no son estadísticamente diferentes según la prueba de Tukey al 0.05 de probabilidad.

En el cuadro 8 del apéndice se muestra el porcentaje de inhibición del hongo expuesto a los herbicidas, el glifosato a dosis alta presenta una inhibición del 99.87% a diferencia de las dosis bajas. Más sin embargo el paraquat, muestra un efecto de inhibición del 95.47% correspondiente a la dosis de 10 ppm, a diferencia de las dosis altas de 100 ppm, 1000 ppm y 10000 ppm que inhibió al hongo arriba del 99%.

CONCLUSIÓN

- 1.- El paraquat inhibe marcadamente a *R. solani* a concentración alta.
- 2.- En base a tiempo se muestra que *R. solani* es más sensible al paraquat debido a la dosis.
- 3.- Para el caso del glifosato, el producto favorece el crecimiento micelial de *R. solani* a menor concentración y lo inhibe a alta concentración.

BIBLIOGRAFÍA

Agrios, N.G.2005. Plant Pathology 5^a Edition. Elsevier- Academia Press. SanDiego.

Apablaza, G. 2000. Patología de cultivos, epidemiología y control holístico. Ed. Universidad Católica de Chile. Pp 347.

Alcívar, C, J. 2015. "Intoxicación por paraquat, prevención y sus factores de riesgo atendidos en atox-Guayaquil en enero del 2011 a Diciembre 2014". Doctorado. Universidad de Guayaquil.

Barahona Añasco, C. (2012). Control Biológico de *Rhizoctonia solani* Kühn en papa (*Solanum tuberosum* L), mediante diferentes concentraciones y formulados de una cepa de *Bacillus subtilis* Cohn. Licenciatura. Universidad Austral Chile.

Barnet, H. L, Hunter, B. B. 1998. Illustrated genera of imperfect fungi.The american Phythopatological society.st.Paul,Minnesota.USA, Pp. 218.

Castro, I., y Contreras, A. (2011). Manejo de plagas y enfermedades en el cultivo de la papa. Austral.

Cain, N. y Cessna, A. 1992. Residues of glyphosate and its metabolite AMPA in strawberry fruit following spot and wiper applications. Canadian Journal of Plant Science.Pp 1359- 1365.

Civeira, G. (2012). Recopilación sobre los efectos del glifosato en agroecosistemas. [Online] Suelos.org.ar. Available at: http://www.suelos.org.ar/adjuntos/glifosato_en_agroecosistemas.pdf [Accessed 25 Nov. 2017].

COFEPRIS. 2009. Catálogo de Plaguicidas. http://www.cofepris.gob.mx/wb/cfp/catalogo_de_plaguicidas (Accessed 25 Nov.2017).

Centro Internacional de la Papa (CIP) 1999. Manual de las enfermedades más importantes de la papa en el Perú.

Della P, A. B. (2004). "Impacto del herbicida paraquat sobre invertebrados acuáticos". Maestría. Universidad de Buenos Aires. Argentina.

EPA. Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos. 2000. http://www.ag.ny.gov/media_center/2000/aug/pesticide_report.pdf (Accessed 15 Nov.2017).

Espinoza, Q, L. (2016). Industrialización y nichos de mercado de la papa en México (I). [Online] El Economista. Available at: <https://www.eleconomista.com.mx/opinion/Industrializacion-y-nichos-de-mercado-de-la-papa-en-Mexico-I-20160711-0004.html> [Accessed 15 Nov. 2017].

Eslava, P., Ramírez, W. y Rondón, I.2007. Sobre los efectos del glifosato y sus mezclas: impacto en peces nativos. Instituto de Acuicultura de los Llanos. Instituto de investigaciones de la Orinoquia Colombiana. Pp. 34-43.

Fernández, L. L. A. (2011). "Identificación Molecular de grupos anastomósicos de *Rhizoctonia solani* asociados a la costra negra y cancro del tallo en el cultivo de papa en Sinaloa". Maestría. Instituto Politécnico Nacional. México.

Füerst, E.P.; Laughin, K.C. 1990. Mechanism of paraquat resistance. Weed Technol. Pp. 150- 156.

Göllener, C.1989. Ecotoxicología. Toxicología de herbicida paraquat Grafica Ed. Universidad de Passo Fundo, Brasil. Pp 93.

Jairo, C, Z. (2017). Efecto de cuatro herbicidas y un funguicida sobre el crecimiento de *Rhizoctonia solani* Kühn bajo condiciones de laboratorio. [Online] Available at: <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/3894/1/07.pdf> [Accessed 13 Nov.2017].

López, N, J. (1994). “Microorganismos del suelo y su influencia biológica en el control de Fitopatógenos”. Licenciatura. Universidad de Guadalajara.

López, F, L. A (2011). “Identificación molecular de grupos de anastomosis de *Rhizoctonia solani* asociados a la costra negra y cancro del tallo en el cultivo de papa en Sinaloa”. Maestría. Instituto Politécnico Nacional.

Medina, R, A. (2014). Selección de Actinomicetos aislados de suelos paperos de la provincia de Loja, Antagónicos a *Phytophthora infestan* (Mont) de Bary y *Rhizoctonia solani* Kühn, mediante ensayos in vitro y pruebas de invernadero en *Solanum tuberosum* L. Licenciatura. Universidad de la Fuerzas Armadas innovación para las fuerzas armadas.

Millikan, D. F., and M. L. Fields.1964. Influence of some representative herbicidal chemicals upon the growth of some soil fungi. Phytopathol.

Mew, T, W., and Rosales, A.M. 1986. Bacterization of rice plants for control of Sheath blight caused by *Rhizoctonia solani*. Phytopathology. Pp 1260- 1264.

Nivia, E. (s. f). Efecto sobre la salud y el ambiente de herbicidas que contienen glifosato. [Online] Colombialomejor.com. Available at:<http://www.colombialomejor.com/downloads/articulos/glifosato.pdf> [Accessed 20 Nov. 2017].

Olaya, G., and Abawi, G. S. 1994. Influence of inoculum type and moisture on development of *Rhizoctonia solani* on foliage of table beets. Plant Dis. Pp. 805-810.

Ogoshi, A. 1987. Ecology and pathogenicity of anastomosis and intraspecific groups of *Rhizoctonia solani* Kühn. Ann Rev Phytopathol 25:125-143.

Pascual, C. B,Hyakumachi M. 2000. Distribution of vegetatively comparable population of *Rhizoctonia solani*. AGI- IA in a field Planted With Different Host Species.J. Gen. Plant Pathol. Pp 206-209.

Peña, C.E.; Carter, D.E.', Ayala Fierro, F.; 2001. Toxicología Ambiental. Evaluación de riesgos y restauración ambiental. Southwest Hazardous Waste Program College of Pharmacy, Arizona, U.S. Pp 102- 136.

Rodríguez, K.R., E.A. Curl, and H.H. Funderburk. 1966. Phytopathology . Pp 1332-1333.

SAGARPA, (2017). Determinación del nivel de riesgo fitosanitario para los cultivos de importancia económica en México. [Online] Available at: http://www.sagarpa.gob.mx/agronegocios/Documents/potencialproductivo/especificos/problemas_fitosanitarios.pdf?Mobile=1 [Accessed 13 Nov.2017].

Syngenta. (2016). Google. [Online] Available at: <https://www.syngenta.cl/sites/g/files/zhg471/f/gramoxonesuper.pdf> [Accessed 30 Nov. 2017].

Salazar, L. N. and Aldana Madrid, M. (2011). Herbicida Glifosato: Uso, Toxicidad y Regulación. Biotecnia, (Volumen XIII, Número 2). Pp 23-24.

Sustres, Z. 2002. Role of antioxidants in paraquat toxicity. Toxicology. Pp. 65-77.

Stevens Johnk, J. and Janes, R. K. 1993. Differentiation of populations of AO-2-2- of *Rhizoctonia solani* by analysis of cellular fattyacids. Phytopathology. Pp 278-283.

Schmidt, R. R; 1997. HRAC clasification of herbicides according to Mode of Action. Bhrigon crop Protection Conference- weeds. Pp. 1133-1140.

Smith, A.E. y Aubin, A.J. 1993. Degradation of 14C-glyphosate in Saskatchewan soils. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology. Pp 499-505.

Torres, H. 2002. Rhizoctoniasis; Manual de las enfermedades más importantes de la papa en el Perú. Centro Internacional de la papa (CIP).Pp. 19-22.

Ulacio, U.; Salas, J.; Querales, P, y Sanabria, M.E. 2002 Microbiota del suelo productoras de papa del Estado Merida y su relación con *Rhizoctonia solani*. Bioagro 14 (1). Mérida, Venezuela. Pp.11-16.

Vargas de Álvarez, A., L. Fuentes, C. and Torres Torres, E. (2002). Respuesta al glifosato de un aislamiento de *Rhizoctonia solani*, agente causal del añublo de la vaina del arroz y de cuatro aislamientos de *Trichoderma*, bajo condiciones "in vitro". Agronomía Colombiana, [online] (Volumen 19), Pp. 47-49. Available at: <http://www.bdigital.unal.edu.co/24680/1/21879-74972-1-PB.pdf> [Accessed 17 Nov. 2017].

Who-World Health Organization. 1996. Recommended classification of pesticides by hazard and Guidelines to Classification, WHO/PCS/96.3.; WHO, Geneva, Switzerland.

Wssa-Weed Science Society of America; 1994. Herbicide Handbook. 7th Edition Champaign, I.L. Pp. 10-59.

Walker, M.; Keith, L.H.; 1992. US-EPA'S pesticides Fact Sheet Database. Lewis publishes MI. Pp 5.

Zúñiga, A, A.J. (2006). Variabilidad Genética de *Rhizoctonia solani*, y Resistencia en variedades de Frijol (*Phaseolus vulgaris*). Maestría. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

Zarlengo, P. J., Rothrock, C.S., and King, J.W.1994. Influence of Shading on the response of tall fescue cultivars to *Rhizoctonia solani* AG-1.IA. Plant Dis. Pp. 126-129.

APÉNDICE

CUADRO N° 6: Análisis de varianza por factoriales para el crecimiento micelial de *Rhizoctonia solani*, a las 192 horas, expuesto a los herbicidas.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
FACTOR A	1	16.364082	16.364082	231.1634	0.000
FACTOR B	4	20.385731	5.096433	71.9936	0.000
INTERACCION	4	7.456711	1.864178	26.3339	0.000
ERROR	50	3.539505	0.070790		
TOTAL	59	47.746029			

C.V. = 30.65%

CUADRO N° 7: Tabla de medias de tratamiento A X B

A B	Media
1 1	1.653125
1 2	1.761980
1 3	1.495833
1 4	0.002605
1 5	2.037501
2 1	0.073958
2 2	0.007813
2 3	0.010417
2 4	0.002604
2 5	1.633854

CUADRO N°8: Porcentaje de inhibición de *R. solani* expuesto al glifosato y al paraquat.

A	B	Media del diámetro de crecimiento del hongo.	% Inhibición de <i>R. solani</i>
1	1	6.6125	18.77
1	2	7.0479	13.42
1	3	5.9833	26.49
1	4	0.0104	99.87
1	5	8.1400	0
2	1	0.2958	95.47
2	2	0.0312	99.52
2	3	0.0416	99.36
2	4	0.0104	99.84
2	5	6.5354	0