

Revista de la Facultad de Agronomía, La Plata 103 (2), 1998

## Influencia del insecticida Triflumurón sobre la germinación de esporas de hongos formadores de micorrizas vesículo-arbusculares y la colonización de las raíces de las plantas de soja (*Glycine max* var. *sojae*)

A. E. MARTÍNEZ, A. B. MENENDEZ, N. VENEDIKIAN,  
V. CHIOCCHIO & A. GODEAS

Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires. Piso 4, Depto. de Cs. Biológicas, Pab. II, Ciudad Universitaria (1428), Buenos Aires, Argentina.

MARTÍNEZ, A. E., A. B. MENENDEZ, N. VENEDIKIAN, V. CHIOCCHIO & A. GODEAS. 1998. Influencia del insecticida Triflumurón sobre la germinación de esporas de hongos formadores de micorrizas vesículo-arbusculares y la colonización de las raíces de las plantas de soja (*Glycine max* var. *sojae*). Rev. Fac. Agron., La Plata 103 (2): 135-140.

Se evaluó el efecto de tres concentraciones diferentes (0,02; 0,2 y 2 ppm) del insecticida Triflumurón sobre la micorrización por *Glomus mosseae* y hongos arbusculares, nativos de un suelo en plantas de soja (*Glycine max* var. *sojae* Nidera cultivar 4656). Para ello se llevó a cabo un experimento en macetas, que contenían una mezcla de suelo tamizado (tipo Argiudol) y cuarzo 2:3 (V/V). Las macetas se llevaron a capacidad de campo (140 ml) con soluciones acuosas de Triflumurón 2, 0,2 y 0,02 ppm. Los controles se realizaron sin el agregado del insecticida. El inóculo de *G. mosseae* consistió de 5g de suelo rizosférico conteniendo 41 esporas y/o esporocarpos (mayormente uniesporados) por gramo de suelo, el cual fue agregado simultáneamente con la siembra de semillas. Las plantas se cultivaron 8 semanas en invernadero a 20-25 °C, al cabo de las cuales se registró el porcentaje de micorrización y el peso seco de tallos y raíces. Por otro lado se realizó un ensayo en cajas de Petri destinado a evaluar el efecto del Triflumurón sobre la germinación de *Glomus mosseae* (Nicol. & Gerd.) Gerdemann & Trappe, *Gigaspora rosea* Nicolson & Schenck y *Scutellospora castanea* Walker. El Triflumurón no afectó el crecimiento general de las plantas ni el porcentaje de micorrización por parte de *G. mosseae*. En cambio, disminuyó el porcentaje de micorrización de las raíces por parte de las micorrizas nativas del suelo utilizado. En el ensayo de germinación en cajas de Petri, el Triflumurón no afectó la germinación de esporas en ninguna de las tres especies de micorrizas arbusculares.

**Palabras clave:** Triflumurón, *Glomus mosseae*, *Scutellospora castanea*, *Gigaspora rosea*, *Glycine max* var. *sojae*.

MARTÍNEZ, A. E., A. B. MENENDEZ, N. VENEDIKIAN, V. CHIOCCHIO & A. GODEAS. 1998. Influence of Triflumurón on arbuscular mycorrhizal fungi and root colonization of soybean (*Glycine max* var. *sojae*). Rev. Fac. Agron., La Plata 103 (2): 135-140.

Three different concentrations (0,02; 0,2 and 2 ppm) of the insecticide Triflumurón were assessed for their effect on mycorrhizal root colonization by *Glomus mosseae* and indigenous arbuscular fungi soybean (*Glycine max* var. *sojae* Nidera cv 4656). A greenhouse experiment was carried out in pots containing a mixture of sieved soil (Argiudol) and quartz 2:3 (V/V), added with water solutions of Triflumurón 2, 0,2 and 0,02 ppm. Controls were made without the addition of insecticide. *G. mosseae* inoculum consisted of 5 g of rhizospheric soil containing 41 spores or sporocarps (mostly one spored) per gram of soil, which was added during seeding. Plants were cultivated for 8 weeks in the greenhouse

Recibido: 11/10/97. Aceptado: 30/04/98.

at 20-25 C° and mycorrhization percentage and dry weight of shoot and root registered. On other hand, the effect of Triflumurón on spore germination of *Glomus mosseae*, *Gigaspora rosea* and *Scutellospora castanea* was evaluated in vitro on Petri dishes experiment.

The insecticide did not affect total plant growth and root colonisation by *Glomus mosseae*, but decreased root infection by indigenous arbuscular mycorrhizal population. Spore germination rates of *Glomus mosseae*, *Gigaspora rosea* and *Scutellospora castanea* were not affected by the addition of Triflumurón to the Petri dishes.

**Key words:** Triflumurón, *Glomus mosseae*, *Scutellospora castanea*, *Gigaspora rosea*, *Glycine max* var. *sojae*.

## INTRODUCCIÓN

Los hongos formadores de micorrizas arbusculares (MA), normalmente presentes en la mayoría de los suelos cultivados, están implicados en el aumento de la captación de fósforo y el crecimiento de muchas plantas (Morse, 1973). El uso de insecticidas para controlar plagas de la soja (*Glycine max*), es un componente fundamental en la producción de este cultivo en la Provincia de Buenos Aires. Sin embargo, a pesar de la frecuente aplicación de estos insecticidas, es escasa la información acerca del efecto de los mismos sobre la micorrización y el crecimiento de las plantas. Algunos autores han observado que la mayoría de los insecticidas evaluados inhiben la infección y el desarrollo de hongos MA en plantas cultivadas (Hayman *et al.*, 1978; Menge *et al.*, 1979; Trappe *et al.*, 1984; Parvathi *et al.*, 1985). En otros casos, los insecticidas incrementan la micorrización y el desarrollo de las plantas hospedantes (Ocampo & Hayman, 1980; Sieverding, 1991).

El Triflumurón es un insecticida de la clase de las benzoilfenilureas (Alsystín, Información Técnica, Edi.: Bayer), que actúa por ingestión y por contacto inhibiendo la síntesis de quitina, uno de los componentes principales de las paredes fúngicas y el exoesqueleto de los insectos. En cultivos de soja se recomienda su empleo para controlar, principalmente, el ataque producido por el falso medidor (*Trichoplusia ni*, Hübner), la oruga capulla (*Helicoverpa gelotopoeon*, Dyar) y la lagarta

(*Stegasta bosquella*, Chambers) (INTA, 1997).

El objetivo del trabajo es evaluar el efecto de tres concentraciones residuales del Triflumurón sobre: la germinación de esporas de hongos arbusculares, la micorrización por parte de *G. mosseae* y de hongos arbusculares nativos y el crecimiento de las plantas de soja.

## MATERIALES Y MÉTODOS

*Experimento 1. Efecto del insecticida sobre la micorrización y el crecimiento de las plantas*

Se ensayaron 16 tratamientos combinando los niveles de tres factores diferentes: 1- presencia o ausencia de micorrizas nativas en el suelo (no tinalizado o tinalizado), 2- suelo inoculado o no inoculado con *G. mosseae* (M+ o M-) y 3- dosis del insecticida (A1= 2 ppm, A2= 0,2 ppm, A3= 0,02 ppm y control sin insecticida). Se llevó a cabo en macetas de 300 ml que contenían una mezcla de suelo tamizado y cuarzo 2:3 (V/V). El suelo empleado fue Argiudol pH 5,4 con 2.28 % de C y un contenido de: 331 ppm N, 9,5 ppm P y 3,2 ppm Ca. La densidad final de esporas de hongos arbusculares en la maceta fue de 45 esporas/g de mezcla. Con el fin de eliminar el inóculo proveniente de los hongos arbusculares nativos del suelo, la mitad de dichas macetas se llenaron con la mezcla previamente tinalizada. Las macetas se llevaron a capacidad de campo (140 ml) con soluciones acuosas de Triflumurón (1-(2-cholobenzoyl)-3-[4-trifluoro-

methoxyphenyl]urea) en concentraciones de 2, 0,2 y 0,02 ppm. (A1, A2 y A3 respectivamente). Estas concentraciones corresponden al del residuo de diversos insecticidas en el suelo. El Triflumurón fue provisto por Bayer S.A. en su producto comercializado como Al-systin.

Se sembraron cuatro semillas de *Glycine max* var. *sojae* Nidera cv 4656 libres de bacterias de la nodulación por maceta. El inóculo de *G. mosseae* consistió de 5 g de suelo rizosférico conteniendo 41 esporas y/o esporocarpos (mayormente uniesporados), por gramo de suelo, el cual fue agregado simultáneamente con la siembra de las semillas. Se realizaron 5 réplicas por tratamiento. Las plantas se cultivaron en un invernadero a 20-25 °C, se regaron desde abajo con agua deionizada y fueron raleadas a una plántula por maceta. Al cabo de 8 semanas se cosecharon las plantas y se registró el peso seco y fresco del vástago y el peso seco de la raíz. Asimismo, se tiñó con azul de Tripán (Phillips & Hayman 1970) una alícuota de cada raíz, previa clarificación con KOH y se cuantificó el porcentaje de longitud de raíz siguiendo el método de Giovanetti & Mosse (1980).

Los datos se analizaron por ANOVA de tres factores y contrastes por el método de Tukey.

#### *Experimento 2. Efecto del insecticida sobre la germinación de esporas*

El ensayo se llevó a cabo en cajas de Petri de 9 cm de diámetro que contenían agar-agua (1% Bacto agar Difco pH=7,0) adicionado con una de las siguientes dosis de Triflumurón: 5 o 0,5 µg/ml de agar-agua. El control se realizó sin el agregado del insecticida. Se estudiaron tres especies diferentes: *Glomus mosseae*, *Scutellospora castanea* (BEG 1) y *Gigaspora rosea* (BEG 9). Las esporas de *G. mosseae* se obtuvieron disectando esporocarpos coleccionados a partir de muestras de rizosfera de

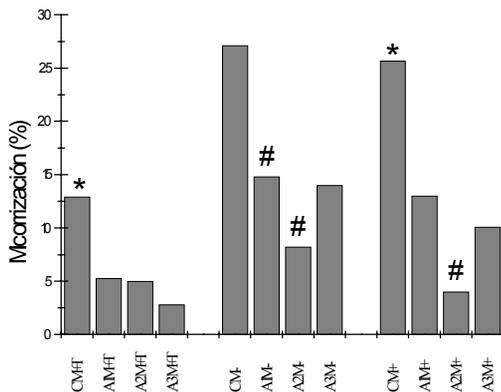
plantas de soja y fueron guardadas a 4°C hasta su uso. Las esporas se esterilizaron superficialmente de acuerdo al método de Mosse (1962) durante 20 minutos, y luego se las enjuagó tres veces con agua estéril. Se sembraron entre 5 y 8 esporas por caja de Petri, las cuales se sellaron con parafilm, para evitar la desecación y se incubaron luego a 25-27 °C, en oscuridad. Los porcentajes de germinación se registraron luego de 20 días de cultivo en el caso de *G. mosseae*, 7 días en el de *S. castanea* y 3 días en el de *G. rosea*. Los datos se sometieron a análisis de la varianza y contrastes por el método de Tukey.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el suelo no tinalizado, la aplicación de 2 y 0,2 ppm de Triflumurón disminuyó el porcentaje de raíces micorrizadas de las plantas de soja, ya sea que estuvieran o no inoculadas con *G. mosseae* (Figura 1). Sin embargo, en suelo tinalizado e inoculado con *G. mosseae*, no se observó ningún efecto del Triflumurón sobre la micorrización, en ninguna de las concentraciones ensayadas. Diversos ensayos de invernadero han demostrado el efecto inhibitorio de algunos insecticidas tales como el carbofuran y el captan en la colonización por parte de hongos MA nativos o inoculados (Veeraswamy *et al.*, 1993; Sreenivasa & Bagyraj, 1989).

Este trabajo constituye el primer registro del efecto inhibitorio del Triflumurón sobre la micorrización por parte de hongos MA nativos del suelo. Sin embargo, el resultado aquí obtenido requiere de una corroboración a través de ensayos a campo, dado que las características biológicas, físicas o químicas del ensayo realizado difieren considerablemente de las condiciones imperantes en aquél.

La incorporación del insecticida a las cajas de Petri, no afectó el porcentaje de germinación de las esporas, en ninguna de las tres especies de hongos arbusculares evaluadas



**Figura 1.** Longitud de raíces micorrizadas 8 semanas después de la aplicación de Triflumurón a plantas de soja. #: medias (n=5) significativamente diferente del control ( $P < 0,05$ ) y \*: medias significativamente diferentes entre sí ( $P < 0,1$ ), de acuerdo al test de Tukey. C: control; A1, A2 y A3: 2, 0.2 y 0.02 ppm de Triflumurón respectivamente. M+ y M-: presencia o ausencia de inóculo de *G. mosseae*.

Length of colonized root of soybean 8 weeks after Triflumurón application. #: mean (n=5) significantly different from control ( $P < 0,05$ ) and \*: means significantly different between them ( $P < 0,1$ ), according to Tukey test. C: control; A1, A2 y A3: 2, 0.2 and 0.02 ppm of Triflumurón respectively. M+ y M-: presence or absence of *G. mosseae* inoculum.

(Tabla 3).

Si bien se observó una disminución en el desarrollo de las raíces en uno de los tratamientos con la dosis más alta (A1), el Triflumurón no afectó el desarrollo en general de las plantas de soja.

Por otro lado, no se observaron diferencias significativas entre el crecimiento del vástago de las plantas micorrizadas (con *G. mosseae*, hongos micorrícicos nativos o ambos a la vez) y el de las plantas no micorrizadas (Tablas 1 y 2). Las interacciones entre los hongos arbusculares y la soja comprenden un valor que oscila entre la simbiosis mutualista y el parasitismo. Aumentos significativos del crecimiento y el rendimiento de estas plantas han sido documentados en una variedad de condiciones de experimentación (Ross, 1971;

**Tabla 1.** Análisis de la varianza de 3 factores del peso seco de la raíz de las plantas de soja, entre los tratamientos con el insecticida (P), los tratamientos con o sin *Glomus mosseae* (M) y los tratamientos con o sin tinalización (T).

Three way analysis of variance of soybean dry weight of roots between treatments with insecticide (P), with or without *Glomus mosseae* (M) and with or without sterilization (T).

Fuente	Grados de libertad	Cuadrado medio	F
P	3	0,0195	2,56
M	1	0,0944	12,42 #
T	1	0,0034	0,45
M*T	1	0,0004	0,053
P*T	3	0,0137	1,8
P*M	3	0,0188	2,47 #
P*M*T	3	0,0031	0,4
ERROR	64	0,0076	

#: significativamente diferente ( $P < 0,05$ ).

#: significantly different ( $P < 0,05$ ).

Ross & Harper, 1970; Schenck & Hinson, 1973; Carling & Brown, 1980; Kuo & Huang, 1982; Badr El-Din & Moawad, 1988; Vivekanandan & Fixen, 1991). Contrariamente, existen antecedentes de trabajos en los cuales, al igual que en el nuestro, no se evidenció la interacción positiva (simbiosis mutualista) en el crecimiento de las plantas micorrizadas (An *et al.*, 1993). En otros casos se observaron relaciones patogénicas o negativas entre la colonización de hongos AM y el crecimiento o el rendimiento de la soja (Benthlenfvalvy *et al.*, 1982; Fredeen & Terry, 1988). Esto último también fué observado en tabaco y cebada (Hendrix *et al.*, 1992; Black & Tinker, 1979). En este trabajo, sin embargo, no debe descartarse que el registro de los parámetros de crecimiento se haya hecho tempranamente, cuando aún la infectividad plena y/o la efectividad de los aislamientos de micorrizas involucrados, aún no habían sido alcanzadas.

**Tabla 2.** Desarrollo de las plantas de soja, 8 semanas después de la aplicación de Triflumurón.

#: media (n=5) significativamente diferente ( $P<0,05$ ) del control según el test de Tukey; C: control, A1, A2 y A3: 2, 0.2 y 0.02 ppm de Triflumurón respectivamente. M+ y M-: presencia o ausencia de inóculo de *Glomus mosseae*.

Growth of soybean plants 8 weeks after Triflumurón application. #: mean (n=5) significantly different from control ( $P<0,05$ ), according to Tukey test. C: control; A1, A2 y A3: 2, 0.2 and 0.02 ppm of Triflumurón respectively. M+ y M-: presence or absence of *Glomus mosseae* inoculum.

	Peso fresco del vástago (g)		Peso seco de raíz (g)		Peso seco de vástago (g)		Peso seco total de la planta (g)	
	M+	M-	M+	M-	M+	M-	M+	M-
<b>Tindalizado</b>								
Control	2,77	2,97	0,23	0,25	0,70	0,71	0,93	0,96
A1	2,62	2,24	0,15	0,23#	0,72	0,67	0,87	0,90
A2	2,57	3,12	0,19	0,26	0,68	0,81	0,87	1,07
A3	3,14	2,81	0,24	0,28	0,80	0,63	1,04	0,91
<b>No tindalizado</b>								
Control	2,92	2,79	0,28	0,24	0,72	0,75	1,00	0,99
A1	2,24	3,06	0,14 #	0,26	0,6	0,76	0,74	1,02
A2	2,13	3,47	0,18	0,29	0,62	0,93	0,80	1,22
A3	2,87	3,11	0,16	0,20	0,64	0,64	0,80	0,84

**Tabla 3.** Efecto del Triflumurón sobre la germinación de esporas de *Glomus mosseae*, *Scutellospora castanea* y *Gigaspora rosea* en agar agua.

Effect of Triflumurón on spore germination of *Glomus mosseae*, *Scutellospora castanea* and *Gigaspora rosea* in water-agar.

	Germinación de esporas (%)	Desvío estandar	Nº de réplicas
<i>Glomus mosseae</i>			
Control	33,795	11,02897	6
5 µg/ml	32,714	15,33147	5
0,5 µg/ml	31,666	10,86521	5
<i>Scutellospora castanea</i>			
Control	49,80	21,54128	4
5 µg/ml	44,82	20,65855	4
0,5 µg/ml	22,92	6,862890	4
<i>Gigaspora rosea</i>			
Control	—	13,82286	8
5 µg/ml	16,25	14,68580	8
0,5 µg/ml	27,48	16,20961	8

## AGRADECIMIENTOS

A BAYER S.A. por habernos gentilmente facilitado su producto Alsystin para la realización de este trabajo. Al Dr. Juan Antonio Ocampo por sus comentarios críticos y sugerencias

## BIBLIOGRAFÍA

- An, Z. Q.; J. W. Hendrix; D. E. Hershman; R. S. Ferriss & G. T. Henson.** 1993. The influence of crop rotation and soil fumigation on a mycorrhizal fungal community associated with soybean. *Mycorrhiza* 3: 171-182.
- Badr El-Din, S. M. S. & H. Moawad.** 1988. Enhancement of nitrogen fixation in lentil, faba bean and soybean by dual inoculation with Rhizobia and mycorrhizae. *Plant and Soil* 108: 117-124.
- Benthlenfalvay, G. J.; M. S. Brown & R. S. Pacovsky.** 1982. Parasitic and mutualistic associations between a mycorrhizal fungus and soybean: development of host plant. *Phytopathology* 72: 889-893.
- Black, R. & P. B. Tinker.** 1979. The development of endomycorrhizal root systems. II. Effect of agronomic factors and soil conditions on the development of vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in barley and on the endophyte spore density. *New Phytologist* 83: 401-413
- Carling, D. E. & M. F. Brown.** 1980. Relative effect of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on the growth and yield of greenhouse soybeans. *Soil Science Society of America Journal* 44: 528-532.
- Fredeen, A. L. & N. Terry.** 1988. Influence of vesicular-arbuscular mycorrhizal infection and soil phosphorus level on growth and carbon metabolism of soybean. *Canadian Journal of Botany* 66: 2311-2316.
- Giovannetti, M. & B. Mosse.** 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytologist* 84: 489-500.
- Hayman, D.S.; R.M. Macdonald & J.R. Spokes.** 1978. The effects of pesticides on vesicular-arbuscular mycorrhizae. Rothamsted Experimental Station Report 1977, 238 pp.
- Hendrix, J. W.; K. J. Jones & W. C. Nesmith.** 1992. Control of pathogenic mycorrhizal fungi in maintenance of soil productivity by crop rotation. *Journal of Production Agriculture* 5: 383-386.
- INTA.** 1997. Guía práctica para el cultivo de soja. Campaña 1997. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. 243 pp.
- Kuo, C. G. & R. S. Huang.** 1982. Effect of vesicular-arbuscular mycorrhizae on the growth and yield of rice-stubble cultured soybeans. *Plant and Soil* 64: 325-330.
- Menge, J.A.; E.L.V. Johnson & A. Minassian.** 1979. Effect of heat treatment and three pesticides upon the growth and reproduction of the mycorrhizal fungus *Glomus fasciculatus*. *New Phytologist* 82: 473-480.
- Mosse, B.** 1962. The establishment of vesicular-arbuscular mycorrhiza under aseptic conditions. *Journal Gen. Microbiol.* 27: 509-520.
- Mosse, B.** 1973. Advances in the study of vesicular-arbuscular mycorrhizae. *Annual Review of Phytopathology* 11: 171-196.
- Ocampo, J.A. & D.S. Hayman.** 1980. Effect of pesticides on mycorrhiza in field-grown barley, maize and potatoes. *Transactions the British Mycological Society* 74: 413-415.
- Parvathi, K.; K. Venkateswarlu & A.S. Rao.** 1985. Effects of pesticides on development of *Glomus mosseae* in groundnut. *Transactions the British Mycological Society* 84: 29-33.
- Phyllips, J.M. & D.S. Hayman.** 1970. Improved procedure for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions the British Mycological Society* 55: 158-161.
- Ross, J. P.** 1971. Effect of phosphate fertilization on yield of mycorrhizal and non-mycorrhizal soybeans. *Phytopathology* 61: 1400-1403.
- Ross, J. P. & J. A. Harper.** 1970. Effect of *Endogone* mycorrhiza on soybean yields. *Phytopathology* 60: 1552-1556.
- Schenck, N. C. & K. Hinson.** 1973. Response of nodulating and non-nodulating soybeans to a species of *Endogone* mycorrhiza. *Agronomy Journal* 65: 849-850.
- Sieverding, E.** 1991. Vesicular-arbuscular mycorrhiza management in tropical agrosystems. *Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit.* Eschborn. 371 pp.
- Sreenivasa, M. N. & D. Bagyaraj.** 1989. Use of pesticides for mass production of vesicular-arbuscular mycorrhizal inoculum. *Plant and Soil* 119: 127-132.
- Trappe, J.M.; R. Molina & M. Castellano.** 1984. Reactions of mycorrhizal fungi and mycorrhizal formation to pesticides. *Annual Review Phytopathology* 22: 331-359.
- Veerawamy, J.; T. Padmavathi & K. Venkateswarlu.** 1993. Effect of selected insecticides on plant growth and mycorrhizal development in sorghum. *Agriculture Ecosystems Environment* 43: 337-343.
- Vivekanandan, M. & P. E. Fixen.** 1991. Cropping systems effects on mycorrhizal colonization, early growth, and phosphorus uptake of corn. *Soil Science Society America Journal* 55: 136-140.