

**ASPECTOS BIOLÓGICOS Y EPIDEMIOLÓGICOS DE ENFERMEDADES  
DEL TABACO CAUSADAS POR *Rhizoctonia solani*, EN EL NOROESTE  
ARGENTINO**

*Tesis presentada para optar al título de Doctor de la Universidad Nacional de  
Buenos Aires, Área Ciencias Agropecuarias*

**GUADALUPE EUGENIA MERCADO CÁRDENAS**

**INGENIERA AGRÓNOMA  
Universidad Nacional de Salta**



**Escuela para Graduados  
Ing. Agr. Alberto Soriano  
Facultad de Agronomía  
Universidad de Buenos Aires**





**COMITÉ CONSEJERO**

**DIRECTOR:**

**Marcelo Aníbal Carmona**

**Ingeniero Agrónomo**

**Doctor**

**CODIRECTOR:**

**Guillermo March**

**Ingeniero Agrónomo**

**Master**

**CONSEJERO DE ESTUDIOS:**

**Marta Zulema Galván**

**Licenciada en Genética**

**Doctora**



**JURADOS DE TESIS**

**Dr. Germán G. Barros**

**Dra. María Laura Ramírez**

**Dr. Sergio M. Salazar**

Fecha de defensa de la Tesis: 09/12/2015



*A Martin*

*A mi mamá y a mi papá,*

*A mis hermanos, Marina y Ricardo*

*A Toby y Laila*

*Familia, amigos, y a los que vendrán*

*"Hay una fuerza motriz más poderosa que el vapor,  
la electricidad y la energía atómica: la voluntad".*

**Albert Einstein**





## ***AGRADECIMIENTOS***

A Betty Villegas alias mami Fito, por haberme guiado en mis primeros pasos por esta apasionada área de la sanidad vegetal y por haberme inculcado que siempre una actitud positiva, humilde y de corazón, siempre llevan a un buen fin en nuestra vida.

A Marcelo Carmona, por guiarme académicamente, por los alientos y por la continua disposición a ayudarme siempre que fuera necesario.

A Guillermo March por enseñarme y contagiarme lo hermoso que es la epidemiología.

A Marta Galván alias Martus, Zulemillaaaaa .....por su enseñanza en el área de la biología molecular que fue mi debilidad hasta que termine el análisis, di un seminario y entendí.....je, por su disposición, tiempo y consejos.

A mi gran amiga y hermana Elius, por acompañarme en la distancia y ahora de cerca en todos los avatares de la vida.

A Pepe Giménez Monge!! Por ser mi padre en la sanidad vegetal, escucharme, guiarme y enseñarme. A Don Mario, Alecito por ayudarme, escucharme y .....a los tres por soportarme jeje

A Noe, Lore, Andri, Marian, Ferchus, Molas, por ser amigas y compañeras en el trabajo.

A INTA Estación Experimental Salta y su personal, por haberme brindado la posibilidad económica de realizar este postgrado y por las enseñanzas continuas.

A la Universidad Nacional de Salta, Facultad de Ciencias Naturales, Escuela de Agronomía por mi formación base.

Al personal de la EPG-FAUBA, que siempre me brindaron toda su ayuda.

Finalmente e infinitamente gracias a Martin por el apoyo incondicional, a mi familia y mis seres queridos que no están físicamente, pero lo están en mis pensamientos.



## ÍNDICE GENERAL

<b>DECLARACIÓN</b>	XXIII
<b>ABREVIATURAS Y SIGLAS</b>	XXV
<b>RESUMEN</b>	XXVII
<b>ABSTRACT</b>	XXIX
<b>CAPÍTULO I. Introducción</b>	
1 El Patosistema (hospedante-patógeno-ambiente-enfermedad)	3
1.1 Hospedante- Cultivo de tabaco ( <i>Nicotiana tabacum</i> L.)	3
1.1.1 Importancia del cultivo de tabaco en el mundo y en Argentina	3
1.1.2 Producción de tabaco	5
1.1.3 Importancia de las enfermedades en tabaco	5
1.1.4 Enfermedades causadas por <i>Rhizoctonia</i>	6
1.1.4.1 Taxonomía del patógeno	9
1.1.4.1.1 Grupos de anastomosis	11
1.1.4.2 Características morfológicas del patógeno	12
1.1.4.3 Rango de hospedantes del patógeno	13
1.1.4.4 Ciclo de la enfermedad y epidemiología	13
1.1.4.5 Manejo de la enfermedad	15
1.1.4.5.1 Manejo cultural	15
1.1.4.5.2 Manejo biológico	16
1.1.4.5.3 Manejo químico	16
1.1.4.5.4 Manejo genético	17
1.1.4.6 Consideraciones finales	17
1.2 Hipótesis de trabajo	18
1.3 Objetivos	18
<b>CAPÍTULO II. Distribución espacial de la podredumbre radicular por <i>Rhizoctonia</i> spp. en las provincias de Salta y Jujuy</b>	
2.1 Introducción	21
2.1.1 Análisis espacial de epidemias	22
2.1.1.1 Análisis geoestadístico	22
2.1.1.1.1 Análisis exploratorio de los datos	22
2.1.1.1.2 Análisis estructural	22
2.1.1.1.2.1 Variograma	22
2.1.1.1.2.1.1 Modelos de variogramas	23
2.1.1.1.2.1.1.1 Modelo Esférico	23
2.1.1.1.2.1.1.2 Modelo Exponencial	23
2.1.1.1.2.1.1.3 Modelo Gaussiano	23
2.1.1.1.3 Predicciones	24
2.1.2 La geoestadística y su aplicación en estudios de enfermedades de plantas	24
2.1.3 Objetivos	26
2.2 Materiales y Métodos	26
2.2.1 Área de estudio, diseño de muestreo y variables registradas	26
2.2.2 Análisis geoestadístico	28
2.2.3 Análisis estadísticos entre intensidad de enfermedad, variables de manejo y variables meteorológicas.	28
2.3 Resultados	29
2.3.1 Estadística descriptiva de los datos	29

2.3.1.1 Incidencia y Severidad en la Provincia de Salta en los tres estadios fenológicos	29
2.3.1.2 Incidencia y Severidad en la Provincia de Jujuy en los tres estadios fenológicos	35
2.3.1 Análisis estructural de los datos y predicción	39
2.3.1.1 Variable Severidad	39
2.3.1.2 Variable Incidencia	47
2.3.2 Análisis estadísticos entre intensidad de enfermedad, variables de manejo y variables meteorológicas.	55
2.3.2.1 Prevalencia de la enfermedad por departamento	55
2.3.2.1.1 Provincia de Salta	55
2.3.2.1.2 Provincia de Jujuy	55
2.3.2.2. Análisis de asociación de la enfermedad con el tipo de almácigo	56
2.3.2.2.1 Provincia de Salta	56
2.3.2.2.2 Provincia de Jujuy	57
2.3.2.3. Análisis de asociación de la enfermedad con lotes con o sin rotación	58
2.3.2.3.1 Provincia de Salta	58
2.3.2.3.2 Provincia de Jujuy	59
2.3.2.4. Análisis de correlación entre la intensidad de la enfermedad en relación a variables meteorológicas.	60
2.3.2.4.1 Provincia de Salta	60
2.3.2.4.2 Provincia de Jujuy	63
2.4 Discusión	65
2.5 Conclusiones	67

### **CAPÍTULO III. Identificación de grupos de anastomosis de los aislados de *Rhizoctonia* spp. presentes en Salta y Jujuy empleando marcadores ITS, caracteres morfológicos y virulencia**

3.1 Introducción	71
3.1.1 Determinación morfológica	71
3.1.2 Grupos de anastomosis	71
3.1.3 Utilización de marcadores moleculares- ITS	72
3.1.4 Objetivos	73
3.2 Materiales y Métodos	73
3.2.1 Obtención de aislados	73
3.2.2 Caracterización morfológica de los aislados	75
3.2.3 Marcadores ITS	76
3.2.3.1 Extracción del ADN por CTAB	76
3.2.3.2 Reacciones de amplificación mediante PCR	76
3.2.3.3 Análisis de datos	77
3.2.4 Determinación de patogenicidad	79
3.3 Resultados	80
3.3.1 Caracterización morfológica	80
3.3.2 Análisis filogenético ITS-ADNr	87
3.3.3. Patogenicidad de los tejidos foliares y de raíz.	89
3.4 Discusión	91
3.5 Conclusiones	93

## **CAPÍTULO IV. Análisis de la variabilidad genotípica presente en los aislamientos de *Rhizoctonia*, empleando caracteres moleculares (ISSR)**

4.1	Introducción	97
4.1.1	Marcadores ISSR	98
4.1.2	Objetivo	99
4.2	Materiales y métodos	99
4.2.1	Material biológico	99
4.2.2	Extracción del ADN por CTAB	99
4.2.3	Reacciones de amplificación del ADN por ISSR-PCR	99
4.2.3.1	Selección de cebadores ISSR y condiciones de amplificación	99
4.2.4	Visualización de los fragmentos amplificados	100
4.2.4.1	Determinación del tamaño de los fragmentos de ADN	100
4.2.5	Análisis estadístico de los datos obtenidos	101
4.2.5.1	Análisis de agrupamientos y de coordenadas principales	101
4.2.5.2	Análisis de la varianza molecular	101
4.3	Resultados	102
4.3.1	Bandas Polimórficas	102
4.3.2	Análisis de agrupamientos y de coordenadas principales	104
4.3.3	Análisis de la Varianza Molecular (AMOVA)	106
4.4	Discusión	107
4.5	Conclusión	109

## **CAPÍTULO V. Dinámica temporal de *Rhizoctonia solani* Kühn en diferentes variedades de tabaco Tipo Virginia**

5.1	Introducción	113
5.1.1	El progreso temporal de una epidemia	113
5.1.2	Utilización de Modelos	114
5.1.2.1	Modelos de simulación de progreso de las enfermedades.	115
5.1.2.1.1	Modelo exponencial	115
5.1.2.1.2	Modelo logístico	115
5.1.2.1.3	Modelo gompertz	115
5.1.2.1.4	Modelo monomolecular	115
5.1.2.2	Selección del modelo	115
5.1.3	Comparación de epidemias	116
5.1.3.1	Metodología de comparación	116
5.1.3.1.1	Error estándar	116
5.1.3.1.1.1	Parámetros estimados para un mismo modelo	116
5.1.3.1.1.2	Parámetros estimados por distintos modelos	117
5.1.3.1.2	Prueba de “t”	117
5.1.3.1.3	Análisis de varianza	117
5.1.4	Aplicaciones	117
5.1.5	Objetivos	118
5.2	Materiales y métodos	118
5.2.1	Evaluación del comportamiento sanitario de diferentes variedades de tabaco en invernáculo	118
5.2.2	Evaluación del comportamiento sanitario de diferentes variedades de tabaco en campo	119
5.2.2.1	Diseño de la investigación	119

5.2.2.2 Análisis temporal de la podredumbre radicular por <i>Rhizoctonia</i>	120
5.2.2.2.1 Curvas de progreso de la enfermedad	120
5.2.2.2.2 Modelización de las curvas epidémicas	120
5.2.2.2.3 Comparación de epidemias	120
5.2.3 Efecto de variables climatológicas sobre el desarrollo de la enfermedad	120
5.3 Resultados	121
5.3.1 Evaluación del comportamiento sanitario de diferentes variedades de tabaco en invernáculo.	121
5.3.1.1 Incidencia y severidad	121
5.3.1.2 Peso seco	122
5.3.2 Evaluación del comportamiento sanitario de diferentes variedades de tabaco en campo	122
5.3.2.1. Curvas de progreso de la enfermedad por sitio	122
5.3.2.1.1 Chicoana	122
5.3.2.1.2 Colon	124
5.3.2.1.3 San Agustín	125
5.3.2.2 Modelización de las curvas epidémicas por sitio	126
5.3.2.2.1 Chicoana	126
5.3.2.2.2 Colon	126
5.3.2.2.3 San Agustín	127
5.3.2.3 Comparación de epidemias	127
5.3.2.3.1 Chicoana	127
5.3.2.3.1.1 Inóculo inicial ( $Y_0$ )	127
5.3.2.3.1.2 Tasa de infección aparente ( $r$ )	127
5.3.2.3.1.3 Tasa absoluta media ponderada $\rho$ ( $\rho$ )	127
5.3.2.3.1.4 Área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE) y rendimiento.	127
5.3.2.3.2 Colon	130
5.3.2.3.2.1 Inoculo inicial ( $Y_0$ )	130
5.3.2.3.2.2 Tasa de infección aparente ( $r$ )	130
5.3.2.3.2.3 Tasa absoluta media ponderada $\rho$ ( $\rho$ )	130
5.3.2.3.2.4 Área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE) y rendimiento.	130
5.3.2.3.3 San Agustín	132
5.3.2.3.3.1 Inóculo inicial ( $Y_0$ )	132
5.3.2.3.3.2 Tasa de infección aparente ( $r$ )	132
5.3.2.3.3.3 Tasa absoluta media ponderada $\rho$ ( $\rho$ )	132
5.3.2.3.3.4 Área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE) y rendimiento.	132
5.3.3 Efecto de variables climatológicas sobre el desarrollo de la enfermedad	133
5.3.3.1 Análisis de correlación para todas las variedades sin considerar procedencia.	133
5.3.3.2 Análisis de senderos, correlación y regresión lineal por sitio	134
5.3.3.2.1 Chicoana	134
5.3.3.2.1.1 Análisis de coeficientes de senderos	134
5.3.3.2.1.2 Análisis de coeficientes de correlación de Spearman	134
5.3.3.2.1.3 Análisis de regresión lineal	134

5.3.3.2.2 Colon	134
5.3.3.2.2.1 Análisis de coeficientes de senderos	134
5.3.3.2.2.2 Análisis de coeficientes de correlación de Spearman	135
5.3.3.2.2.3 Análisis de regresión lineal	135
5.3.3.2.3 San Agustín	135
5.3.3.2.3.1 Análisis de coeficientes de senderos	135
5.3.3.2.3.2 Análisis de coeficientes de correlación de Spearman	135
5.3.3.2.3.3 Análisis de regresión lineal	135
5.4 Discusión	136
5.5 Conclusión	138
<b>CAPÍTULO VI. Consideraciones Finales</b>	<b>141</b>
<b>Publicaciones derivadas de la presente Tesis</b>	<b>147</b>
<b>Bibliografía</b>	<b>151</b>
<b>Anexo</b>	<b>169</b>





## ÍNDICE DE TABLAS

### CAPITULO I. Introducción

Tabla 1.1. Grupos y subgrupos de <i>R.solani</i> , principales cultivos que atacan	11
Tabla 1.2. Grupos de taxones binucleados de acuerdo a la nomenclatura japonesa y americana y cultivos que atacan	12

### CAPÍTULO II. Distribución espacial de la podredumbre radicular por *Rhizoctonia* spp. en las provincias de Salta y Jujuy

Tabla 2.1. Estadísticos descriptivos para las variables de incidencia y severidad evaluados en los tres estadios de cultivo en la provincia de Salta, campaña 2009/10.	31
Tabla 2.2. Estadísticos descriptivos para las variables de incidencia y severidad evaluados en los tres estadios de cultivo en la provincia de Salta, campaña 2010/11.	34
Tabla 2.3. Estadísticos descriptivos para las variables de incidencia y severidad evaluados en los tres estadios de cultivo en la provincia de Jujuy, campaña 2009/10.	36
Tabla 2.4. Estadísticos descriptivos para las variables de incidencia y severidad evaluados en los tres estadios de cultivo en la provincia de Jujuy, campaña 2010/11.	38
Tabla 2.5. Predicción de errores para los tres modelos evaluados en los tres estadios de severidad registrados en la provincia de Salta y Jujuy, campaña agrícola 2009/10.	40
Tabla 2.6. Parámetros del semivariograma para la variable severidad evaluada en los tres estadios del cultivo.	39
Tabla 2.7. Predicción de errores para los tres modelos evaluados en los tres estadios de severidad registrados en la provincia de Salta y Jujuy, campaña agrícola 2010/11.	44
Tabla 2.8. Parámetros del semivariograma para las variables incidencia y severidad evaluadas en los tres estadios del cultivo.	43
Tabla 2.9. Predicción de errores para los tres modelos evaluados en los tres estadios de incidencia registrados en la provincia de Salta y Jujuy, campaña agrícola 2009/10.	48
Tabla 2.10. Parámetros del semivariograma para la variable incidencia evaluada en los tres estadios del cultivo.	47
Tabla 2.11. Predicción de errores para los tres modelos evaluados en los tres estadios de incidencia registrados en la provincia de Salta y Jujuy, campaña agrícola 2010/11.	52
Tabla 2.12. Parámetros del semivariograma para la variable incidencia evaluada en los tres estadios del cultivo.	51
Tabla 2.13. Relación entre las variables meteorológicas y la intensidad de la enfermedad en los tres estadios evaluados, para la provincia de Salta.	61
Tabla 2.14. Relación entre las variables meteorológicas y la intensidad de la enfermedad en los tres estadios evaluados, para la provincia de Jujuy	64

**CAPITULO III Identificación de grupos de anastomosis de los aislamientos de *Rhizoctonia* spp. presentes en Salta y Jujuy empleando marcadores ITS, caracteres morfológicos y virulencia**

Tabla 3.1 Aislados de <i>Rhizoctonia</i> estudiados.	74
Tabla 3.2. Aislados tester de <i>Rhizoctonia</i> utilizados en este estudio.	77
Tabla 3.3. Aislados de <i>Rhizoctonia</i> spp. de Salta y Jujuy (Argentina) caracterizados empleando secuencias ITS.	82
Tabla 3.4. Grupos morfológicos de aislamientos de <i>Rhizoctonia</i> basados en sus características de micelio y esclerocios.	81

**CAPÍTULO IV. Análisis de la variabilidad genotípica presente en los aislamientos de *Rhizoctonia*, empleando caracteres moleculares (ISSR)**

Tabla 4.1. Secuencia de los cebadores ISSR utilizados para el análisis de polimorfismo entre los aislados de <i>Rhizoctonia</i> y temperatura de apareamiento.	100
Tabla 4.2. Productos de amplificación generados con cada cebador ISSR.	102
Tabla 4.3. Eigenvalores de las primeras cinco coordenadas principales aplicando el coeficiente de asociación de Dice. CP	106
Tabla 4.4. AMOVA existente en los aislados de <i>R. solani</i> .	107
Tabla 4.5. AMOVA existente en los aislados de <i>R.solani</i> . AG 2-1	107

**CAPÍTULO V. Dinámica temporal de *Rhizoctonia solani* Kühn en diferentes variedades de tabaco Tipo Virginia**

Tabla 5.1. Valores promedios del porcentaje de incidencia y grado de severidad de la podredumbre radicular en variedades del tabaco por <i>R. solani</i>	122
Tabla 5.2. Prueba de comparación de medias múltiple de Tukey ( $p \leq 0,05$ ) del ABCPE de la podredumbre radicular del tabaco por <i>R. solani</i> en diferentes variedades en Chicoana (Salta)	129
Tabla 5.3. Prueba de comparación de medias múltiple de Tukey ( $p \leq 0,05$ ) del ABCPE y rendimiento, de diferentes variedades de tabaco afectadas por <i>R. solani</i> en Colon (Salta).	131
Tabla 5.4. Prueba de comparación de medias múltiple de Tukey ( $p \leq 0,05$ ) del ABCPE y rendimiento, para las diferentes variedades de tabaco afectadas por la podredumbre radicular por <i>R. solani</i> .	132

## ÍNDICE DE FIGURAS

### CAPITULO I. Introducción

Figura 1.1 Plantación de tabaco tipo Virginia.	3
Figura 1.2 Provincias tabacaleras y Tipos de tabaco en Argentina.	4
Figura 1.3 Triángulo de la enfermedad	5
Figura 1.4 Síntoma de tizón de plantas o mancha foliar por <i>Rhizoctonia</i> .	7
Figura 1.5 Síntoma de <i>damping off</i> en almacigo.	7
Figura 1.6 Síntomas de marchitamiento foliar en planta	8
Figura 1.7 Sistemática del complejo <i>Rhizoctonia</i>	10
Figura 1.8 Características del micelio en medio de cultivo y microscopio	13
Figura 1.9 Ciclo epidemiológico de <i>R. solani</i> en cultivo de tabaco	14
Figura 1.10 Interacción de componentes que afectan el crecimiento y sanidad de la planta involucrando al patógeno en la raíz.	15

### CAPÍTULO II. Distribución espacial de la podredumbre radicular por *Rhizoctonia* spp. en las provincias de Salta y Jujuy

Figura 2.1. Sistema epidemiológico	21
Figura 2.2. Variograma	23
Figura 2.3. Sitios de monitoreo y muestreo de la podredumbre radicular por <i>Rhizoctonia</i> en la provincia de Salta y Jujuy	27
Figura 2.4. Histogramas de frecuencia absoluta para las variables incidencia y severidad, en los tres estadios fenológicos evaluados del cultivo, para la Provincia de Salta, campaña agrícola 2009/10	30
Figura 2.5. Relación de las variables de incidencia y severidad evaluadas en los tres estadios de cultivo en Salta, campaña 2009/10.	32
Figura 2.6. Histogramas de frecuencia absoluta para las variables incidencia y severidad, en los tres estadios fenológicos evaluados del cultivo, para la Provincia de Salta, campaña agrícola 2010/11	33
Figura 2.7 .Relación de las variables de incidencia y severidad evaluadas en los tres estadios de cultivo en la provincia de Salta, campaña 2010/11	34
Figura 2.8. Histogramas de frecuencia absoluta para las variables incidencia y severidad, en los tres estadios fenológicos evaluados del cultivo, para la Provincia de Jujuy, campaña agrícola 2009/10	35
Figura 2.9. .Relación de las variables de incidencia y severidad evaluadas en los tres estadios de cultivo en Salta, campaña 2010/11 .	36
Figura 2.10. Histogramas de frecuencia absoluta para las variables incidencia y severidad, en los tres estadios fenológicos evaluados del cultivo, para la Provincia de Jujuy, campaña agrícola 2010/11.	37
Figura 2.11. Relación de las variables de incidencia y severidad evaluadas en los tres estadios de cultivo en Jujuy, campaña 2010/11	38
Figura 2.12. Mapa de predicción de errores para la variable severidad en los tres estadios evaluados según el modelo exponencial	41
Figura 2.13. Mapa de predicción de severidad en los tres estadios fenológicos evaluados en Salta y Jujuy, campaña agrícola 2009/10.	42
Figura 2.14. Mapa de predicción de errores para la variable severidad en los tres estadios evaluados según el modelo exponencial	45
Figura 2.15. Mapa de predicción de severidad en los tres estadios fenológicos evaluados en Salta y Jujuy, campaña agrícola 2010/11.	46

Figura 2.16. Mapa de predicción de errores para la variable incidencia en los tres estadios evaluados según el modelo exponencial	49
Figura 2.17. Mapa de predicción de incidencia en los tres estadios fenológicos evaluados en Salta y Jujuy, campaña agrícola 2009/10	50
Figura 2.18. Mapa de predicción de errores para la variable incidencia en los tres estadios evaluados según el modelo exponencial	53
Figura 2.19. Mapa de predicción de incidencia en los tres estadios fenológicos evaluados en Salta y Jujuy, campaña agrícola 2010/11	54
Figura 2.20. Porcentaje de prevalencia de la enfermedad, en Salta en las campañas agrícolas 2009/10 y 2010/11.	55
Figura 2.21. Porcentaje de prevalencia de la enfermedad, en Jujuy en las campañas agrícolas 2009/10 y 2010/11.	56
Figura 2.22. Presencia de la enfermedad, en la campaña 2009/10 almacigo convencional y flotante	56
Figura 2.23. Presencia de la enfermedad, en la campaña 2010/11 almácigo convencional y flotante	57
Figura 2.24. Presencia de la enfermedad, en la campaña 2009/10 almácigo convencional y flotante	57
Figura 2.25. Presencia de la enfermedad, en la campaña 2010/11 almácigo convencional y flotante	58
Figura 2.26. Presencia de la enfermedad en relación a lotes bajo rotación o no en la campaña 2009/10.	58
Figura 2.27. Presencia de la enfermedad en relación a lotes bajo rotación o no en la campaña 2010/11	59
Figura 2.28. Presencia de la enfermedad en relación a lotes bajo rotación o no en la campaña 2009/10	59
Figura 2.29. Presencia de la enfermedad en relación a lotes bajo rotación o no en la campaña 2010/11	60

### **CAPITULO III. Identificación de grupos de anastomosis de los aislamientos de *Rhizoctonia* spp. presentes en Salta y Jujuy empleando marcadores ITS, caracteres morfológicos y virulencia**

Figura 3.1. Disposición del ADNr eucariótico 18S, 5.8S y 28S en tándem	72
Figura 3.2. Disposición de las zonas no codificantes ITS1 e ITS2.	73
Figura 3.3. Inoculación en planta	80
Figura 3.4. Grupos morfológicos.	86
Figura 3.5. Tasa de crecimiento radial de micelio a diferentes temperaturas por grupo morfológico	87
Figura 3.6. Arbol de Neighbor-joining de aislamientos de <i>Rhizoctonia</i> utilizando secuencias de ITS.	88
Figura 3.7. Síntomas y severidad de DO y MH.	90
Figura 3.8. Severidad de mancha en hoja (MH) y <i>damping-off</i> (DO).	89

### **CAPÍTULO IV. Análisis de la variabilidad genotípica presente en los aislamientos de *Rhizoctonia*, empleando caracteres moleculares (ISSR)**

Figura 4.1. Esquema de cebadores ISSR con y sin anclaje.	98
Figura 4.2. Perfiles ISSR de 14 cepas de <i>Rhizoctonia solani</i> utilizando el cebador C.	103
Figura 4.3. Perfiles ISSR de 19 cepas de <i>Rhizoctonia solani</i> utilizando el cebador FA5	103

Figura 4.4. Perfiles ISSR de 14 cepas de <i>Rhizoctonia solani</i> utilizando el cebador G.	104
Figura 4.5. Fenograma de 21 aislados de <i>R. solani</i>	105
Figura 4.6. Análisis de coordenadas principales de 21 aislados de <i>R. solani</i>	106

#### **CAPÍTULO V. Dinámica temporal de *Rhizoctonia solani* Kühn en diferentes variedades de tabaco Tipo Virginia**

Figura 5.1. Curva de progreso de una epidemia y parámetros epidemiológicos	114
Figura 5.2. Inoculación en plantas	119
Figura 5.3. Síntomas de la podredumbre radicular del tabaco por <i>R. solani</i>	121
Figura 5.4. Curvas de progreso de la podredumbre radicular por <i>R. solani</i> en diferentes variedades de tabaco tipo Virginia en Chicoana (Salta) durante la campaña 2008/09.	123
Figura 5.5. Curvas de progreso de la podredumbre radicular por <i>R. solani</i> en diferentes variedades de tabaco tipo Virginia en Chicoana (Salta) durante la campaña 2009/10.	124
Figura 5.6. Curvas de progreso de la podredumbre radicular por <i>R. solani</i> en diferentes variedades de tabaco tipo Virginia en Cerrillos (Salta) durante la campaña 2008/09.	125
Figura 5.7. Curvas de progreso de la podredumbre radicular por <i>R. solani</i> en diferentes variedades de tabaco tipo Virginia en Colon (Salta) durante la campaña 2009/10.	125
Figura 5.8. Curvas de progreso de la podredumbre radicular por <i>R. solani</i> en diferentes variedades de tabaco tipo Virginia en San Agustín (Salta) durante la campaña 2008/2009.	126
Figura 5.9. Incidencia para variedades que presentaron correlación significativa con la precipitación (mm).	133
Figura 5.10. Incidencia para variedades que presentaron correlación significativa con la temperatura media de ambiente (°C).	134



## *Declaración*

*“Declaro que el material incluido en esta tesis es, a mi mejor saber y entender, original, producto de mi propio trabajo (salvo en la medida en que se identifique explícitamente las contribuciones de otros), y que este material no ha sido presentado, en forma parcial o total, como una tesis en ésta u otra institución.”*

Guadalupe E. Mercado Cárdenas





**ABREVIATURAS Y SIGLAS Sigla/abreviatura**

	<b>Significado</b>
AFLP	Polimorfismo de longitud de fragmentos amplificados
ABCPE	Área bajo la curva de progreso de la enfermedad
AG	Grupo de anastomosis
AMOVA	Análisis molecular de la varianza
ANOVA	Análisis de la varianza
APG	Agar papa glucosado
BN	Binucleada
CCC	Coefficiente de correlación cofenético
CME	Cuadrado medio del error
CTAB	Cetil-trimetil-bromuro de amonio
CS	Coefficiente de sesgo
CV	Coefficiente de variación
DBCA	Diseño experimental en bloques completamente aleatorizado
DCA	Diseño experimental completamente aleatorizado
DDT	Días después del trasplante
dNTP	Desoxiribonucleótido trifosfato
GM	Grupo morfológico
EDTA	Etilen-diamino-tetra-acetato
EEA	Estación Experimental Agropecuaria
INTA	Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria
ISSR	Amplificación de fragmentos ubicados entre secuencias repetitivas simples
ITS	Espaciador transcribible interno
MN	Multinucleada
NCBI	Centro Nacional de Información Biotecnológica
NOA	Noroeste de la Argentina
OTU	Unidades taxonómicas operativas
pb	Pares de bases
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
RAPD	Polimorfismo de ADN amplificados al azar
SIG	Sistema de información geográfica
SSR	Secuencias repetitivas simples
TBE	Tris-borato-EDTA
UPGMA	Ligamiento promedio no ponderado
URP	Cebadores derivados de secuencias repetidas de ADN del genoma del arroz



**ASPECTOS BIOLÓGICOS Y EPIDEMIOLOGICOS DE ENFERMEDADES  
DEL TABACO CAUSADAS POR *Rhizoctonia solani*, EN EL NOROESTE  
ARGENTINO**

**RESUMEN**

Las enfermedades en tabaco (*Nicotiana tabacum* L.), causadas por *Rhizoctonia solani* Kühn, y en importancia de prevalencia la podredumbre radicular, son las enfermedades que causan mayores pérdidas en la producción. Cuanto mayor es el conocimiento de todas las características de una epidemia, más completa es la visión de la estructura del comportamiento del patosistema para poder desarrollar estrategias de manejo de la enfermedad. Por ello este trabajo de tesis se planteó diferentes objetivos, determinar la modelización espacial de la enfermedad en las provincias de Salta y Jujuy, obteniendo por geoestadística una distribución agregada en el inicio de la epidemia y aleatoria en con el avance temporal, ajustándose al modelo exponencial, asociado a factores de manejo y ambientales. Asimismo se realizó un análisis de las secuencias de ADN<sub>r</sub>-ITS, morfología y pruebas de patogenicidad que permitieron la identificación de *R. solani* AG 4 HG-I, AG 2-1 y AG 4 HG-III como causantes de enfermedad en tabaco en el NOA. En los aislamientos determinados como *R. solani*, los marcadores ISSR permitieron detectar gran variabilidad genética, la cual estaría influenciada por la existencia de diferentes factores como ser el flujo génico por dispersión de propagulos y las prácticas de manejo. Finalmente el análisis de la dinámica temporal de epidemias permitió interpretar y entender el comportamiento de la enfermedad en diferentes materiales genéticos de tabaco, generando una importante base de información para la toma de decisiones en la generación de una estrategia de manejo de la patología. La información generada contribuye al conocimiento del sistema epidemiológico y recalca la necesidad de encarar estudios que integren a la unidad de producción a un contexto regional, teniendo en cuenta que el patosistema debe ser abordado como parte reconocida de una complejidad biológica intrínseca a la sanidad.

**Palabras claves.** *Nicotiana tabacum* L., geoestadística, ADN<sub>r</sub>-ITS, *Rhizoctonia solani*, variabilidad genética, ISSR, dinámica temporal, estrategias de manejo, sistema epidemiológico.



**EPIDEMIOLOGICAL AND BIOLOGICAL ASPECTS OF DISEASE CAUSED  
BY *Rhizoctonia solani*, IN NORTHWESTERN ARGENTINA**

**ABSTRACT**

Disease in tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) caused by *Rhizoctonia solani* Kühn, prevalence and importance of root rot are diseases that causes major losses in production. Major all that is the knowledge of all the characteristics of an epidemic, more complete is the vision of the structure of the behavior of the patosistema to be able to develop strategies of managing of the disease. For it this work of thesis appeared different aims, to determine the spatial modeling of the disease in the provinces of Salta and Jujuy, obtaining for geostatistics a distribution added in the beginning of the epidemic and random in with the temporary advance, adjusting to the exponential model associated with environmental and management factors. An analysis of the rDNA-ITS sequences, morphology and pathogenicity tests that allowed the identification of *R. solani* AG 4 HG-I, AG 1.2 and AG 4 HG-III caused disease in tobacco was also performed in the NOA. In isolates determined as *R. solani*, the ISSR markers allowed detecting high genetic variability, which would be influenced by the existence of different factors such as gene flow by dispersing propagules and management practices. Finally, the analysis of the temporal dynamics of epidemics allowed to interpret and understand the behavior of the disease in different genetic materials of tobacco, generating significant information base for decision making in the generation of a management strategy of pathology. The information generated helps to know the epidemiological system and emphasizes the need to address studies that integrate the production unit to a regional context, taking into account the pathosystem recognized should be addressed as part of an intrinsic biological complexity to healthcare.

**Key words:** *Nicotiana tabacum* L., geostatistics, rDNA-ITS, *Rhizoctonia solani*, genetic variability, ISSR, temporal dynamics, management strategies, epidemiological system





**ASPECTOS BIOLÓGICOS Y EPIDEMIOLÓGICOS DE ENFERMEDADES  
DEL TABACO CAUSADAS POR *Rhizoctonia solani*, EN EL NOROESTE  
ARGENTINO**



---

# Capítulo I

---

Introducción

---



## CAPITULO I

### Introducción

#### 1. El patosistema (hospedante-patógeno-ambiente-enfermedad)

##### 1.1. Hospedante- Cultivo de tabaco (*Nicotiana tabacum* L.)

El centro de origen del tabaco se sitúa en la zona andina entre Perú y Ecuador. Los primeros cultivos tuvieron lugar entre 5000 y 3000 mil años a.C. Pertenece a la familia Solanácea, siendo Linnaeus en 1753 el primero en describir cuatro especies de *Nicotiana* (*N. glutinosa*, *N. tabacum*, *N. rustica* y *N. paniculada*). El género actualmente incluye 76 especies, y ocupa el sexto lugar dentro de la familia (*Solanum* 1500-2000, *Lycianthes* Hassl 250, *Cestrum* L. 150, *Physalis* L. 90 y *Lycium* 80, según Hunziker, 2001). La hibridización anfidiplóide (alotetraploide), es común en el género y está relacionada a la intervención humana, los tabacos comerciales son híbridos anfidiplóide (Goodspeed, 1954; Knapp *et al.*, 2004).

El tabaco (Figura 1.1) usado por los mayas para celebraciones rituales religiosas, fue conocido por los occidentales en 1492, cuando el descubrimiento de América, siendo su consumo ya extendido por todo el continente. Además de fumar, se aspiraba por la nariz, se masticaba, se comía, se bebía, se untaba sobre el cuerpo, se esparcía en campos antes de sembrar y se ofrecía a los dioses (Rodríguez Faraldo y Orestes Zilocchi, 2012).

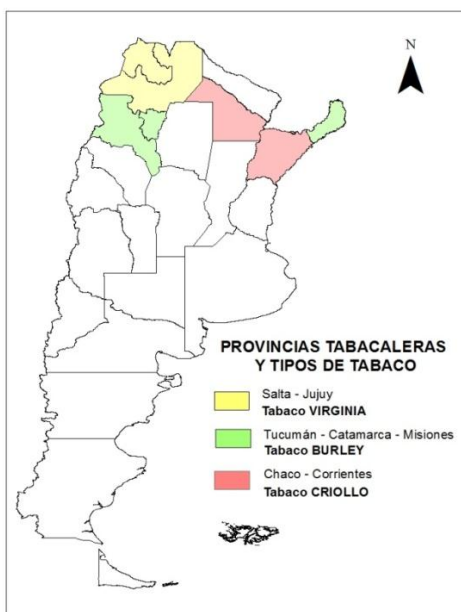


**Figura 1.1.** Plantación de tabaco Tipo Virginia

##### 1.1.1. Importancia del cultivo de tabaco en el mundo y en Argentina

Dentro de la actividad agraria, el cultivo de tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) tiene una producción mundial del orden de los 5.78 millones de toneladas, siendo China el principal productor con más del 38.5%, le siguen en importancia India (10,3%), Brasil (8,9%), EE.UU. (6,3%), Indonesia (2,5%) y Turquía (2,4%). De este total, el 75,9% corresponde a la producción de tabaco tipo Virginia, el 16,4% a Burley y 7,7% a Oriental. Argentina participa con el 3% de la producción mundial y representa el 4% del comercio internacional. Las áreas productoras en Argentina se ubican en dos regiones,

en el noroeste -NOA- (Jujuy, Salta, Tucumán y Catamarca), y en el noreste -NEA- (Misiones, Corrientes y Chaco). Las características productivas, sobre todo en lo que hace a la variedad de tabaco cultivado, son bien diferenciadas en ambas regiones. En el NOA se asienta fundamentalmente la producción de tabaco tipo Virginia con el 67% del total, participando Salta con el 33,1% y Jujuy con el 33,9%. El tipo Burley se produce en el NEA, específicamente en Misiones con el 26,6%, mientras en Tucumán y Catamarca se cultiva aproximadamente el 6,4%. Además, en Salta también se produce la totalidad de la producción del Criollo Salteño (MAGYP, 2014) (Figura 1.2).



**Figura 1.2.** Provincias tabacaleras y tipos de tabaco en Argentina.

La superficie total cultivada con tabaco en el país fue de 69.089 en el 2012/13 has. Salta y Jujuy disponen de aproximadamente 36.515 has, casi la totalidad bajo riego, lo que contribuye a asegurar la producción. La producción total de tabaco en Argentina fue de 112.000 toneladas, se destinaron a exportación 103.000, de las cuales 76.000 correspondieron al Tipo Virginia. De estas cifras más del 99,59% correspondió a las provincias de Salta y Jujuy, con un rendimiento promedio de 2400 kg/ha. (MAGYP, 2014).

El cultivo del tabaco en Salta se inició masivamente en la década del '30 y en los años '40 llegó a participar con el 81% de la producción nacional, pasando al 65,3% en la segunda mitad de los '50, para alcanzar en la actualidad el 47,5% de la producción nacional de tabaco y convertirse en la segunda productora a nivel nacional y la segunda de la región del NOA (MAGYP, 2014).

En promedio este cultivo requiere de unos 130 jornales por hectárea a razón de \$56/jornal, de ahí la enorme implicancia social que esta actividad presenta en las zonas donde se desarrolla. Ningún otro cultivo de intensivo empleo del factor mano de obra, se alcanza este nivel de demanda. Así por ejemplo, el algodón demanda 28 jorn/ha; vid 85 jorn/ha y caña de azúcar 65 jorn/ha (Toncovich y Piccolo 2008, Piccolo, 2004). De lo antedicho se deduce que el tabaco tiene una apreciable participación en la economía regional, tanto desde el punto de vista de la producción y exportaciones provinciales, como por su relevancia en la generación de empleo.

### 1.1.2. Producción de tabaco

El tabaco se cultiva como una planta anual en todas las regiones productoras del mundo, pero es potencialmente perenne. Usualmente las semillas de 0,5 mm de diámetro provenientes de Brasil o de EE.UU. son sembradas bajo dos sistemas de almácigo (convencional y flotante), para luego ser transplantadas a campo. Las semillas se siembran en junio-julio-agosto en suelo bajo microtúneles para proteger de condiciones climáticas adversas (convencional) y/o en bandejas de tergopol, con sustratos comerciales a base de turba-perlita, éstas luego de la siembra son colocadas en cajones con solución nutritiva en invernadero (flotante). Las semillas demoran entre 7 - 20 días en germinar; luego las plantas crecen en el almácigo entre 40 a 60 días y desde que tienen entre 15 a 22 cm de longitud se desmochan nueve veces con el objeto de rustificar y uniformizar los plantines para un mejor comportamiento a campo. Posteriormente se transplantan a campo, donde los plantines crecen y elongan rápidamente durante 60 días, la floración se inicia a los 70 días aproximadamente y cuando el 35-40% de la plantación está en estado de botón floral se realiza el desflore. Posteriormente se aplica el inhibidor de brotes, ya que luego del desflore la planta reacciona emitiéndolos. Esta tarea es muy importante ya que se pierde de 25-30 kg/ha (Fernandez de Ullivarri, 1990).

Entre los 90 y 100 días de ciclo se inicia la cosecha de hojas bajas, cuando las mismas están fisiológicamente maduras. Normalmente se hacen seis cortes por hectárea y se sacan entre 2 a 3 hojas por vez. Las hojas se retiran del cerco utilizando bolsas de arpillera para hacer atados y se los carga al final del surco en un acoplado. Luego las hojas se llevan hacia las estufas (convencionales o *bul curing*) para proceder a su curado, durando aproximadamente 7 días, de acuerdo a la madurez y humedad de las hojas cosechadas. Seguidamente se las clasifica por clase, color y posición. Finalmente se procede al enfardado, en bultos de 50 kg (0,35 m de ancho, 0,45 m de alto y 0,90 m de largo). Estos se acondicionan con aislantes como cartón para evitar el contacto directo con la humedad del piso hasta ser comercializado (Fernandez de Ullivarri, 1990).

### 1.1.3. Importancia de las enfermedades en tabaco

Al estudiar el proceso de desencadenamiento de una enfermedad en el vegetal, hay que considerar tres elementos: planta u hospedante, patógeno (hongo, bacterias o virus) y el ambiente; trío inseparable que nunca debe dejarse de lado, pues si bien el patógeno tiene importancia, no podrá actuar en un hospedante inmune o en condiciones medioambientales desfavorables (Figura 1.3). El hombre tiene un papel importante en el agroecosistema, interviniendo por medio de las prácticas culturales, y tratamientos fitosanitarios, modificando de esta manera el ambiente a través del tiempo.

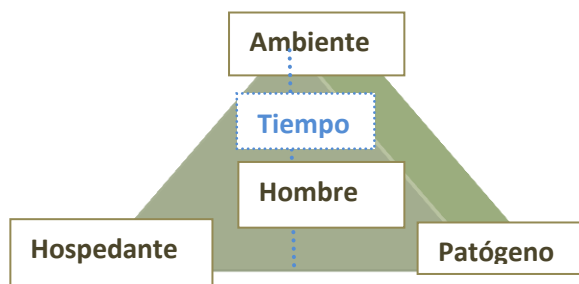


Figura 1.3. Triángulo de la enfermedad

La importancia de las enfermedades en el cultivo de tabaco ha aumentado en los últimos años, ocasionando daños anuales del 20%. Esto se atribuye principalmente al empleo de sistemas de labranza de tipo convencional que ha llevado a procesos de erosión hídrica y eólica, con el consiguiente deterioro de la estructura del suelo, la intensificación de la oxidación de la materia orgánica y la alteración de la rizósfera que es considerada una zona de amortiguamiento donde la microbiota existente protege a la planta del ataque de patógenos (Krupa y Dommergues, 1981).

El tabaco por su sistema de cultivo de almácigo-plantación, presenta durante su ciclo vegetativo diferentes problemas sanitarios causados por hongos, bacterias y virus. En la etapa de almácigo las enfermedades más frecuentes en la provincia de Salta y Jujuy son: mal de los almácigos o tizón de plántulas [*Rhizoctonia solani* Kühn, *Pythium ultimum* Trow, *Pythium aphanidermatum* (Edson) Fitzp.] y moho azul (*Peronospora tabacina* D.B.Adam). En la etapa de plantación se presentan en hoja: mancha castaña [*Alternaria alternata* (Fr.:Fr.) Keissl], viruela u ojo de rana (*Cercospora nicotianae* Ellis & Everh), mancha rasgada (*Ascochyta nicotianae* Pass.), mancha por Phyllosticta (*Phyllosticta nicotiana* Ellis & Everh), mosaico del tabaco Tobacco Mosaic Virus (TMV), polvillo Potato Virus Y (PVY) y corcovo Groundnut Ring Spot Virus (GRSV). En raíces y tallo las enfermedades más comunes son: podredumbre del tallo (*Pythium spp*), canilla negra o Black Shank (*Phytophthora nicotianae* Breda de Haan), marchitamiento por *Fusarium* [*Fusarium oxisporum* Schlechtend. ex Fr. f.sp. *nicotianae* (J. Johnson) W.C.Snyder & H.N.Hans.], marchitamiento bacteriano (*Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi *et al.*) y podredumbre radicular (*Rhizoctonia solani*). La importancia económica de cada enfermedad varía de año a año y de una región a otra, dependiendo de las condiciones climáticas de cada campaña. Como se mencionó, en la provincia de Salta se observó un marcado incremento de las mismas, en especial de la podredumbre radicular (Mercado Cárdenas *et al.*, 2009).

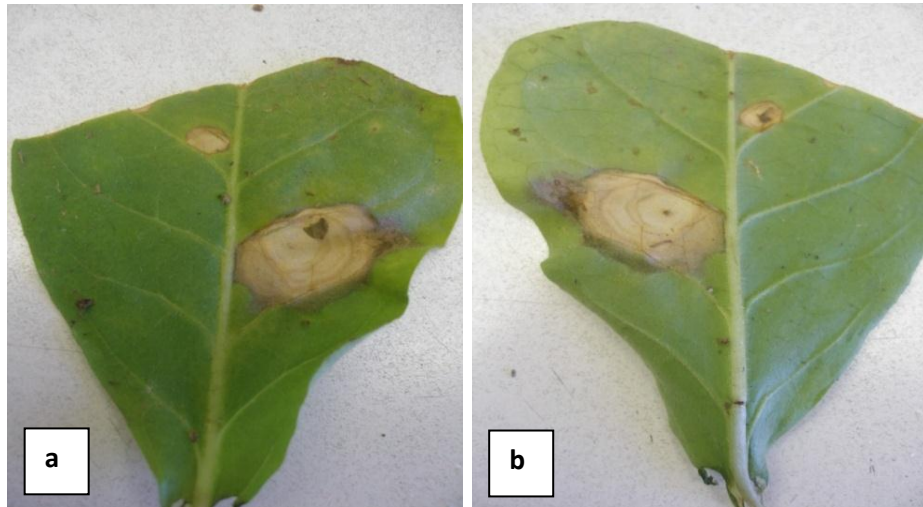
#### **1.1.4 Enfermedades causadas por *Rhizoctonia***

A nivel mundial la podredumbre radicular o *Sore Shin* no es una de las principales enfermedades que prevalece en la etapa de plantación y los daños económicos no superan el 5% (Lucas, 1975; González *et al.*, 2011). Diferente es el caso del tizón de plántulas o *damping off* y de la mancha foliar por *Rhizoctonia* (Figura 1.4). Esta última no ocurre en las distintas áreas del mundo, ya que es una enfermedad altamente dependiente de condiciones ambientales de elevada pluviometría y humedad relativa; sin embargo la primera provoca daños económicos mundiales del 15% (Nicoletti *et al.*, 1999). El mismo fue determinado por primera vez en el año 1904 en almácigos de tabaco en U.S.A por Selby (Lucas, 1975).

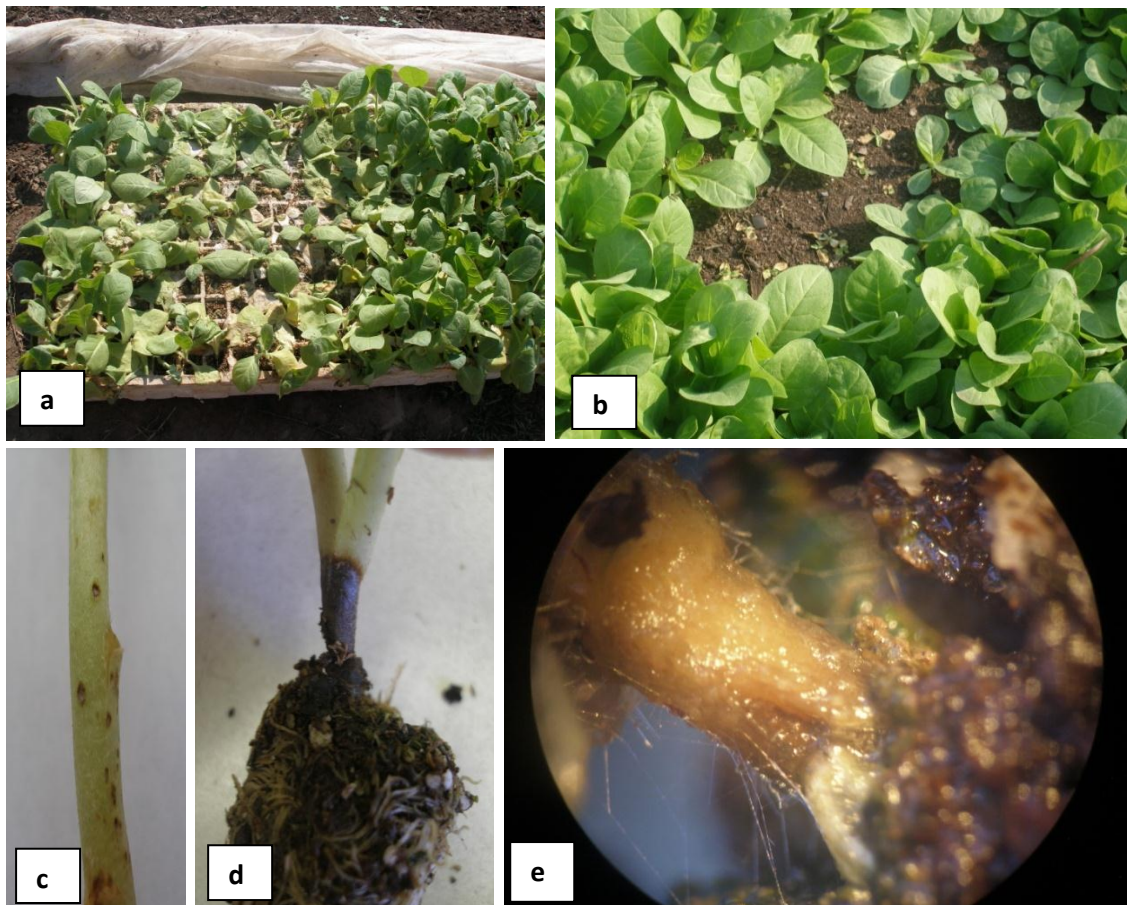
Esta patología en el estadio de plantín, se caracteriza por presentar canchales en el cuello de la planta y si las condiciones son favorables estas lesiones se expanden, originando una constricción en el cuello que termina en quiebre y caída de la planta (Figura 1.5). En plantación, se observa una coloración marrón oscura en el tallo cerca de la línea del suelo, permaneciendo las raíces sin síntoma alguno o manifestando crecimiento unilateral, característico del *Sore Shin* (Figura 1.6). Este síntoma puede tomar hasta las hojas inferiores y pudrirse la base de las mismas con su consiguiente caída. Si se realiza un corte longitudinal de la lesión del tallo, se visualiza la médula tabicada, seca y de color marrón, mostrando muchas veces el micelio del hongo.



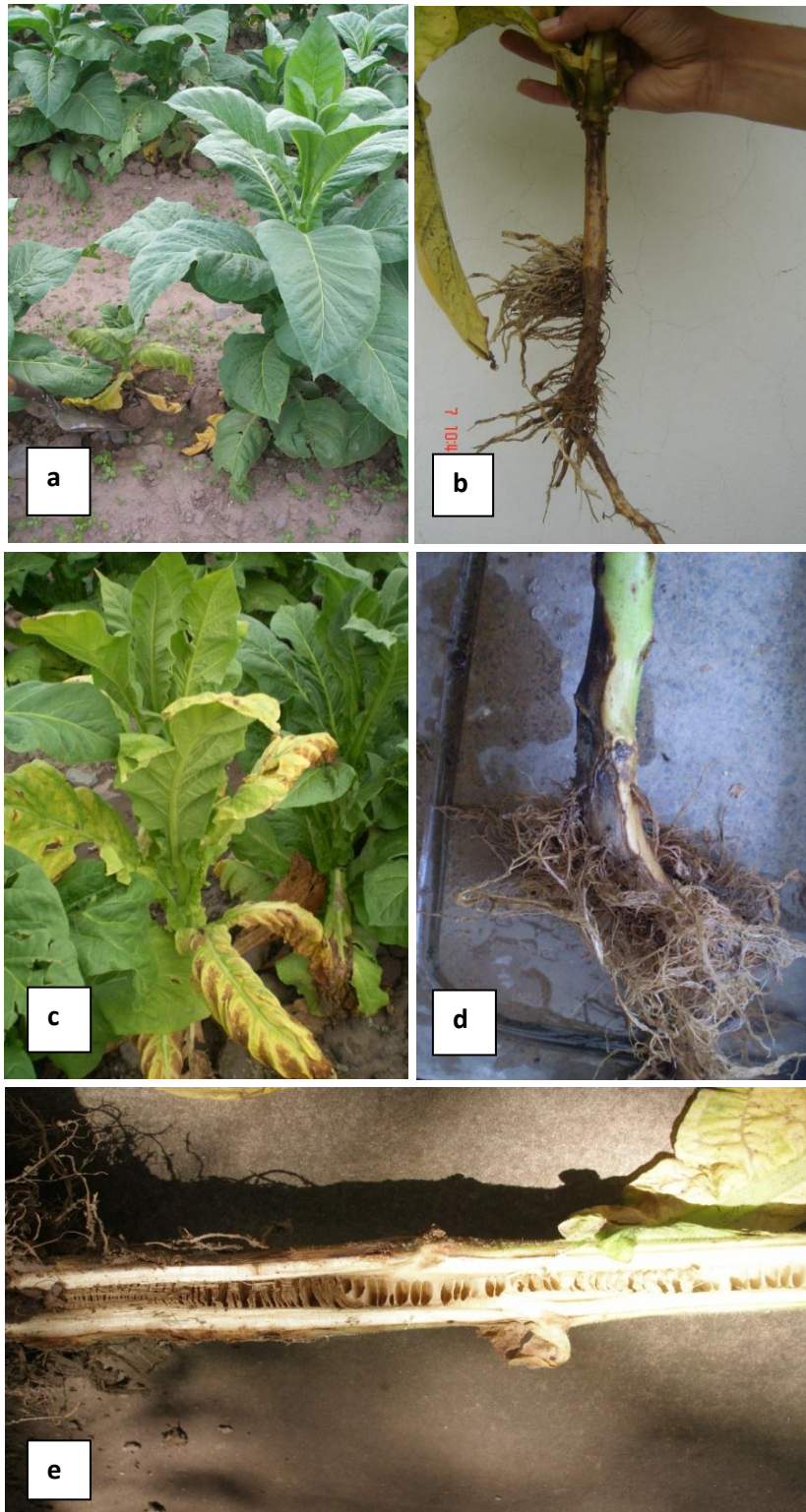
Correspondiéndose en la parte aérea las hojas se tornan amarillas y se marchitan en etapas tardías de la enfermedad (Figura 1.6).



**Figura 1.4.** a y b) Haz y envés de hoja de tabaco de almacigo convencional con síntoma de tizón de plantas o mancha foliar por *Rhizoctonia*



**Figura 1.5.** a) Síntoma de tizón de plántulas en almacigo flotante; b) síntoma de tizón de plántulas en almacigo; c) detalle de síntoma inicial en plantin; d) detalle de necrosis y constricción en cuello de plantin; e) detalle en lupa de micelio en cuello.



**Figura 1.6.** a) A la izquierda planta enferma por Shore Shin y a la derecha planta sana b) crecimiento unilateral, c) síntomas de marchitamiento foliar, amarillamiento y necrosis, d) necrosis en cuello y raíz principal, e) tabicamiento y oscurecimiento en haces vasculares del cuello y tallo.



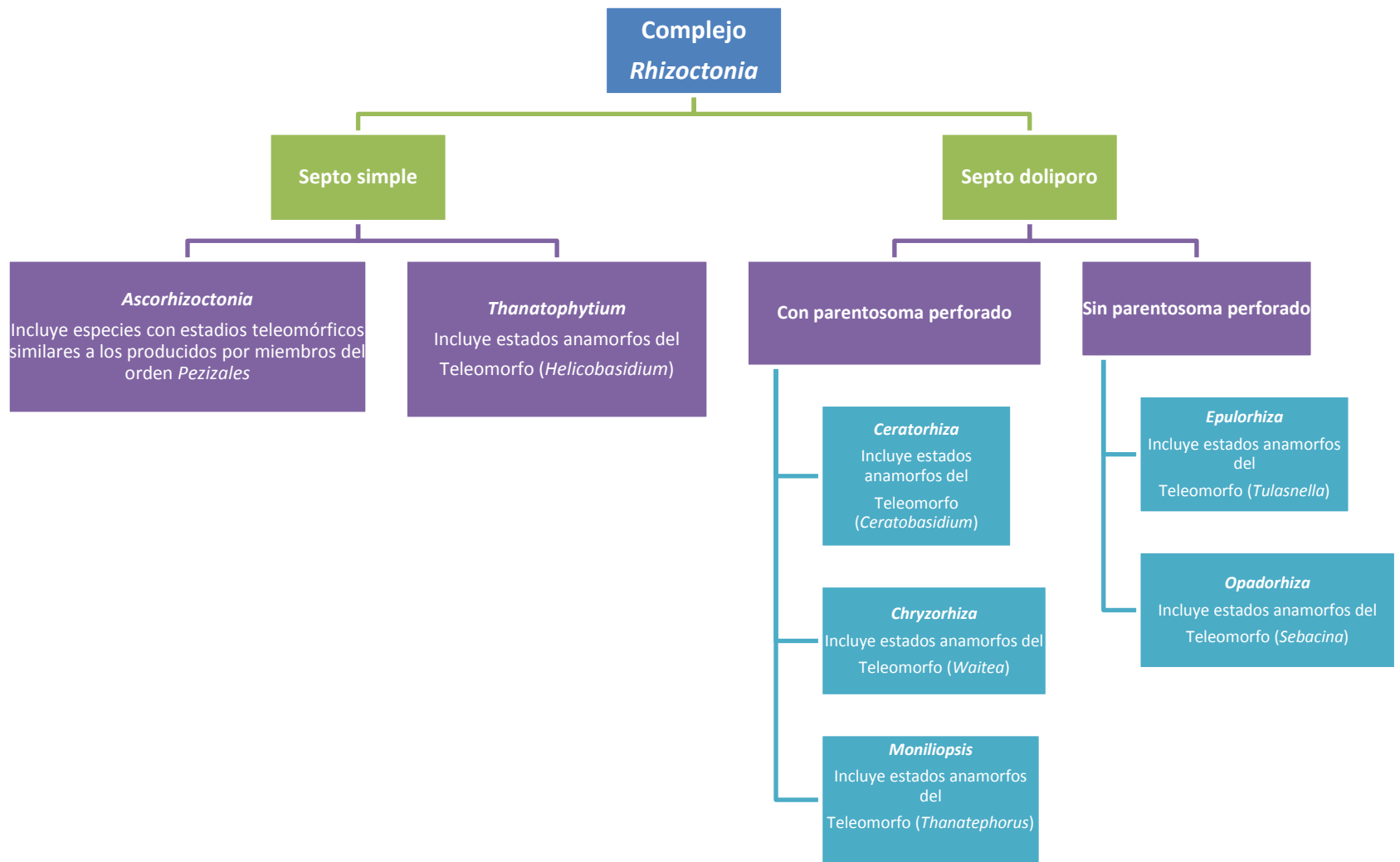
#### 1.1.4.1- Taxonomía del patógeno

A finales del siglo XIII, los micólogos europeos descubrieron un hongo parásito del azafrán, *Crocus sativus* L., que llamaba la atención por la presencia de esclerocios típicos de este hongo como una forma estéril y lo clasificaron en el género *Sclerotium*. De Candolle, en 1815, creó el género *Rhizoctonia*, designando como *Rhizoctonia crocorum* (Pers.) DC. a la especie parásita del azafrán y asignando a las especies afines sobre alfalfa y manzano los nombres de *R. medicaginis* DC. y *R. mali* DC., respectivamente. Los Tulasne publicaron en 1862, el primer estudio morfológico extenso sobre este género, y consideraron que las formas parásitas del azafrán y alfalfa pertenecían a la misma especie, adquiriendo la enfermedad el nombre del “Mal vinoso” (Walker, 1973). En 1958, Kühn publica sobre una enfermedad producida por *Rhizoctonia* en papa, considerando a la misma diferente al Mal vinoso, describiendo finalmente al hongo causante de ella como *Rhizoctonia solani* Kühn (Sneh *et al.*, 1991).

La sistemática del complejo *Rhizoctonia* ha sido estudiada por varios autores, quienes dividen las especies con anamorfos similares a *Rhizoctonia* en al menos siete géneros. Esta división se basa en la estructura del aparato septal y el estadio teleomorfo (González García, 2008) (Figura 1.7).

Los teleomorfos mas estudiados desde el punto de vista fitopatológico son *Thanatephorus*, *Waitea* y *Ceratobasidium* y pertenecen a la subdivisión Basidiomycota, clase Hymenomycetes. Los anamorfos de estos géneros se han identificado y clasificado tradicionalmente sobre la base del número de núcleos por célula (Sneh *et al.*, 1991). Es así que los dos primeros géneros son multinucleados y el ultimo binucleado.

En tabaco se ha detectado hasta la actualidad a *Thanatephorus* y *Ceratobasidium* como dos géneros teleomorfos fitopatógenos (Lucas 1975; Shew y Melton, 1995; Nicoletti *et al.*, 1999; García *et al.*, 2009; Gurkanlic y Ozkoc, 2011)



**Figura 1.7.** Sistemática del complejo *Rhizoctonia*

#### 1.1.4.1.1. Grupos de anastomosis

La reacción de anastomosis hifal es una expresión de la incompatibilidad o compatibilidad somática (Anderson, 1982). Un grupo de anastomosis (AG) está formado por aislados genéticamente relacionados, según su habilidad para anastomosarse entre ellos. Es así que este concepto se utiliza como criterio de clasificación taxonómico tanto para especies multinucleadas, como para las binucleadas (Carling, 1996). Para las especies multinucleadas se describieron 13 AG, que incluyen 13 grupos diferentes (AG 1 a AG 13), siendo estos capaces de anastomosarse entre miembros de un mismo grupo. Asimismo algunos aislados de *R. solani* han sido divididos en subgrupos de anastomosis (AG 1, AG 2, AG 4, AG 6 y AG 9) basados en diferentes criterios, como caracteres morfológicos, bioquímicos y moleculares (Laroche *et al.*, 1992; Johnk y Jones, 1993; Liu *et al.*, 1993; Liu y Sinclair, 1993; González García, 2008, Sharon *et al.*, 2008) (Tabla 1.1).

En tabaco los grupos de anastomosis AG 1, AG 2-2, AG 4 y AG 5 causan tizón de plántulas y podredumbre radicular o Sore shin (Nicoletti *et al.*, 1995; Gutierrez *et al.*, 1997). Mientras que AG 3 produce la mancha foliar o target spot (Shew y Main, 1985; Shew y Melton, 1995; Zhao *et al.*, 2013).

**Tabla 1.1.** Grupos y subgrupos de *Rhizoctonia solani*, principales cultivos que ataca según González García (2008).

Grupo	Subgrupo	Cultivos que ataca
AG 1	IA	Arroz, maíz, sorgo, soja, poroto, césped.
AG 1	IB	Poroto, arroz, soja, leguminosas, lechuga, col, hortensia.
AG 1	IC	Zanahoria, soja, pino, lino.
AG 2	1	Crucíferas, frutilla, tulipán.
AG 2	2-III B	Arroz, jengibre, césped, maíz, remolacha.
AG 2	2-IV	Remolacha, césped.
AG 3	-	Papa, <b>tabaco</b> , tomate, berenjena.
AG 4	HG-I HG-II HG-III	Tomate, papa, soja, cebolla, algodón, pino, arveja.
AG 5	-	Papa, césped, poroto, soja.
AG 6	HG-I	No patogénico.
AG 7	-	Soja
AG 8	-	<i>Poaceae</i>
AG 9	TP TX	Crucíferas, papa.
AG 10	-	No patogénico.
AG 11	-	Trigo.
AG 12	-	Coliflor, rábano.
AG 13	-	No patogénico.

En el caso de los grupos de anastomosis en taxones binucleados, existen dos escuelas dedicadas a su estudio. Los autores japoneses han descrito 23 AG (AG-A a AG-U) (Ogoshi *et al.*, 1983; Hyakumachi *et al.*, 2005; Kuramae *et al.*, 2007), y los autores de EE.UU. ubicaron sus aislados en siete grupos (CAG-1 a CAG-7) (Burpee *et al.*, 1980) (Tabla 1.2).

En tabaco los grupos de anastomosis AG-A, AG-F, AG-G, AG-P y AG-R se encontraron causando tizón de plántulas en plantines de tabaco y podredumbre radicular en plantación (Masuka, 1998; García *et al.*, 2009; Gurkanlic y Ozkoc, 2011). Cabe recalcar que estos aislados se mostraron poco virulentos.

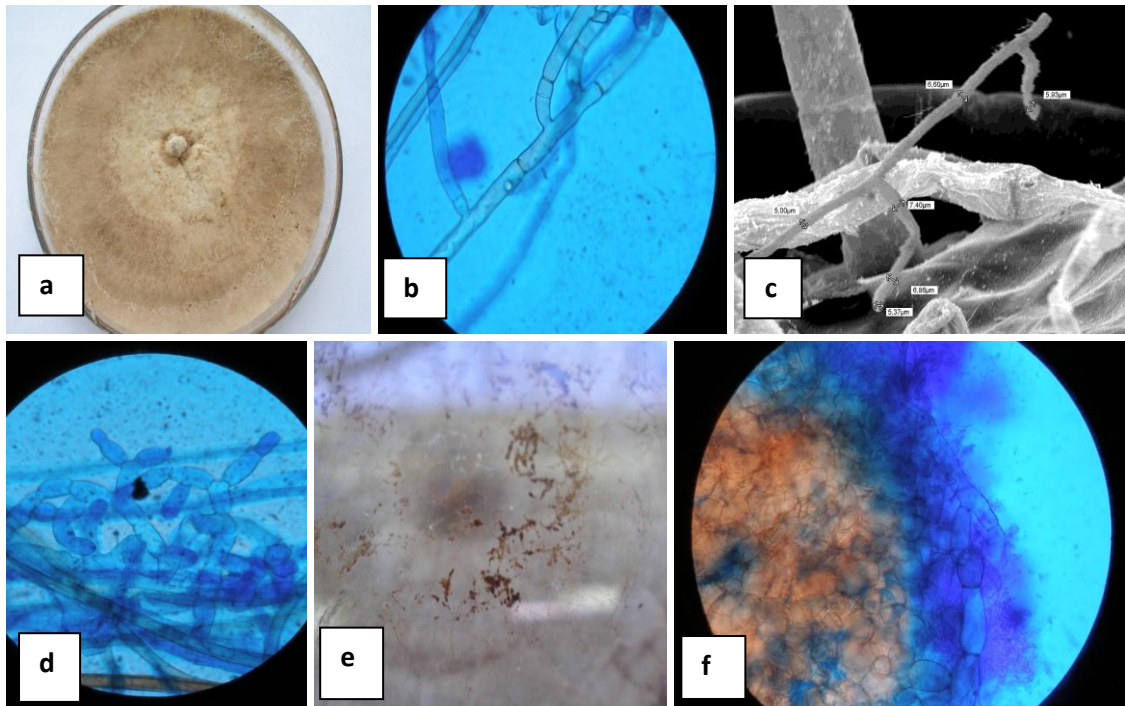
**Tabla 1.2.** Grupos de taxones binucleados de acuerdo a la nomenclatura japonesa y americana y cultivos que atacan (Modificado de González García. 2008).

AG según autores Japoneses	AG según autores Americano	Cultivos que atacan
<b>AG-A</b>	<b>CAG2</b>	Fresa, remolacha azucarera, poroto, tomate, melón, espinaca, pepino, lechuga, <b>tabaco</b> (Gurkanlic y Ozkoc, 2011).
<b>AG-Ba</b>	-	Arroz, maíz.
<b>AG-Bb</b>	-	Arroz, maíz.
<b>AG-B(0)</b>	-	Arroz.
<b>AG-C</b>	-	Poco patogénico (remolacha azucarera, cebolla, papa, algodón, poroto, soja).
<b>AG-D</b>	<b>CAG1</b>	Césped, cereales, remolacha azucarera, cebolla, papa, algodón, poroto, soja.
<b>AG-E</b>	<b>CAG3</b> <b>CAG6</b>	Poroto, rábano, cebolla, remolacha azucarera, lechuga, tomate.
<b>AG-F</b>	<b>CAG4</b>	Poroto, rábano, cebolla, lechuga, tomate, <b>tabaco</b> (Gurkanlic y Ozkoc, 2011).
<b>AG-H</b>	-	-
<b>AG-I</b>	-	Frutilla, caña de azúcar.
<b>AG-J</b>	-	-
<b>AG-K</b>	-	-
<b>AG-L</b>	-	-
<b>AG-M</b>	-	-
<b>AG-N</b>	-	-
<b>AG-O</b>	-	-
<b>AG-P</b>	-	Té.
<b>AG-Q</b>	-	Césped.
<b>AG-R</b>	<b>CAG5</b>	Poroto, papa, rábano, lechuga, <b>tabaco</b> (García <i>et al.</i> , 2009).
<b>AG-S</b>	<b>CAG7</b>	Azalea.
<b>AG-T</b>	-	Rosa, azalea.
<b>AG-U</b>	-	Rosa, azalea

#### 1.1.4.2- Características morfológicas del patógeno

*Rhizoctoni solani*, presenta un micelio septado característico, hifa hialina cuando es joven, tornándose marrón oscura en estadios adultos, siendo este de rápido crecimiento. Exhibe ramificaciones, las recientes se presentan inclinadas a 45° con respecto a la hifa madre y a 90° en edad avanzada. Además, posee tabiques cercanos a la ramificación, con una constricción especial del género. Las hifas vegetativas jóvenes

presentan células multinucleadas y un prominente poro septal. Usualmente estas forman células monilioides, las cuales son el inicio de la constitución de cuerpos de resistencia o microesclerocios de 6 mm de diámetro (Lucas, 1975) (Figura 1.8).



**Figura 1.8.** a) aislamiento de *Rhizoctonia* en agar papa glucosado, b) vista de micelio en microscopio óptico, c) vista de micelio en microscopio electrónico, d) vista de células monilioides en microscopio óptico, e) agregados de microesclerocios en tapa de placa de Petri con agar papa glucosado, f) vista de microesclerocio en microscopio óptico.

#### 1.1.4.3- Rango de hospedantes del patógeno

*Rhizoctonia solani* Kühn, estado anamorfo de *Thanatephorus cucumeris* (A.B.Frank) Donk, es un habitante natural de suelo con un amplio rango de hospedantes, afecta a 230 especies en 66 familias (Braun, 1930; González García, 2008), características que lo convierten en un enemigo peligroso y difícil de controlar. Además es un hongo necrotrófico con habilidad de competencia saprofítica por lo cual puede, en ausencia de antagonistas, permanecer indefinidamente en el suelo ya sea como hifa colonizando materia orgánica o a través de microesclerocios. Este patógeno es altamente destructivo dada su distribución en cultivos y forestales de todo el mundo (Baker, 1971).

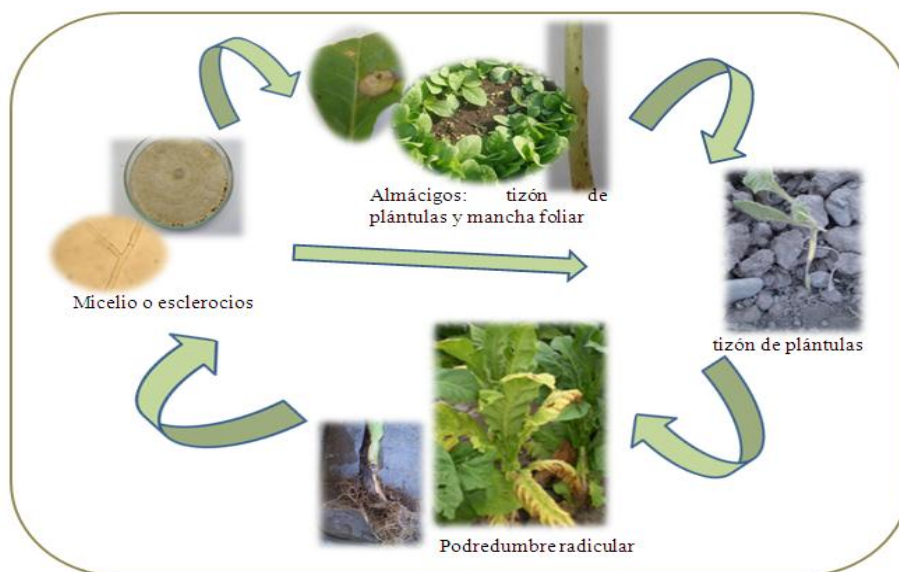
#### 1.1.4.4- Ciclo de la enfermedad y epidemiología

Según McNew (1960) pertenece al Grupo III de enfermedades radiculares. Además es una patología monocíclica, dado que el nuevo inóculo no produce infecciones durante el desarrollo del cultivo, sino que lo hará en el cultivo siguiente (March *et al.*, 2010). Los primeros síntomas son áreas necróticas o podredumbre del cuello de las plántulas que provoca el estrangulamiento y consecuentemente el marchitamiento de la parte aérea de la planta. Luego del transplante se observa igual síntoma, una coloración marrón oscura en la zona del cuello que puede extenderse

varios centímetros. Esta sintomatología puede ser confundida con la canilla negra, sin embargo en la médula oscurecida se logra visualizar el micelio característico.

*Rhizoctonia solani* es un fitopatógeno con requerimientos nutritivos simples y con una tasa alta de crecimiento micelial. La temperatura óptima para germinación y crecimiento del hongo es de 24-28°C, puede crecer rápidamente entre los 20-30°C. Humedad de suelo del 65% y áreas poco drenadas favorecen el desarrollo de la enfermedad. El pH no es un factor limitante para el desarrollo de la misma, sin embargo se han reportado cepas cuyo crecimiento se ve limitado entre valores de 2.4 y 3.8 (Shew y Lucas, 1991).

El crecimiento de *R. solani* es estimulado por los exudados producidos durante la germinación y por el activo crecimiento radicular. Puede penetrar directamente o formar cojinetes de infección sobre las raíces en las cuales causa decoloración y también mediante invasión directa a través de heridas. Aunque falta información sobre este proceso en tabaco, en algunos hospedantes como tomate, poroto y rábano la agregación de hifas forma el cojinete de infección con múltiples apresorios y clavijas de infección que penetran simultáneamente la cutícula y células epidérmicas. Las clavijas de infección se inducen como resultado del contacto y/o estimulación química, resulta probable que la penetración ocurra por una combinación tanto de mecanismos de presión como de destrucción enzimática de los constituyentes del hospedante. La colonización ocurre intercelularmente o a través de la pared epidérmica hacia el lumen celular (Dodman *et al.*, 1968.; Partemer, 1970). Las hifas invaden la corteza intracelularmente, aunque es más frecuente el avance intercelular a través de la laminilla media y los espacios intercelulares. Las hifas avanzan rápidamente ramificándose por el tejido del hospedante causando una necrosis como respuesta a las toxinas y enzimas generadas por el hongo. Si bien el sistema radicular no se deteriora, es menos extenso que el de una planta sana. Una vez muerta la planta el hongo persiste como micelio en restos del cultivo, en la materia orgánica como saprofito y a través de los esclerocios. Posteriormente si se dan las condiciones predisponentes, se reinicia el ciclo (Partemer, 1970). (Figura 1.9).



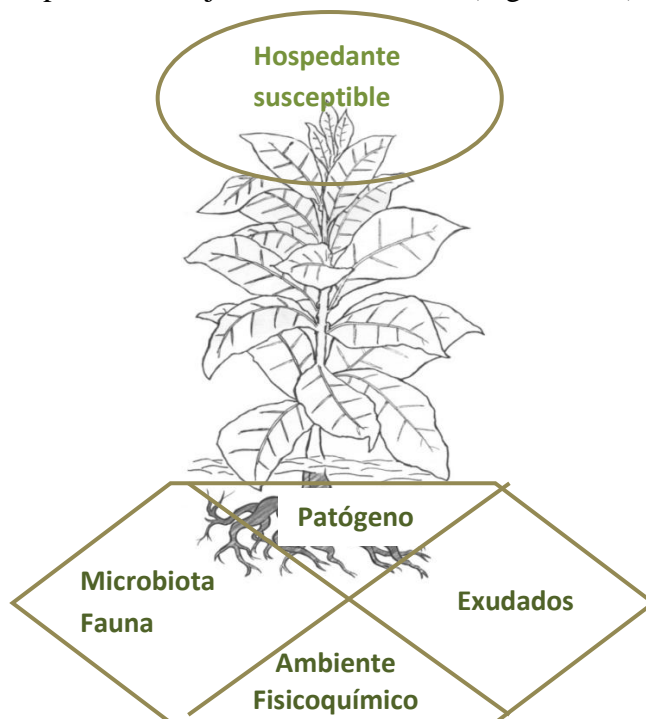
**Figura 1.9.** Ciclo epidemiológico de *Rhizoctonia solani* en cultivo de tabaco Tipo Virginia



#### 1.1.4.5- Manejo de la enfermedad

Las enfermedades causadas por patógenos radiculares no son eficientemente controladas por productos químicos, los cuales muchas veces sin una correcta aplicación suelen llevar a riesgos ecológicos. Esto nos lleva a combinar varios métodos de control con el objeto de reducir la intensidad de la patología, alcanzando el máximo de productividad sin repercutir negativamente en el ambiente, logrando una actividad aceptable por la sociedad y económicamente viable (March *et al.*, 2010).

*Rhizoctonia solani* es un fitopatógeno habitante del suelo. Esto nos lleva a tener en cuenta la complejidad de factores involucrados en la interacción hospedante-patógeno-ambiente para el manejo de la enfermedad (Figura 1.10).



**Figura 1.10.** Interacción de componentes que afectan el crecimiento y sanidad de la planta involucrando al patógeno en la raíz (adaptado de Michereff *et al.*, 2005).

Diversos métodos de manejo son empleados para el control de esta patología en el mundo.

##### 1.1.4.5.1- Manejo cultural

Consiste en la manipulación de las condiciones del cultivo durante su crecimiento y desarrollo en detrimento del patógeno, siendo su principal objetivo la prevención de la epidemia y como objetivo primario reducir el contacto entre hospedante susceptible e inóculo viable, de manera de reducir la tasa de infección y el progreso de la enfermedad (Reis *et al.*, 2005).

Un concepto de importancia dentro de este tipo de manejo, es el de los **suelos supresivos**. Éste fue definido por Baker y Cook (1982), como aquel en donde el patógeno no puede establecerse; o el patógeno se establece y no tiene el potencial de causar enfermedad; o se establece, causa enfermedad inicialmente y finalmente disminuye su intensidad. Es decir que es un suelo capaz de suprimir el crecimiento, multiplicación o parasitismo de los microorganismos infectantes de raíces. Básicamente

esto se puede lograr en la producción agrícola, por medio de dos prácticas culturales: la rotación y la aplicación de enmiendas orgánicas. Ambas mejoran la calidad de materia orgánica, características físicas y químicas del suelo, e indirectamente la cantidad de microorganismos deseables en detrimento de los patógenos, todas ellas actuando en favor del crecimiento y desarrollo del hospedante (Reis *et al.*, 2005).

Yulianti y Hidayah (2011), estudiaron el efecto de la adición de cuatro fuentes de materia orgánica sobre el control del tallo hueco (*Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*) en tabaco, encontrando que los cuatro tratamientos aumentaron la población microbiana de hongos, bacterias y actinomicetes y disminuyeron la severidad de la enfermedad. Ghini y Morandi (2006) evaluaron los factores bióticos y abióticos asociados a suelos supresivos a *R. solani*, en 59 muestras de suelo bajo diferentes manejos, ellos obtuvieron correlación de suelo supresivo con varias variables abióticas (P, K, Ca, Mg, Na, Cu, CEC y S) y una biótica (hidrólisis de la fluoresceína diacetato-FDA).

Así mismo, una adecuada disponibilidad de nutrientes para el hospedante, juega un rol importante en el manejo de enfermedades, dado que puede otorgar una tolerancia a la enfermedad o directamente influir negativamente sobre el patógeno. Sumith y Bandara (2002), probaron el efecto de cuatro niveles de potasio sobre la severidad de *R. solani*, *P. ultimum* y *F. solani* f. sp. *Nicotianae* en el cultivo de tabaco; obteniendo que con un nivel del 10% superior a la base utilizada normalmente las enfermedades disminuían en un rango de 15 a 29%.

#### **1.1.4.5.2- Manejo biológico**

Este tipo de manejo incluye en la interacción planta-patógeno-ambiente, a los microorganismos no patógenos o antagonistas que se encuentran en el sitio de infección y que presentan potencial para limitar la actividad del patógeno o aumentar la resistencia al hospedante (Cook y Baker, 1983).

Entre los antagonistas más empleados para el control de *R. solani*, se encuentra *Trichoderma harzianum*. Stefanova *et al.* (2004), estudiaron el efecto de control de *T. harzianum* sobre *R. solani* y *Phytophthora nicotianae* en almácigo de tabaco, detectando una disminución entre 30 y 60% de incidencia. Cole y Zvenyika (1988), evaluaron la aplicación de *T. harzianum* con triadimenol para el control de *R. solani* y *F. solani* en tabaco, encontrando que la aplicación conjunta no solo favorece al control de estas patologías, sino que aumenta el rendimiento del cultivo. Gveroska y Ziberoski (2011), investigaron el efecto de la aplicación de *T. harzianum* y el fungicida Top M sobre el control de *R. solani* en tabaco, encontrando que la aplicación de *T. harzianum* después de la aplicación del fungicida resulta más exitosa que la aplicación del fungicida solo.

#### **1.1.4.5.3- Manejo químico**

Es una de las medidas más aplicadas en la agricultura por su eficiencia y economía que garantiza altos rendimientos y calidad en la producción (Kimati, 1995). Su éxito depende como los demás manejos del conocimiento del patosistema, pero además de la responsabilidad del usuario al respetar marbete del producto y recomendaciones técnicas dentro de un manejo integrado de enfermedades que nos conduce a la sustentabilidad del sistema.

Cole y Zvenyika (1987), estudiaron el efecto de aplicaciones de triadimenol en residuos de suelos a través de la técnica de empapado, sobre el crecimiento y control de



*R. solani* y *F. solani* en almácigo de tabaco, determinando que los plantines a trasplantar presentaban mayor crecimiento y menor infección de los patógenos con respecto al testigo. Además observaron una protección durante las cuatro primeras semanas después del trasplante. Kucharek *et al.* (1992) demostraron la supresión de *R. solani* en la mancha foliar y podredumbre radicular con iprodione en Florida. Csinos y Stephenson (1999), evaluaron la eficacia de los productos químicos fluazinam, tebuconazole, iprodione, flutolanil, clorpirifos, mancozeb, pentaclorodinitrobenzeno, triflumizole y carboxin sobre aislados de *R. solani* AG 3 causando mancha foliar y aislados de *R. solani* causando podredumbre radicular, señalando que el producto iprodione redujo la incidencia y severidad de la mancha foliar y podredumbre radicular, mientras que flutolanil, fluazinam y tebuconazole redujeron la incidencia de la podredumbre radicular. LaMondia (2012), evaluó la eficacia en invernáculo e *in vitro* de azoxystrobina sobre *R. solani* causante de la podredumbre radicular, encontrando que el producto mostro un incremento en el peso radicular y una reducción en la tasa de enfermedad con respecto al testigo. En el caso del ensayo *in vitro* no demostró tanta efectividad, obteniendo un 30% de inhibición para 1.000 mg/ml principio activo.

#### **1.1.4.5.4- Manejo genético**

La resistencia genética en el manejo de enfermedades representa uno de los avances tecnológicos más importantes en la agricultura. Teniendo en cuenta que la sociedad solicita una reducción del uso de productos fitosanitarios inclinándose por métodos que conduzcan a una agricultura sustentable, este manejo se muestra como uno de los más deseables de alcanzar (Reis *et al.*, 2002).

Gil *et al.* (1992), evaluaron doce variedades de tabaco Tipo Virginia, midiendo las principales características morfológicas requeridas por el mercado y la resistencia a las principales enfermedades en Cuba, encontrando dos variedades resistentes a canilla negra. Peñalver Martínez y González Guardiola (2001), caracterizaron morfológicamente dos aislados de *R. solani* y evaluaron el comportamiento de nueve variedades y líneas de tabaco en invernáculo. Destacaron tres líneas y una variedad comercial cuando se inoculó en la primera semana después del trasplante. Díaz *et al.* (2011), obtuvieron por cruzamiento tres líneas que presentaban resistencia a enfermedades (*P. tabacina*, *P. nicotianae* y a los nematodos del tipo *Meloidogyne Incógnita*) y alto rendimiento.

#### **1.1.4.6- Consideraciones finales**

Cuanto mayor es el conocimiento de todas las características de una epidemia, más completa es la visión de la estructura del comportamiento del patosistema. Así, de acuerdo con Jiménez Díaz *et al.* (2004), la información obtenida de los datos lleva a la comprensión de la dinámica poblacional del patógeno, el comportamiento varietal diferencial, el efecto de diferentes sistemas de cultivo, la relación entre las condiciones ambientales y la dispersión, la población de patógenos y la variación de características físico-química del suelo y los centros de origen del patógeno; lo que finalmente posibilita la implementación de estrategias de manejo tendientes a disminuir su incidencia y consecuentemente las pérdidas.

En Argentina no existen trabajos que correlacionen el monitoreo de enfermedades con la evolución epidemiológica y el daño de la enfermedad en tabaco. Como tampoco hay información referida a la variabilidad genética del patógeno, análisis del comportamiento de variedades y las condiciones ambientales con el grado

de intensidad de ataque de la enfermedad. Estudios que relacionen estos aspectos contribuirían a generar estrategias de manejo más eficientes, además de originar un conocimiento objetivo de los daños producidos por el patógeno (Krupa y Dommergues, 1981; Reis *et al.*, 2002, Reis *et al.*, 2009; March *et al.* 2010).

La problemática presentada y la falta de información sobre el tema hacen necesario el estudio del patógeno y las formas de infección para poder sugerir sistemas integrados de manejo para el control de la podredumbre radicular en tabaco. Teniendo en cuenta la falta de estudios mencionados, se consideran las siguientes hipótesis de trabajo, con sus respectivos objetivos.

### **1.2 Hipótesis de trabajo**

-La distribución espacial de la podredumbre radicular por *Rhizoctonia* spp. en las provincias de Salta y Jujuy presentan variación según manejo y variables meteorológicas.

-En la región del NOA existen diferentes grupos de anastomosis de *Rhizoctonia* spp en tabaco que pueden ser identificados mediante caracteres morfológicos y moleculares que no fueron reportados en otras partes del mundo.

-Las variedades de tabaco utilizadas en la región NOA presentan susceptibilidad diferencial frente a la podredumbre radicular por *Rhizoctonia*.

### **1.3 Objetivos**

-Examinar la distribución espacial de la podredumbre radicular por *Rhizoctonia* en las provincias de Salta y Jujuy.

-Analizar la variabilidad fenotípica y genotípica presente en los aislados empleando caracteres morfológicos y moleculares (ISSR).

-Identificar los grupos de anastomosis de los aislados de *Rhizoctonia* spp. presentes en Salta y Jujuy empleando marcadores ITS, caracteres morfológicos y virulencia.

-Evaluar en campo e invernáculo el comportamiento sanitario de diferentes variedades de tabaco Tipo Virginia utilizadas en el NOA frente a infecciones naturales e inoculaciones artificiales de *Rhizoctonia solani*.

---

## Capítulo II

---

Distribución espacial de la  
podredumbre radicular por  
*Rhizoctonia* spp. en las provincias  
de Salta y Jujuy

---



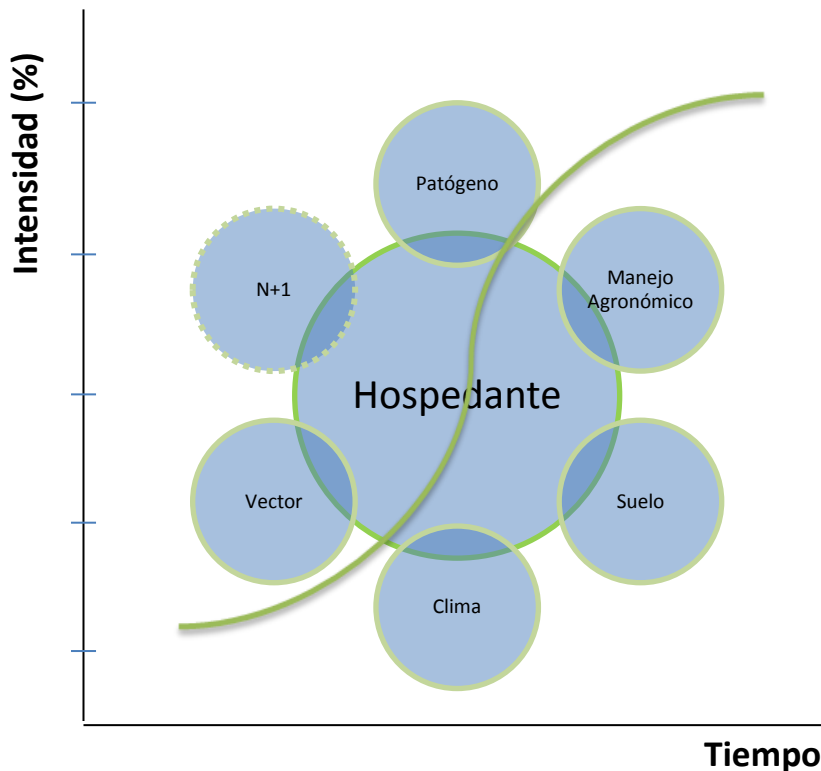
## CAPITULO II

### Distribución espacial de la podredumbre radicular por *Rhizoctonia* spp. en las provincias de Salta y Jujuy

#### 2.1 Introducción

Uno de los aspectos importantes en el estudio de una enfermedad, es su evaluación en campo a través de la medición de la enfermedad. La epidemiología surge como una ciencia dentro de la fitopatología en la cual se cuantifica a la enfermedad en el tiempo (análisis temporal) y en el espacio (análisis espacial) (Mora Aguilera *et al.*, 2012).

Mora Aguilera *et al.* (2012) proponen una visión de Sistema Epidemiológico en el cual están las dimensiones de tiempo y espacio donde ocurren complejas interacciones de distintos subsistemas epidemiológicos (patógeno, vector, manejo agronómico, suelo, clima, etc), en donde el hospedante es el centro de estudio. Esta visión permite estudiar una epidemia en diferentes niveles de integración espacio-temporal, a nivel de parcela a región y de población a comunidad (Figura 2.1).



**Figura 2.1.** Sistema epidemiológico (Mora Aguilera *et al.*, 2012)

“Es decir estamos frente a una ciencia que no solamente es de mediciones, sino que es una ciencia de razonamientos integrales sobre bases biológicas”. Por ello un patosistema debe abordarse como parte reconocida de una complejidad biológica intrínseca a la sanidad (Mora Aguilera *et al.*, 2012).

Uno de los principales objetivos del estudio de una enfermedad, es brindar herramientas para su manejo. Para ello es importante operar a nivel regional, lo cual implica generar mapas de distribución espacial que permitan conocer los niveles de intensidad de la patología y su localización en la región. Una de las formas de abordar esta dimensión espacial de las enfermedades, es a través de los mapas geo-fitopatológicos

(Weltzein 1978, 1988). Se define a estos mapas como una forma de descripción de la distribución de una enfermedad e interpretación de sus causas, destacando que su estudio puede tener diferentes objetivos como: a) descriptivo de la situación; b) diseminación de la enfermedad; c) análisis de la interacción enfermedad-ambiente; c) aspectos ecológicos e inclusive, destaca estudios de pronósticos como el objetivo más complejo.

### 2.1.1 Análisis espacial de epidemias

Una metodología utilizada para la visualización y análisis de sistemas complejos con un componente espacial, es emplear los datos georeferenciados e incorporarlos a un **Sistema de información geográfica (SIG)**. Un **SIG** es un conjunto de programas informáticos que sirven para captar, almacenar, recuperar, transformar, mostrar y analizar diversos tipos de datos espaciales (Burrough y McDonnell, 1998). Estos han sido aplicados en la agricultura en análisis espaciales de insectos, malezas y enfermedades (Nelson *et al.*, 1999). Si bien los SIG permiten manipular datos espaciales y generar mapas, la caracterización y modelización de los patrones de distribución espacial, requiere un programa estadístico que denominamos geoestadística. La **geoestadística** comprende a un conjunto de herramientas y técnicas que sirven para analizar y predecir los valores de una variable que se muestra distribuida en el espacio o en el tiempo de una forma continua (Moral García, 2004).

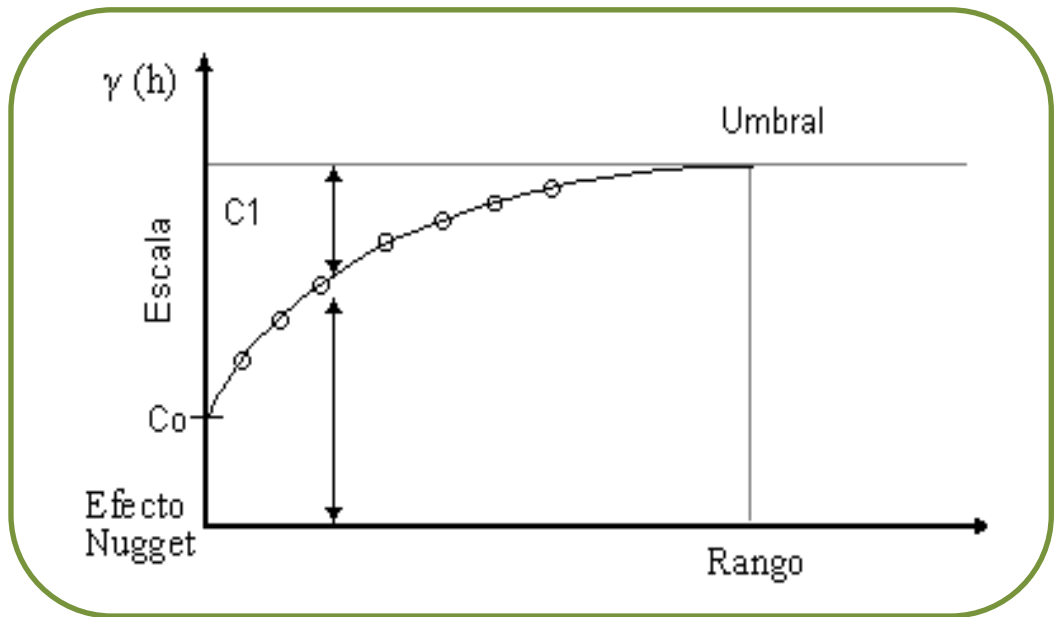
#### 2.1.1.1 Análisis geoestadístico

Este análisis tiene por objeto describir la continuidad espacial de cualquier fenómeno natural. Con ello se llega a conocer la forma en que varía cualquier variable continua en el espacio (patrón espacial), a una o varias escalas seleccionadas, a un nivel que permite cuantificar su variación en distintas direcciones en el tiempo. La geoestadística emplea funciones para modelar esta variación espacial, que son utilizadas para interpolar en el espacio el valor de la variable en sitios no muestreados posteriormente (Gallardo y Maestre, 2008). Se compone de tres etapas:

**2.1.1.1.1 Análisis exploratorio de los datos:** se estudian los datos muestrales sin tener en cuenta su distribución geográfica. Se realiza una estadística descriptiva, que incluye ajustes a la distribución normal, identificación de posibles valores atípicos con el objeto de verificar exactitud y representatividad de los datos.

**2.1.1.1.2 Análisis estructural:** cumplidas las condiciones anteriores se procede a calcular la variabilidad espacial existente en las muestras que se representa a través de un **semivariograma o variograma**.

**2.1.1.1.2.1 Variograma:** herramienta básica que permite la cuantificación de los parámetros de nuestro estudio y expresa la correlación espacial entre los valores muestreados. En términos simples podemos definir al variograma como la medida de los cuadrados de las diferencias entre pares de muestras separadas por una distancia ( $h$ ) y el cual permite representar cuantitativamente la variación de un fenómeno regionalizado en el espacio (Figura 2.2). El variograma modela como dos valores en el espacio o tiempo se ponen en correlación.



**Figura 2.2.** Representación gráfica de un variograma. Efecto Nugget ( $C_0$ ), indica la discontinuidad del semivariograma para distancias que sean menores, que la menor distancia que se da entre los puntos muestrales; Umbral ( $Sill = C_1 + C_0$ ), es el valor alcanzado por el variograma en el Rango (varianza de la muestra); Rango, es la distancia dentro de la cual, las muestras están correlacionadas espacialmente. Adaptado de Moral García (2004).

**2.1.1.2.1.1 Modelos de variogramas:** son varios los modelos básicos de los variogramas, que son capaces de explicar los diferentes comportamientos que pueden presentar las variables regionalizadas; entre los modelos más usuales tenemos (Chiles y Delfiner 1999; Cressie, 1993):

**2.1.1.2.1.1.1. Modelo Esférico:** este modelo, presenta una tendencia creciente curvilínea, hasta que llega al Sill, para tomar una tendencia lineal. El modelo Esférico alcanza el valor Sill, en la distancia  $a$  (rango actual).

$$\hat{\gamma}(h) = \begin{cases} 0 & ; |h| = 0 \\ C_0 + C_1 \left[ \frac{3}{2} \left( \frac{|h|}{a} \right) - \frac{1}{2} \left( \frac{|h|}{a} \right)^3 \right] & ; 0 < h < a \\ C_0 + C_1 & ; |h| > a \end{cases}$$

**2.1.1.2.1.1.2. Modelo Exponencial:** este modelo, alcanza el valor Sill asintóticamente, el rango ( $a$ ) es la distancia a la cual el valor del modelo, es el 95 % del Sill.

$$\hat{\gamma}(h) = \begin{cases} 0 & ; |h| = 0 \\ C_0 + C_1 \left[ 1 - \exp\left(-\frac{|h|}{a}\right) \right] & ; h \neq 0 \end{cases}$$

**2.1.1.2.1.1.3. Modelo Gaussiano:** este modelo, alcanza el valor Sill asintóticamente, el rango ( $a$ ) es la distancia a la cual el valor del modelo, es el 95 % del Sill.

$$\hat{\gamma}(h) = \begin{cases} 0 & ; |h| = 0 \\ C0 + C1 \left[ 1 - \exp\left(-\frac{|h|}{a}\right)^2 \right] & ; h \neq 0 \end{cases}$$

Los **variogramas** son ajustados a los modelos descriptos que son los más utilizados y según el comportamiento de los datos se selecciona el modelo que mejor explica la variable de respuesta según el valor estimado en cada punto muestreado.

**2.1.1.1.3 Predicciones:** seleccionado el mejor modelo, se procede a realizar las estimaciones de la variable en los puntos no muestrales. Los métodos de estimación geoestadística son conocidos como *Krigeado*, *Krigeaje* o *Kriging* (Krige, 1951). Este es conocido como el Método Interpolador Geoestadístico, siendo un estimador lineal insesgado que presenta dos propiedades básicas que son: hacer que la suma de errores tienda a cero, y que el cuadrado de las desviaciones sea mínimo. Entre los diversos *Krigings*, existe el *Kriging* Ordinario, el cual es el más utilizado cuando se desconoce el valor promedio de la media de la variable analizada, permitiendo generalizar el *Kriging* a situaciones donde esta medida no es constante en el tiempo. Se representa por la siguiente fórmula:

$$\hat{z}(x_0) = \sum \lambda_i * z(x_i)$$

Donde Z es el valor de la variable regionalizada, para un punto  $x_0$  que no ha sido considerado anteriormente, realiza una suma ponderada sobre todos los sectores que conforman la zona de estudio de interés, tomando los vecinos más cercanos al punto de interés  $x_0$ .

El proceso del *Kriging* es asignar pesos a los vecinos más cercanos, considerados para la estimación, la diferencia del *Kriging* con otros métodos de interpolación, es que utiliza un método semejante a la interpolación por media móvil ponderada, a diferencia que los pesos son asignados a partir de un análisis espacial, basado en el semivariograma experimental. Mediante esta interpolación de datos se proyectan los mapas de distribución espacial continua a partir de datos discretos (Moral García, 2004).

## 2.1.2 La geoestadística y su aplicación en estudios de enfermedades de plantas

El SIG ha sido aplicado en agricultura para análisis espacial de insectos plagas, malezas y enfermedades de plantas (Nelson *et al.*, 1999). Weltzien (1967, 1972), propuso el término “geofitopatología”, para describir el estudio de patrones espaciales de las enfermedades en plantas, su comportamiento y control. Sin embargo una evaluación cuantitativa a escala regional requería un análisis que determine la variabilidad espacial y realice una predicción a partir de una gran cantidad de base de datos, surgiendo así la **teoría geoestadística**. Esta se desarrolló por primera vez para la geología y la minería para estimar presencia, distribución y las cantidades de minerales (Vieira *et al.*, 1983, Goovaerts, 1997). Posteriormente su estudio fue probado exitosamente en diferentes áreas como forestales, agronomía y entomología (Nelson *et al.*, 1999). En estudios fitopatológicos, Chellemi *et al.* (1988), reportaron la aplicación positiva de la geoestadística en la determinación de la variabilidad espacial de la densidad de inóculo de *Phytophthora nicotianae* y su relación con la incidencia de la



enfermedad en campo. Lecoustre *et al.* (1989), describieron la utilidad de la geoestadística y la técnica *Kriging* para construir mapas de dispersión espacial del Virus del mosaico de la yuca africana (ACMV) en la Costa de Marfil, África, indicando que las técnicas resultaron valiosas en el análisis de estructura de patrones espaciales de dispersión de la enfermedad, proponiendo su uso a patologías virales y no virales. Lannou y Savary (1991), usaron las técnicas geoestadísticas para describir y comparar los patrones espaciales de diferentes epidemias policíclicas provocadas por *Cercosporidium personatum*, *Cercospora arachidicola*, *Puccinia arachidis* y *Rhizoctonia solani* presentes en maní, reportando una fuerte interacción entre las enfermedades y un incremento de *Rhizoctonia* asociado a *Puccinia*, proponiendo a la técnica como una poderosa herramienta en el estudio epidemiológico. Larkin *et al.* (1994), evaluaron patrones espaciales, niveles de población de *Phytophthora capsici* y contenidos de humedad del suelo en tres lotes de cultivo de pimiento durante dos años consecutivos, encontrando una relación estrecha entre las variables analizadas, enfatizando a la técnica como una herramienta de ayuda para predecir la probabilidad de la enfermedad de acuerdo a las condiciones ambientales. Schneider y Kocks (1995), usaron geoestadística para generar mapas y reducir el número de muestras a relevar en campos de flores de bulbo con incidencia de *Rhizoctonia*, concluyendo que con un 10% de muestras relevadas, es suficiente para proveer información sobre la distribución espacial de plantas afectadas por *Rhizoctonia*. Ramirez *et al.* (2011), modelaron la distribución espacial del carbón de la espiga del maíz causada por *Sporisorium reilianum* en el Estado de México, obteniendo mapas de agregación de la enfermedad, indicando un comportamiento espacial agregado, ajustándose los diferentes sitios a los modelos esférico, exponencial y gaussiano. Taliei *et al.* (2013), describieron la distribución de la podredumbre carbonosa causada por *Macrophomina phaseolina* en lotes productivos de soja en Irán, evaluando la relación espacial entre algunas propiedades del suelo y la densidad poblacional del hongo, obteniendo los mapas de distribución espacial y evidenciando que no hubo una correlación significativa entre las propiedades edáficas y el número de esclerocios. Hussain *et al.* (2014), estudiaron la distribución espacial de la sarna de la papa causada por *Rhizoctonia solani* en Pakistán, obteniendo mapas de incidencia, severidad y prevalencia de la enfermedad.

En Argentina existen reportes de generación de mapas basados en modelos con variables meteorológicas para predecir la mancha en red de la cebada cervecera y el tizón de la espiga de trigo (Moschini *et al.*, 1996; Carmona *et al.*, 1997; Moschini *et al.*, 2001). Moschini *et al.* (2007), evaluaron la potencialidad climática del región triguera respecto a la roya de la hoja (*Puccinia triticina*) y a la septoriosis de la hoja (*Septoria tritici*), determinando en la región pampeana una zona al noreste de mayor potencialidad climática respecto a la roya, mientras que para septoriosis la mayor frecuencia de ataques se ubicó en el sudeste. Ornaghi *et al.* (2008), estimaron el nivel de riesgo climático del Mal de Río Cuarto, a partir de ecuaciones de predicción de las poblaciones del principal vector (*Delphacodes kuscheli*). Los reportes mencionados generaron mapas de riesgos climáticos de enfermedades, no obstante en el país y a nivel mundial, no existen reportes de análisis de distribución espacial de *Rhizoctonia solani* afectando el cultivo de tabaco, únicamente existen reportes de estudios del género del hongo a nivel de lotes, pero no a escala regional. Considerando los conceptos mencionados, un patosistema debe abordarse como parte reconocida de una complejidad biológica intrínseca a la sanidad (Mora Aguilera *et al.*, 2012). Este concepto hace al estudio de epidemias activas y a las potenciales, las cuales deben ser prevenidas.

### **2.1.3 Objetivos**

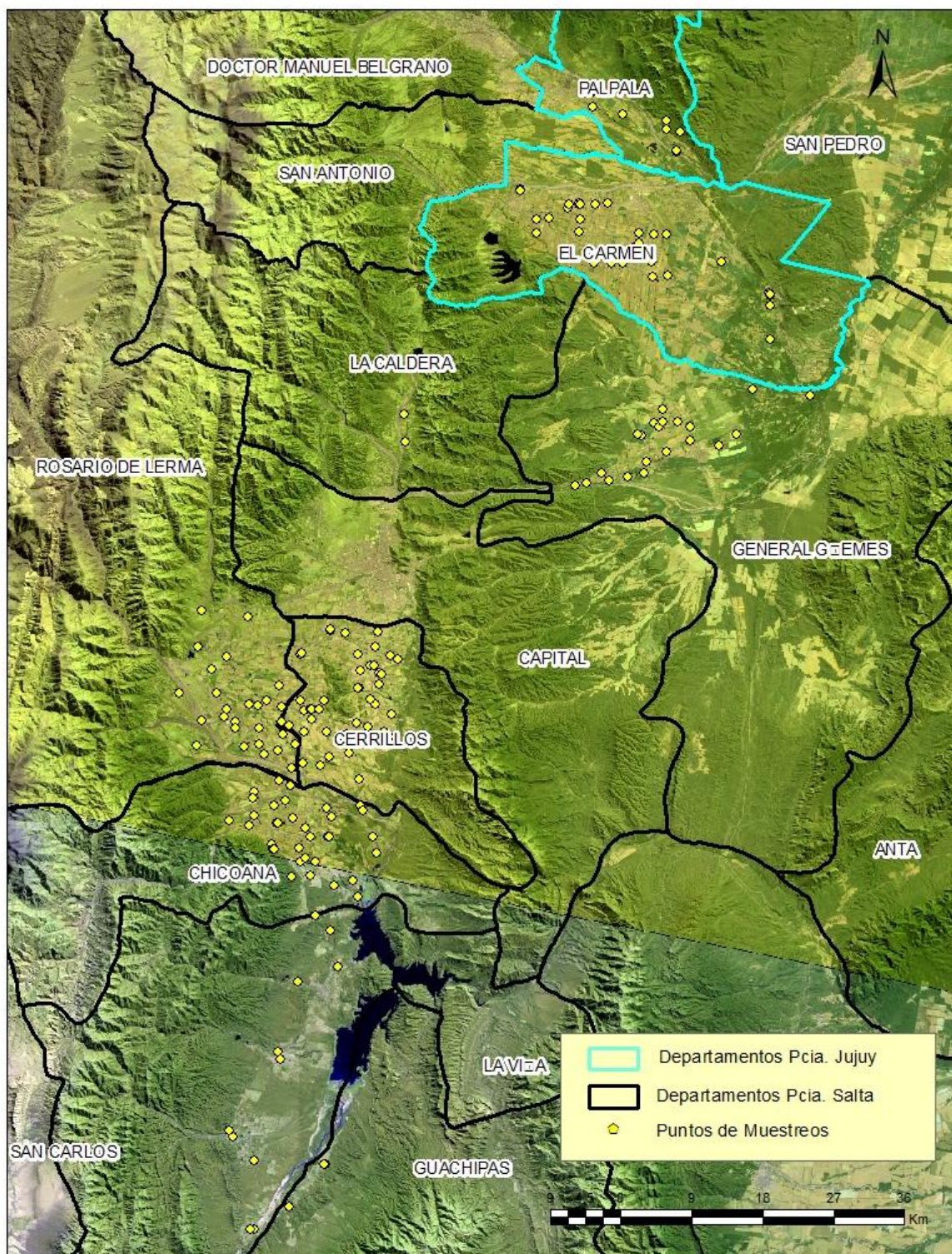
- Determinar la modelización espacial de la podredumbre radicular por *Rhizoctonia* en la provincia de Salta y Jujuy.
- Generar mapas de distribución espacial de la incidencia y severidad de la podredumbre radicular por *Rhizoctonia* en la provincia de Salta y Jujuy.
- Analizar la intensidad de la enfermedad en relación a variables de manejo (tipo de almacigo, rotación) y variables meteorológicas (temperatura media ambiente, precipitación y humedad relativa ambiente).

## **2.2. Materiales y métodos**

### **2.2.1 Área de estudio, diseño de muestreo y variables registradas**

Se relevaron durante dos campañas agrícolas (2009/10 y 2010/11), diferentes lotes comerciales de tabaco Tipo Virginia en las provincias de Salta y Jujuy en tres rangos de estadios fenológicos del cultivo (30 a 45DDT, 50 a 65DDT y 90 a 115DDT).

En la provincia de Salta se monitorearon en la primera campaña 215 lotes y 276 en la segunda, distribuidos en los departamentos de Cerrillos, Rosario de Lerma, Chicoana, Guachipas, La Caldera y General Güemes. En la provincia de Jujuy se relevó 52 lotes en la primera campaña y 56 en la segunda, distribuidos en los departamentos de El Carmen y Pálpala (Figura 2.3).



**Figura 2.3.** Sitios de monitoreo y muestreo de la podredumbre radicular por *Rhizoctonia* en la provincia de Salta y Jujuy.

El diseño de muestreo fue en W dada la distribución agregada de una enfermedad radicular, tomando lotes de 4ha, visualizando 10 estaciones de muestreo de 10 plantas por surco. Las variables de intensidad de enfermedad registradas en campo



fueron, incidencia (N° de plantas enfermas) y severidad (% de tejido afectado por planta) empleando una escala propia de 0 a 3 (0=sin síntomas; 1=0,1 a 33,33%; 2=33,34 a 66,66%; 3=66,67 a 100%). Todos los lotes observados fueron georeferenciados y se realizó una encuesta al productor de información complementaria del manejo del cultivo: variedad, tipo de almácigo (convencional y flotante), rotación y cultivo antecesor.

### **2.2.2 Análisis geoestadístico**

Con la información recopilada (intensidad de enfermedad y georeferenciación), se elaboró una tabla de atributos, la cual se utilizó para el análisis. Con esto se siguió las tres etapas del análisis geoestadístico. En primer orden se realizó una estadística descriptiva con el software estadístico InfoStat versión 2011 (Di Rienzo *et al.*, 2011). Posteriormente se procedió a realizar el análisis estructural realizando el semivariograma y seleccionando el mejor modelo de ajuste a los datos según Londoño (2007), que indica que el mejor modelo es aquel que presente menor raíz cuadrática media, menor error estándar promedio y una raíz cuadrática media estandarizada más cercana a uno. Además teniendo en cuenta el mapa de predicción de errores que nos lleva a determinar el porcentaje de confiabilidad del modelo. Se realizó la validación del semivariograma empleando el método de la validación cruzada. Se determinó el índice de dependencia espacial ( $IDE = Co / (C + Co) * 100$ ), según Cambardella *et al.* (1994), que propone el siguiente rango:  $\leq 25$  fuerte dependencia espacial; entre 25 y 75% moderada dependencia espacial;  $\geq 75\%$  baja dependencia espacial. Finalmente con el modelo elegido y validado, se efectuó la predicción generando mapas de incidencia y severidad para los tres momentos y dos campañas agrícolas evaluadas. El software empleado fue el ArcMap de ArcGIS (versión 9.2) (Nimbole, 2009).

### **2.2.3 Análisis estadísticos entre intensidad de enfermedad, variables de manejo y variables meteorológicas (temperatura, precipitación, humedad relativa).**

Se determinó la prevalencia de la enfermedad mediante tablas de frecuencia y para el análisis de intensidad de la enfermedad frente a diferentes variables de manejo (tipo de almácigo y rotación), se realizaron pruebas estadísticas univariadas, tablas de frecuencias y se calculó la medida de riesgo epidemiológico de la enfermedad mediante la razón de Odds o razón de posibilidades que se define como la posibilidad de que una condición de enfermedad se presente en un grupo de población frente al riesgo de que ocurra en otro (Tapia Granados y Nieto, 1993).

Para el análisis de correlación entre la intensidad de la enfermedad y las variables meteorológicas, se empleó el coeficiente de correlación de Spearman para determinar si existe relación entre las variables de intensidad de enfermedad evaluada en los tres estadios del cultivo y las variables meteorológicas registradas en los tres tiempos, en los diferentes departamentos de la provincia de Salta y Jujuy. El registro de la temperatura media ambiental, precipitación y humedad relativa se tomó de diferentes estaciones meteorológicas, en Salta las estaciones fueron INTA EEA Salta en Cerrillos, El Carmen en Rosario de Lerma, La Viña en La Viña, Ampascachi en Chicoana, La Calderilla en La Caldera, El Prado en General Güemes y en Jujuy en las estaciones de San Salvador de Jujuy y La posta perteneciente a la Estación Experimental de La posta ubicada en El Carmen. Los datos diarios de las estaciones fueron procesados según estadio de cultivo evaluado, es decir que para el primer estadio (30 a 45DDT), se registraron los datos desde el transplante de la plántula al campo hasta el día de la evaluación, para la temperatura y humedad, se calculó el promedio y para la

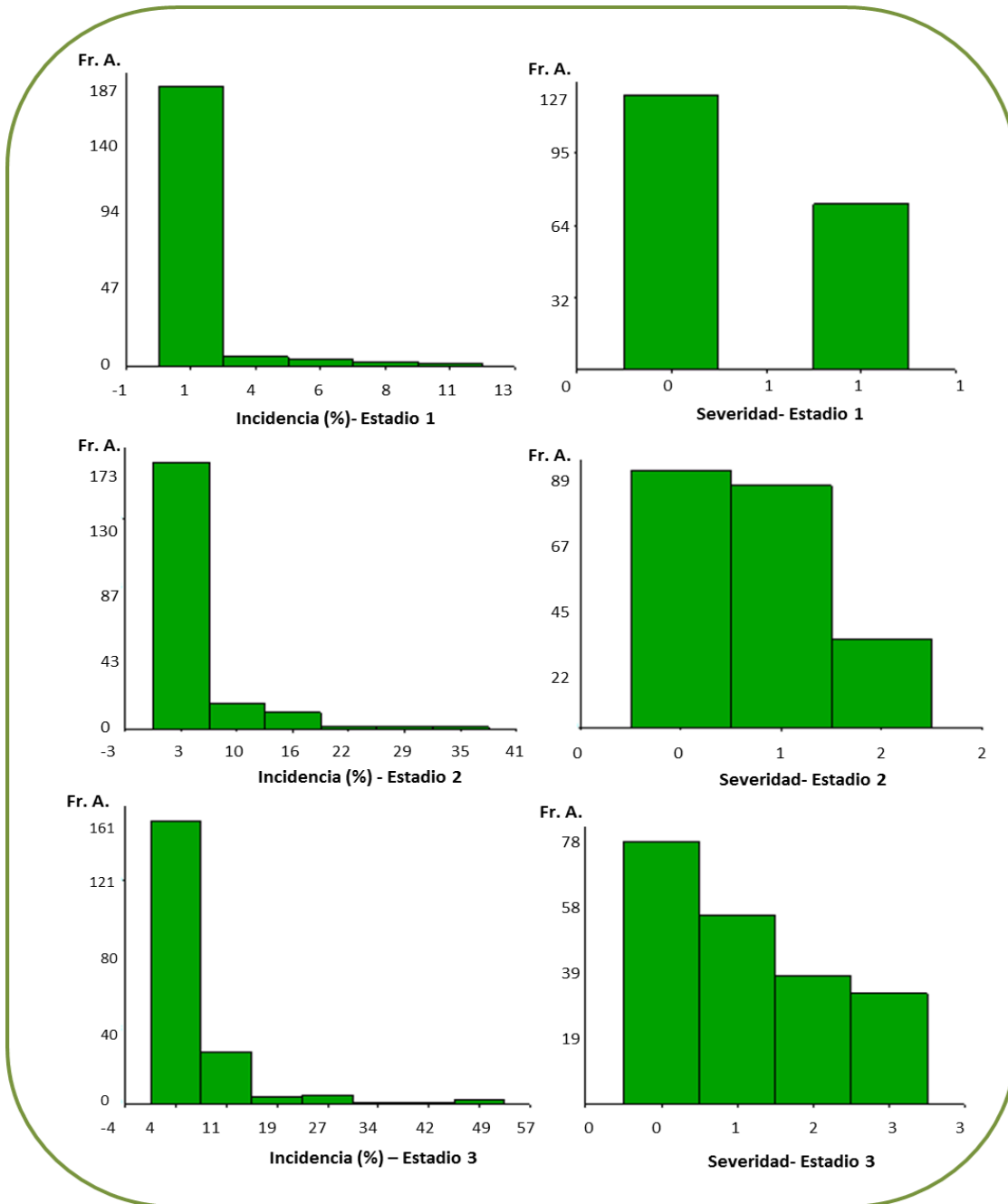
precipitación se tomó lo acumulado, en el segundo estadio se tomó desde el día posterior a la evaluación del primer estadio hasta el día de registro de este y se procedió de igual manera para el último estadio.

## **2.3. Resultados**

### **2.3.1 Estadística descriptiva de los datos**

#### **2.3.1.1 Incidencia y Severidad de la enfermedad en la Provincia de Salta en los tres estadios fenológicos**

Se elaboraron histogramas de frecuencia para las variables de intensidad de la enfermedad, en los tres estadios fenológicos evaluados del cultivo. En la **campaña agrícola 2009/10**, el 80% de los sitios presentó niveles de incidencia entre 0 y 3%, el 20% restante de sitios mostró entre 3 y 13% de incidencia. En cuanto a la severidad, se registraron bajos valores, entre 0 y 1 de la escala. En el segundo estadio se incrementaron los valores de incidencia, el 70% de los sitios tuvo valores entre 0 y 8%, el 12 % de los sitios entre 8 y 20% y el 18% restante de sitios entre 21 y 41% de incidencia, con valores de severidad entre 0 y 2 de escala. Finalmente, en el último estadio monitoreado, se registró un 67% de sitios con niveles de 0 a 10%, un 14% con niveles entre 10 a 18% y el 19% restante de sitios con valores de 20 a 56% de incidencia. En el caso de la severidad, el 68% presentó valores entre 0 y 1 de la escala y 32% entre 2 y 3 (Figura 2.4).



**Figura 2.4.** Histogramas de frecuencia absoluta para las variables incidencia y severidad, en los tres estadios fenológicos evaluados del cultivo, para la provincia de Salta, campaña agrícola 2009/10. Estadio fenológico: Estadio 1 (30 a 45DDT), Estadio 2 (50 a 65DDT) y Estadio 3 (90 a 115DDT).

Por otro lado la relación entre los niveles de incidencia y severidad registrada fue variable (Tabla 2.1). Con estos datos se procedió a la verificación de la normalidad con respecto a la asimetría horizontal.

Como el coeficiente de sesgo permite verificar la normalidad de los datos, en el caso de existir asimetría horizontal, Wester y Oliver (1990), proponen evaluar lo siguiente:

- Si  $0 < CS < 0.5$  se acepta la función de distribución de probabilidad como normal.

- Si  $0.5 < CS < 1$  es necesario realizar una transformación de los datos del tipo raíz cuadrada.
- Si  $CS > 1$  es necesario realizar una transformación del tipo logarítmica.

En el caso de la variable incidencia fue necesario realizar una transformación  $\text{Log}(n+1)$ , para poder proceder al análisis geoestadístico.

**Tabla 2.1.** Estadísticos descriptivos para las variables de incidencia y severidad evaluados en los tres estadios de cultivo en la provincia de Salta, campaña 2009/10.

\* Estadio fenológico: Estadio 1 (30 a 45DDT), Estadio 2 (50 a 65DDT) y Estadio 3 (90 a 115DDT).

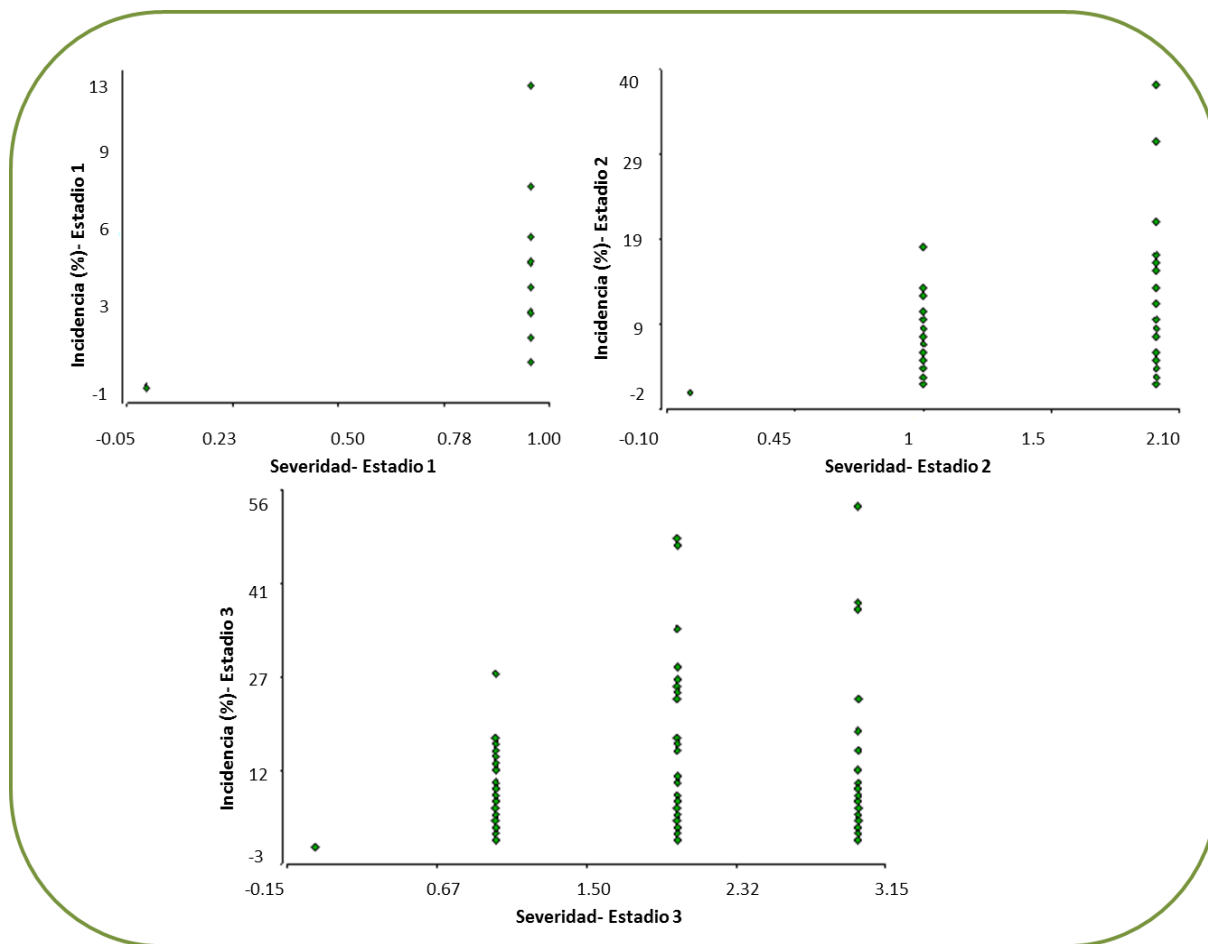
Resumen	Severidad 1*	Incidencia 1	Severidad 2	Incidencia 2	Severidad 3	Incidencia 3
<b>N</b>	<b>215</b>	<b>215</b>	<b>215</b>	<b>215</b>	<b>215</b>	<b>215</b>
<b>Media</b>	<b>0,40</b>	<b>0,88</b>	<b>0,76</b>	<b>3,51</b>	<b>1,18</b>	<b>5,52</b>
<b>D.E.</b>	<b>0,49</b>	<b>0,93</b>	<b>0,73</b>	<b>5,81</b>	<b>1,11</b>	<b>8,74</b>
<b>Var (n-1)</b>	<b>0,24</b>	<b>3,72</b>	<b>0,54</b>	<b>33,75</b>	<b>1,22</b>	<b>76,34</b>
<b>Mín.</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
<b>Máx.</b>	<b>1</b>	<b>13</b>	<b>2</b>	<b>38</b>	<b>3</b>	<b>53</b>
<b>Mediana</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>2</b>
<b>Asimetría</b>	<b>0,41</b>	<b>3,98</b>	<b>0,41</b>	<b>2,88</b>	<b>0,41</b>	<b>2,82</b>
<b>Kurtosis</b>	<b>-1,85</b>	<b>18,47</b>	<b>-1,05</b>	<b>10,35</b>	<b>-1,19</b>	<b>9,65</b>

También se empleó el coeficiente de variación para verificar normalidad de datos, tanto la función de distribución de los datos, como la varianza son funciones de la media, la cual es altamente sensible a los valores extremos. Se debe verificar si:

- Si  $CV < 100$  no hay problemas con los valores extremos
- Si  $100 < CV \leq 200$  los efectos causados por los valores extremos de los datos son tolerables.
- Si  $CV > 200$  se tienen severos problemas con los valores extremos de los datos

Teniendo en cuenta que el  $CV = (S/X) * 100$ , para la variable severidad en los tres estadios los CV fueron 123, 96 y 94 y para la variable incidencia los CV tuvieron valores de 106, 165 y 158, por lo cual no hay problemas con los datos extremos.

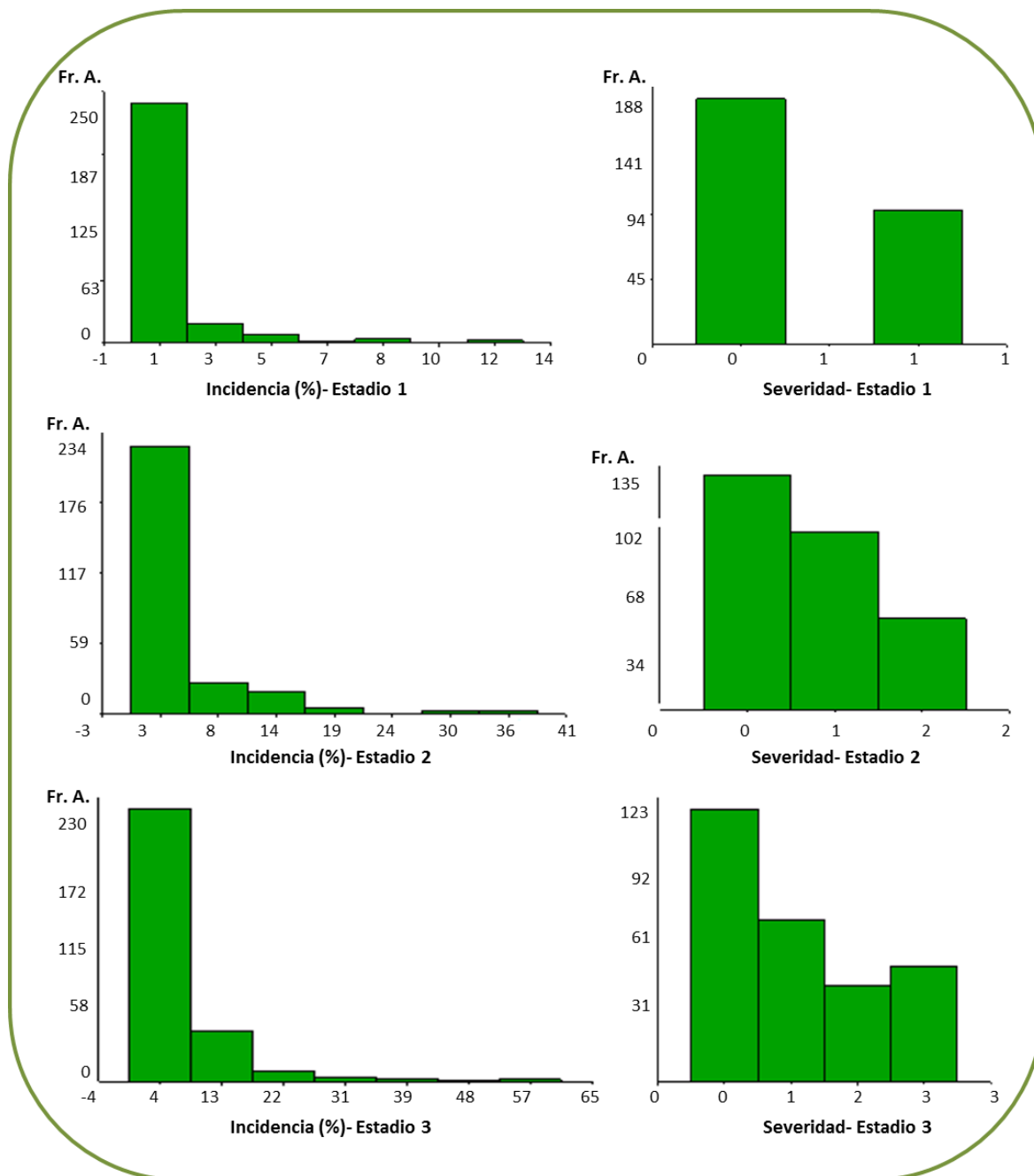
Además se visualizó una tendencia que sugiere que a mayor nivel de incidencia, es la mayor la severidad, se observa en la figura 2.5 en los diferentes estadios fenológicos evaluados.



**Figura 2.5.** Relación de las variables de incidencia y severidad evaluadas en los tres estadios de cultivo en la provincia de Salta, campaña 2009/10. Estadío fenológico: Estadio 1 (30 a 45DDT), Estadio 2 (50 a 65DDT) y Estadio 3 (90 a 115DDT).

En la **campana agrícola 2010/11**, el 83% de los sitios presentó niveles de incidencia entre 0 y 2%, el 17% restante de sitios mostró entre 3 y 12% de incidencia. En cuanto a la severidad, las plantas tuvieron bajos valores, entre 0 y 1 de la escala. En el segundo estadio se incrementaron los valores de incidencia, el 79% de los sitios obtuvo valores entre 0 y 7%, el 13 % de los sitios entre 12 y 20% y el 3% restante de sitios entre 25 y 40% de incidencia, con valores de severidad entre 0 y 2 de escala. Finalmente en el último estadio monitoreado, se registró un 76% de sitios con niveles de 0 a 11%, un 13% con niveles entre 12 a 20% y el 11% restante de sitios con valores de 21 a 65% de incidencia. En el caso de la severidad, el 71% presentó valores entre 0 y 1 de la escala y 29% entre 2 y 3 (Figura 2.6).





**Figura 2.6.** Histogramas de frecuencia absoluta para las variables incidencia y severidad, en los tres estadios fenológicos evaluados del cultivo, para la provincia de Salta, campaña agrícola 2010/11. Estadío fenológico: Estadio 1 (30 a 45DDT), Estadio 2 (50 a 65DDT) y Estadio 3 (90 a 115DDT).

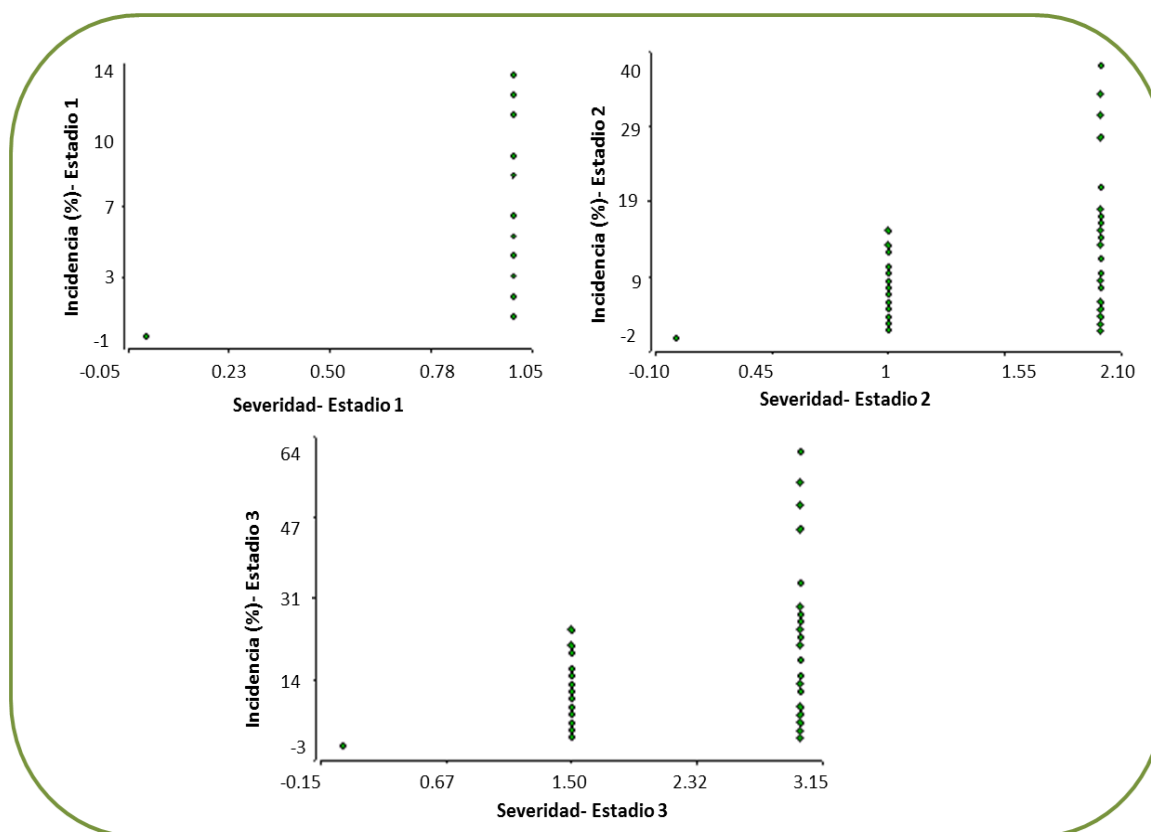
Por otro lado la relación entre los niveles de incidencia y severidad registrada fue variable (Tabla 2.2). Se procedió de igual manera a lo descrito anteriormente en la verificación de la normalidad con respecto a la asimetría horizontal. En el caso del coeficiente de sesgo, se tuvo que realizar para la variable incidencia una transformación Log (n+1), para poder proceder al análisis geoestadístico.

**Tabla 2.2.** Estadísticos descriptivos para las variables de incidencia y severidad evaluados en los tres estadios de cultivo en la provincia de Salta, campaña 2010/11. \*Estadío fenológico: Estadio 1 (30 a 45DDT), Estadio 2 (50 a 65DDT) y Estadio 3 (90 a 115DDT).

Resumen	Severidad 1*	Incidencia 1	Severidad 2	Incidencia 2	Severidad 3	Incidencia 3
N	276	276	276	276	276	276
Media	0,35	0,87	0,71	3,28	1,08	5,24
D.E.	0,48	1,99	0,75	5,64	1,13	8,71
Var (n-1)	0,23	3,95	0,57	31,83	1,28	75,85
Mín.	0	0	0	0	0	0
Máx.	1	13	2	38	3	61
Mediana	0	0	1	1	1	1
Asimetría	0,63	3,73	0,53	2,89	0,59	2,98
Kurtosis	-1,62	15,77	-1,07	10,92	-1,10	11,81

Teniendo en cuenta que el  $CV = (S/X) \cdot 100$ , para la variable severidad en los tres estadios los CV fueron 137, 106 y 105 y para la variable incidencia los CV tuvieron valores de 173, 185 y 166, por lo cual no hay problemas con los datos extremos.

Además se visualizó una tendencia que sugiere que a mayor nivel de incidencia, es la mayor la severidad, se observa en las figura 2.7 en los diferentes estadios fenológicos evaluados.

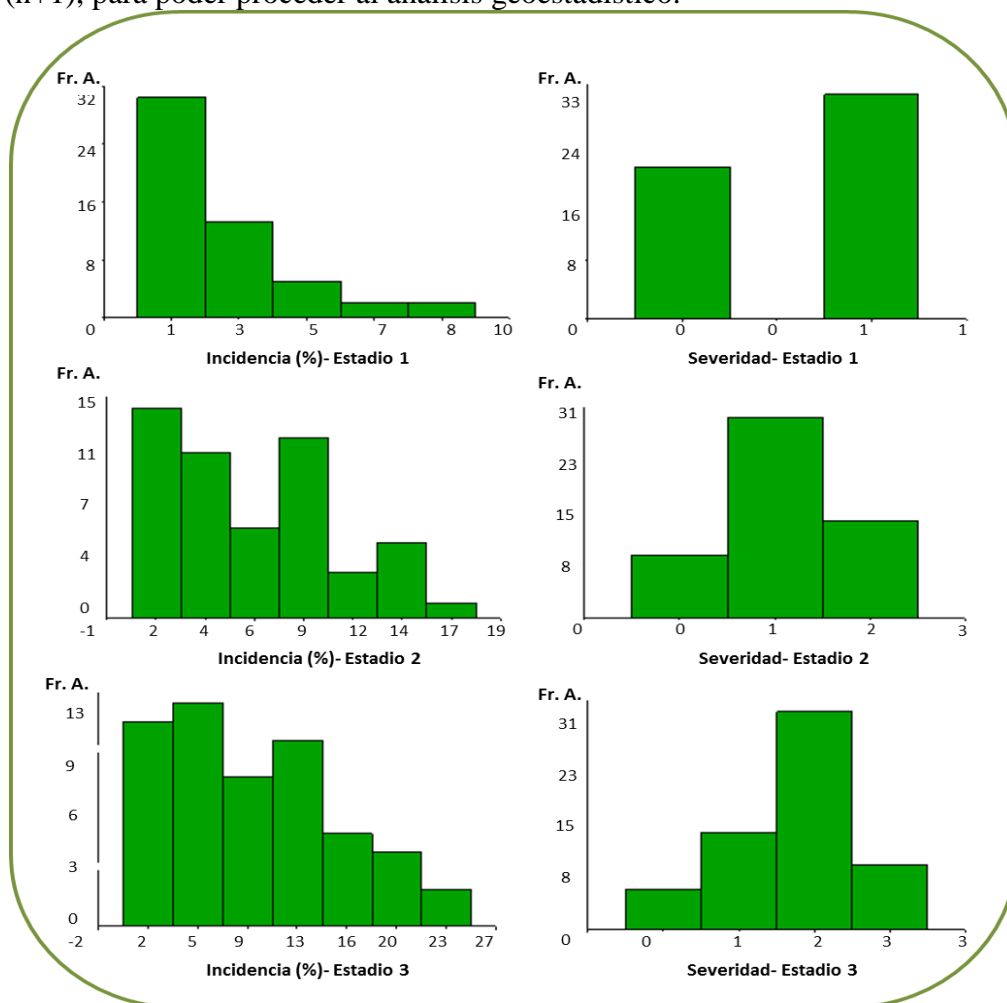


**Figura 2.7.** .Relación de las variables de incidencia y severidad evaluadas en los tres estadios de cultivo en la provincia de Salta, campaña 2010/11. Estadío fenológico: Estadio 1 (30 a 45DDT), Estadio 2 (50 a 65DDT) y Estadio 3 (90 a 115DDT).

### 2.3.1.2 Incidencia y Severidad en la Provincia de Jujuy en los tres estadios fenológicos

De igual forma, se realizó los histogramas de frecuencia para las variables de intensidad de la enfermedad, en los tres estadios fenológicos evaluados del cultivo. En la **campaña agrícola 2009/10**, el 58% de los sitios presento niveles de incidencia entre 0 y 1,5%, el 42% restante de sitios mostró entre 1,6 y 9% de incidencia. En cuanto a la severidad, las plantas tuvieron bajos valores, entre 0 y 1 de la escala. En el segundo estadio se incrementaron los valores de incidencia, el 56% de los sitios obtuvo valores entre 0 y 7% y el 44 % de los sitios entre 7,1 y 19%, con valores de severidad entre 0 y 2 de escala. Finalmente en el último estadio monitoreado, se registró un 58% de sitios con niveles de 0 a 10% y el 42% restante de sitios con valores de 10,1 a 26% de incidencia. En el caso de la severidad, el 33% presento valores entre 0 y 1 de la escala y 67% entre 2 y 3 (Figura 2.8).

Por otro lado la relación entre los niveles de incidencia y severidad reportada fue variable (Tabla 2.3). Se procedió de igual manera a lo visto anteriormente en la verificación de la normalidad con respecto a la asimetría horizontal. En el caso del coeficiente de sesgo, se tuvo que realizar para la variable incidencia una transformación  $\text{Log}(n+1)$ , para poder proceder al análisis geoestadístico.



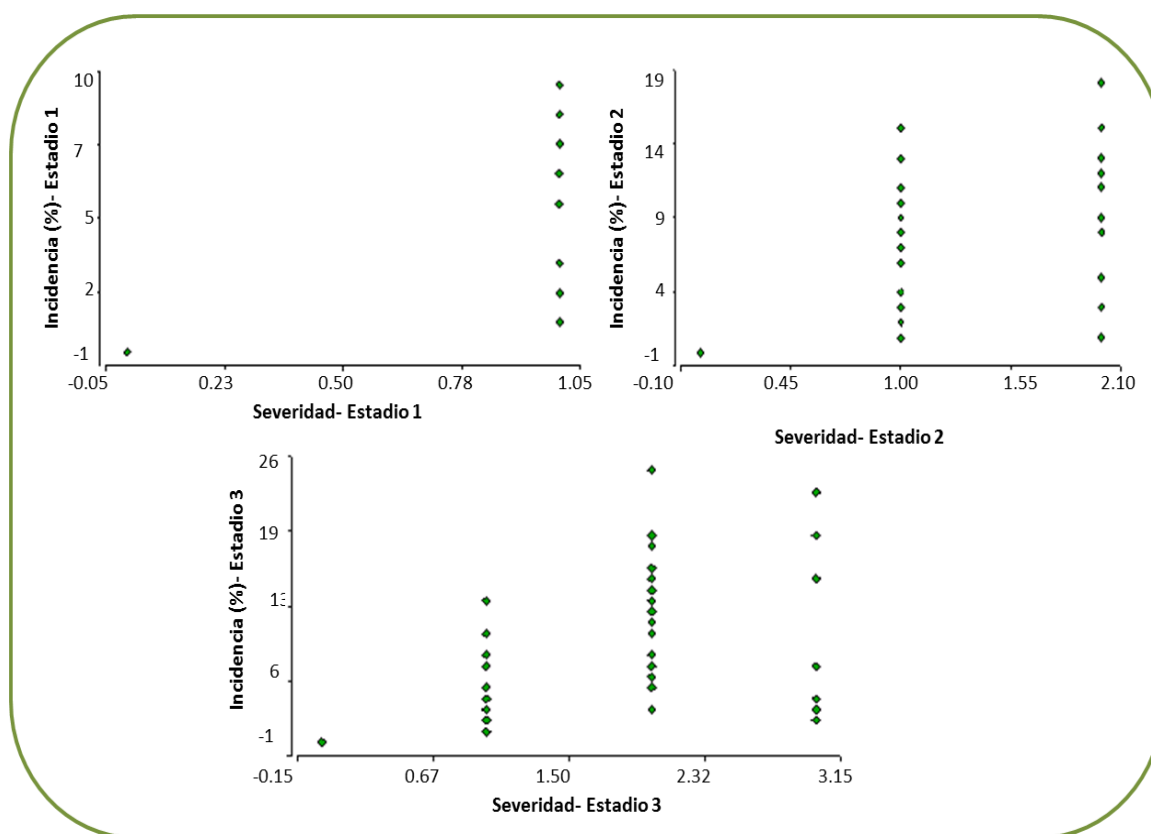
**Figura 2.8.** Histogramas de frecuencia absoluta para las variables incidencia y severidad, en los tres estadios fenológicos evaluados del cultivo, para la provincia de Jujuy, campaña agrícola 2009/10. Estadío fenológico: Estadio 1 (30 a 45DDT), Estadio 2 (50 a 65DDT) y Estadio 3 (90 a 115DDT).

**Tabla 2.3.** Estadísticos descriptivos para las variables de incidencia y severidad evaluados en los tres estadios de cultivo en la provincia de Jujuy, campaña 2009/10. \*Estadio fenológico: Estadio 1 (30 a 45DDT), Estadio 2 (50 a 65DDT) y Estadio 3 (90 a 115DDT).

Resumen	Severidad 1*	Incidencia 1	Severidad 2	Incidencia 2	Severidad 3	Incidencia 3
N	52	52	52	52	52	52
Media	0,60	1,88	1,10	6	1,73	9,19
D.E.	0,50	2,31	0,66	4,74	0,84	6,25
Var (n-1)	0,25	5,32	0,44	22,51	0,71	39,06
Mín.	0	0	0	0	0	0
Máx.	1	9	2	18	3	25
Mediana	1	1	1	6	2	8
Asimetría	-0,40	1,34	-0,11	0,53	-0,47	0,43
Kurtosis	-1,91	1,25	-0,66	-0,45	-0,16	-0,37

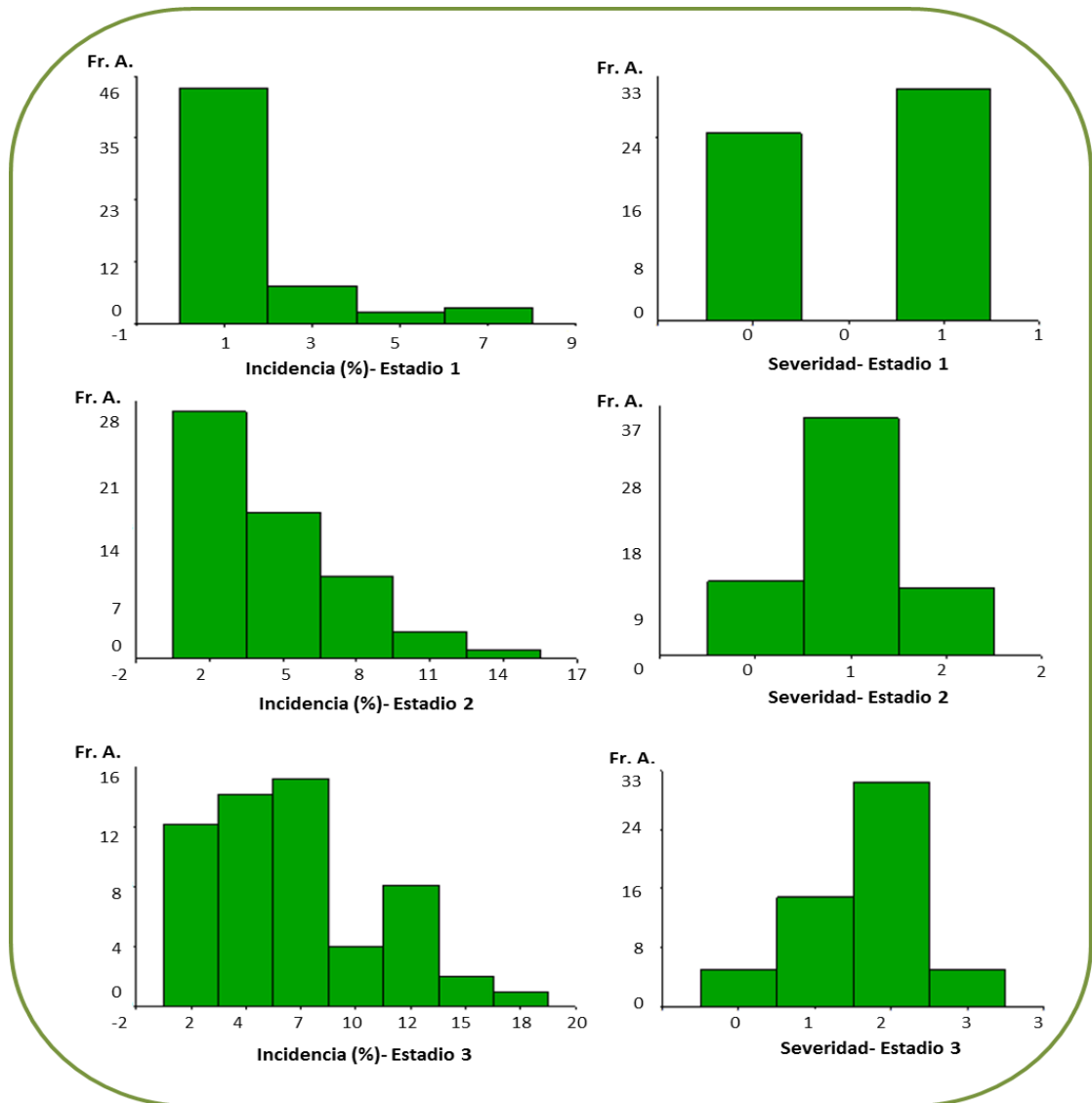
Teniendo en cuenta que el  $CV = (S/X) * 100$ , para la variable severidad en los tres estadios los CV fueron 83, 73 y 49 y para la variable incidencia los CV tuvieron valores de 123, 79 y 68, por lo cual no hay problemas con los datos extremos.

Además se visualizó una tendencia que sugiere que a mayor nivel de incidencia, es la mayor la severidad, se observa en las figura 2.9 en los diferentes estadios fenológicos evaluados.



**Figura 2.9.** Relación de las variables de incidencia y severidad evaluadas en los tres estadios de cultivo en la provincia de Jujuy, campaña 2009/10. Estadio fenológico: Estadio 1 (30 a 45DDT), Estadio 2 (50 a 65DDT) y Estadio 3 (90 a 115DDT).

En la **campaña agrícola 2010/11**, el 79% de los sitios presentó niveles de incidencia entre 0 y 2%, el 21% restante de sitios mostró entre 3 y 9% de incidencia. En cuanto a la severidad, las plantas tuvieron bajos valores, entre 0 y 1 de la escala. En el segundo estadio se incrementaron los valores de incidencia, el 75% de los sitios obtuvo valores entre 0 y 6%, y el 25 % de los sitios entre 7 y 16%, con valores de severidad entre 0 y 2 de escala. Finalmente en el último estadio monitoreado, se registró un 70% de sitios con niveles de 0 a 8% y el 30% restante de sitios con valores de 9 a 20% de incidencia. En el caso de la severidad, el 36% presento valores entre 0 y 1 de la escala y 6% entre 2 y 3 (Figura 2.10).



**Figura 2.10.** Histogramas de frecuencia absoluta para las variables incidencia y severidad, en los tres estadios fenológicos evaluados del cultivo, para la provincia de Jujuy, campaña agrícola 2010/11. Estadio fenológico: Estadio 1 (30 a 45DDT), Estadio 2 (50 a 65DDT) y Estadio 3 (90 a 115DDT).

Por otro lado la relación entre los niveles de incidencia y severidad reportada fue variable (Tabla 2.4). Se procedió de igual manera a lo visto anteriormente en la verificación de la normalidad con respecto a la asimetría horizontal. En el caso del

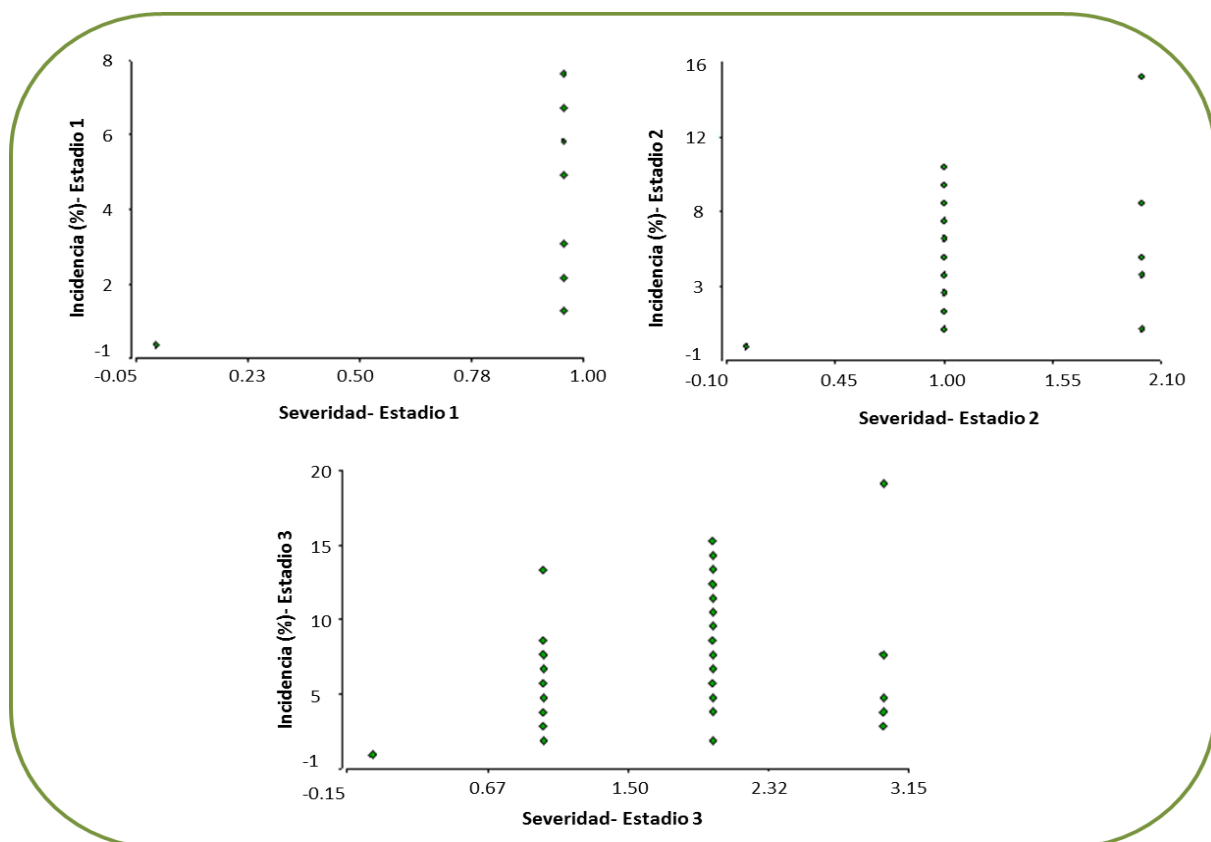
coeficiente de sesgo, se tuvo que realizar para la variable incidencia una transformación Log (n+1), para poder proceder al análisis geoestadístico.

**Tabla 2.4.** Estadísticos descriptivos para las variables de incidencia y severidad evaluados en los tres estadios de cultivo en la provincia de Jujuy, campaña 2010/11. \*Estadio fenológico: Estadio 1 (30 a 45DDT), Estadio 2 (50 a 65DDT) y Estadio 3 (90 a 115DDT).

Resumen	Severidad 1*	Incidencia 1	Severidad 2	Incidencia 2	Severidad 3	Incidencia 3
<b>N</b>	<b>56</b>	<b>56</b>	<b>56</b>	<b>56</b>	<b>56</b>	<b>56</b>
<b>Media</b>	<b>0,55</b>	<b>1,46</b>	<b>0,98</b>	<b>4,04</b>	<b>1,64</b>	<b>6,39</b>
<b>D.E.</b>	<b>0,50</b>	<b>1,96</b>	<b>0,62</b>	<b>3,43</b>	<b>0,77</b>	<b>4,47</b>
<b>Var (n-1)</b>	<b>0,25</b>	<b>3,85</b>	<b>0,38</b>	<b>11,78</b>	<b>0,60</b>	<b>19,95</b>
<b>Mín.</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
<b>Máx.</b>	<b>1</b>	<b>8</b>	<b>2</b>	<b>15</b>	<b>3</b>	<b>19</b>
<b>Mediana</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>4</b>	<b>2</b>	<b>6</b>
<b>Asimetría</b>	<b>-0,22</b>	<b>1,75</b>	<b>0,01</b>	<b>0,77</b>	<b>-0,50</b>	<b>0,53</b>
<b>Kurtosis</b>	<b>-2,02</b>	<b>2,89</b>	<b>-0,25</b>	<b>0,40</b>	<b>0,04</b>	<b>-0,17</b>

Teniendo en cuenta que el  $CV = (S/X) * 100$ , para la variable severidad en los tres estadios los CV fueron 90, 63 y 47 y para la variable incidencia los CV tuvieron valores de 134, 85 y 70, por lo cual no hay problemas con los datos extremos.

Además se visualizó una tendencia que sugiere que a mayor nivel de incidencia, es la mayor la severidad, se observa en las figura 2.11 en los diferentes estadios fenológicos evaluados.



**Figura 2.11.** Relación de las variables de incidencia y severidad evaluadas en los tres estadios de cultivo en la provincia de Jujuy, campaña 2010/11. Estadío fenológico: Estadio 1 (30 a 45DDT), Estadio 2 (50 a 65DDT) y Estadio 3 (90 a 115DDT).

### 2.3.1 Análisis estructural de los datos y predicción

#### 2.3.1.1 Variable Severidad

Para la **campana agrícola 2009/10** los resultados del Kriging Ordinario empleándose los modelos esférico, exponencial y Gaussiano mostró los resultados que se observan en la Tabla 2.5.

A partir del mapa de predicción estándar del error, se pudo obtener la confiabilidad de los métodos (Confiabilidad= 100-Error). Para el primer estadio, el porcentaje de confiabilidad según modelo fue, Exponencial 99,61, esférico 99,58, Gaussiano 99,52. Para el segundo estadio Exponencial 99,53, esférico 99,55, Gaussiano 99,55. Y para el tercer estadio Exponencial 99,34, esférico 99,37, Gaussiano 99,39. Seleccionando según criterios planteados el modelo exponencial (Figura 2.12).

Los parámetros del semivariograma realizado con el modelo exponencial y validado por el método de validación cruzada se observan en la Tabla 2.6. En el mismo se observa que en el primer estadio de evaluación (30 a 45DDT), la variable de intensidad de la enfermedad presenta una moderada dependencia espacial, mientras que en el resto de los estadios evaluados, adquiere baja dependencia espacial.

**Tabla 2.6.** Parámetros del semivariograma para la variable severidad evaluada en los tres estadios del cultivo. \*Estadío fenológico: Estadio 1 (30 a 45DDT), Estadio 2 (50 a 65DDT) y Estadio 3 (90 a 115DDT).

	$C_0^*$	$C^*$	$R^*$	IDE* (%)
<b>Severidad 1*</b>	0,1445	0,07836	0,1368	65
<b>Severidad 2</b>	0,3969	0,0820	0,1779	83
<b>Severidad 3</b>	1,0773	0,11327	0,2009	91

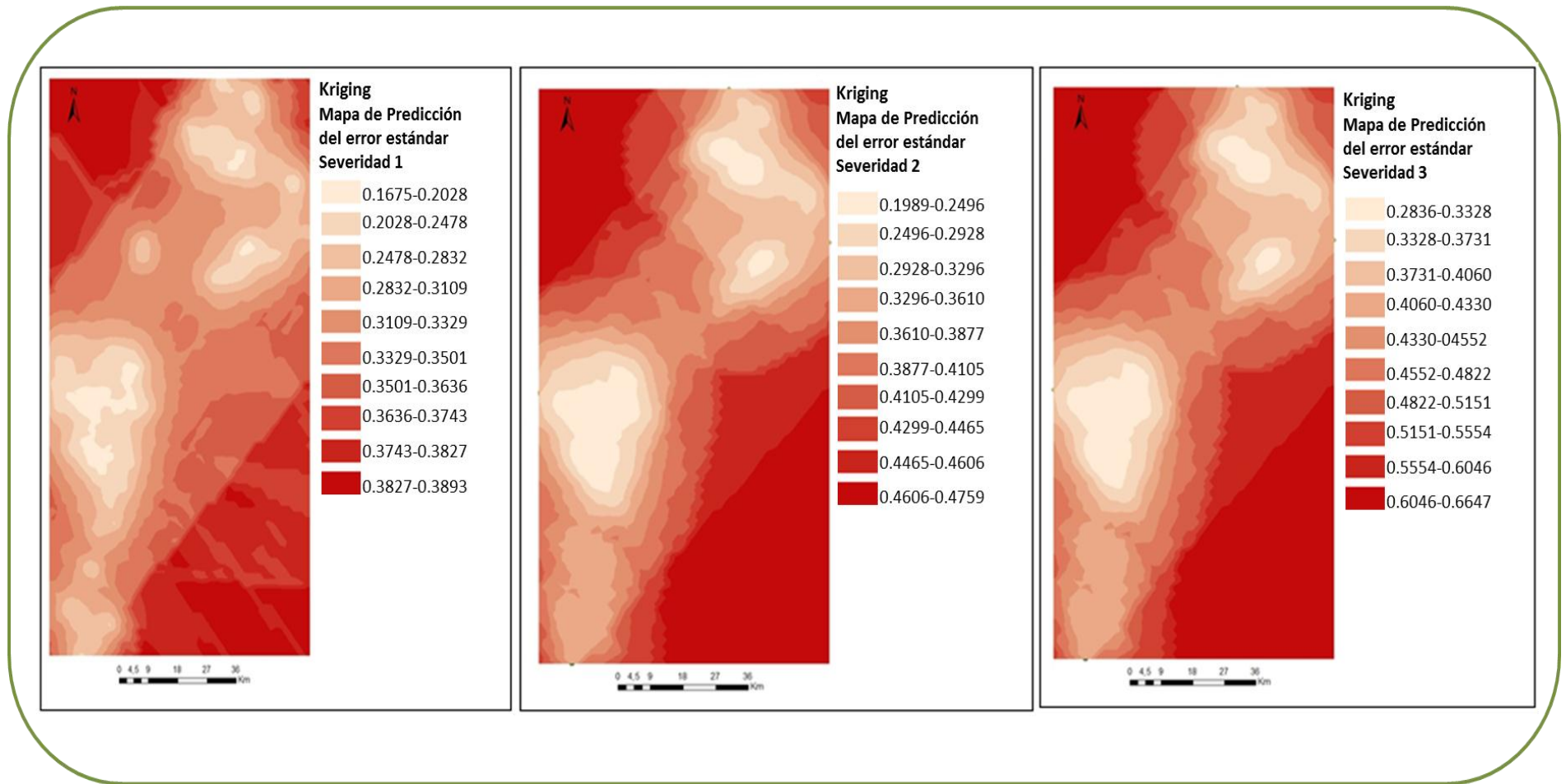
\* $C_0$ : Nugget o efecto pepita; C: semivarianza estructural o espacial; R: rango o alcance  
IDE: índice de dependencia espacial.

En base al modelo exponencial, se obtuvieron los mapas de predicción para los tres estadios fenológicos del cultivo evaluados (Figura 2.13).

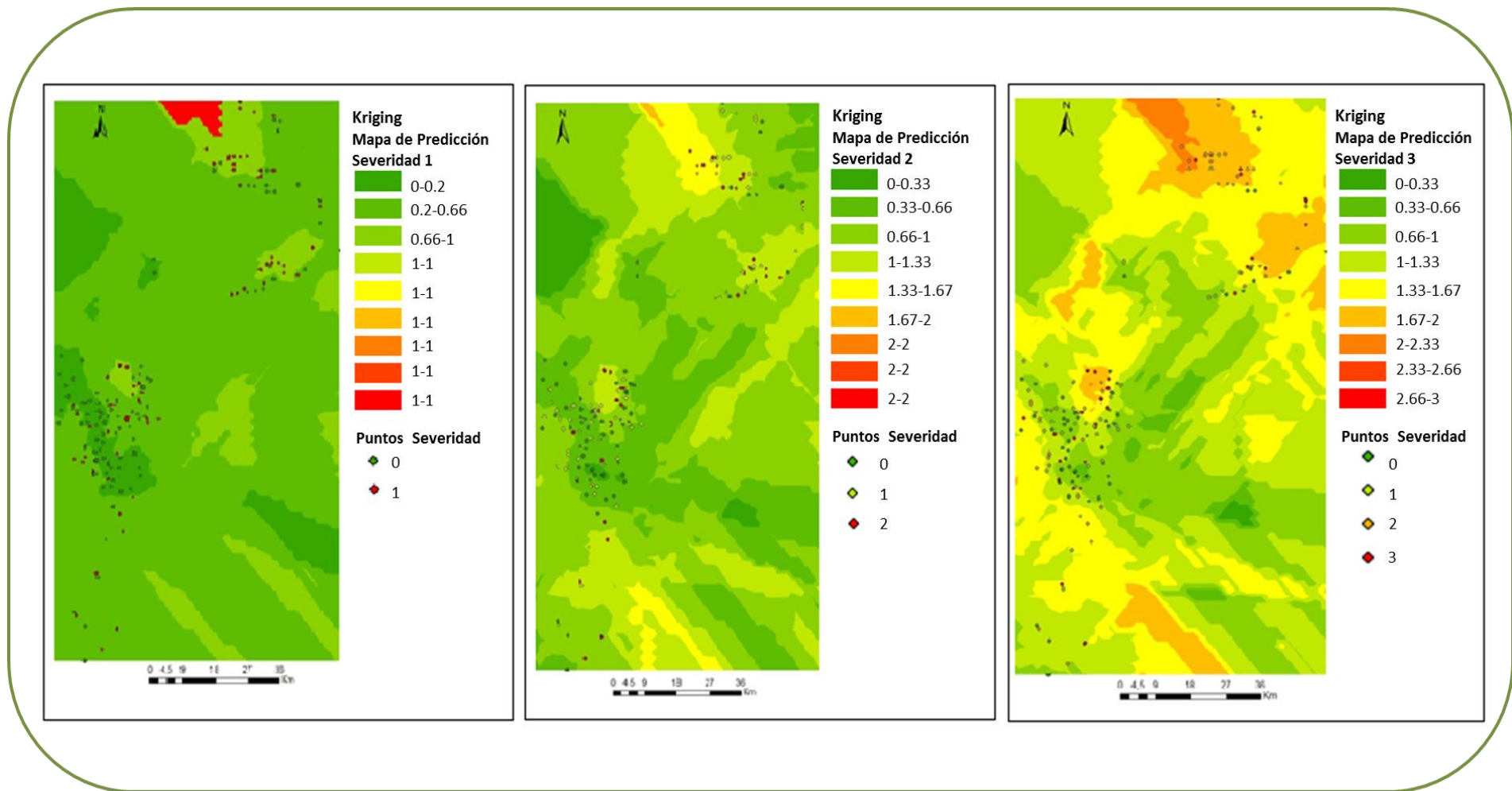
**Tabla 2.5.** Predicción de errores para los tres modelos evaluados en los tres estadios fenológicos de severidad registrados en las provincia de Salta y Jujuy, campaña agrícola 2009/10. \*Estadio fenológico: Estadio 1 (30 a 45DDT), Estadio 2 (50 a 65DDT) y Estadio 3 (90 a 115DDT).

	Estadio 1*			Estadio 2			Estadio 3		
	Esférico	Exponencial	Gaussiano	Esférico	Exponencial	Gaussiano	Esférico	Exponencial	Gaussiano
<b>Media</b>	0,000451	0,000051	0,0028695	-0,000626	0,000026	-0,000738	-0,000533	0,000114	-0,000805
<b>Raíz cuadrada de la media</b>	0,446114	0,442969	0,44478	0,684110	0,682908	0,685329	1,054784	1,054663	1,05515
<b>Media estandarizada</b>	-0,001153	-0,001596	0,001382	-0,001364	-0,000774	-0,001374	-0,000677	-0,000285	-0,000846
<b>Raíz cuadrada de la media estandarizada</b>	1,06789	1,00231	0,886107	1,003334	1,004063	1,003164	0,959548	0963861	0,956692
<b>Error estándar promedio</b>	0,418875	0,442724	0,50236	0,681045	0,679266	0,682474	1,09977	1,094658	1,103452





**Figura 2.12.** Mapa de predicción de errores para la variable severidad en los tres estadios fenológicos evaluados según el modelo exponencial, para la provincia de Salta y Jujuy, campaña agrícola 2009/10. Estadío fenológico: Estadio 1 (30 a 45DDT), Estadio 2 (50 a 65DDT) y Estadio 3 (90 a 115DDT).



**Figura 2.13.** Mapa de predicción de severidad en los tres estadios fenológicos evaluados en la provincia de Salta y Jujuy, campaña agrícola 2009/10. Estadío fenológico: Estadío 1 (30 a 45DDT), Estadío 2 (50 a 65DDT) y Estadío 3 (90 a 115DDT).

Para la **campaña agrícola 2010/11** los resultados del Kriging Ordinario empleándose los modelos esférico, exponencial y Gaussiano mostro los resultados que se observan en la Tabla 2.7.

A partir del mapa de predicción estándar del error, se pudo obtener la confiabilidad de los métodos (Confiabilidad= 100-Error). Para el primer estadio, el porcentaje de confiabilidad según modelo fue, Exponencial 99,65, esférico 99,54, Gaussiano 99,51. Para el segundo estadio Exponencial 99,38, esférico 99,44, Gaussiano 99,43. Y para el tercer estadio Exponencial 99,38, esférico 99,59, Gaussiano 99,58. Se seleccionó según los criterios planteados el modelo exponencial (Figura 2.14).

Los parámetros del semivariograma realizado con el modelo exponencial y validado por el método de validación cruzada se observan en la Tabla 2.8. En la misma se observa que en el primer y segundo estadio de evaluación (30 a 45DDT y 50 a 65DDT), la variable severidad de la enfermedad presentó una moderada dependencia espacial, mientras que en el tercer estadio de evaluación, adquirió baja dependencia espacial.

**Tabla 2.8.** Parámetros del semivariograma para las variable severidad evaluada en los tres estadios del cultivo. \*Estadío fenológico: Estadio 1 (30 a 45DDT), Estadio 2 (50 a 65DDT) y Estadio 3 (90 a 115DDT).

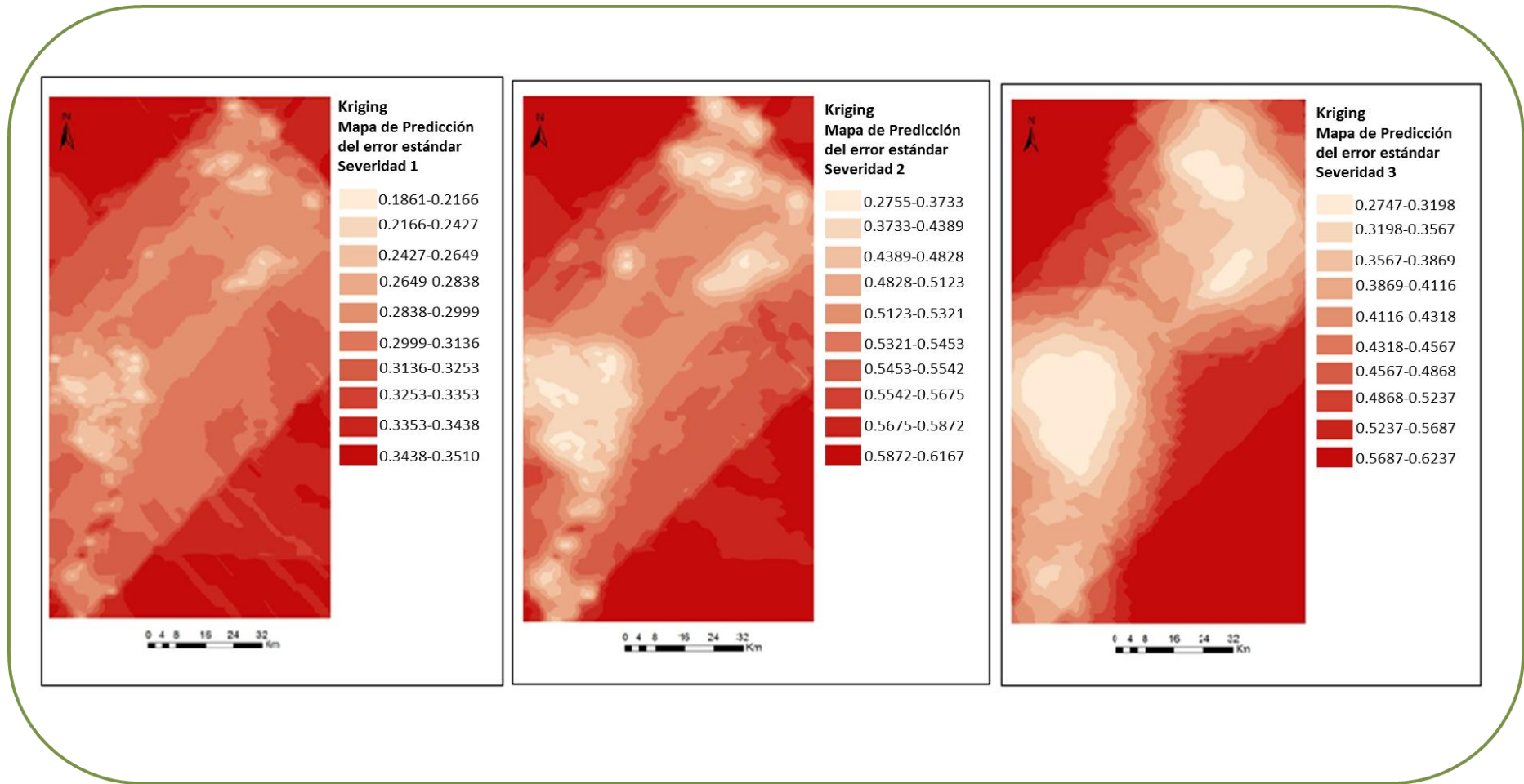
	Co*	C*	R*	IDE* (%)
Severidad 1*	0,1452	0,0605	0,0311	71
Severidad 2	0,3178	0,2002	0,0557	61
Severidad 3	1,1448	0,0680	0,1744	94

\*Co: Nugget o efecto pepita; C: semivarianza estructural o espacial; R: rango o alcance  
IDE: índice de dependencia espacial.

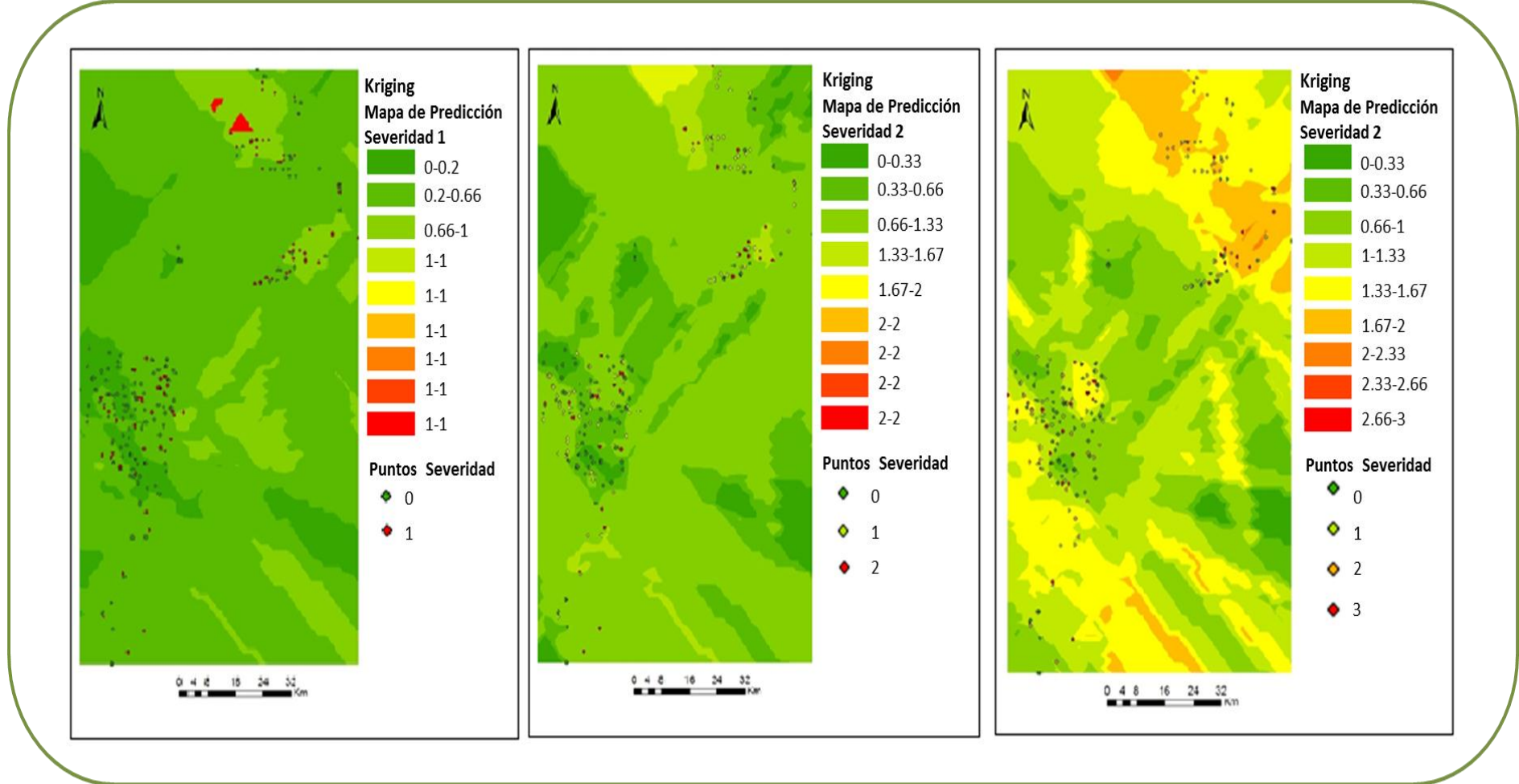
En base al modelo exponencial, se obtuvieron los mapas de predicción para los tres estadios fenológicos del cultivo evaluados (Figura 2.15).

**Tabla 2.7.** Predicción de errores para los tres modelos evaluados en los tres estadios de severidad registrados en las provincias de Salta y Jujuy, campaña agrícola 2010/11. \*Estadio fenológico: Estadio 1 (30 a 45DDT), Estadio 2 (50 a 65DDT) y Estadio 3 (90 a 115DDT).

	Estadio 1*			Estadio 2			Estadio 3		
	Esférico	Exponencial	Gaussiano	Esférico	Exponencial	Gaussiano	Esférico	Exponencial	Gaussiano
<b>Media</b>	0,009207	0,12458	0,008987	0,008866	0,011635	0,008818	-0,005899	0,001942	-0,005899
<b>Raíz cuadrada de la media</b>	0,445655	0,448009	0,442827	0,683652	0,680636	0,685744	1,064362	1,063004	1,064362
<b>Media estandarizada</b>	0,017156	0,025054	0,015924	0,011541	0,014399	0,0115981	-0,005176	0,001467	-0,005176
<b>Raíz cuadrada de la media estandarizada</b>	0,916942	0,972457	0,892595	0,984026	0,984181	0,984321	0,951429	0,9525317	0,9514296
<b>Error estándar promedio</b>	0,489427	0,461144	0,503558	0,694756	0,692248	0,697003	1,118965	1,117	1,18965



**Figura 2.14.** Mapa de predicción de errores para la variable severidad en los tres estadios fenológicos evaluados según el modelo exponencial, para la provincia de Salta y Jujuy, campaña agrícola 2010/11. Estadio fenológico: Estadio 1 (30 a 45DDT), Estadio 2 (50 a 65DDT) y Estadio 3 (90 a 115DDT).



**Figura 2.15.** Mapa de predicción de severidad en los tres estadios fenológicos evaluados en las provincias de Salta y Jujuy, campaña agrícola 2010/11. Estadío fenológico: Estadío 1 (30 a 45DDT), Estadío 2 (50 a 65DDT) y Estadío 3 (90 a 115DDT).



### 2.3.1.2 Variable Incidencia

Para la **campana agrícola 2009/10** los resultados del Kriging Ordinario empleándose los modelos esférico, exponencial y Gaussiano, mostró los resultados que se observan en la Tabla 2.9.

A partir del mapa de predicción estándar del error, se pudo obtener la confiabilidad de los métodos (Confiabilidad= 100-Error). Para el primer estadio, el porcentaje de confiabilidad según modelo fue, Exponencial 99,96, esférico 99,69, Gaussiano 99,79. Para el segundo estadio los tres modelos presentaron igual porcentaje de confiabilidad 99,34. Y de igual manera para el tercer estadio 96,07% fue el valor para los tres modelos. Se seleccionó según los criterios planteados el modelo exponencial (Figura 2.16).

Los parámetros del semivariograma realizado con el modelo exponencial y validado por el método de validación cruzada se observan en la Tabla 2.10. En el mismo se observa que en el primer estadio de evaluación (30 a 45DDT), la variable de intensidad de la enfermedad presentó una moderada dependencia espacial, mientras que en el resto de los estadios evaluados, adquiere baja dependencia espacial.

**Tabla 2.10.** Parámetros del semivariograma para la variable incidencia evaluada en los tres estadios del cultivo.\* Estadío fenológico: Estadio 1 (30 a 45DDT), Estadio 2 (50 a 65DDT) y Estadio 3 (90 a 115DDT).

	Co*	C*	R*	IDE* (%)
<b>Incidencia 1*</b>	3,8084	2,2364	0,2109	63
<b>Incidencia 2</b>	28,3197	0	0,0940	100
<b>Incidencia 3</b>	61,7443	0	0,0941	100

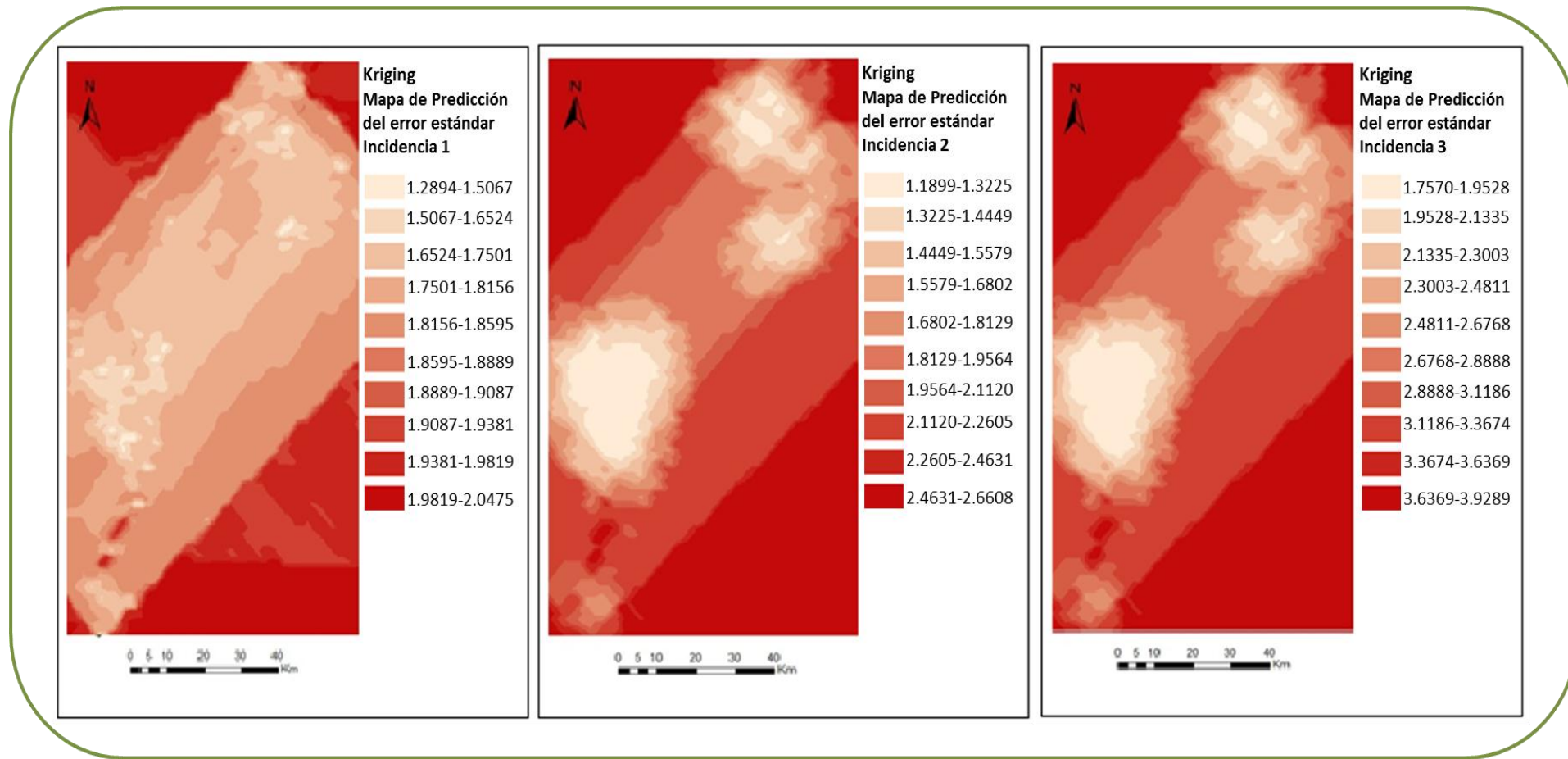
\*Co: Nugget o efecto pepita; C: semivarianza estructural o espacial; R: rango o alcance  
IDE: índice de dependencia espacial.

En base al modelo exponencial, se obtuvieron los mapas de predicción para los tres estadios fenológicos del cultivo evaluados (Figura 2.17).

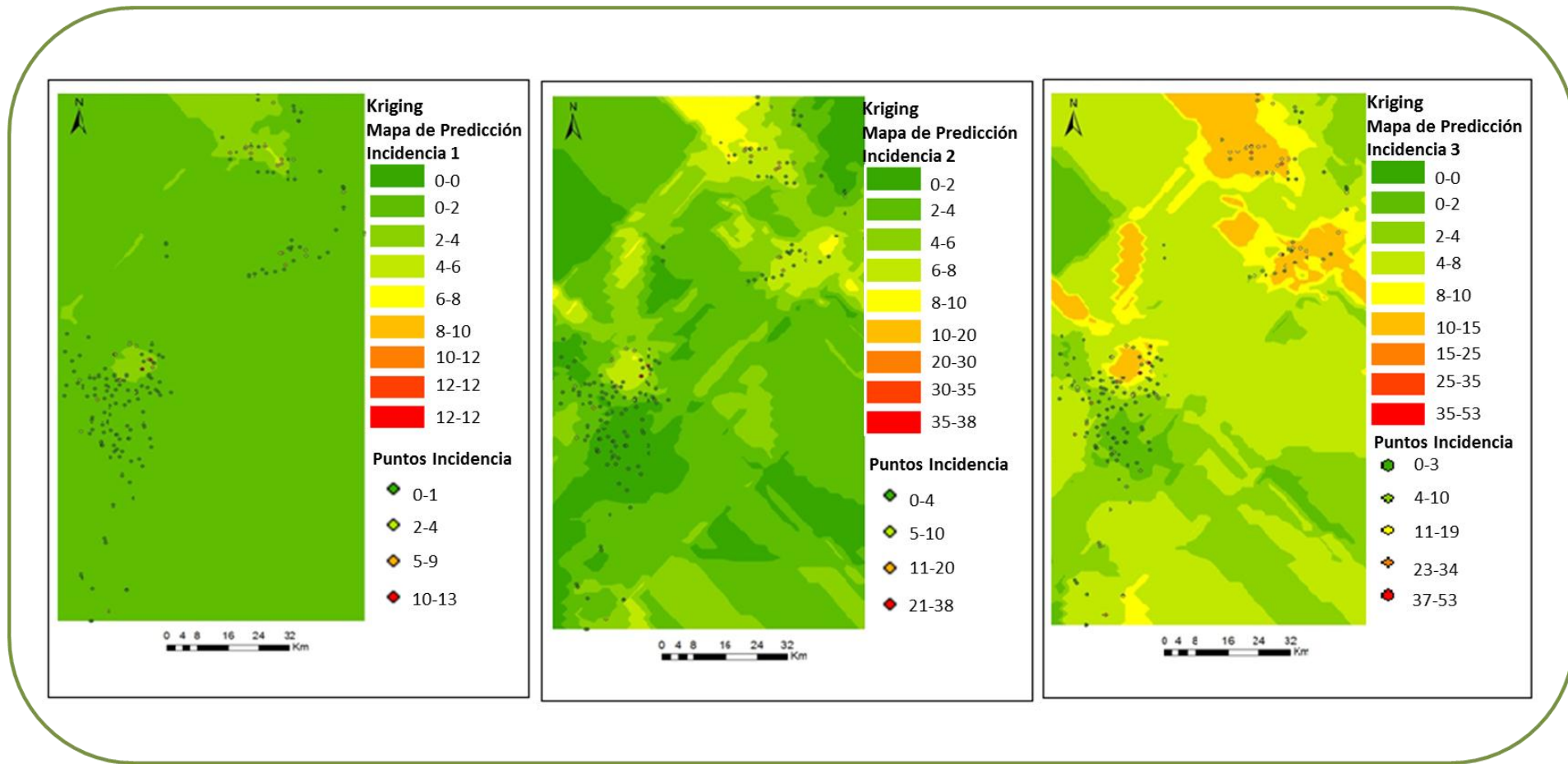
**Tabla 2.9.** Predicción de errores para los tres modelos evaluados en los tres estadios de incidencia registrados en las provincias de Salta y Jujuy, campaña agrícola 2009/10. \*Estadio fenológico: Estadio 1 (30 a 45DDT), Estadio 2 (50 a 65DDT) y Estadio 3 (90 a 115DDT).

	Estadio 1*			Estadio 2			Estadio 3		
	Esférico	Exponencial	Gaussiano	Esférico	Exponencial	Gaussiano	Esférico	Exponencial	Gaussiano
<b>Media</b>	0,009207	0,12458	0,008987	0,008866	0,011635	0,008818	-0,005899	0,001942	-0,005899
<b>Raíz cuadrada de la media</b>	0,445655	0,448009	0,442827	0,683652	0,680636	0,685744	1,064362	1,063004	1,064362
<b>Media estandarizada</b>	0,017156	0,025054	0,015924	0,011541	0,014399	0,0115981	-0,005176	0,001467	-0,005176
<b>Raíz cuadrada de la media estandarizada</b>	0,916942	0,972457	0,892595	0,984026	0,984181	0,984321	0,951429	0,9525317	0,9514296
<b>Error estándar promedio</b>	0,489427	0,461144	0,503558	0,694756	0,692248	0,697003	1,118965	1,117	1,18965





**Figura 2.16.** Mapa de predicción de errores para la variable incidencia en los tres estadios fenológicos evaluados según el modelo exponencial, para la provincia de Salta y Jujuy, campaña agrícola 2009/10. Estadio fenológico: Estadio 1 (30 a 45DDT), Estadio 2 (50 a 65DDT) y Estadio 3 (90 a 115DDT).



**Figura 2.17.** Mapa de predicción de incidencia en los tres estadios fenológicos evaluados en las provincias de Salta y Jujuy, campaña agrícola 2009/10. Estadío fenológico: Estadío 1 (30 a 45DDT), Estadío 2 (50 a 65DDT) y Estadío 3 (90 a 115DDT).

Para la **campaña agrícola 2010/11** los resultados del Kriging Ordinario empleándose los modelos esférico, exponencial y Gaussiano mostro los resultados que se observan en la Tabla 2.11.

A partir del mapa de predicción estándar del error, se pudo obtener la confiabilidad de los métodos (Confiabilidad= 100-Error). Para el primer estadio, el porcentaje de confiabilidad según modelo fue, Exponencial 98,98, esférico 99,94, Gaussiano 98,88. Para el segundo estadio Exponencial 96,58, esférico 96,51, Gaussiano 97,25. Y para el tercer estadio Exponencial 94,77, esférico 94,75, Gaussiano 94,74. Seleccionando según criterios planteados, el modelo exponencial (Figura 2.18).

Los parámetros del semivariograma realizado con el modelo exponencial y validado por el método de validación cruzada se observan en la Tabla 2.12. En el mismo se observa que la incidencia adquirió en los tres momentos de evaluación, baja dependencia espacial.

**Tabla 2.12.** Parámetros del semivariograma para la variable incidencia evaluada en los tres estadios del cultivo. \*Estadío fenológico: Estadio 1 (30 a 45DDT), Estadio 2 (50 a 65DDT) y Estadio 3 (90 a 115DDT).

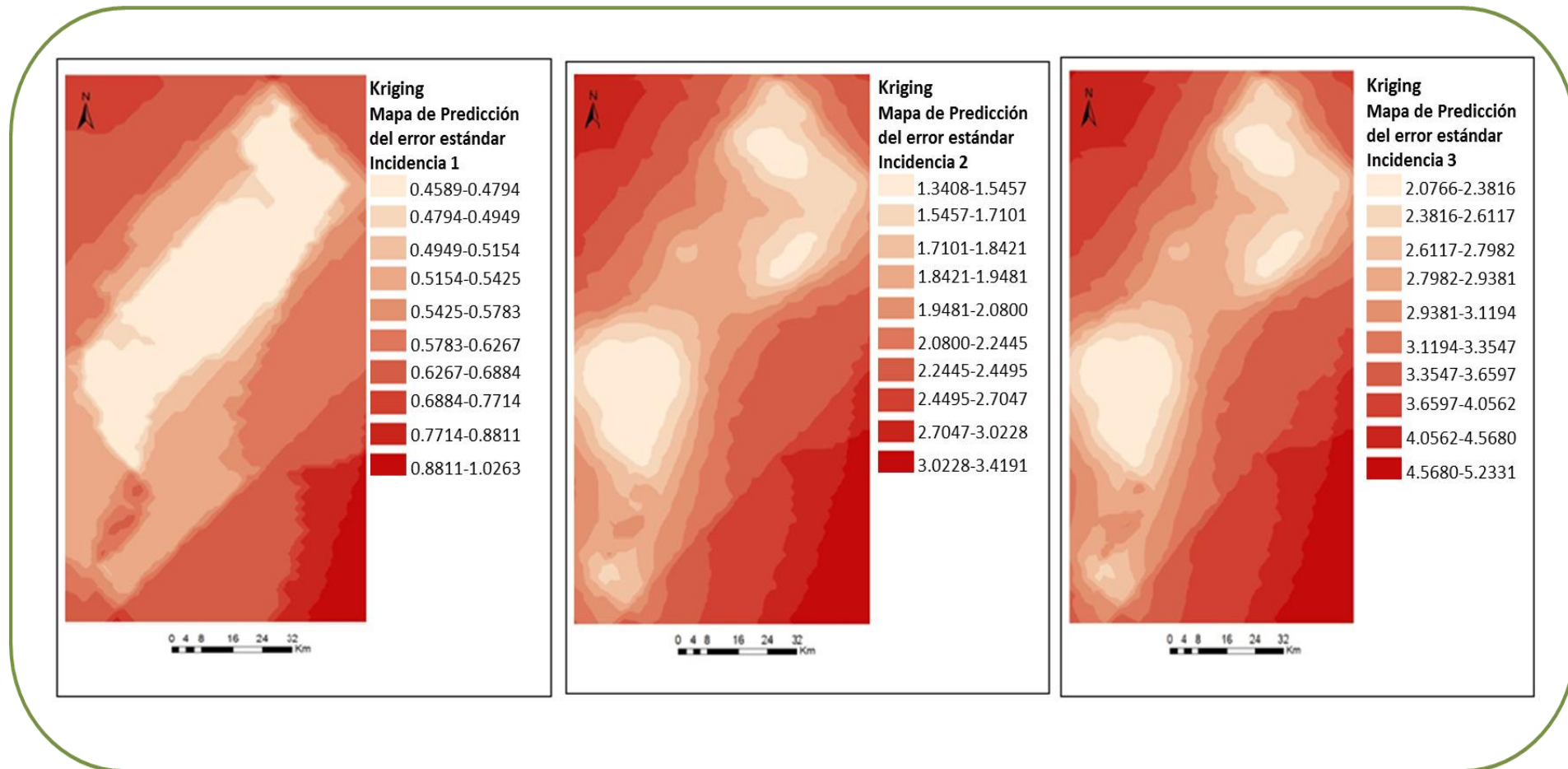
	Co*	C*	R*	IDE* (%)
<b>Incidencia 1*</b>	4,2132	0	0,4859	100
<b>Incidencia 2</b>	29,3320	2,9136	0,4427	91
<b>Incidencia 3</b>	71,8836	6,2951	0,4427	92

\*Co: Nugget o efecto pepita; C: semivarianza estructural o espacial; R: rango o alcance  
IDE: índice de dependencia espacial.

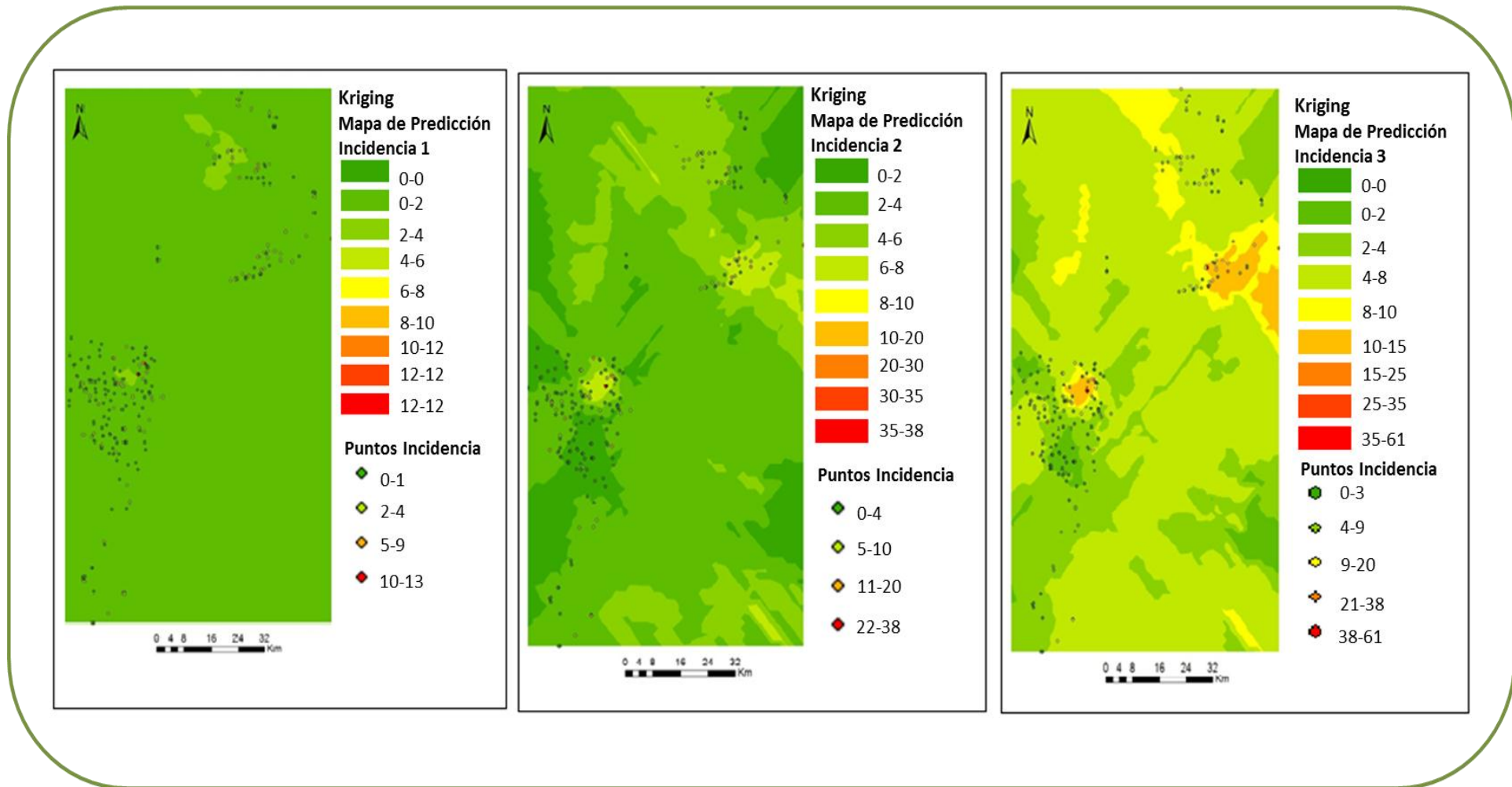
En base al modelo exponencial, se obtuvieron los mapas de predicción para los tres estadios fenológicos del cultivo evaluados (Figura 2.19).

**Tabla 2.11.** Predicción de errores para los tres modelos evaluados en los tres estadios de incidencia registrados en las provincias de Salta y Jujuy, campaña agrícola 2010/11. \* Estadío fenológico: Estadio 1 (30 a 45DDT), Estadio 2 (50 a 65DDT) y Estadio 3 (90 a 115DDT).

	Estadio 1			Estadio 2			Estadio 3		
	Esférico	Exponencial	Gaussiano	Esférico	Exponencial	Gaussiano	Esférico	Exponencial	Gaussiano
<b>Media</b>	-0,015086	-0,0172039	-0,012372	-0,062302	-0,061438	-0,056608	-0,100108	-0,098619	-0,12086
<b>Raíz cuadrada de la media</b>	1,960472	1,960845	1,960815	5,087777	5,083	5,082824	7,955943	7,946769	7,957469
<b>Media estandarizada</b>	-0,007159	-0,0081173	-0,005923	-0,011069	-0,010907	-0,009758	-0,011076	-0,0108844	-0,0136966
<b>Raíz cuadrada de la media estandarizada</b>	0,933480	0,9306256	0,938716	0,907531	0,905013	0,893769	0,9041637	0,9036895	0,9244175
<b>Error estándar promedio</b>	2,10482	2,111312	2,09363	5,620481	5,633188	5,712828	8,810553	8,807738	8,613905



**Figura 2.18.** Mapa de predicción de errores para la variable incidencia en los tres estadios fenológicos evaluados según el modelo exponencial, para las provincias de Salta y Jujuy, campaña agrícola 2010/11. Estadío fenológico: Estadío 1 (30 a 45DDT), Estadío 2 (50 a 65DDT) y Estadío 3 (90 a 115DDT).



**Figura 2.19.** Mapa de predicción de incidencia en los tres estadios fenológicos evaluados en las provincias de Salta y Jujuy, campaña agrícola 2010/11. Estadío fenológico: Estadío 1 (30 a 45DDT), Estadío 2 (50 a 65DDT) y Estadío 3 (90 a 115DDT).

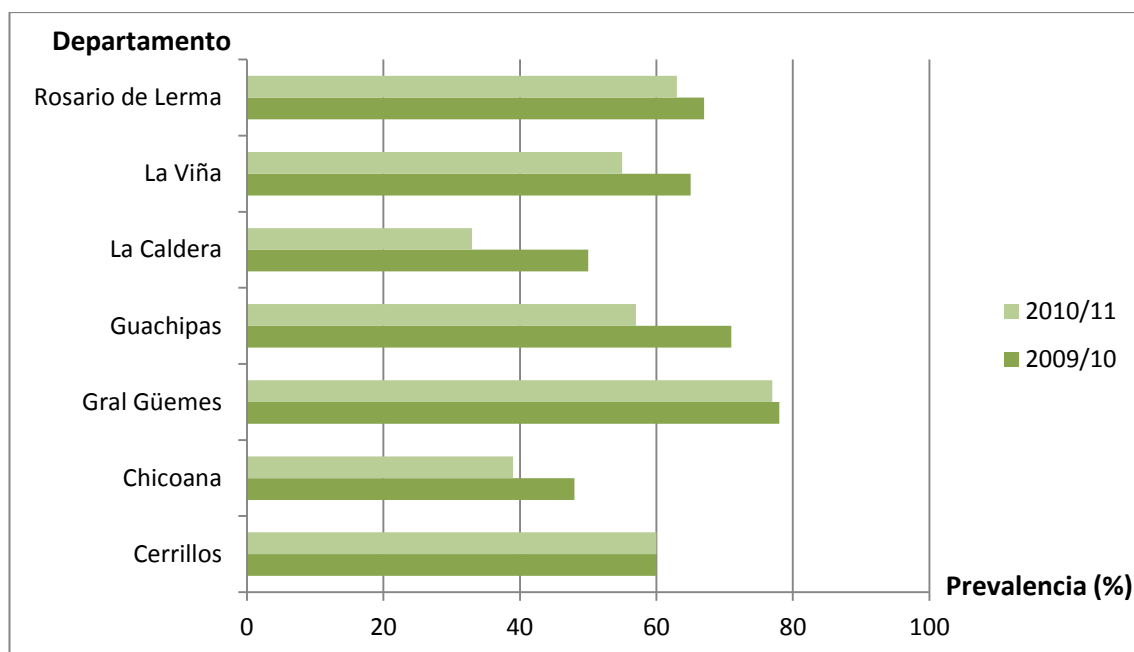


## 2.3.2 Análisis estadísticos entre intensidad de enfermedad, variables de manejo y variables meteorológicas (temperatura, precipitación, humedad relativa).

### 2.3.2.1 Prevalencia de la enfermedad por Departamento

#### 2.3.2.1.1 Provincia de Salta

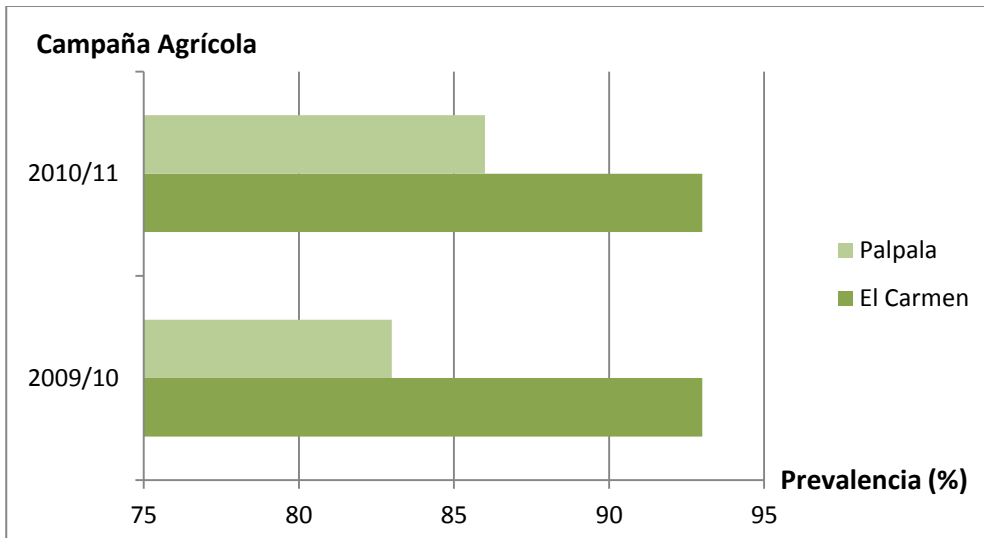
En general, para todos los Departamentos la prevalencia de la podredumbre radicular fue mayor en la campaña agrícola 2009/10, presentando valores mayores al 50% los Departamentos de Chicoana, Cerrillos, La Viña, Guachipas, Rosario de Lerma y Gral. Güemes (Figura 2.20).



**Figura 2.20.** Porcentaje de prevalencia de la podredumbre radicular por *Rhizoctonia*, en la provincia de Salta en las campañas agrícolas 2009/10 y 2010/11.

#### 2.3.2.1.2 Provincia de Jujuy

El departamento de El Carmen, presentó los valores mayores de prevalencia en ambas campañas agrícolas con respecto al departamento de Palpala. En el primer caso el porcentaje de prevalencia fue igual en las dos campañas agrícolas, no así para el departamento de Palpala, en el cual el valor de prevalencia fue mayor en la campaña 2010/11 (Figura 2.21).



**Figura 2.21.** Porcentaje de prevalencia de la podredumbre radicular por *Rhizoctonia*, en la provincia de Jujuy en las campañas agrícolas 2009/10 y 2010/11.

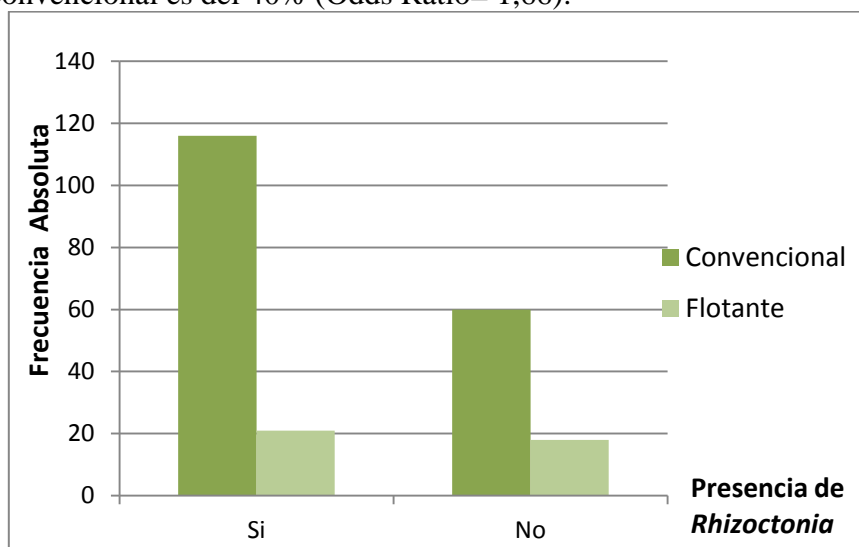
### 2.3.2.2. Análisis de asociación de la enfermedad con el tipo de almacigo

#### 2.3.2.2.1 Provincia de Salta

En la **campaña agrícola 2009/10**, se encontró una asociación altamente significativa entre el tipo de almacigo y la presencia de la podredumbre radicular por *Rhizoctonia* ( $p < 0.0001$ ). El 85% de las muestras que presentaron el patógeno fueron provenientes de almacigos convencionales. El 65% de las muestras de almacigo convencional presentaron el patógeno (Figura 2.22).

#### Medida de riesgo epidemiológico de podredumbre radicular por *Rhizoctonia*:

**Razón de Odds:** existe una relación significativa entre el tipo de almacigo y la presencia de *Rhizoctonia*, la probabilidad de presentarse el patógeno si el almacigo fuera convencional es del 40% (Odds Ratio= 1,66).



**Figura 2.22.** Presencia de la podredumbre radicular por *Rhizoctonia*, en almacigo (convencional y flotante), en la campaña 2009/10.

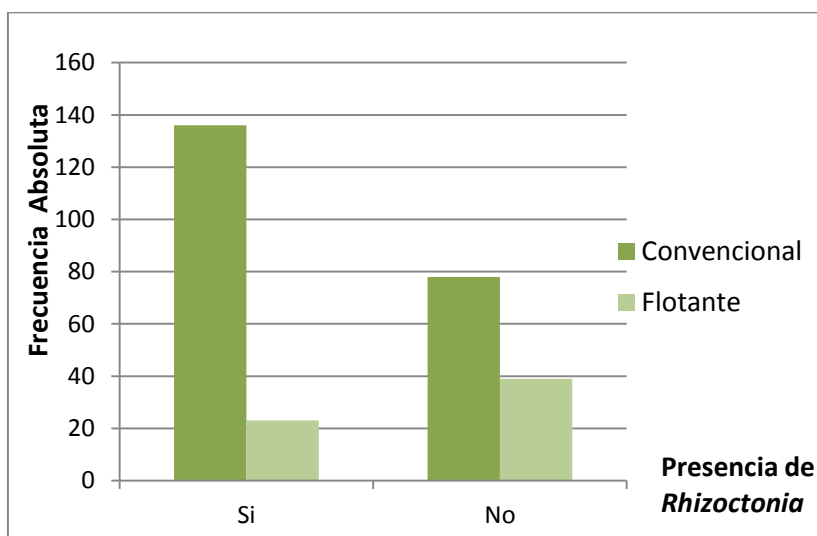
En la **campaña agrícola 2010/11**, se encontró que existe una asociación altamente significativa entre el tipo de almacigo y la presencia de *Rhizoctonia*



( $p < 0.0001$ ). El 86% de las muestras que presentaron el patógeno son provenientes de almácigos convencionales. El 64% de las muestras de almácigo convencional presentaron el patógeno (Figura 2.23).

**Medida de riesgo epidemiológico de la podredumbre radicular por *Rhizoctonia*:**

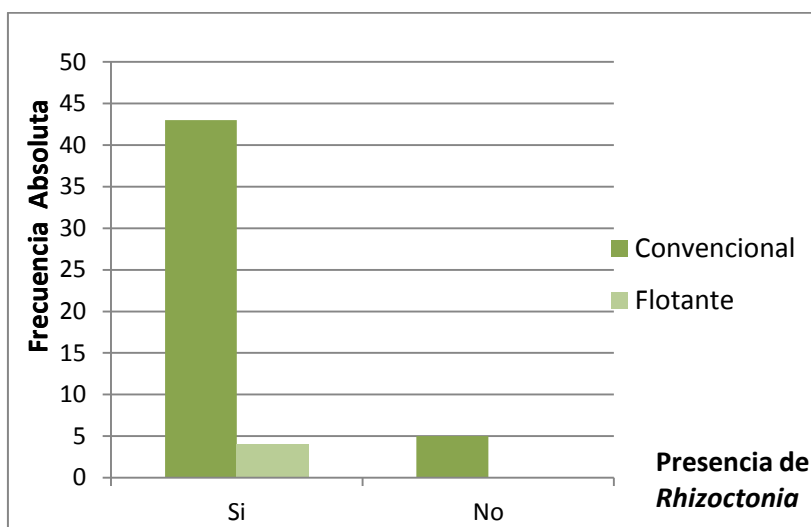
**Razón de Odds:** existe una relación significativa entre el tipo de almácigo y la presencia de *Rhizoctonia*, la probabilidad de presentarse el patógeno si el almácigo fuera convencional es del 66% (Odds Ratio= 2,95).



**Figura 2.23.** Presencia de la podredumbre radicular por *Rhizoctonia*, en almácigo (convencional y flotante), en la campaña 2010/11.

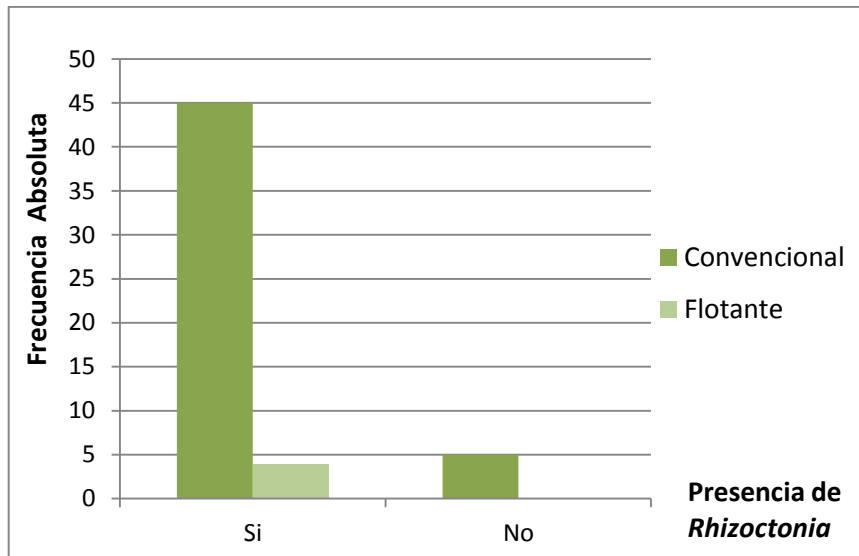
**2.3.2.2.2 Provincia de Jujuy**

En la **campana agrícola 2009/10**, no se encontró asociación entre la incidencia de la enfermedad y el tipo de almácigo. Sin embargo el 91% de las muestras que presentaron el patógeno son provenientes de almácigos convencionales. El 90% de las muestras de almácigo convencional presentaron el patógeno. Figura 2.24



**Figura 2.24.** Presencia de la podredumbre radicular por *Rhizoctonia*, en almácigo (convencional y flotante), en la campaña 2009/10.

En la **campaña agrícola 2010/11**, no se encontró asociación entre la incidencia de la enfermedad y el tipo de almacigo. Sin embargo el 92% de las muestras que presentaron el patógeno son provenientes de almacigos convencionales. El 90% de las muestras de almacigo convencional presentaron el patógeno. Figura 2.25



**Figura 2.25.** Presencia de la podredumbre radicular por *Rhizoctonia*, en almacigo (convencional y flotante), en la campaña 2010/11.

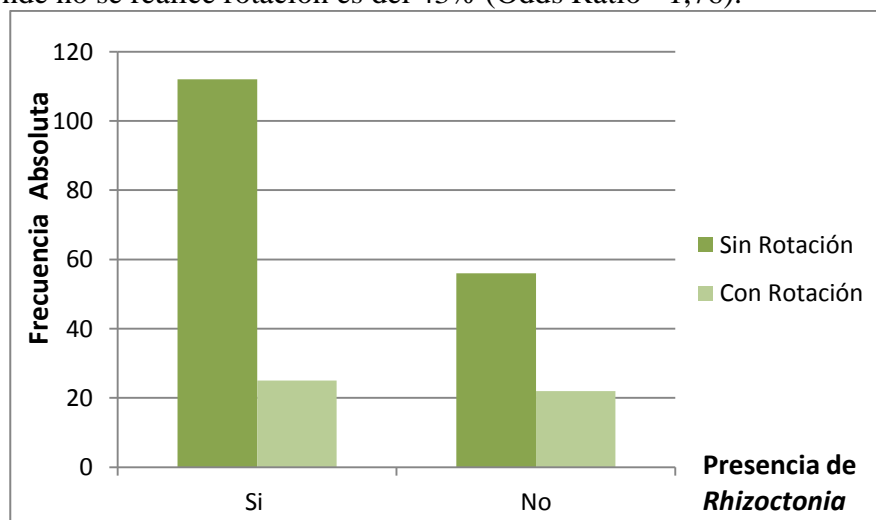
### 2.3.2.3. Análisis de asociación de la enfermedad con lotes con o sin rotación

#### 2.3.2.3.1 Provincia de Salta

En la **campaña agrícola 2009/10**, se encontró una asociación altamente significativa entre lotes bajo rotación o no y la presencia de la podredumbre radicular por *Rhizoctonia* ( $p=0,0012$ ) (Figura 2.26).

#### Medida de riesgo epidemiológico de podredumbre radicular por *Rhizoctonia*:

**Razón de Odds:** existe una relación significativa entre lotes con o sin rotación y la presencia de *Rhizoctonia*, la probabilidad de presentarse el patógeno si proviene de un lote donde no se realice rotación es del 43% (Odds Ratio= 1,76).

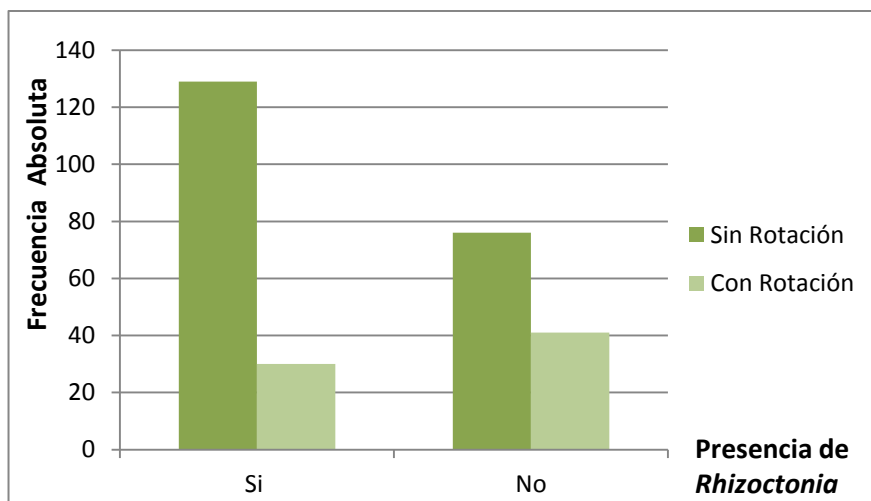


**Figura 2.26.** Presencia de la podredumbre radicular por *Rhizoctonia*, en relación a lotes bajo rotación o no en la campaña 2009/10.

En la **campaña agrícola 2010/11**, se encontró una asociación altamente significativa entre lotes bajo rotación o no y la presencia de la podredumbre radicular por *Rhizoctonia* ( $p < 0.0001$ ) (Figura 2.27).

**Medida de riesgo epidemiológico de podredumbre radicular por *Rhizoctonia*:**

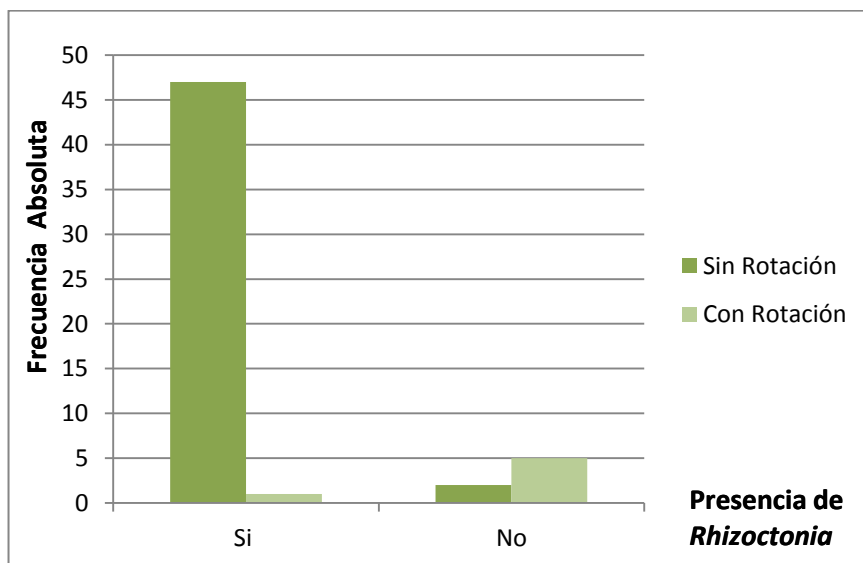
**Razón de Odds:** existe una relación significativa entre lotes con o sin rotación y la presencia de *Rhizoctonia*, la probabilidad de presentarse el patógeno si proviene de un lote donde no se realice rotación es del 57% (Odds Ratio= 2,33).



**Figura 2.27.** Presencia de la podredumbre radicular por *Rhizoctonia*, en relación a lotes bajo rotación o no en la campaña 2010/11

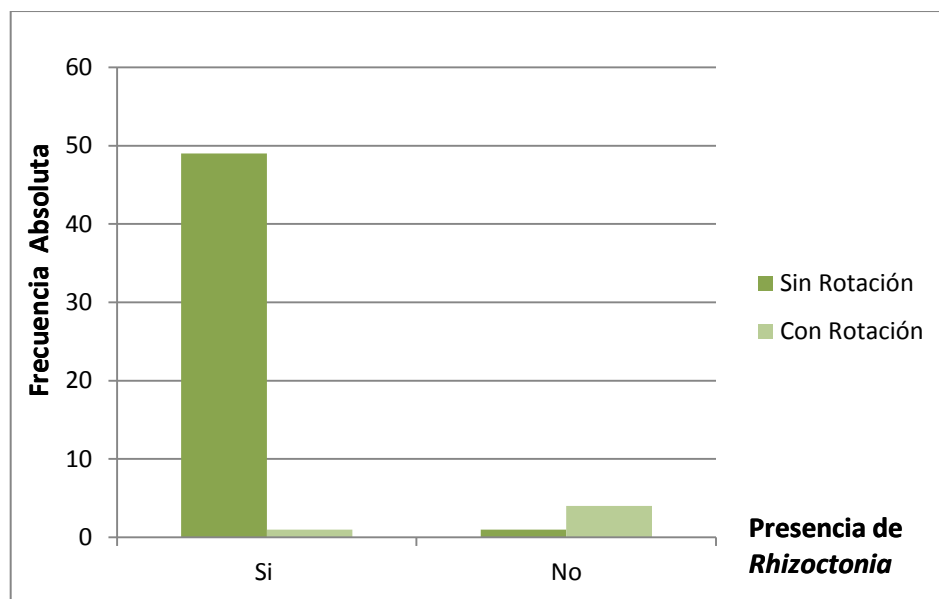
**2.3.2.3.2 Provincia de Jujuy**

En la **campaña agrícola 2009/10**, se encontró una asociación altamente significativa entre lotes bajo rotación o no y la presencia de la podredumbre radicular por *Rhizoctonia* ( $p = 0,0001$ ) (Figura 2.28).



**Figura 2.28.** Presencia de la podredumbre radicular por *Rhizoctonia*, en relación a lotes bajo rotación o no en la campaña 2009/10

En la **campaña agrícola 2010/11**, se encontró una asociación altamente significativa entre lotes bajo rotación o no y la presencia de la podredumbre radicular por *Rhizoctonia* ( $p < 0,0001$ ) (Figura 2.29).



**Figura 2.29.** Presencia de la podredumbre radicular por *Rhizoctonia*, en relación a lotes bajo rotación o no en la campaña 2010/11

#### 2.3.2.4. Análisis de correlación entre la intensidad de la enfermedad en relación a variables meteorológicas (temperatura, precipitación, humedad relativa).

##### 2.3.2.4.1 Provincia de Salta

En ambas campañas, se determinó correlación positiva y significativa entre la incidencia y severidad en relación a la temperatura media ambiental, precipitación y humedad relativa evaluada y registrada en los diferentes estadios del cultivo, en los diferentes Departamentos excepto Guachipas y La Caldera que son los que tuvieron pocos puntos de muestreos. Para los Departamentos de Cerrillos y La Viña, las correlaciones fueron positivas medias ( $>50$  y  $<75$ ), mientras que para Rosario de Lerma y Chicoana tuvieron correlación positiva considerable ( $>75$  y  $<90$ ) para incidencia y severidad evaluadas en el primer estadio del cultivo, el resto mostró correlación positiva media; y en el caso de General Güemes tuvo correlación positiva considerable para la severidad evaluada en el primer estadio del cultivo y el resto mostró correlación positiva media (Tabla 2.13).

**Tabla 2.13.** Relación entre las variables meteorológicas y la intensidad de la enfermedad en los tres estadios evaluados, para la provincia de Salta. Estadio fenológico: Primer Estadio (30 a 45DDT), Segundo Estadio (50 a 65DDT) y Tercer Estadio (90 a 115DDT).

	2009/10			2010/11		
	Primer estadio	Segundo estadio	Tercer estadio	Primer estadio	Segundo estadio	Tercer estadio
<b>Cerrillos</b>	T°C/pp(mm)/HR% 18,8 /17,8/ 53	T°C /pp(mm)/HR% 24 /100,6/ 69	T°C/pp(mm)/H% 21,2 /223/ 80	T°C/pp(mm)/HR% 18,6 /7,2/ 60	T°C/pp(mm)/H% 20,7 /14,5/ 60	T°C pp(mm) HR% 21,7 /230,2/ 72
<b>S.1</b>	r=0,64	-	-	r=0,64 p=0,0000000049		
<b>* I.1</b>	p=0,00000031	-	-	r=0,62 p=0,00000002		
<b>S.2</b>	r=0,58 p=0,0000033	r=0,58 p=0,0000033	-	r=0,58 p=0,00000016	r=0,58 p=0,00000016	
<b>I.2</b>	r=0,56 p=0,0000089	r=0,56 p=0,0000089	-	r=0,56 p=0,00000053	r=0,56 p=0,00000053	
<b>S.3</b>	r=0,55 p=0,000011	r=0,55 p=0,000011	r=0,55 p=0,000011	r=0,55 p=0,0000011	r=0,55 p=0,0000011	r=0,55 p=0,0000011
<b>I.3</b>	r=0,53 p=0,000021	r=0,53 p=0,000021	r=0,53 p=0,000021	r=0,53 p=0,0000011	r=0,53 p=0,0000011	r=0,53 p=0,0000011
<b>Rosario de Lerma</b>	T°C/pp(mm)/HR% 13,76 /1,52/ 47,2	T°C /pp(mm)/HR% 23,12 /73,33/ 63,68	T°C/pp(mm)/HR% 20,51 /223/ 80	T°C/pp(mm)/HR% 18,07 /16,71/ 54,33	T°C/pp(mm)/H% 19,65 /10,89/ 46,86	T°C/pp(mm)/HR% 20,98 /218,24/ 67,19
<b>S.1</b>	r=0,84 p=0,000038			r=0,82 p=0,000000016		
<b>I.1</b>	r=0,84 p=0,000038			r=0,81 p=0,000000017		
<b>S.2</b>	r=0,62 p=0,0024	r=0,62 p=0,0024		r=0,58 p=0,000058	r=0,58 p=0,000058	
<b>I.2</b>	r=0,54 p=0,01	r=0,54 p=0,01		r=0,54 p=0,0002	r=0,54 p=0,0002	
<b>S.3</b>	r=0,54 p=0,01	r=0,54 p=0,01	r=0,54 p=0,01	r=0,54 p=0,00017	r=0,54 p=0,00017	r=0,54 p=0,00017
<b>I.3</b>	r=0,52 p=0,01	r=0,52 p=0,01	r=0,52 p=0,01	r=0,52 p=0,00027	r=0,52 p=0,00027	r=0,52 p=0,00027
<b>Chicoana</b>	T°C/pp(mm)/HR% 19,48 /1,52/ 48,55	T°C/pp(mm) /HR% 21,06 /0,5/ 41,93	T°C/pp(mm)/HR% 22,86 /24,61/ 59,63	T°C/pp(mm)/HR% 19,57 /0/ 42,83	T°C/pp(mm)/HR% 25,48 /13,21/ 55,46	T°C pp(mm) HR% 22,92 /0/ 65,97
<b>S.1</b>	r=0,76 p=0,0000001			r=0,77 p=0,0000000092		
<b>I.1</b>	r=0,76 p=0,00000011			r=0,77 p=0,0000000096		

**Tabla 2.13.** Continúa de página 61.

		2009/10			2010/11		
		Primer estadio	Segundo estadio	Tercer estadio	Primer estadio	Segundo estadio	Tercer estadio
	<b>S.2</b>	r=0,62 p=0,000012	r=0,62 p=0,000012		r=0,65 p=0,00000029	r=0,65 p=0,00000029	
	<b>I.2</b>	r=0,59 p=0,000031	r=0,59 p=0,000031		r=0,64 p=0,00000043	r=0,64 p=0,00000043	
	<b>S.3</b>	r=0,58 p=0,000052	r=0,58 p=0,000052	r=0,58 p=0,000052	r=0,62 p=0,00000098	r=0,62 p=0,00000098	r=0,62 p=0,00000098
	<b>I.3</b>	r=0,57 p=0,000058	r=0,57 p=0,000058	r=0,57 p=0,000058	r=0,62 p=0,000001	r=0,62 p=0,000001	r=0,62 p=0,000001
<b>La Viña</b>		<b>T°C/pp(mm)/HR%</b> 19,48 /1,52/ 48,55	<b>T°C/pp(mm)/HR%</b> 21,06 /0,5/ 41,93	<b>T°C/pp(mm)/HR%</b> 22,86 /24,61/ 59,63	<b>T°C/pp(mm)/HR%</b> 19,57 /0/ 42,83	<b>T°C/pp(mm)/HR%</b> 25,48 /13,21/ 55,46	<b>T°C pp(mm) HR%</b> 22,92 /0/ 65,97
	<b>S.1</b>	r=0,63 p=0,0017			r=0,67 p=0,002		
	<b>I.1</b>	r=0,62 p=0,0021			r=0,67 p=0,0022		
	<b>S.2</b>	r=0,57 p=0,0044	r=0,57 p=0,0044		r=0,58 p=0,01	r=0,58 p=0,01	
	<b>I.2</b>	r=0,53 p=0,01	r=0,53 p=0,01		r=0,56 p=0,01	r=0,56 p=0,01	
	<b>S.3</b>	r=0,55 p=0,01	r=0,55 p=0,01	r=0,55 p=0,01	r=0,56 p=0,01	r=0,56 p=0,01	r=0,56 p=0,01
	<b>I.3</b>	r=0,53 p=0,01	r=0,53 p=0,01	r=0,53 p=0,01	r=0,55 p=0,01	r=0,55 p=0,01	r=0,55 p=0,01
<b>Gral. Güemes</b>		<b>T°C/pp(mm)/HR%</b> 22,33 /3,3/ 39,48	<b>T°C /pp(mm)/HR%</b> 26,89 /26,17/ 55,79	<b>T°C/pp(mm)/HR%</b> 24,27 /54,6/ 66,99	<b>T°C/pp(mm)/HR%</b> 22,34 /0,75/ 44,75	<b>T°C/pp(mm)/HR%</b> 24 /2,54/ 37,84	<b>T°C/pp(mm)/HR%</b> 24,99 /144,22/ 59,46
	<b>S.1</b>	r=0,72 p=0,0000072			r=0,70 p=0,0000021		
	<b>I.1</b>	r=0,57 p=0,00037			r=0,55 p=0,000019		
	<b>S.2</b>	r=0,57 p=0,00035	r=0,57 p=0,00035		r=0,56 p=0,00013	r=0,56 p=0,00013	
	<b>I.2</b>	r=0,50 p=0,0016	r=0,50 p=0,0016		r=0,51 p=0,00056	r=0,51 p=0,00056	
	<b>S.3</b>	r=0,54 p=0,00083	r=0,54 p=0,00083	r=0,54 p=0,00083	r=0,54 p=0,00026	r=0,54 p=0,00026	r=0,54 p=0,00026
<b>I.3</b>	r=0,50 p=0,0016	r=0,50 p=0,0016	r=0,50 p=0,0016	r=0,51 p=0,00057	r=0,51 p=0,00057	r=0,51 p=0,00057	

\*S1, S2, S3: severidad evaluada en estadios 1, 2 y 3 del cultivo; I1, I2, I3: incidencia evaluada en estadios 1, 2 y 3 del cultivo.

#### **2.3.2.4.2 Provincia de Jujuy**

En ambas campañas, se determinó correlación positiva media y significativa entre la incidencia y severidad en relación a la temperatura media ambiental, precipitación y humedad relativa en los diferentes departamentos. Para el departamento El Carmen las correlaciones fueron positivas para incidencia y severidad evaluadas en todos los estadios del cultivo con respecto a las variables meteorológicas registradas en los mismos tiempos. Para el caso de Palpala, en la primer campaña 2009/10, se determinó únicamente correlación entre incidencia y severidad en el primer estadio del cultivo con respecto al registro de variables meteorológicas en el mismo tiempo, mientras que en la segunda campaña 2010/11, se determinó en los diferentes estadios con respecto a las variables meteorológicas, excepto la incidencia evaluada en el segundo y tercer estadio (Tabla 2.14).

**Tabla 2.14.** Relación entre las variables meteorológicas y la intensidad de la enfermedad en los tres estadios evaluados, para la provincia de Jujuy. Estadío fenológico: Primer Estadio (30 a 45DDT), Segundo Estadio (50 a 65DDT) y Tercer Estadio (90 a 115DDT).

		2009/10			2010/11		
		Primer estadio	Segundo estadio	Tercer estadio	Primer estadio	Segundo estadio	Tercer estadio
<b>El Carmen</b>	<b>T°C/pp(mm)/HR%</b>	20,73 /0/ 51	24,95 /38,2/ 67	23,02 /171,20/ 81	20,27 /7,2/ 58	22,43 /12,2/ 48	23,31 /168/ 71
	<b>S1*</b>	r=0,65 p=0,000052	-	-	r=0,64 p=0,000044		
	<b>I1*</b>	r=0,53 p=0,0009	-	-	r=0,54 p=0,00055		
	<b>S.2</b>	r=0,60 p=0,00017	r=0,60 p=0,00017	-	r=0,65 p=0,000029	r=0,65 p=0,000029	
	<b>I.2</b>	r=0,50 p=0,0016	r=0,50 p=0,0016	-	r=0,51 p=0,0011	r=0,51 p=0,0011	
	<b>S.3</b>	r=0,58 p=0,00029	r=0,58 p=0,00029	r=0,58 p=0,00029	r=0,60 p=0,00011	r=0,60 p=0,00011	r=0,60 p=0,00011
	<b>I.3</b>	r=0,50 p=0,0017	r=0,50 p=0,0017	r=0,50 p=0,0017	r=0,50 p=0,0013	r=0,50 p=0,0013	r=0,50 p=0,0013
<b>Palpala</b>	<b>T°C/pp(mm)/HR%</b>	21,29 /0/ 43,98	26,67 /34/ 60,43	23,66 /251/ 76,21	21,47 /7/ 49,15	23,36 /8,6/ 40,1	24,53 /195,3/ 64,81
	<b>S.1</b>	r=0,62 p=0,04			r=0,63 p=0,02		
	<b>I.1</b>	r=0,62 p=0,04			r=0,60 p=0,03		
	<b>S.2</b>				r=0,58 p=0,04	r=0,58 p=0,04	
	<b>I.2</b>				-	-	
	<b>S.3</b>				r=0,57 p=0,04	r=0,57 p=0,04	r=0,57 p=0,04
	<b>I.3</b>				-	-	-

\*S1, S2, S3: severidad evaluada en estadios 1, 2 y 3 del cultivo; I1, I2, I3: incidencia evaluada en estadios 1, 2 y 3 del cultivo.



## 2.4 Discusión

Durante el presente estudio, se determinó que la podredumbre radicular por *Rhizoctonia* estaba dispersa y establecida a través de las provincias de Salta y Jujuy. El análisis geoestadístico demostró ser una herramienta apropiada para determinar la distribución espacial de la patología. Esta distribución en la provincia de Salta y Jujuy para las variables de intensidad evaluadas, se ajustaron al modelo exponencial, manifestando una distribución de límites irregulares o aleatorios, lo cual permite estimar posibles factores que lo influyan como ser empleo de diferentes variedades con tolerancia variada a la enfermedad, lotes con rotación o tipo de almácigo empleado. Ramirez *et al.* (2011), determinaron el ajuste del Carbón de la espiga del maíz (*S. reilianum*), al modelo exponencial, sugiriendo la presencia de diferentes genotipos sembrados de maíz, en forma irregular dentro de cada localidad evaluada, induciendo ese tipo de agregación. Otros estudios como los de Larkin *et al.* (1995) que evaluaron la distribución espacial de *Phytophthora capsici* en pimiento y Hao y Subbarao (2005), que lo hicieron para *Sclerotinia minor* y *Sclerotinia sclerotiorum*, comprobaron un ajuste al modelo Gaussiano lo cual les permitió inferir la existencia de factores medioambientales que favorecieron una diseminación más rápida de las patologías en términos de espacio. En esta investigación si bien se seleccionó el mejor ajuste al modelo exponencial, los demás modelos obtuvieron similares valores de confiabilidad, pudiendo inferir factores ambientales asociados. La validación de los semivariogramas de las variables de intensidad de la enfermedad en los diferentes estadios evaluados permitió estimar el Índice de Dependencia Espacial (IDE) de la enfermedad (distribución agregada de la enfermedad en el espacio), obteniendo para las variables en los primeros estadios (30 a 45 DDT), una dependencia espacial moderada, y en los siguientes estadios una baja dependencia mostrando una distribución aleatoria. Probablemente estos resultados sean producto de la rápida expansión de la patología en los dos estadios de evaluación siguientes, lo cual nos indica que puede estar ligado a múltiples factores de manejo y ambiente, como lo encontrado por Gottwald *et al.* (1996), al analizar la distribución del Virus de la tristeza de los cítricos (CTV). La distribución agregada observada a través del IDE, es típica de los hongos habitantes del suelo que producen enfermedades radiculares en diferentes cultivos, Mihail y Alcorn (1987), Olanya y Campbell (1988), Taliei *et al.* (2013), observaron la distribución agregada de los propágulos de *M. phaseolina* en diversos campos. Por otra parte la distribución aleatoria encontrada en el segundo y tercer estadio del cultivo, concuerda con Hussain *et al.* (2014), los cuales reportaron una distribución variada y aleatoria de *R. solani* afectando a la papa, asociándolo con el manejo del cultivo (monocultivo, falta de rotación, escasas variedades tolerantes e influencia del ambiente); cuyos componentes de manejo concuerdan en general con este estudio.

En el cultivo de tabaco es importante destacar el manejo convencional del cultivo, en el cual se realizan aporques aproximadamente hasta los 45 a 50 DDT, en este momento el crecimiento de las raíces horizontal es del 25 a 35 cm (Ballari, 2005), motivo por el cual es probable que se produzcan roturas de raíces, provocando un incremento en focos de infección, incidencia y severidad de la enfermedad. Estas distribuciones espaciales se pudieron observar a través de los mapas de predicción generados para las variables de intensidad de la patología en los tres tiempos fenológicos registrados. De lo mencionado hasta aquí, se puede estimar que el mejor momento de evaluación de esta enfermedad en

campo es hasta los 45 DDT para realizar análisis geoestadístico y producir mapas de distribución espacial con fines de manejo preventivo de la enfermedad.

Del geoestadístico de las variables de intensidad de la enfermedad, en primer término se observó la frecuencia de la enfermedad en ambas provincias, en Salta hubo mayor incidencia de la podredumbre radicular (0 a 65%) en comparación con la provincia de Jujuy (0 a 26%), no así con la severidad que fue mayor en la provincia de Jujuy. Esto puede ser atribuido a que en la provincia de Jujuy se emplean variedades multiplicadas por los productores que se comportan más tolerantes frente a la enfermedad que en la provincia de Salta donde se utilizan semillas nuevas de diferentes variedades comerciales. Asimismo en el análisis estadístico de prevalencia por departamento en cada provincia, se encontró un mayor porcentaje de prevalencia en los departamentos de la provincia de Jujuy

En el análisis de asociación de la presencia de la enfermedad con el tipo de almacigo con el que se produjo el plantín, se encontró una asociación altamente significativa, presentando en la provincia de Salta una razón de Odds entre 40 y 64% si la planta proviene de una producción de almacigo convencional. En la provincia de Jujuy no se pudo determinar esta medida de riesgo epidemiológico, dado que el 91% de las muestras provenían del sistema convencional, sin embargo se registró un 90% de esas muestras con la presencia del patógeno, lo cual nos indica la importancia del origen de producción del plantín. Diversos autores mencionan las ventajas del sistema de almacigo flotante.

Gutierrez *et al.* (1997), obtuvieron una mejor calidad sanitaria del plantín con respecto a *R. solani*, bajo el sistema mencionado siempre y cuando se utilicen bandejas nuevas o de un año con una buena desinfección.

En el caso del análisis de asociación de la presencia de la enfermedad con lotes bajo rotación o no, se encontró una asociación altamente significativa, presentando en la provincia de Salta una razón de Odds entre 43 y 57%, siendo esta la probabilidad de presentarse el patógeno si proviene de un lote bajo monocultivo. En la provincia de Jujuy no se pudo determinar esta medida de riesgo epidemiológico, dado que el 90% de las muestras provenían de lotes bajo monocultivo, que a lo sumo presentan un barbecho de maíz o sorgo. También debe recalarse que se registró un 90% de esas muestras con la presencia del patógeno, lo cual nos indica la importancia de la rotación de cultivos. Clayton (1944), menciona la importancia de la rotación de cultivos para disminuir la prevalencia e incidencia de la podredumbre radicular en tabaco, mencionando que lotes comerciales bajo rotación reducen la incidencia en un 15%. Lo mencionado hasta ahora se puede relacionar con la distribución espacial de las variables de intensidad de la enfermedad en las provincias de Salta y Jujuy. Si bien la incidencia de la enfermedad fue mayor en Salta, la severidad fue menor, siendo esto relacionado con la producción de sistema de almacigo flotante y a que existen lotes comerciales bajo rotación. En Jujuy la incidencia es menor y la severidad de la enfermedad mayor, probablemente por el uso de variedades multiplicadas que toleran la enfermedad y originan lotes con menor incidencia, pero a la vez la falta de rotación y la fuente de inóculo que genera la producción de almacigo convencional, puede que este originando aislamientos con mayor agresividad.

Con respecto a la correlación de la enfermedad con las variables meteorológicas, se encontró una correlación positiva en ambas provincias, encontrando coeficientes más altos en la variable severidad de la enfermedad. Las condiciones de infección de este patógeno en el cultivo de tabaco como en otros es amplia, al respecto Shew y Lucas (1991),

mencionan entre las condiciones óptimas para del patógeno, temperatura óptima de germinación y crecimiento del hongo de 24-28°C, aunque un rápido crecimiento ocurre entre los 20-30°C. Humedad de suelo del 65% y áreas poco drenadas favorecen el desarrollo de la enfermedad. Asimismo observando el mapa de predicción de la severidad, se puede inferir que los grados de severidad elevados en el departamento de General Güemes en Salta y la provincia de Jujuy, están asociados con elevadas temperaturas. Existen diversas publicaciones relacionadas que mencionan que la agresividad del patógeno es favorecida por temperaturas elevadas en diferentes hospedantes en un rango de 20 a 37°C (Carling y Leiner, 1990a, Kousik *et al.* 1995, Tsror, 2010, Orozco-Avitia *et al.*, 2013), con respecto al hospedante, Ribeiro do Vale *et al.* (2004) mencionan que la influencia de la temperatura en la ocurrencia de las enfermedades producidas por patógenos habitantes del suelo se debe principalmente a los efectos sobre la planta hospedante, por lo cual el estudio de materiales genéticos en un sitio es importante para determinar adaptación al ambiente y tolerancia a enfermedades. En cuanto a la humedad relativa ambiente, existen numerosas publicaciones asociadas a enfermedades foliarles y no radicales, lo cual lleva a pensar que la misma puede tener efecto sobre los materiales genéticos evaluados tornándolos susceptibles al patógeno, según Raper y Smith (1975), elevados porcentajes de humedad relativa ambiente afectan el crecimiento y desarrollo de la planta de tabaco.

## 2.5 Conclusiones

- El análisis geoestadístico permitió obtener la distribución espacial de la enfermedad, manifestando mediante los parámetros del semivariograma y mapas de predicción un comportamiento agregado a los 30 a 45DDT y posteriormente aleatorio a los 50 a 65DDT y 90 a 115DDT.
- El comportamiento espacial en el tiempo, permitió determinar momentos críticos del cultivo a la enfermedad, siendo este luego de los 45DDT.
- Plantas que provienen de sistema de producción de plantines en almacigo convencional tienen un mayor riesgo epidemiológico de presentar el patógeno.
- Lotes bajo rotación de cultivos, tienen menor riesgo epidemiológico de presentar la podredumbre radicular por *Rhizoctonia*.
- Se comprobó una correlación positiva entre las variables de intensidad de la enfermedad y la temperatura media ambiental, precipitación y humedad relativa ambiente, presentando coeficiente de correlación más elevado para la severidad. Asimismo en el mapa de predicción se observa que el departamento de Gral Güemes en la provincia de Salta y los departamentos de El Carmen y Palpala en la provincia de Jujuy presentan mayor severidad, estando probablemente asociados a la mayor temperatura medio ambiental que presentan.
- Este estudio, permitió corroborar al análisis geoestadístico como una herramienta valiosa para inferir estrategias de manejo a nivel regional. Este sería el primer estudio de análisis geoestadístico sobre un hongo habitante del suelo en Argentina y particularmente de la podredumbre radicular por *Rhizoctonia* en las provincias de Salta y Jujuy.



---

## Capítulo III

---

Identificación de grupos de anastomosis de los aislados de *Rhizoctonia* spp. presentes en Salta y Jujuy empleando marcadores ITS, caracteres morfológicos y virulencia

---



## CAPITULO III

### Identificación de grupos de anastomosis de los aislados de *Rhizoctonia* spp. presentes en Salta y Jujuy empleando marcadores ITS, caracteres morfológicos y virulencia

#### 3.1 Introducción

El género *Rhizoctonia* es considerado como un complejo heterogéneo de hongos filamentosos (Schneider *et al.*, 1997; González Hernández, 2002; González *et al.*, 2006; González García, 2008). Su identificación durante años estuvo basada en la descripción realizada por Ogoshi en 1795, la cual incluía las siguientes descripciones:

- Ramificación cerca del septo central en la hifa vegetativa joven.
- Estrangulamiento de la hifa y formación de septos a una corta distancia del punto donde se originan las ramas hifales
- Septos doliporos
- Ausencia de conexiones clamp, conidios, esclerocios diferenciados dentro de la corteza y de la médula.

Es así que la clasificación de diferentes taxas de *Rhizoctonia* ha involucrado numerosos métodos como la patogenicidad, apariencia en medios de cultivo, morfología, fisiología, ecología, anastomosis hifal y condición nuclear (Parmeter y Whitney, 1970; Ogoshi, 1987; Sneh *et al.*, 1991). En la última década la introducción de las aproximaciones moleculares ha provisto una herramienta valiosa para la caracterización de grupos y subgrupos de anastomosis, volviéndose un medio efectivo para la evaluación de relaciones genéticas de este complejo (Cruick-Shank, 1990; Liu y Sinclair, 1992; Vilgalys y Cubeta, 1994; Nicolletti *et al.*, 1999; González *et al.*, 2012).

#### 3.1.1 Determinación morfológica

Los miembros del género *Rhizoctonia* se distinguen por la morfología hifal y la configuración del septo (Sneh *et al.*, 1991), mientras que las especies logran ser diferenciadas por el número de núcleos presentes en las células somáticas de hifas jóvenes, o por las características morfométricas de las estructuras sexuales, siendo esta última la menos utilizada dada la difícil obtención del teleomorfo. Partiendo de ello, desde los años 60, la cuantificación de núcleos en las células vegetativas se constituyó en un importante criterio taxonómico para separar las especies en uninucleadas, binucleadas y multinucleadas (Parmeter *et al.*, 1967; Carling *et al.*, 2002). La literatura especializada registra varios métodos de tinción de núcleos en las células somáticas de *Rhizoctonia* spp, siendo los colorantes mas empleados los azules de anilina y tripano (Herr, 1979), diamina fenil indol (Martin, 1988), giemsa (Rogers, 1965), naranja de acridina (Yamamoto y Uchida, 1982), orcenina (Tu *et al.*, 1969) y safranina O (Bandoni, 1979).

#### 3.1.2 Grupos de anastomosis

El complejo de hongos *Rhizoctonia* son poblaciones genéticamente definidas que se distinguen por su capacidad de anastomosis entre hifas de aislados pertenecientes a un mismo grupo. Anderson (1982), definió anastomosis en *Rhizoctonia* como una manifestación de incompatibilidad somática o vegetativa entre cepas diferentes pero relacionadas entre sí. Tal incompatibilidad somática limita el cruzamiento a unos pocos pares compatibles. Un grupo de anastomosis (AG) es una colección de aislados

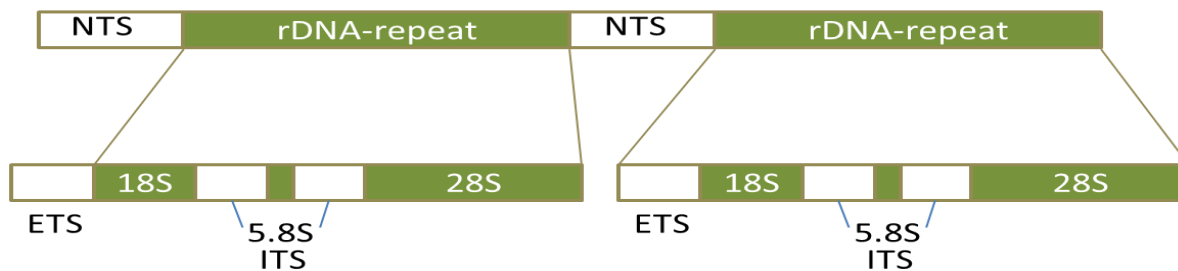
cercanamente relacionados, agrupados juntos, en base a la capacidad de anastomosarse (Carling, 1996). La existencia de estos grupos representan el aislamiento genético de las poblaciones en cada grupo (Agrios, 2005).

Los estudios basados en reacciones de anastomosis datan de los años 60, siendo Matsumoto *et al.* (1932) los primeros en reportar un grado de variación entre grupos. Según Carling (1996), es uno de los métodos principales para la clasificación de *Rhizoctonia* en grupos homogéneos, siendo validado por las técnicas moleculares. Sin embargo para algunos aislados el mismo es insuficiente para una correcta identificación y clasificación; existiendo diversas menciones de aislados que pierden la capacidad de anastomosarse con miembros del mismo grupo, generando falsos positivos (Hyakumachi y Ui, 1987; Sneh *et al.*, 1991; Martin, 2000; Carling *et al.*, 2002).

### 3.1.3 Utilización de marcadores moleculares- ITS

A partir de la década del 90, con el advenimiento de las técnicas moleculares, la introducción de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) ha confirmado las relaciones genéticas entre grupos de anastomosis. Una variedad de métodos han sido desarrollados como herramientas de diagnóstico basados en PCR, siendo actualmente el más utilizado el análisis de secuencias del ADNr-ITS (espaciador transcrita interno-internal transcribed spacer) para la clasificación de este complejo (Sharon *et al.*, 2006; Sharon *et al.*, 2008).

El fundamento del análisis de secuencias del ADNr-ITS se basa en que el ADN ribosómico es una secuencia de ADN contenida en los que codifica ARN ribosómico. En el caso de eucariotas los ribosomas tienen un coeficiente de sedimentación de 80S y están compuestos por dos subunidades de distinto tamaño, una subunidad mayor 60S que tiene tres tipos de rARN (5S, 28S, 5.8S) y una subunidad menor 40S con una sola molécula de rARN 18S. Las secuencias mencionadas regulan la transcripción e iniciación de la amplificación y contienen segmentos espaciadores transcribibles y no transcribibles (Figura 3.1).



**Figura 3.1.** Disposición del ADNr eucariótico 18S, 5.8S y 28S en tándem; el ADNr 5S se codifica separadamente. NTS: espaciador no transcribible, ETS: espaciador transcribible externo, ITS: espaciador transcribible interno.

Las secuencias 28S, 18S y 5.8S están altamente conservadas y evolucionan lentamente, por lo cual son utilizadas para estudios de relaciones filogenéticas. Las zonas no codificantes ITS1 e ITS2 son más variables dado que acumulan mayor número de mutaciones (Figura 3.2), siendo importantes para identificación de especies fúngicas, y por lo tanto según Baldwin *et al.* (1995), posibilitan la alineación no ambigua de esta región.





**Figura 3.2.** Disposición de las zonas no codificantes ITS1 e ITS2.

Las secuencias ITS se proponen como un marcador de código de barras de ADN universal para hongos (Schoch *et al.*, 2012). Actualmente el método más apropiado para la identificación y clasificación de *Rhizoctonia* spp. es el empleo de análisis de secuencias del ADNr-ITS, existiendo una amplia base de datos de secuencias disponibles en GenBank (Sharon *et al.*, 2008).

Hasta el momento *Rhizoctonia* ha sido clasificado en 13 grupos de anastomosis y varios subgrupos (González-Hernández, 2002; Sharon *et al.*, 2008). Diferentes especies de *Rhizoctonia* son patógenas para el tabaco. Especies binucleadas (*Rhizoctonia* BN), incluyendo el teleomorfo *Ceratobasidium* y especies multinucleadas, incluyendo *R. solani* (teleomorfo: *Thanatephorus cucumeris*) y *Rhizoctonia zea* (Teleomorfo: *Waitea circinata* var *zea*) se han reportado en el tabaco (Lucas, 1975; Shew y Melton, 1995; Nicoletti *et al.*, 1999; García *et al.*, 2009; Gurkanlic *et al.*, 2009; Gurkanlic y Ozkoc, 2011).

En concordancia con la enfermedad causada en tabaco, los grupos de anastomosis reportados son AG 1, AG 2-2, AG 4 y AG 5 causando *tizón de plántulas* en plantines bajo almácigo y en plantas jóvenes posteriores al trasplante en campo y podredumbre radicular en planta adulta (Nicoletti y Lahoz, 1995; Gutierrez *et al.*, 1997). Mientras que AG 2-2 y AG 3 producen la mancha foliar o target spot (Shew y Main, 1985; Meyer *et al.*, 1990; Shew y Melton, 1995). También se reportaron especies binucleadas de *Rhizoctonia*, los grupos de anastomosis AG-A, AG-F, AG-G, AG-P y AG-R se encontraron causando *tizón de plántulas* en plantines de tabaco y podredumbre radicular en plantación (Masuka, 1998; García *et al.*, 2009; Gurkanlic y Ozkoc, 2011). Cabe señalar que estos aislados se mostraron poco virulentos.

El conocimiento de las diferentes poblaciones de *Rhizoctonia* spp. que causan enfermedades en tabaco en diferentes regiones geográficas sigue siendo escasa. Sin embargo, la comprensión de la epidemiología de las enfermedades depende en gran medida del conocimiento de la diversidad de un patógeno. En Argentina no se han realizado estudios para identificar *Rhizoctonia* spp. asociadas a enfermedades en tabaco.

### 3.1.4 Objetivos

- Identificar las especies de *Rhizoctonia* presentes en plantas de tabaco cultivadas en Salta y Jujuy mediante caracteres morfológicos y marcadores ITS.
- Caracterizar los aislados de *Rhizoctonia* spp en grupos de anastomosis
- Analizar la virulencia de los diferentes aislados de *Rhizoctonia*.

## 3.2 Materiales y Métodos

### 3.2.1 Obtención de aislados

Fueron obtenidos 125 aislados de *Rhizoctonia* spp de plantas de tabaco y suelo. En el caso de las plantas, se adquirieron en etapa de almácigo y plantación con síntomas de

mal de los almácigos, mancha foliar y podredumbre radicular. El material se procesó en laboratorio mediante la técnica de desinfección superficial, la cual consistió en desinfectar trozos de hojas o raíz con hipoclorito de sodio al 0,5% durante 1 o 2 minutos, seguidamente se colocó en alcohol 70° por 1 o 2 minutos y finalmente se lavaron con agua destilada estéril. Los trozos se sembraron equidistantes en placas de Petri de 9 mm con agar papa glucosado (A.P.G.) acidificado a pH 5 con ácido láctico y se incubaron a 25°C±2°C en oscuridad durante 2 o 3 días. Posteriormente extremos hifales fueron transferidos a nuevas placas con A.P.G. para su análisis morfológico y características microscópicas.

Por su parte, las muestras de suelo se tomaron en la etapa de plantación a partir de la rizosfera, siguiendo para su análisis el método de cebo cualitativo para *Rhizoctonia* spp. descrito por Alfenas *et al.* (2007). Este método consistió en colocar 100 muestras de suelo en placas de Petri esterilizadas, humedeciendo las mismas con agua destilada estéril hasta capacidad de campo, colocando equidistantes 30 segmentos de ramas de eucaliptos autoclavados dos veces a 120°C por 30 minutos, posteriormente se incubó a 25°C±2°C en oscuridad durante 48hs, para luego extraer los segmentos, los cuales fueron desinfectados con hipoclorito de sodio al 2% y alcohol 70° por 2 minutos, siendo sembrados en placas de Petri con A.P.G., pasando a incubación 25°C±2°C en oscuridad por 12-24hs y finalmente se observó el crecimiento y se repico extremos hifales en medio de cultivo puro.

En este estudio se analizaron 51 aislados de *Rhizoctonia* seleccionados como representantes de sitios evaluados (lotes y localidades), entre los cuales se incluyeron aislados de otros hospedantes que rotan con el cultivo de tabaco. (Tabla 3.1).

**Tabla 3.1.** Aislados de *Rhizoctonia* estudiados.

N°	Código de aislado	Procedencia	Síntoma/origen/hospedante	Año
1	Rs1	Cerrillos-Salta	DO/raíz/ <i>N. tabacum</i>	2008
2	Rs2	Cerrillos-Salta	DO/raíz/ <i>N. tabacum</i>	2008
3	Rs6	La Caldera-Salta	DO/raíz/ <i>N. tabacum</i>	2008
4	Rs6b	La Caldera-Salta	DO/raíz/ <i>N. tabacum</i>	2008
5	Rs10	Puesto Viejo-Jujuy	DO/raíz/ <i>N. tabacum</i>	2008
6	Rs12	Las Lajitas-Salta	-/caja/ <i>Arachis hypogaea</i>	2008
7	Rs17	Rosario de Lerma/Salta	PR/raíz/ <i>N. tabacum</i>	2008
8	Rs22a	Los Lapachos-Jujuy	-/suelo/-	2008
9	Rs22b	Los Lapachos-Jujuy	-/suelo/-	2008
10	Rs25a	La Merced-Salta	PR/raíz/ <i>N. tabacum</i>	2009
11	Rs25b	La Merced-Salta	PR/raíz/ <i>N. tabacum</i>	2009
12	Rs26	Monterrico-Jujuy	PR/raíz/ <i>N. tabacum</i>	2010
13	Rs29	Monterrico-Jujuy	PR/raíz/ <i>N. tabacum</i>	2010
14	Rs34	Monterrico-Jujuy	-/suelo/-	2009
15	Rs35	Los Lapachos/Jujuy	-/suelo/-	2009
16	Rs36	La Merced-Salta	PR/raíz/ <i>N. tabacum</i>	2009

**Tabla 3.1.** Continua de página 74.

N°	Código de aislado	Procedencia	Síntoma/origen/hospedante	Año
17	Rs36b	La Merced-Salta	PR/raíz/ <i>N. tabacum</i>	2009
18	Rs44	Rosario de Lerma/Salta	PR/raíz/ <i>N. tabacum</i>	2010
19	Rs46	Rosario de Lerma/Salta	PR/raíz/ <i>N. tabacum</i>	2010
20	Rs46b	Rosario de Lerma/Salta	PR/raíz/ <i>N. tabacum</i>	2010
21	Rs47	Rosario de Lerma/Salta	PR/raíz/ <i>N. tabacum</i>	2010
22	Rs47b	Rosario de Lerma/Salta	PR/raíz/ <i>N. tabacum</i>	2010
23	Rs49	Cerrillos-Salta	RR/raíz/ <i>Cicer arietinum</i>	2010
24	Rs53	Cerrillos-Salta	PR/raíz/ <i>N. tabacum</i>	2010
25	Rs53b	Cerrillos-Salta	PR/raíz/ <i>N. tabacum</i>	2010
26	Rs54	Rosario de Lerma/Salta	PR/raíz/ <i>N. tabacum</i>	2010
27	Rs56	Cerrillos-Salta	-/semilla/ <i>Phaseolus vulgaris</i>	2010
28	Rs57	Cerrillos-Salta	-/semilla/ <i>Phaseolus vulgaris</i>	2010
29	Rs58	La Silleta-Salta	DO/raíz/ <i>N. tabacum</i>	2010
30	Rs59	La Silleta-Salta	MH/hoja/ <i>N. tabacum</i>	2010
31	Rs1	Cerrillos-Salta	DO/raíz/ <i>N. tabacum</i>	2008
32	Rs2	Cerrillos-Salta	DO/raíz/ <i>N. tabacum</i>	2008
33	Rs6	La Caldera-Salta	DO/raíz/ <i>N. tabacum</i>	2008
34	Rs6b	La Caldera-Salta	DO/raíz/ <i>N. tabacum</i>	2008
35	Rs10	Puesto Viejo-Jujuy	DO/raíz/ <i>N. tabacum</i>	2008
36	Rs12	Las Lajitas-Salta	-/caja/ <i>Arachis hypogaea</i>	2008
37	Rs17	Rosario de Lerma/Salta	PR/raíz/ <i>N. tabacum</i>	2008
38	Rs22a	Los Lapachos-Jujuy	-/suelo/-	2008
39	Rs22b	Los Lapachos-Jujuy	-/suelo/-	2008
40	Rs25a	La Merced-Salta	PR/raíz/ <i>N. tabacum</i>	2009
41	Rs25b	La Merced-Salta	PR/raíz/ <i>N. tabacum</i>	2009
42	Rs26	Monterrico-Jujuy	PR/raíz/ <i>N. tabacum</i>	2010
43	Rs29	Monterrico-Jujuy	PR/raíz/ <i>N. tabacum</i>	2010
44	Rs34	Monterrico-Jujuy	-/suelo/-	2009
45	Rs35	Los Lapachos/Jujuy	-/suelo/-	2009
46	Rs36	La Merced-Salta	PR/raíz/ <i>N. tabacum</i>	2009
47	Rs36b	La Merced-Salta	PR/raíz/ <i>N. tabacum</i>	2009
48	Rs44	Rosario de Lerma/Salta	PR/raíz/ <i>N. tabacum</i>	2010
49	Rs46	Rosario de Lerma/Salta	PR/raíz/ <i>N. tabacum</i>	2010
50	Rs46b	Rosario de Lerma/Salta	PR/raíz/ <i>N. tabacum</i>	2010
51	Rs47	Rosario de Lerma/Salta	PR/raíz/ <i>N. tabacum</i>	2010

### 3.2.2 Caracterización morfológica de los aislados

Los 51 aislados fueron evaluados morfológicamente a través de su observación en placas de A.P.G. a diferentes temperaturas (10, 20, 30 y 40°C) en oscuridad durante 20 días. Las variables a registrar fueron radio de crecimiento micelial (Cm), color de micelio,

forma de crecimiento micelial, color y disposición de esclerocios en la placa. Se realizaron dos repeticiones del ensayo, con cinco repeticiones por aislamiento y temperatura. Para determinar la tasa de crecimiento micelial se empleó la función lineal  $y=Cm X + C$  (donde  $y$  es la distancia,  $x$  es el tiempo y  $c$  es el factor constante) y se expresó en milímetros por día (mm/día). El crecimiento se registró en dos ejes cartesianos trazados sobre la tapa de la placa de Petri, tomando como intersección el centro del implante (Zeravakis *et al.*, 2001).

La determinación del número de núcleos se realizó utilizando la tinción naranja de acridina (Sneh *et al.*, 1991). Los núcleos teñidos fueron observados mediante microscopio de fluorescencia.

Análisis descriptivo y representaciones gráficas se aplicaron para el diagnóstico de datos.

### 3.2.3 Marcadores ITS

#### 3.2.3.1 Extracción del ADN por CTAB

La extracción de ADN se realizó siguiendo el protocolo de CTAB (Cetil-trimetilbromuro de amonio) descrito por Doyle y Doyle (1990), modificado.

Colonias del hongo con 5 a 7 días de crecimiento en APG acidificado (pH=5), se colocaron en morteros esteriles (250mg), en los cuales por muestra se adiciono 700 µl de buffer (100 mM Tris-HCl + 20 mM EDTA + 1.4 M NaCl + 0.2% de β mercaptoetanol) + 200 µl de CTAB, se produjo el molido de la muestra y se transfirió el producto en mictotubos eppendorf de 1,5 ml. Posteriormente los microtubos se llevaron a freezer a -20°C durante 20 minutos, luego se incubaron a 65°C durante 10 min y se trituró el tejido con un émbolo plástico. Se agregó 250 µl de acetato de potasio (5M) y se agitó brevemente, para luego incubar en hielo durante 20 min. Seguidamente se retiraron los microtubos del hielo y se centrifugaron 30 min a 4°C a 10000 rpm. Inmediatamente se retiraron los microtubos de la microcentrifuga, se tomaron 500 µl del sobrenadante y transfirió a otros microtubos rotulados a los cuales se le agrego 500 µl de isopropanol, se mezcló suavemente para precipitar los ácidos nucleicos. Luego se centrifugaron 15 min a 10000 rpm a T° ambiente y se descarto el pellet. El mismo fue lavado con 250 µl de ETOH 70% frio y se centrifugo 10 min a 10000 rpm a T° ambiente. Posteriormente se volvió a centrifugar 15 min a 10000 rpm a T° ambiente y se dejó secar al aire 20 min. Finalmente se resuspendió el pellet en 50 µl de TE (10 mM Tris-HCl pH 8 + 1 mM EDTA pH 8) y se guardó en freezer a -20°C.

#### 3.2.3.2- Reacciones de amplificación mediante PCR

La región del espaciador transcrita interno del ADN ribosomal (ITS-ADNr) fue amplificado utilizando los cebadores ITS1 (5´TCCGTAGGTGAACCTGCGG3´) and ITS4 (5´TCCTCCGCTTATTGATATGC3´) (White *et al.*, 1990). La reacción para PCR tuvo un volumen final de 50 µl conteniendo 12-15 ng de ADN genómico a 1x de reacción buffer [100 mM Tris-HCl (pH 9.0), 500 mM KCl, 1% Triton® X-100], 0.1 µM de cada cebador (Genbiotech S.R.L., Buenos Aires, Argentina), 200 µM de cada dNTP, 3.0 mM MgCl<sub>2</sub> y 1.0 unidad de Taq ADN polimerasa (Highwa y-Inbio, Tandil, Argentina). El programa de amplificación se realizó en un termociclador (Eppendorf Master Cycler, Hamburg, Germany), programado con una incubación a 94°C por 1min., seguidamente 30 ciclos a 94°C por 15 seg., annealing a 58°C por 15 seg. y 72°C por 15 seg., finalizando con una incubación a 72°C por 7 min. Los productos de la reacción fueron verificados por electroforesis en geles de agarosa al 2% conteniendo 0,2 µg/µl de bromuro de etidio y fueron purificados usando el kit de purificación QIAquick®PCR (Qiagen). Los fragmentos

fueron secuenciados en ambas direcciones epleando los cebadores ITS1 e ITS4 en un secuenciador de ADN ABI 3130XL (Applied Biosystems, CA, USA). Luego los fragmentos secuenciados fueron alineados usando Clustal W (Thompson *et al.*, 1994), incluyéndose para el análisis secuencias adicionales de AG conocidos de *R. solani* disponibles en la base de datos de secuencias genéticas GenBank en el Centro Nacional para la Información Biotecnológica o National Center for Biotechnology Information (NCBI). Sólo se utilizaron secuencias patrones del NCBI de trabajos publicados. Aislados de otros hospedantes (poroto, maní, sorgo), fueron incluidos en el análisis. Se construyó un árbol filogenético mediante el algoritmo de Neighbor Joining o vecino más cercano (Saitou y Nei, 1987), usando el software BioEdit (Hall, 1999).

### 3.2.3.3- Análisis de datos

Las secuencias de cada aislamiento fueron editadas usando Bioedit (Hall 1999) y depositadas en el GenBank (Tabla 3.3). El set total de datos estuvo compuesto por los aislados obtenidos en el presente trabajo y 39 secuencias controles del GenBank (Tabla 3.2). *Athelia rolfsii* fue usado como un grupo externo.

**Tabla 3.2.** Aislados tester de *Rhizoctonia* utilizados en este estudio.

Aislamiento	<i>Rhizoctonia</i> AG/Subgrupo	Hospedante	Colector	N° de accesión
<b>55VkB114</b>	AG 4 HG-I	<i>N. tabacum</i>	Gurkanli C., Ozkoc I., Gunduz I.	FM867595
<b>SHK8</b>	AG 4 HG-I	<i>N. tabacum</i>	Bacharis C., Gouziotis A., Karaoglanidis G.	FJ480923
<b>SCK7</b>	AG 4 HG-I	<i>N. tabacum</i>	Bacharis C., Gouziotis A., Karaoglanidis G.	FJ480922
<b>KD5K</b>	AG 4 HG-I	<i>N. tabacum</i>	Bacharis C., Gouziotis A., Karaoglanidis G.	FJ480926
<b>55VkB94</b>	AG 4 HG-II	<i>N. tabacum</i>	Gurkanli C., Ozkoc I., Gunduz I.	FM867594
<b>55TkTB86</b>	AG 4 HG-II	<i>N. tabacum</i>	Gurkanli C., Ozkoc I., Gunduz I.	FM867593
<b>SAK2</b>	AG 4 HG-III	<i>N. tabacum</i>	Bacharis C., Gouziotis A., Karaoglanidis G.	FJ480930
<b>SDK3</b>	AG 4 HG-III	<i>N. tabacum</i>	Bacharis C., Gouziotis A., Karaoglanidis G.	FJ480928
<b>SZK8</b>	AG 4 HG-III	<i>N. tabacum</i>	Bacharis C., Gouziotis A., Karaoglanidis G.	FJ480929
<b>56Rs</b>	AG 2-1	<i>Solanum tuberosum</i>	Gonzalez D., Carling D.E., Kuninaga S., Vilgalys R., Cubeta M.A.	AF354105
<b>DOI7K</b>	AG 2-1	<i>N. tabacum</i>	Bacharis C., Gouziotis A., Karaoglanidis G.	FJ480919
<b>KK4</b>	AG 2-1	<i>N. tabacum</i>	Bacharis C., Gouziotis A., Karaoglanidis G.	FJ480917
<b>KB10K</b>	AG 2-1	<i>N. tabacum</i>	Bacharis C., Gouziotis A., Karaoglanidis G.	FJ480912
<b>AG9TP</b>	AG 9	-	Kuramae E.E., Buzeto A.L., Ciampi M.B., Souza, N.L.	AY154315

**Tabla 3.2.** Continúa de página 77.

Aislamiento	<i>Rhizoctonia</i> AG/Subgrupo	Hospedante	Colector	N° de accesión
<b>TX S4R1</b>	AG 9	-	Kuninaga S., Natsuaki T., Takeuchi T., Yokosawa R.	AB000037
<b>AG-3</b>	AG 3	<i>N. tabacum</i>	LaMondia J.A., Vossbrinck C.R.	HQ241274
<b>FL3</b>	AG 3	<i>N. tabacum</i>	Pope E.J., Carter D.A.	AF153773
<b>93017</b>	AG 10	Suelo	Pope E.J., Carter D.A.	AF153800
<b>R1203</b>	AG 10	Suelo	Pope E.J., Carter D.A.	AF153801
<b>RI-64</b>	AG 2-2 IV	-	Carling D.E., Kuninaga S., Brainard K.A.	AB054865
<b>LIT3K</b>	AG 5	<i>N. tabacum</i>	Bacharis C., Gouziotis A., Karaoglanidis G.	FJ480931
<b>19Rs</b>	AG 4 HG-I	<i>N. tabacum</i>	Gurkanli C., Ozkoc I., Gunduz I.	FM867595
<b>31Rs</b>	AG 4 HG-I	<i>N. tabacum</i>	Bacharis C., Gouziotis A., Karaoglanidis G.	FJ480923
<b>ZN667</b>	AG 4 HG-I	<i>N. tabacum</i>	Bacharis C., Gouziotis A., Karaoglanidis G.	FJ480922
<b>H5-307</b>	AG 4 HG-I	<i>N. tabacum</i>	Bacharis C., Gouziotis A., Karaoglanidis G.	FJ480926
<b>237258</b>	AG 4 HG-II	<i>N. tabacum</i>	Gurkanli C., Ozkoc I., Gunduz I.	FM867594
<b>95399</b>	AG 4 HG-II	<i>N. tabacum</i>	Gurkanli C., Ozkoc I., Gunduz I.	FM867593
<b>A68</b>	AG 4 HG-III	<i>N. tabacum</i>	Bacharis C., Gouziotis A., Karaoglanidis G.	FJ480930
<b>RS1168</b>	AG 4 HG-III	<i>N. tabacum</i>	Bacharis C., Gouziotis A., Karaoglanidis G.	FJ480928
<b>WDb</b>	AG 4 HG-III	<i>N. tabacum</i>	Bacharis C., Gouziotis A., Karaoglanidis G.	FJ480929
<b>76Rs</b>	AG 2-1	<i>Solanum tuberosum</i>	Gonzalez D., Carling D.E., Kuninaga S., Vilgalys R., Cubeta M.A.	AF354105
<b>1556</b>	AG 2-1	<i>N. tabacum</i>	Bacharis C., Gouziotis A., Karaoglanidis G.	FJ480919
<b>CIMAP MA111</b>	AG 2-1	<i>N. tabacum</i>	Bacharis C., Gouziotis A., Karaoglanidis G.	FJ480917

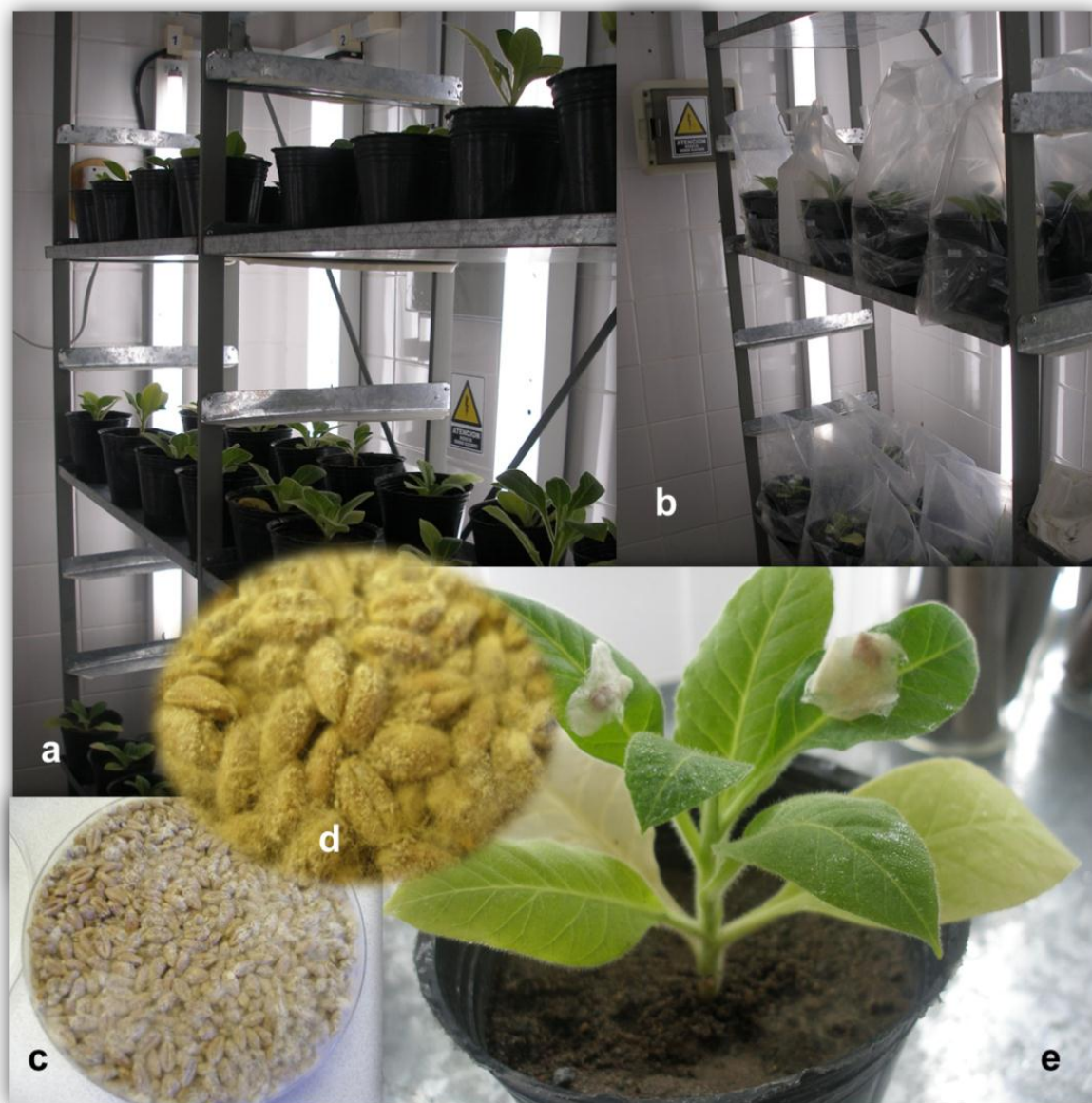
El alineamiento múltiple se llevó a cabo usando ClustalW (Thompson *et al.*, 1994) y se eliminaron manualmente las regiones ambiguas. El conjunto de datos completo incluye 871 posiciones de nucleótidos alineados y 107 taxones. El análisis de agrupamiento se realizó utilizando el método del vecino más cercano (NJ) implementado en PAUP \* versión

4.0 (Swofford, 2002) y se visualizó con la versión 1.6.6 TreeView (Page, 1996). El soporte del grupo fue evaluado a través de 1000 repeticiones para ambos análisis. Solamente se informaron los valores por sobre 50.

### **3.2.4 Determinación de patogenicidad**

Las pruebas de patogenicidad para cada aislamiento se realizaron con plantas de tabaco de la variedad K326 (suceptible) cultivadas durante ocho semanas a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  con un fotoperíodo de 12 h. Granos de trigo colonizados por *Rhizoctonia*, fueron empleados como fuente de inóculo. Para su preparación los granos fueron humedecidos con agua destilada y fueron esterilizados dos veces en autoclave ( $120^\circ\text{C}$  por 30min), los granos fueron transferidos a colonias de *Rhizoctonia* con 5 días de crecimiento en placas de Petri con A.P.G e incubados a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  por una semana hasta completar la colonización del mismo. Diez plantas se inocularon mediante el depósito de granos de trigo colonizados con *Rhizoctonia* spp. sobre las hojas (1 grano de trigo colonizado/hoja) y base de cuello de las plantas (2,5g). Además como controles se inocularon plantas con granos de trigo sin el aislamiento. Las plantas se colocaron a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  en una cámara de crecimiento cubiertas con bolsas de polietileno que se eliminaron después de dos días, momento en el cual las plantas se trasladaron a un invernadero (Figura 3.3). El progreso de la enfermedad se evaluó a las 48hs considerando incidencia y severidad con una escala de 0-4 (0, sin síntomas; 1, 1-25%; 2, 26-50%; 3, 51-75%; y 4, 76-100% de tejido afectado). Los datos fueron analizados estadísticamente mediante el test de Kruskal-Wallis ( $p = 0,005$ ) para comparar la intensidad de la enfermedad entre los AGs.





**Figura 3.3.** a y b) Cámara de incubación. c y d) placa de Petri con granos de trigo colonizados por *Rhizoctonia*. e) planta inoculada en hoja y cuello debajo de la línea del suelo.

### 3.3 Resultados

#### 3.3.1 Caracterización morfológica

De los 51 aislados de *Rhizoctonia* recuperados de diferentes zonas de cultivo de tabaco en Argentina, 48 fueron multinucleados y 3 binucleados (Tabla 3.3). El número de núcleos por célula varió de 2 a 8 para los aislados multinucleados (Figura 3.4). Todos los aislados de *Rhizoctonia* binucleadas contenían sólo dos núcleos por célula hifal. Cinco grupos morfológicos (GM) se generaron basados en características fenotípicas tales como el color y el crecimiento micelial, color y posición de esclerocios (Tabla 3.4 y Figura 3.4).



**Tabla 3.4.** Grupos morfológicos de aislados de *Rhizoctonia* basados en sus características fenotípicas.

Grupo morfológico	Aislados	Color micelia I	Tipo de crecimiento micelial	Color de Esclerocios	Posición de los esclerocios
<b>GM-1</b>	Rs81, , Rs77, Rs72, Rs71, Rs71b, Rs59, Rs59b, Rs59c, Rs58, Rs56, Rs54, Rs36b, Rs36, Rs25, Rs25b, Rs29	Marrón	abundante	Marrón	Aéreo
<b>GM-2</b>	Rs80, Rs79, Rs75, Rs74, Rs73, Rs70, Rs69, Rs68, Rs67, Rs66, Rs63, Rs61, Rs60, Rs49, Rs47, Rs 47b, Rs46, Rs46b, Rs44, Rs12, RS17	Marrón claro	Pobre	Marrón	Inmerso y aéreo
<b>GM-3</b>	Rs22a, Rs22b	Naranja claro	abundante	Naranja	Inmerso y aéreo
<b>GM-4</b>	Rs1, Rs2	Blanco	Pobre	Negro	Inmerso
<b>GM-5</b>	Rs6, Rs6b, Rs57, Rs53, Rs53b, Rs35, Rs34, Rs26, Rs10, Rs65	Marrón claro	Pobre	-	-

**Tabla 3.3.** Aislados de *Rhizoctonia* spp. de Salta y Jujuy (Argentina) caracterizados empleando secuencias ITS (internal transcribed sequences).

Especie	AG <sup>a</sup>	Aislamiento	Síntomas/Origen/ Hospedante <sup>b</sup>	Localidad/provincia	Condición nuclear	Severidad <sup>c</sup>	N° GenBank
<i>Thanatephorus cucumeris</i> ( <i>Rhizoctonia solani</i> )	AG 2-1	Rs67	MH/hoja/ <i>N. tabacum</i>	Cerrillos/Salta	MN	0.0	JQ616853
	AG 2-1	Rs59	MH/hoja/ <i>N. tabacum</i>	La Silleta/Salta	MN	4.2	JQ616867
	AG 2-1	RS59b	MH/hoja/ <i>N. tabacum</i>	La Silleta/Salta	MN	4.2	JQ616874
	AG 2-1	RS68	MH/hoja/ <i>N. tabacum</i>	Cerrillos/Salta	MN	3.1	JQ616870
	AG 2-1	RS69	MH/hoja/ <i>N. tabacum</i>	Cerrillos/Salta	MN	1.1	JQ616871
	AG 2-1	RS70	MH/hoja/ <i>N. tabacum</i>	Cerrillos/Salta	MN	1.2	JQ616872
	AG 2-1	Rs59c	MH/hoja/ <i>N. tabacum</i>	La Silleta/Salta	MN	4.2	-
	AG 2-1	RS25	PR/raíz/ <i>N. tabacum</i>	La Merced/Salta	MN	0.1	JQ616864
	AG 2-1	Rs25b	PR/raíz/ <i>N. tabacum</i>	La Merced/Salta	MN	1.1	JQ616849
	AG 2-1	RS36	PR/raíz/ <i>N. tabacum</i>	La Merced/Salta	MN	0.0	JQ616865
	AG 2-1	RS36b	PR/raíz/ <i>N. tabacum</i>	La Merced/Salta	MN	0.1	JQ616854
	AG 2-1	RS58	TP/raíz/ <i>N. tabacum</i>	La Silleta/Salta	MN	2.4	JQ616866

**Tabla 3.3.** Continúa de página 82.

Especie	AG <sup>a</sup>	Aislamiento	Síntomas/Origen / Hospedante <sup>b</sup>	Localidad/provincia	Condición nuclear	Severidad <sup>c</sup>	N° GenBank
	<b>AG 4 HG-I</b>	RS46	PR/raíz/ <i>N. tabacum</i>	Rosario de Lerma/Salta	MN	0.1	JQ616862
	<b>AG 4 HG-I</b>	RS46b	PR/raíz/ <i>N. tabacum</i>	Rosario de Lerma/Salta	MN	0.1	JQ616868
	<b>AG 4 HG-I</b>	RS47	PR/raíz/ <i>N. tabacum</i>	Rosario de Lerma/Salta	MN	1.4	JQ616860
	<b>AG 4 HG-I</b>	Rs47b	PR/raíz/ <i>N. tabacum</i>	Rosario de Lerma/Salta	MN	1.4	JQ616855
	<b>AG 4 HG-I</b>	RS79	PR/raíz/ <i>N. tabacum</i>	El Carmen/Jujuy	MN	1.0	JQ616856
	<b>AG 4 HG-I</b>	RS80	PR/raíz/ <i>N. tabacum</i>	El Carmen/Jujuy	MN	0.0	JQ616857
	<b>AG 4 HG-I</b>	Rs44	PR/raíz/ <i>N. tabacum</i>	Rosario de Lerma/Salta	MN	0.4	-
	<b>AG 4 HG-I</b>	RS60	-/suelo/-	Cerrillos/Salta	MN	1.0	JQ616850
	<b>AG 4 HG-I</b>	RS61	-/suelo/-	Cerrillos/Salta	MN	1.0	JQ616848
	<b>AG 4 HG-I</b>	RS63	-/suelo/-	Cerrillos/Salta	MN	1.1	JQ616851
	<b>AG 4 HG-I</b>	RS12	caja/ <i>Arachis hypogaea</i>	Las Lajitas/Salta	MN	0.0	JQ616861
	<b>AG 4 HG-I</b>	RS49	RR/raíz/ <i>Cicer arietinum</i>	Cerrillos/Salta	MN	1.2	JQ616863
	<b>AG 4 HG-I</b>	RS53b	PR/raíz/ <i>N. tabacum</i>	Cerrillos/Salta	MN	2.3	-
	<b>AG 4 HG-I</b>	Rs73	PR/raíz/ <i>N. tabacum</i>	Rosario de Lerma/Salta	MN	0.1	-

**Tabla 3.3.** Continúa de página 83.

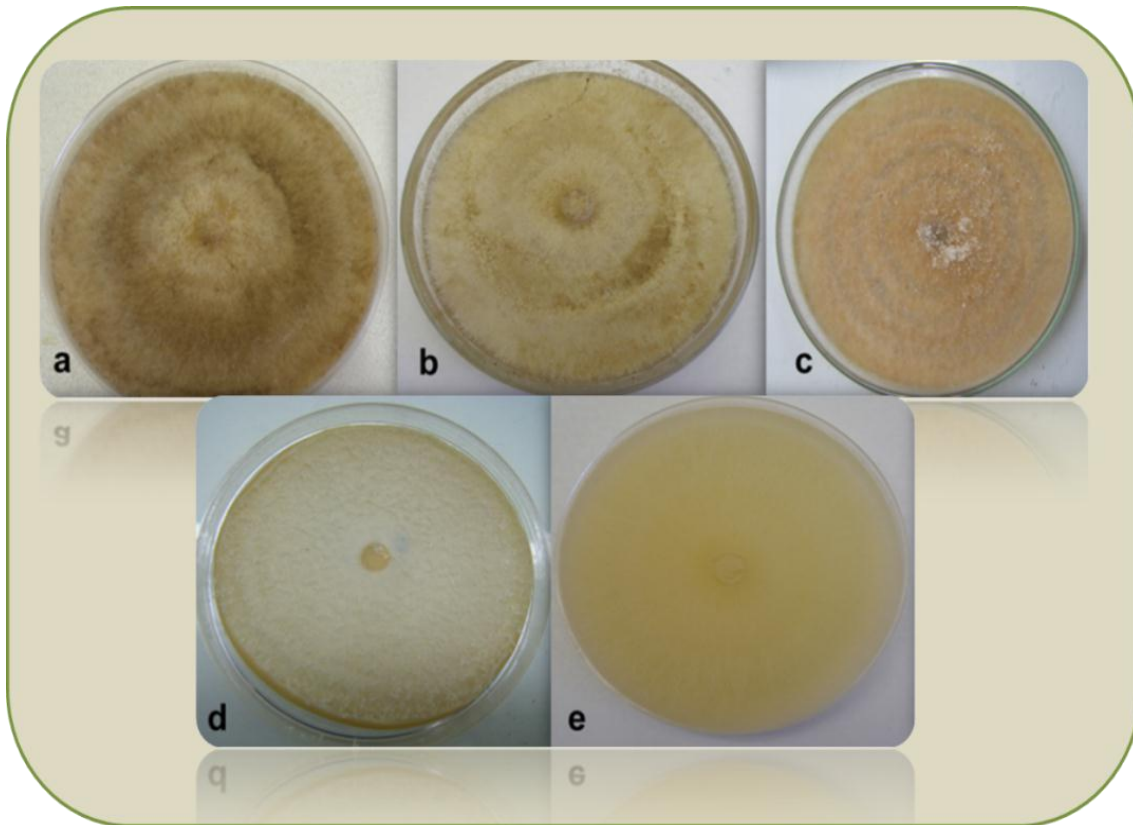
Especie	AG <sup>a</sup>	Aislamiento	Síntomas/Orig en/ Hospedante <sup>b</sup>	Localidad/provincia	Condición nuclear	Severidad <sup>c</sup>	N° GenBank
	<b>AG 4 HG-III</b>	RS74	TP/raíz/ <i>N. tabacum</i>	Coronel Moldes/Salta	MN	0.1	JQ616869
	<b>AG 4 HG-III</b>	Rs75	TP/raíz/ <i>N. tabacum</i>	Coronel Moldes/Salta	MN	0.0	JQ616859
	<b>AG 4 HG-III</b>	RS81	RR/raíz/ <i>Sorghum</i> sp.	Guachipas/Salta	MN	1.0	JQ616858
	<b>AG 4 HG-III</b>	RS72	-/suelo/-	Rosario de Lerma/Salta	MN	1.1	JQ616873
	<b>AG 8</b>	Rs77	PR/raíz/ <i>N. tabacum</i>	Ovejería/Jujuy	MN	0.0	-
<i>Waitea Zeae circinata</i> var. ( <i>Rhizoctonia zeae</i> )		RS22a	-/suelo/-	Los Lapachos/Jujuy	MN	0.0	-
		Rs22b	-/suelo/-	Los Lapachos/Jujuy	MN	0.0	-
		RS35	-/suelo/-	Los Lapachos/Jujuy	MN	0.0	-
<i>Ceratobasidium</i> sp.		RS71	-/suelo/-	Rosario de Lerma/Salta	BN	2.0	-
		Rs71b	-/suelo/-	Rosario de Lerma/Salta	BN	2.0	-
<i>Rhizoctonia</i> sp.		RS65	-/suelo/-	Cerrillos/Salta	MN	0.0	-
		RS1	TP/raíz/ <i>N. tabacum</i>	Cerrillos/Salta	MN	0.1	-
		RS6	TP/raíz/ <i>N. tabacum</i>	La Caldera/Salta	MN	0.0	-

**Tabla 3.3.** Continúa de página 84.

Especie	AG <sup>a</sup>	Aislamiento	Síntomas/Origen/ Hospedante <sup>b</sup>	Localidad/provincia	Condición nuclear	Severidad <sup>c</sup>	N° GenBank
	RS6b	TP/raíz/ <i>N. tabacum</i>	La Caldera/Salta	MN	0.0	-	
	RS10	TP/raíz/ <i>N. tabacum</i>	Puesto Viejo/Jujuy	MN	0.0	-	
	RS26	PR/raíz/ <i>N. tabacum</i>	Monterrico/Jujuy	MN	0.0	-	
	RS53	PR/raíz/ <i>N. tabacum</i>	Cerrillos/Salta	MN	2.2	-	
	RS54	PR/raíz/ <i>N. tabacum</i>	Rosario de Lerma/Salta	MN	2.4	-	
	RS57	- /semilla/ <i>Phaseolus vulgaris</i>	Cerrillos/Salta	MN	1.4	-	

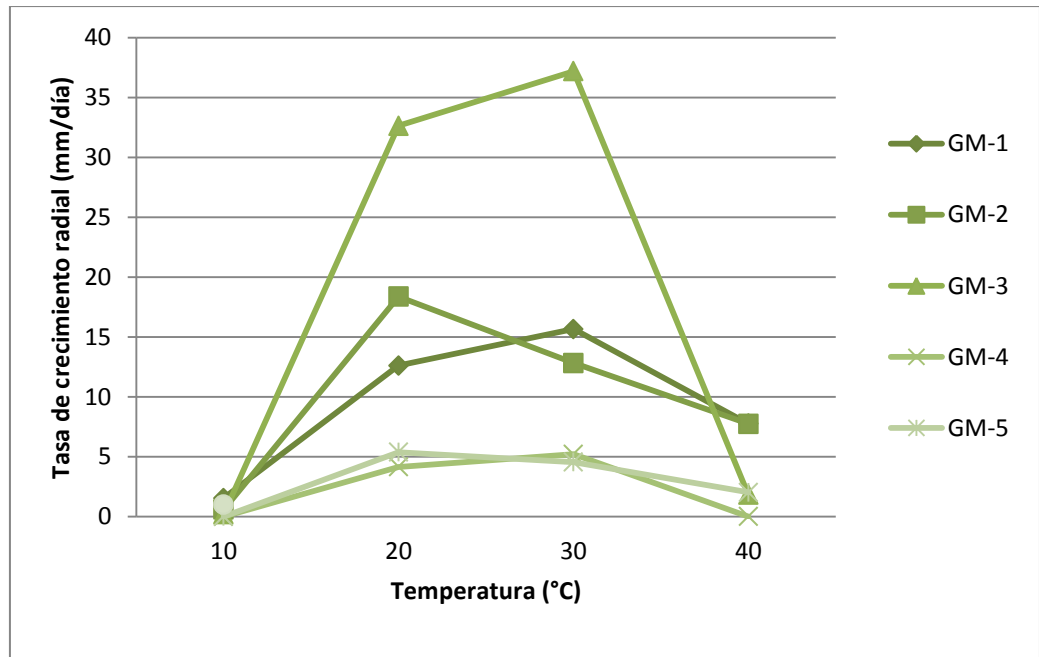
<sup>a</sup> AG: Grupos de anastomosis determinados a partir de las secuencias ITS. <sup>b</sup> MH: mancha en hoja (leaf spot), PR: podredumbre radicular (sore shine) , TP: tizón de plántulas. <sup>c</sup> Para mancha en hoja y tizón de plántulas, escala 0-4 (0, sin síntomas; 1, 1-25% ; 2, 26-50%; 3, 51-75%; and 4, 76-100%).

En general, el micelio fue inicialmente blanquecino y al envejecer se volvió marrón claro, marrón, naranja claro o verde oliva. Después de dos semanas de incubación a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , la mayoría de los aislados produjeron esclerocios. Los esclerocios fueron inicialmente blancos y posteriormente adquirieron coloración marrón, naranja o negro al madurar. La posición de los mismos fue en hifas aéreas o inmersos en el medio de cultivo. Todas las características observadas fueron coincidentes con los informes morfológicos reportados para *Rhizoctonia* (Sneh *et al.*, 1991).



**Figura 3.4.** Grupos morfológicos. a) GM-1; b) GM-2; c) GM-3; d) GM-4; e) GM-5

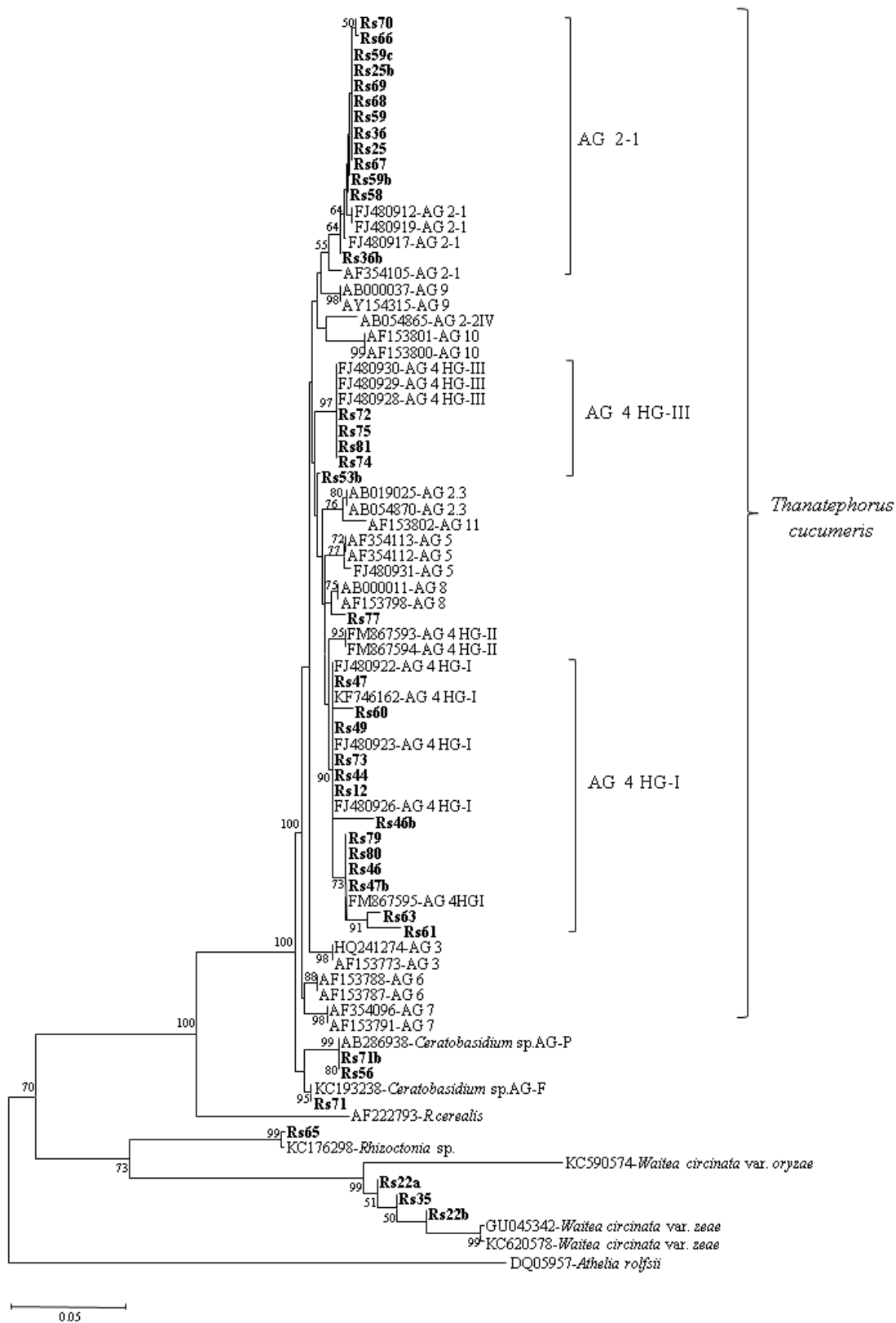
Los grupos morfológicos difirieron en su tasa de crecimiento en APG (Figura 3.5). MG-3 fue el grupo de más rápido crecimiento de los aislados a  $20^\circ\text{C}$  y  $30^\circ\text{C}$ . Las tasas de crecimiento más bajas se observaron en GM-4, GM-5 y GM-6. Sólo GM-1 y GM-2 tuvieron la capacidad de crecer en todas las temperaturas siendo la temperatura óptima de  $20^\circ\text{C}$  a  $30^\circ\text{C}$  (Figura 3.5).



**Figura 3.5.** Tasa de crecimiento radial de micelio a diferentes temperaturas por grupo morfológico (GM).

### 3.3.2 Análisis filogenético ITS-ADNr

El ADN genómico de los 39 aislados de *Rhizoctonia* spp. fue utilizado para la amplificación de la región ITS1, ITS2 y la región 5.8 ADNr. La mayoría de los aislados ensayados produjeron un tamaño de producto de 700 pb. Cincuenta y siete secuencias de *Rhizoctonia* spp. disponibles en el GenBank (NCBI) se incluyeron en el análisis para la identificación de AG. En el árbol de NJ generado con los datos moleculares, el 82% de los aislados fue incluido en un grupo importante apoyado por un valor de soporte de bootstrap del 100% y se identificaron como *R. solani*, mientras que el resto de los aislados correspondieron a *R. zae* (*Waitea circinata* var. *Zae*) (8%), *Rhizoctonia* BN AG F y AG U (*Ceratobacidium* sp.) (8%), *Rhizoctonia* sp. (2,8%) (Figura 3.6). Además se identificaron los AG de los aislados de *R. solani* como AG 2, AG 4 y AG 8. Trece de los aislados fueron identificados como AG 2-1, catorce como AG 4 HG-I, cuatro como AG4 HG-III y uno como AG 8 con los valores de bootstrap superiores a 80%.



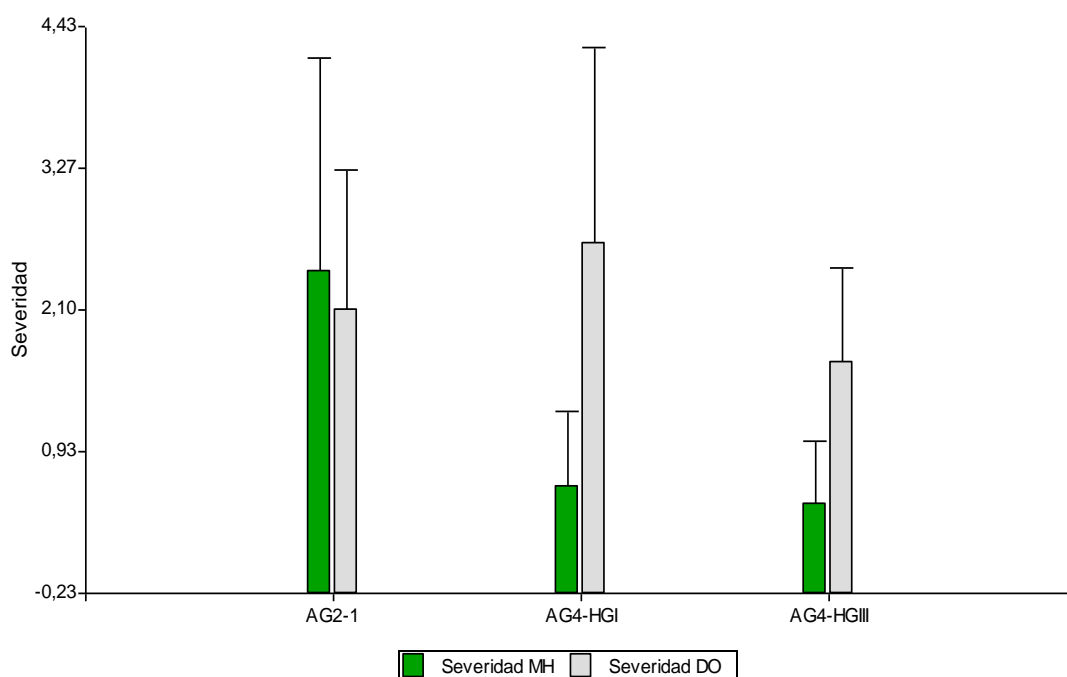
**Figura 3.6.** Arbol de Neighbor-joining basado en secuencias de *Rhizoctonia* spp. y secuencias del GenBank. *Athelia rolfsii* fue usado como outgroup. Unicamente valores de bootstrap superiores a 50 fueron reportados.



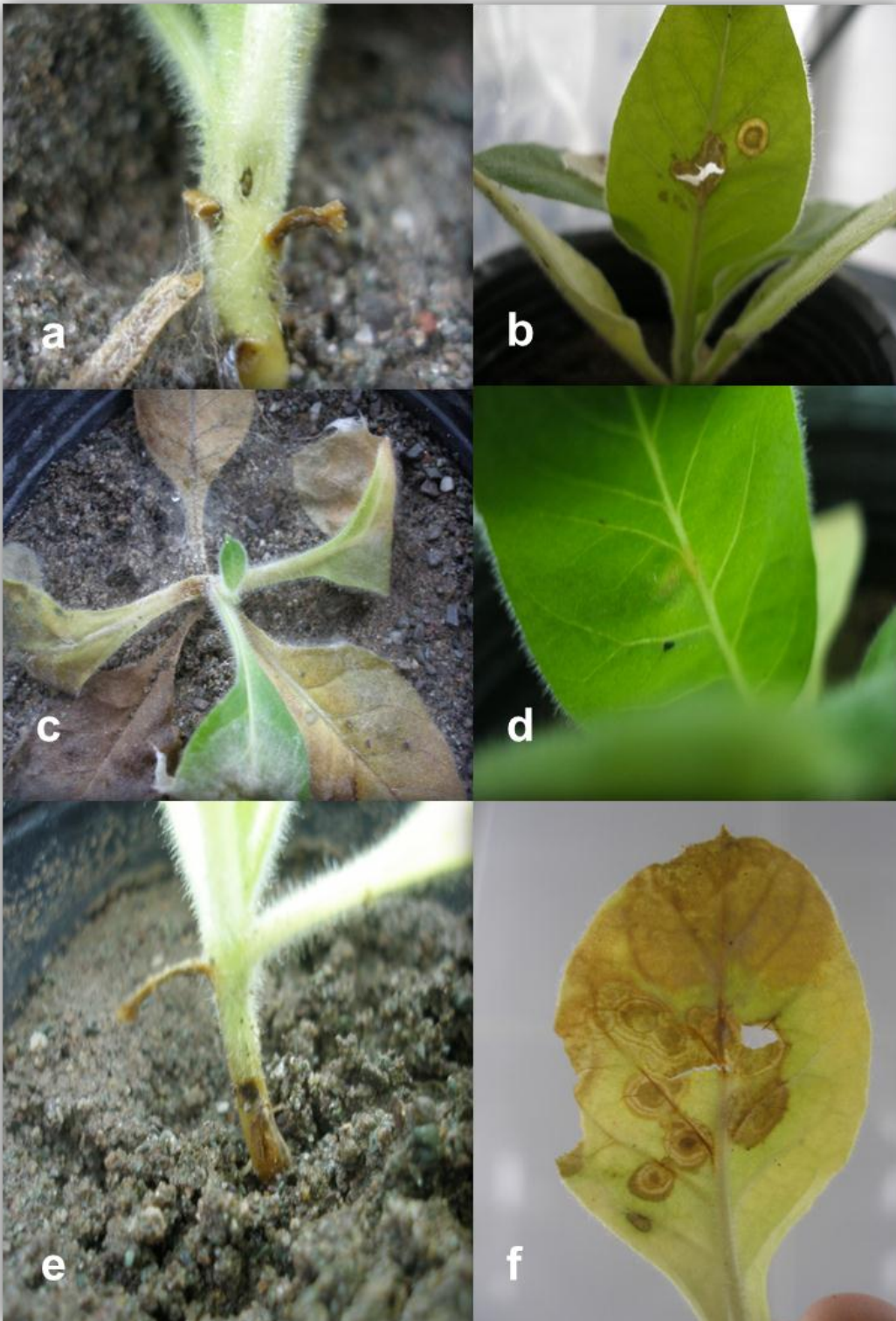
### 3.3.3 Patogenicidad de los tejidos foliares y de raíz.

El 70% de los aislados de *Rhizoctonia* spp. demostraron causar daño en plántulas de tabaco causando mancha foliar y/o tizón de plántulas (Tabla 3.3). Las plantas de tabaco mostraron los síntomas típicos de la mancha foliar a los 2 días después de la inoculación y a los 5 días por tizón de plántulas. El grado de severidad de la patología varió de 0 a 4 para ambas enfermedades. Quince aislados no fueron virulentos, mientras que nueve y siete aislados no causaron síntomas de mancha foliar y tizón de plántulas, respectivamente. Todas las plantas no inoculadas permanecieron sanas. Los aislados obtenidos a partir de la raíz difirieron en su virulencia de los obtenidos de tejidos de las hojas. La mayor parte de los aislados de *R. solani* obtenidos directamente de las lesiones en las hojas fueron muy virulenta a los tejidos foliares. Sin embargo, los aislados obtenidos de la raíz y el suelo presentaron baja virulencia en los tejidos foliares (grados de severidad de enfermedades  $\leq 2$ ) (Figura 3.7).

Las cepas binucleadas fueron virulentas para mancha foliar y mostraron bajos porcentajes de severidad ( $\leq 2$ ). Hubo diferencias altamente significativas en la virulencia de las cepas aisladas en plantas de tabaco entre AG para mancha de la hoja y *damping-off* ( $p < 0,0001$ ) Los aislados de AG 4 fueron significativamente menos agresivos que AG 2-1 con respecto a mancha foliar ( $p = 0,005$ ). También los aislados AG 4 mostraron diferencias altamente significativas para los valores de severidad de la mancha de la hoja y *damping-off*. (Figura 3.8).



**Figura 3.8.** Severidad de mancha en hoja (MH) y *damping-off* (DO) de 3 grupos de anastomosis de *Rhizoctonia solani* (AG 2-1, AG 4 HGI y AG 4 HGIII).



**Figura 3.7.** Síntomas y severidad de *damping-off* y mancha en hoja. a y b) 1-3; c y d) 4-0; e y f) 2-4.

### 3.4 Discusión

Cincuenta y un aislados de *Rhizoctonia* se obtuvieron de 40 campos de tabaco en el Noroeste de Argentina (Salta y Jujuy). La mayoría de los aislados fueron caracterizados como *R. solani*, y *Rhizoctonia* spp. por medio de los datos morfológicos y moleculares. Si bien las enfermedades producidas por *Rhizoctonia* en tabaco se han observado con frecuencia en América del Sur, EE.UU. y Canadá (Ceresini *et al.*, 2002; LaMondia, 2012); este es el primer estudio en relación a la caracterización convencional y molecular de aislados de *Rhizoctonia* asociados a cultivares de tabaco Virginia, en las principales zonas de producción de Argentina.

En tabaco se han reportado infecciones por *R. solani* pertenecientes a los grupos de anastomosis AG 1 a AG 5 (Nicoletti *et al.*, 1999). De estos patógenos, *R. solani* AG 1, AG 2-1, AG 2-2 y AG 4 se han caracterizado como inductores de enfermedades no foliares (podredumbre radicular, podredumbre de cuello y tizón de plántulas), mientras que aislados de AG 2-1 y AG 3 han sido reportados como inductores de enfermedades foliares (mancha en hoja) sobre tabaco (Shew y Melton, 1995; Gutiérrez *et al.*, 1997; Nicoletti *et al.*, 1999, Mercado Cárdenas *et al.*, 2012).

Actualmente la región ITS-rDNA se considera la más adecuada para caracterizar AGs de cepas desconocidas de *R. solani* y *Rhizoctonia* spp. (Sharon *et al.*, 2006, 2008). Además del análisis de las secuencias, se han estudiado las condiciones nucleares para discernir mejor la sistemática de *Rhizoctonia* spp. Después de realizar el análisis morfológico y molecular, las cepas estudiadas pertenecieron a *R. solani* (63 %) mientras que el resto de los aislados fueron caracterizados como *Rhizoctonia* spp. (25%), *Rhizoctonia* BN AG F y AG U (6%) y *Rhizoctonia zeae* (6%).

Diecinueve muestras de *R. solani* fueron aisladas de almácigos y 18 de las plantas en campo, lo que indica que este patógeno se encuentra ampliamente distribuido tanto en semilleros de tabaco, como en campos en las provincias de Salta y Jujuy.

De los 32 aislados identificados como *R. solani*, 11 fueron obtenidos a partir de plantines de almacigo y 14 de plantas en campo. El grupo más prevalente fue AG 4 HG-I (44%), seguido por AG 2-1 (41%), AG 4 HG-III (13%) y AG 8 (3,1%). Diferentes AGs de *R. solani* han sido reportados como patógenos para tabaco (Shew y Melton, 1995; Gutiérrez *et al.*, 1997; Nicoletti *et al.*, 1999; Mercado Cárdenas *et al.*, 2012; Zhao *et al.*, 2013). AG 1, AG 2-1, AG 2-2 y AG 4 causan podredumbre radicular y *damping-off*, mientras AG 2-1 y AG 3 causan mancha en hoja (Shew y Melton, 1995; Gutiérrez *et al.*, 1997; Nicoletti *et al.*, 1999; Mercado Cárdenas *et al.*, 2012; Zhao *et al.*, 2013). Los aislados identificados en este trabajo como AG 2-1 fueron obtenidos de plantas con síntomas de *damping-off*, mancha en hoja y podredumbre radicular, mientras que los aislados AG 4 HG-I y AG 4 HG-III, estuvieron asociados a síntomas de *damping-off* y podredumbre radicular.

La predominancia de AG 4 HG-I y AG 2-1 fue observada por Gurkanli *et al.* (2009) y Bacharis *et al.* (2010) en plantines de tabaco con síntomas de *damping-off* en Turquía y Grecia. En la presente investigación, los aislados obtenidos de síntomas de *damping-off* fueron identificados como AG 2-1 y AG 4 HG-III. Sin embargo, sería importante en estudios futuros, incrementar el número de muestras de almacigo.

Los dos aislados de *Rhizoctonia* BN obtenidos de suelo y el de semilla de poroto, identificados como AG-F y AG-P, causaron síntomas de mancha en hoja en las pruebas de patogenicidad. Existen reportes de *Rhizoctonia* BN causando *damping-off* y podredumbre radicular en tabaco (Masuka, 1998; Garcia *et al.*, 2009; González García, 2008; Gurkanli y Ozkoc, 2011), pero no mancha en hoja.

Los aislados correspondientes a los grupos morfológicos, GM-1 y GM-2, se correspondieron con los criterios descritos para *R. solani* según Sneh *et al.* (1991), incluyendo el número de núcleos, la producción de esclerocio y la pigmentación marrón.

Una elevada variabilidad morfológica se observó dentro de los aislados de *Rhizoctonia* que pertenecían a AG 2-1 y AG 4 HG-III en comparación con AG 4 HG-I. La tasa de crecimiento micelial fue inferior en AG 2-1 en comparación con aquellos del grupo AG 4 (Figura 3.4), estos resultados concordaron con reportes previos de otros autores (Sherwood, 1969; O'Sullivan y Kavanagh, 1991; Schneider *et al.*, 1997; Bacharis *et al.*, 2010).

Se observó una relación significativa entre AG y síntomas de la enfermedad. En las pruebas de patogenicidad, aislados pertenecientes a los grupos AG 2-1 y AG 4 HG-I, mostraron los valores más altos de severidad para mancha en hoja y tizón de plántulas, respectivamente. Resultados similares han sido reportados previamente por Muyolo *et al.* (1993).

De acuerdo con informes previos han sugerido que los síntomas de *damping-off* en plántulas de tabaco se asocian más estrechamente con aislados de *R. solani* que pertenecen al grupo de anastomosis AG 4 (Nicoletti *et al.*, 1999; Gurkanling *et al.*, 2009; Bacharis *et al.*, 2010), en este estudio aislados del grupo de anastomosis AG 4 fueron también más agresivos que los pertenecientes a AG 2-1 para *damping-off*. Este es el primer reporte de *R. solani* AG 4 HG-I y AG 4 HG-III causando mancha en hoja en tabaco *in vivo*.

Los aislados AG 2-1 causaron síntomas de tizón de plántulas en plantas jóvenes y podredumbre radicular en plantas adultas de tabaco según lo observado en otros estudios (Nicoletti *et al.*, 1999; Gutiérrez *et al.*, 1997; Bacharis *et al.*, 2010). La asociación de *R. solani* AG-2.1 con mancha en hoja en almácigos de tabaco ha sido recientemente reportado (Mercado Cárdenas *et al.*, 2012). Síntomas de mancha en hoja sólo se observaron en plantas de tabaco producidos en sistemas flotantes, y no se observó en el campo.

Se observó una relación entre AG y tipo de síntoma. En el test de patogenicidad, *R. solani* AG 2-1 y AG 4 HG-I causaron un elevado valor de severidad para mancha en hoja y *damping-off*. Estos resultados concuerdan con observaciones previas, donde *R. solani* AG 4 HG-I fue reportada como más agresiva que AG 4 HG-II y AG 2-1 causando síntomas de *damping-off* sobre plantines de tabaco (Gurkanli *et al.*, 2009; Bacharis *et al.*, 2010).

AG 4 HG-I y AG 4 HG-III causaron mancha en hoja en plantines de tabaco bajo condiciones de invernáculo. Sin embargo, ninguno de estos aislados fue obtenido de síntomas de mancha en hoja, por lo cual existiría evidencia de *R. solani* AG 4 causando mancha en hoja en condiciones naturales. Existe en la literatura un único reporte de Shew *et al.* (1995), informan la obtención de unos pocos aislados de *R. solani* AG 4 a partir de mancha en hoja en tabaco durante las epidemias de 1984 y 1989.

Otros autores han observado que aislados de *R. solani* pertenecientes al grupo de anastomosis AG 2-1 causan síntomas de *damping-off* en plantines con pocos días de trasplante y podredumbre radicular en plantas adultas de tabaco (Bacharis *et al.*, 2010; Gutiérrez *et al.*, 1997; Nicoletti y Lahoz, 1995). La asociación de *R. solani* AG 2-1 causando mancha en hoja en tabaco, ha sido recientemente reportada (Mercado Cárdenas *et al.*, 2012). Es importante destacar que la enfermedad fue únicamente observada en plantines bajo sistema de almacigo flotante y no en campo.

En este trabajo pocos aislados de *Rhizoctonia* fueron obtenidos a partir de cultivos que rotan con tabaco. Estos aislados mostraron baja agresividad en el test de patogenicidad en plantines de tabaco. Sería interesante evaluar en futuras investigaciones, un mayor número de aislados a partir de cultivos en rotación con tabaco, a los fines de determinar cuál de estos es el que se debería implementar para reducir la incidencia y severidad de las enfermedades causadas por *Rhizoctonia* en tabaco en el noroeste Argentino.

La información generada en este estudio es relevante para el manejo del cultivo de tabaco en la región noroeste de Argentina. Teniendo en cuenta la aplicación del control químico, se sabe que hay diferencias entre la sensibilidad de fungicidas y AGs (Jones y Belmar, 1989; Pascual *et al.*, 2000). También, la diferenciación de AG es importante en decisiones de rotación y sucesión de cultivos, dado que por ejemplo AG 2-1, AG 4 HG-I y AG 4 HG-III pueden ser patógenos para varios cultivos tales como maíz y poroto (Tu *et al.*, 1996; Li *et al.*, 1998; Godoy-Lutz *et al.*, 2003; 2008), comunes en las zonas de producción tabacalera.

### 3.5 Conclusiones

- Las especies de *Rhizoctonia* asociadas al cultivo de tabaco presentes en Salta y Jujuy identificadas mediante caracteres morfológicos y secuencias ITS fueron: *R. solani* (63 %), *Rhizoctonia* spp. (25%), *Rhizoctonia* BN AG F y AG U (6%) y *Rhizoctonia zeae* (6%).
- El análisis de las secuencias de ADNr-ITS, morfología y pruebas de patogenicidad permitieron la identificación de *R. solani* AG 4 HG-I, AG 2-1 y AG 4 HG-III como causantes de enfermedad en tabaco en el NOA.
- El presente estudio generó el primer reporte a nivel mundial de *R. solani* AG 2-1 asociado a la mancha en hoja en plantines de almácigo flotante en tabaco, además de ser el primer estudio del género en el cultivo de tabaco en Argentina.



---

# Capítulo IV

---

Análisis de la variabilidad genotípica  
presente en los aislados de *Rhizoctonia*,  
empleando caracteres moleculares (ISSR)

---





## CAPITULO IV

### **Análisis de la variabilidad genotípica presente en los aislados de *Rhizoctonia*, empleando caracteres moleculares (ISSR)**

#### **4.1 Introducción**

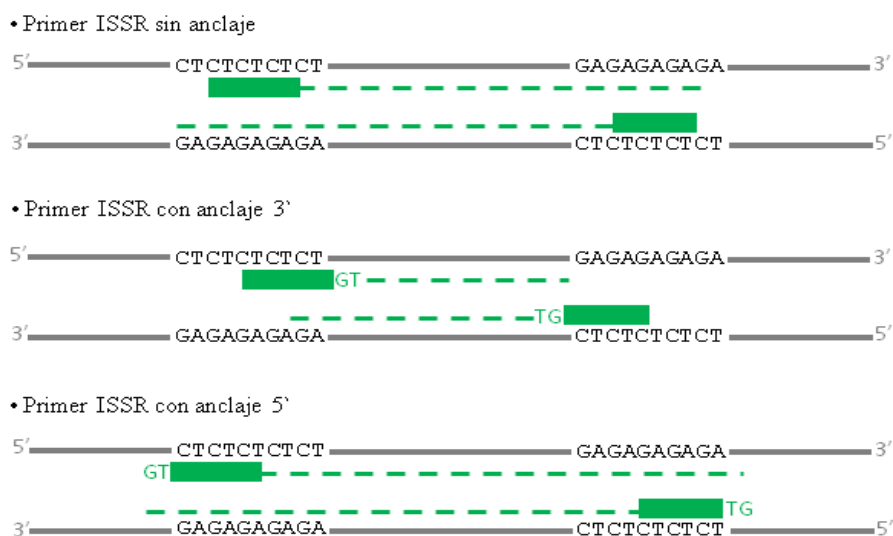
La variabilidad genética en los fitopatógenos puede atribuirse no solo a la adaptación a los cambios de ambiente físico natural, sino a cambios en las características genéticas de la población del hospedante y a los elementos extraños introducidos por las prácticas agrícolas (Arauz Cavallini, 1998). En los hongos que se reproducen asexualmente y se multiplican produciendo conidios, zoosporas y uredosporas, la frecuencia y el grado de variabilidad entre la progenie disminuye ampliamente, pero aun así ciertos individuos de la descendencia mostrarán características diferentes. Asimismo debido al elevado número de individuos producidos asexualmente, la totalidad de la variación producida por al menos algunos microorganismos es probablemente tan grande y, posiblemente mayor que la variabilidad total que se encuentra en los microorganismos que se reproducen sexualmente (Agrios, 2005).

Existen diversos mecanismos para obtener variabilidad en los patógenos fúngicos, como la heterocariosis, parasexualismo e incompatibilidad vegetativa. Siendo el último caso el que se presenta en el género *Rhizoctonia* (Agrios, 2005).

Diferentes métodos de estudios para evaluar la diversidad genética de aislados del genero *Rhizoctonia*, han sido empleados en las dos últimas décadas. Una de las primeras técnicas con base genética ampliamente utilizadas ha sido el análisis de isoenzimas, en el cual se determinaban grupos de zimogramas (ZGs) para los aislados estudiados (Zuber y Manibhushanrao, 1982; Sweetingham *et al.*, 1986; MacNish y Sweetingham, 1993; MacNich *et al.*, 1994; Mahmoud *et al.*, 2007). Posteriormente los métodos moleculares involucraron el análisis de algunas regiones del ADN, siendo la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), la técnica que ha sido utilizada para estudiar la diversidad genética de *R. solani*, principalmente para examinar las relaciones entre y dentro de los AGs. Entre ellos los fragmentos de restricción de longitud polimórfica (RFLP-*Restriction Fragment Length Polymorphism*) (Botstein *et al.*, 1980; Banniza *et al.*, 1999; Rosewich *et al.*, 1999; Nicoletti *et al.*, 1999; Taheri *et al.*, 2007), el ADN polimórfico amplificado al azar (RAPD- *Randomly Amplified Polymorphic DNA*) (Williams *et al.*, 1990; Welsh y Mc Clelland, 1990; Justesen *et al.*, 2003; Mahmoudi *et al.*, 2005), el polimorfismo de longitud de fragmentos amplificados (AFLP-*Amplified Restriction Fragment Length Polymorphism*) (Vos *et al.*, 1995; Ceresini *et al.*, 2002; López-Olmos *et al.*, 2005; Taheri *et al.*, 2007; Taheri y Tarighi, 2012), los marcadores basados en secuencias simples repetidas (SSR-*Simple Sequence Repeats*) (Tautz, 1989; Ciampi *et al.*, 2008; Zala *et al.*, 2008; Chaijuckam y Davis, 2010) y uno de los más utilizados por su simplicidad y reproducibilidad son las inter secuencias simples repetidas (ISSR-*Inter-Simple Sequence Repeats*) (Zietkiewicz *et al.*, 1994; Sharma *et al.*, 2005; Stodart *et al.*, 2007; Mirmajlessi *et al.*, 2012; Zheng *et al.*, 2013). En contraste a otros marcadores moleculares, las secuencias dianas para los cebadores ISSR son abundantes a lo largo del genoma de eucariotas y evolucionan rápidamente. Por consiguiente, los marcadores ISSR ayudan a revelar un número mucho mayor de fragmentos polimórficos y las reacciones son más específicas en comparación a los marcadores RAPD (Ansari *et al.*, 2012).

#### 4.1.1 Marcadores ISSR

Los ISSR (*Inter-Simple Sequence Repeats*) son un tipo de marcador genético que nos permite obtener los niveles de variación en las regiones microsatélite que se encuentran dispersas en varios genomas, particularmente el nuclear. Estos marcadores son amplificados por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) a partir de la presencia de un oligonucleótido o cebador complementario a un microsatélite, diseñado para unirse a los motivos repetidos de di y trinucleótidos. Los cebadores de ISSRs consisten en un motivo repetido de di- o trinucleótidos complementario a la secuencia del microsatélite. En ocasiones es posible agregar a esta secuencia un par de nucleótidos extras arbitrarios en el extremo 3' o en el 5', que jugarán el papel de "anclas" asegurando así que la amplificación inicie siempre en el extremo 5' o en el 3' del microsatélite, respectivamente (Zietkiewicz *et al.*, 1994; Bornet y Branchard, 2001; Pradeep *et al.*, 2002) (Figura 4.1).



**Figura 4.1.** Esquema de cebadores ISSR con y sin anclaje.

La técnica de ISSR no requiere un conocimiento previo del genoma y genera fragmentos de ADN específicos y reproducibles dado las condiciones astringentes de hibridación (*annealing*) de la reacción (Bornet y Branchard, 2001). Estos marcadores han sido ampliamente usados en estudios de diversidad y estructura de poblaciones fúngicas (Hantula *et al.*, 1996). Sharma *et al.* (2005), evaluaron mediante diferentes cebadores, entre ellos dos ISSR, la diversidad genética de 24 aislados de *R. solani* colectados a partir de suelo, raíz y hoja de poroto en diferentes localidades de la India, demostrando que los mismos presentaron similitud genética. Stodart *et al.* (2007), examinaron mediante dos cebadores ISSR, la diversidad genética de una colección de *R. solani* aisladas a partir de *Brassica napus* obtenidos en diferentes regiones de Australia y la compararon con la diversidad presente en aislados de otros países, determinando una similitud genética entre los aislados originarios de las diferentes regiones de Australia (grupo polifilético) y a su vez distinta a la de otros países. González *et al.* (2012), estudiaron la variación genética de 92 aislados de *R. solani* subgrupos AG1IE y AG1IF de diferentes países (República Dominicana, Honduras y Puerto Rico), determinando la existencia de variación entre y dentro de la población estudiada, explicando además la falta de resistencia durable para la mustia hilachosa en poroto.

Las técnicas moleculares basadas en el ADN son herramientas poderosas que pueden reflejar con precisión la variación genética entre los aislados incluso estrechamente relacionados, por lo que se han utilizado ampliamente para evaluar la diversidad genética en diversos organismos, incluyendo hongos patógenos de plantas, como *R. solani* (Vilgalys y González, 1990; Toda *et al.*, 1999.; Sharon *et al.*, 2006).

Los estudios de variabilidad genética de patógenos son necesarios como información previa y precisa para el manejo de una enfermedad. La correcta identificación del agente causal de una enfermedad y un mejor conocimiento de las relaciones genéticas existentes entre aislados del patógeno, es fundamental para emplear algunas tácticas de manejo (Kistler, 1997).

#### **4.1.2. Objetivo**

-Analizar la variabilidad genotípica presente en los aislados de *Rhizoctonia solani* empleando marcadores moleculares (ISSR).

### **4.2 Materiales y métodos**

#### **4.2.1 Material biológico**

De los 32 aislamientos identificados mediante secuenciamiento parcial de las regiones ITS y caracteres morfológicos como *Rhizoctonia solani* en el capítulo III, se seleccionaron 21 (representantes de grupo de anastomosis y sitios de muestreo) para el análisis con ISSR.

#### **4.2.2 Extracción del ADN por CTAB**

La extracción de ADN se realizó siguiendo el protocolo de CTAB (Cetil-trimetil-bromuro de amonio) descrito por Doyle y Doyle (1990), modificado, ya descrito en el capítulo III, página 77.

#### **4.2.3 Reacciones de amplificación del ADN por ISSR-PCR**

##### **4.2.3.1 Selección de cebadores ISSR y condiciones de amplificación**

Las condiciones de amplificación se optimizaron evaluando diferentes concentraciones de ADN y de cebador, variando además la temperatura y tiempo de apareamiento. La amplificación de los fragmentos de ADN intersatelites ISSR se realizó con 22 cebadores (Tabla 4.1).

Las reacciones de PCR se realizaron en un volumen final de 25  $\mu$ l, conteniendo 10-20 ng de ADN genómico, buffer de reacción 10X (750 mM Tris-HCl pH 8,0, 200 (NH<sub>4</sub>SO<sub>4</sub>, 0,1% (v/v) Tween 20), 1,25 unidades de T-plus ADN polimerasa (Highway Molecular Biology- InBio- UNICEN- Tandil), 0,7  $\mu$ M de “cebador” (DNAgency, USA), 200  $\mu$ M de cada dNTP y 2,5 mM de Cl<sub>2</sub>Mg. A cada tubo de reacción se le adicionó una alícuota de 20  $\mu$ l de aceite mineral.

El termociclador (PTC-100TM Programmable Thermal Controller- M.J. Research, INC.) se programó con una secuencia de ciclos consistentes en: desnaturalización inicial a 94°C durante 5 min y 33 ciclos de desnaturalización a 94°C (1 min), apareamiento a temperaturas entre 48 y 57.6°C según el “cebador” (1 min 15 seg), extensión a 72°C (4 min) y extensión final a 72°C (7 min).

**Tabla 4.1.** Secuencia de los cebadores ISSR utilizados para el análisis de polimorfismo entre los aislados de *Rhizoctonia* y temperatura de apareamiento.

Nombre	Secuencia (5'-3')	Temperatura de apareamiento (°C)
AN	(CAA) <sub>5</sub>	48
LA5	CAG(AAC) <sub>5</sub>	52,9
G	GAG(CAA) <sub>5</sub>	57,6
IA5	ACA(CAA) <sub>5</sub>	52
GA5	TCA(GT) <sub>8</sub>	48,1
BA5	GAG(GAA) <sub>5</sub>	53
FA5	TAC(GT) <sub>8</sub>	56
C	(AG) <sub>8</sub> CG	51,4
AA5	GAG(AAG) <sub>5</sub>	50,1
B	(AG) <sub>8</sub> TG	56
AA3	(AG) <sub>8</sub> TA	46,1
ISSR02	AC(TGAC) <sub>3</sub> TG	50
ISSR03	(GACA) <sub>4</sub>	48
DA3	(CAA) <sub>5</sub> ACG	48,4
F	CT(GA) <sub>8</sub>	48
I	(CCA) <sub>5</sub>	48
D	(AG) <sub>8</sub>	48
A	(AC) <sub>8</sub>	48
EA5	AGA(GG) <sub>8</sub>	48
EA3	(GAG) <sub>5</sub> CAG	52,7
FA3	(GA) <sub>8</sub> ACC	52,7
EN	(GAC) <sub>5</sub>	55,4

#### 4.2.4 Visualización de los fragmentos amplificados

Los fragmentos de ADN amplificados se separaron en base al tamaño por electroforesis en geles de agarosa 2%, conteniendo 2% de bromuro de etidio (10µg/ml) en buffer TBE 1X. Las corridas electroforéticas se realizaron a una corriente de 90 voltios durante 4 horas. En cada gel se sembró un marcador de peso molecular para poder estimar posteriormente el tamaño de los fragmentos de ADN.

Las bandas de ADN se observaron colocando los geles en un transiluminador de luz U.V. Los geles se documentaron utilizando una cámara Polaroid GelCam con película Polaroid en blanco y negro de alta sensibilidad (tipo 667).

##### 4.2.4.1 Determinación del tamaño de los fragmentos de ADN

Las moléculas de ADN migran en el gel de agarosa a una velocidad inversamente proporcional al  $\log_{10}$  del número de pares de bases que conforman la molécula (Sambrook *et al.*, 1989). Para determinar el tamaño de los fragmentos se utilizó un marcador de peso molecular el 1 Kb DNA Ladder (Promega Corporation) que incluye un total de 13 bandas, entre 250 pb (pares de bases) y 10.000 pb. A partir de la migración de las bandas del marcador, se construyó en un papel semilogarítmico una curva en función del tamaño del ADN (en pares de bases) en el eje de las ordenadas y la distancia de migración (en cm) en el eje de abscisas, que permitió determinar el tamaño de los fragmentos amplificados.

#### **4.2.5 Análisis estadístico de los datos obtenidos**

##### **4.2.5.1 Análisis de agrupamientos y de Coordenadas Principales.**

Para el análisis de los datos se generó una matriz binaria, a partir de los documentos fotográficos de los fragmentos de ADN amplificados y separados por electroforesis. Esta es una matriz  $n \times t$  donde las  $n$  filas representan las bandas ISSR (caracteres o variables) y las  $t$  columnas representan los genotipos (OTU-Unidades Taxonómicas Operativas) (Sneath y Sokal, 1973).

Para cada cebador se consideró presencia (1) o ausencia (0) de bandas.

La similitud entre los genotipos se cuantificó aplicando el coeficiente de asociación Dice que mide las coincidencias y diferencias entre los estados de los caracteres de ambos genotipos (Legendre y Legendre, 1983).

El coeficiente de Dice se expresa por la fórmula:  $S_{ij} = 2a/(2a+b+c+d)$ , donde  $S_{ij}$  es la similitud entre dos individuos,  $i$  y  $j$ ;  $a$  es el número de bandas presentes en ambos  $i$  y  $j$ ;  $b$  es el número de bandas presentes en  $i$  y ausentes en  $j$ ;  $c$  es el número de bandas presentes en  $j$  y ausentes en  $i$ , y  $d$  es el número de bandas ausentes en ambos. Los valores de similitud oscilan entre 1 y 0, que equivalen a la máxima y mínima similitud, respectivamente.

El análisis de la matriz de similitud se realizó con la técnica de UPGMA (unweighted pair-group method using arithmetic averages) y se generó un fenograma. Para medir el grado en que el fenograma representa los valores de la matriz de similitud, se aplicó el coeficiente de correlación cofenética (CCC). Se construyó una nueva matriz de similitud a partir de los valores del fenograma denominada matriz cofenética y se calculó la correlación existente entre los valores de dicha matriz y los de la matriz de similitud original. Generalmente los valores obtenidos oscilan entre 0.6 y 0.95, de modo que valores superiores a 0.8 indican una escasa distorsión o una buena representación de la matriz de similitud por parte del fenograma (Sneath y Sokal, 1973).

Como método de ordenación se utilizó el Análisis de Coordenadas Principales (Gower, 1966). En términos generales la técnica se basa en la representación gráfica de los genotipos en un espacio multidimensional donde todos los caracteres contribuyen de manera diferencial a todos los ejes. Este análisis sitúa a los individuos en un espacio factorial reducido, preservando entre ellos las relaciones de distancia descritas por la medida de similitud. La representación de estos objetos dentro del espacio de las primeras coordenadas principales es la mejor aproximación posible de estas distancias dentro del espacio reducido (Legendre y Legendre, 1983).

Para llevar a cabo el Análisis de Coordenadas Principales y generar los fenogramas por UPGMA se utilizó el programa NTSYS-pc 2.02 (Rohlf, 1998).

##### **4.2.5.2 Análisis de la varianza molecular.**

El análisis de varianza molecular, AMOVA (Excoffier *et al.*, 1992) se empleó para particionar la varianza en sus componentes jerárquicos y para probar la significancia de los mismos. En este caso se analizó la variabilidad entre los grupos de

anastomosis y entre sitios de recolección. El procedimiento se basa en un análisis de varianza clásico que utiliza distancia entre haplotipos. En esta tesis el término haplotipo se utiliza para designar los patrones multilocus o perfiles de bandas obtenidos mediante la amplificación por PCR. La matriz de distancia se construyó empleando el coeficiente de distancia Euclideano equivalente al número de diferencias entre los patrones de amplificación de dos individuos. Para establecer el nivel de significancia de los componentes de la varianza se obtuvo el estadístico  $\phi$  (similar al estadístico F) mediante permutaciones al azar. La probabilidad de obtener por azar un estadístico mayor que el observado se toma como el nivel de significancia estadística. Para el análisis de varianza molecular se utilizó el software Arlequín versión 2.0 (Schneider *et al.*, 2000).

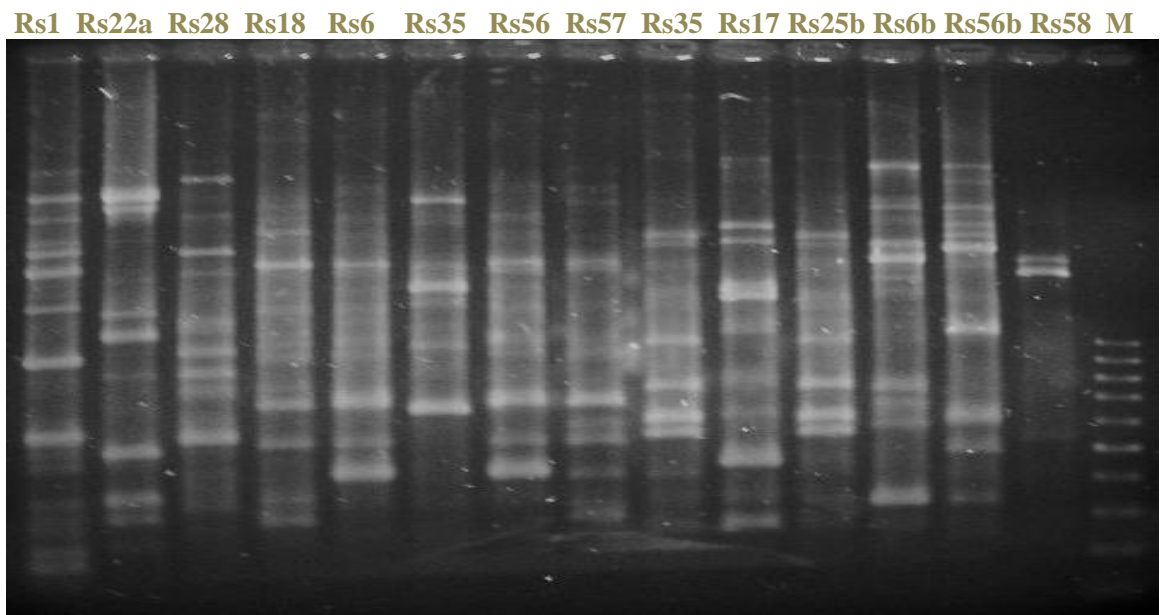
### 4.3 Resultados

#### 4.3.1 Bandas polimórficas

Se trabajó con 22 cebadores, de los cuales 9 generaron patrones de bandas polimórficas para todos los genotipos (Figura 4.2, Tabla 4.2).

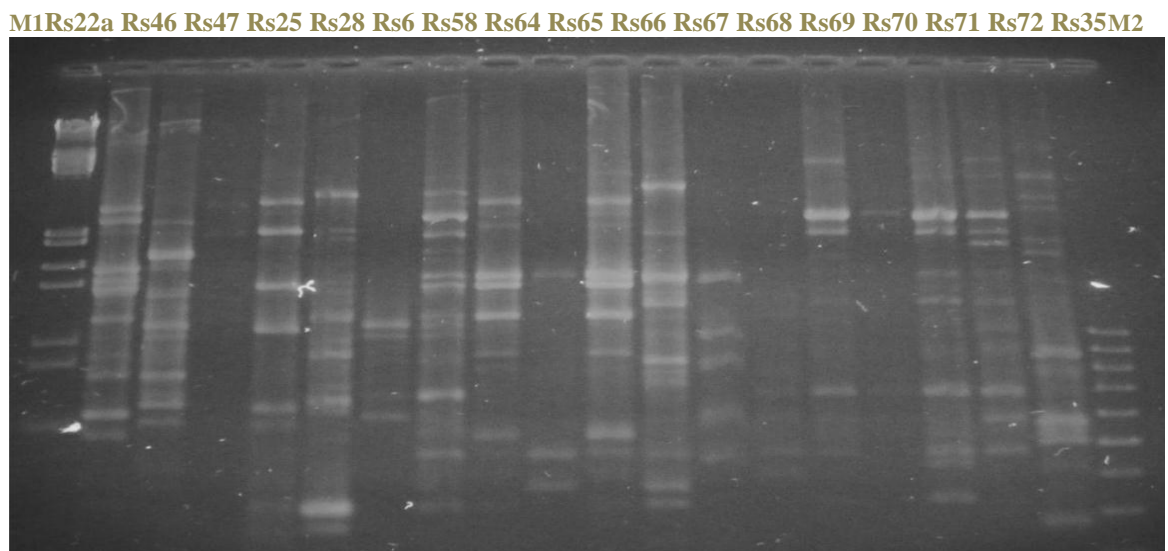
**Tabla 4.2.** Productos de amplificación generados con cada cebador ISSR.

Nombre	Secuencia (5'-3')	Temperatura de apareamiento (°C)	Número de bandas polimórficas	Tamaño de los fragmentos amplificados
<b>AN</b>	(CAA) <sub>5</sub>	48	32	240-3050 pb
<b>LA5</b>	CAG(AAC) <sub>5</sub>	52,9	37	410-3533 pb
<b>G</b>	GAG(CAA) <sub>5</sub>	57,6	25	200-3500 pb
<b>IA5</b>	ACA(CAA) <sub>5</sub>	52	36	290-3500 pb
<b>GA5</b>	TCA(GT) <sub>8</sub>	48,1	32	580-3530 pb
<b>BA5</b>	GAG(GAA) <sub>5</sub>	53	49	200-2605 pb
<b>FA5</b>	TAC(GT) <sub>8</sub>	56	43	250-3380 pb
<b>C</b>	(AG) <sub>8</sub> CG	51,4	40	220-4973 pb
<b>AA5</b>	GAG(AAG) <sub>5</sub>	50,1	40	350-4973 pb

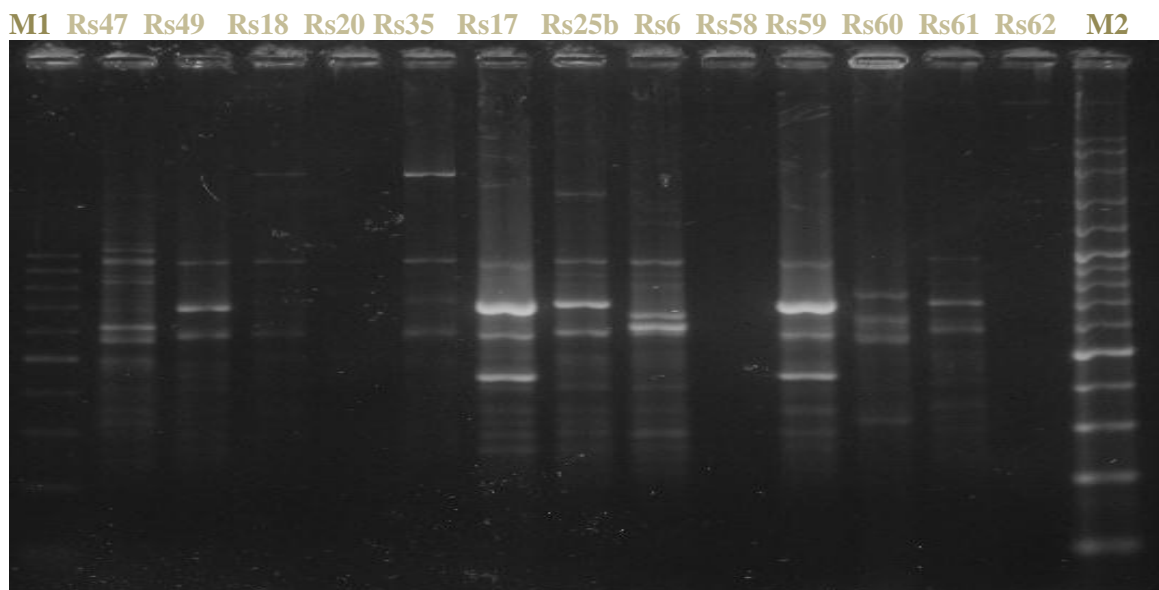


**Figura 4.2.** Perfiles ISSR de 14 cepas de *Rhizoctonia solani* utilizando el cebador C. M: Marcador de peso molecular 100-1000pb (Inbio).

Todos los cebadores generaron bandas polimórficas. El promedio de bandas polimórficas generadas fue de 37, con un rango de fragmentos amplificados de 200 a 4973pb. El cebador ISSR que generó mayor cantidad de bandas fue el *primer* FA5 con un total de 49; asimismo el primer G, mostró el menor número de bandas (25 bandas) (Tabla 4.2; Figuras 4.3 y 4.4).



**Figura 4.3.** Perfiles ISSR de 19 cepas de *Rhizoctonia solani* utilizando el cebador FA5. M1: Marcador de peso molecular 1kb (Invitrogen) y M2: Marcador de peso molecular 100-1000pb (Inbio)

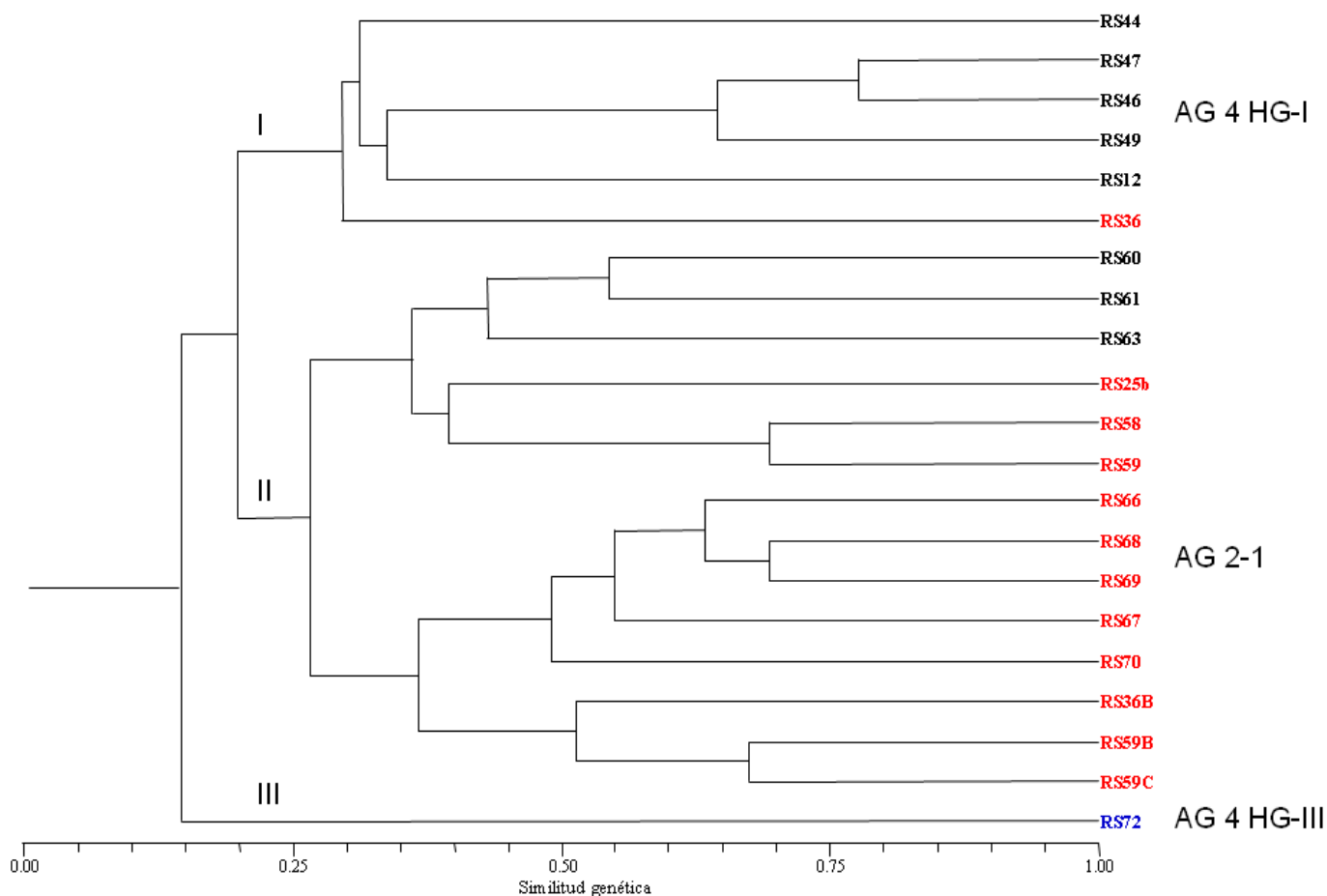


**Figura 4.4.** Perfiles ISSR de 14 cepas de *Rhizoctonia solani* utilizando el cebador G. M1: Marcador de peso molecular 1kb (Invitrogen) y M2: Marcador de peso molecular 100-1000pb (Inbio)

#### **4.3.2 Análisis de agrupamientos y de coordenadas principales**

En base a los fragmentos amplificados para cada aislamiento se estableció la similitud utilizando el coeficiente Dice y se generó un fenograma (CCC=0.88495) (Figura 4.5).





**Figura 4.5.** Fenograma de 21 aislados de *Rhizoctonia solani* analizados con marcadores ISSR (Coeficiente de similitud de Dice, CCC=0,89). Grupos de anastomosis: AG 2-1 (rojo), AG 4 HG-I (negro), AG 4 HG-III (azul).

En el fenograma se observan dos clusters o agrupamientos mayores. La mayoría de los aislados identificados como AG 4 HG-I se agruparon en el cluster I con un coeficiente de similitud de 0,30. Mientras que todos los aislados pertenecientes al grupo de anastomosis AG 2-1 se agruparon en el cluster II con un coeficiente de similitud de 0,27. El aislamiento RS72 identificado como AG 4 HG-III se agrupó por fuera de los clusters anteriores mostrando baja similitud con el resto de los aislados.

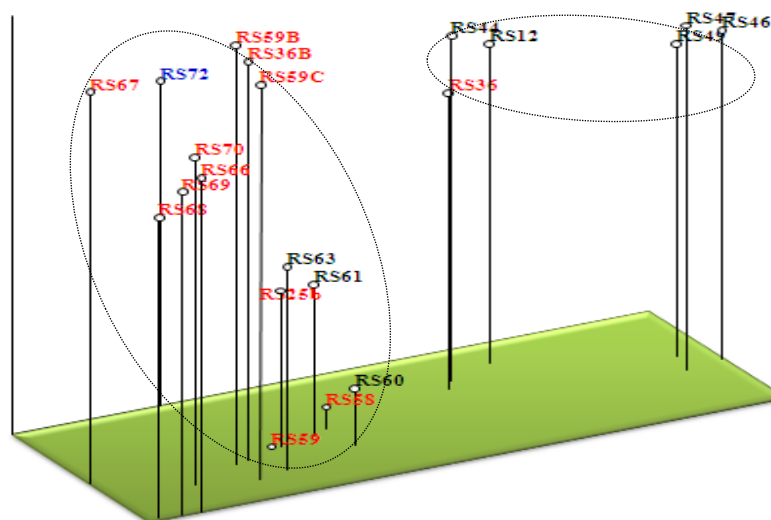
Algunos aislados pertenecientes a AG 4 HG-I (RS60, RS61 y RS63) se agruparon en el cluster II y el aislamiento RS36 (AG 2-1) se agrupó con el cluster I.

Al aplicar el método de ordenación las tres primeras coordenadas calculadas acumularon más del 50% de la variación de los genotipos (Tabla 4.3).

**Tabla 4.3.** Eigenvalores de las primeras cinco coordenadas principales aplicando el coeficiente de asociación de Dice. CP (Coordenada principal).

CP	Eigenvalor	Porcentaje	Acumulado
1	6,63803375	31,6097	31,6097
2	2,19061529	10,4315	42,0412
3	1,83960034	8,7600	50,8012
4	1,23807343	5,8956	56,6968
5	1,10741239	5,2734	61,9702

En la figura 4.6, se observa gráficamente como las coordenadas ordenan a los individuos en dos grupos que coinciden con los grupos de anastomosis AG 2-1 y AG 4 HG-I. La primera coordenada principal ordena en el extremo derecho del grafico a la mayoría de los aislados AG 4 HG-I y en el izquierdo a los AG 2-1 en concordancia con los clusters I y II del fenograma. La segunda coordenada principal agrupa en el extremo derecho hacia atrás a los individuos AG 4 HG-I, estando presente el aislamiento Rs36 (AG 2-1). Asimismo en el extremo izquierdo hacia atrás se agrupan más homogéneamente los individuos AG 2-1, estando incluido en este grupo el aislamiento Rs72 perteneciente al grupo de anastomosis AG 4 HG-III. Por otro lado en el extremo izquierdo hacia adelante están ordenados de manera heterogénea individuos AG 2-1 (Rs25b, Rs58, Rs59) y AG 4 HG-I (Rs63, Rs61, Rs60). La variación total expresada en el grafico es de 50,8%.



**Figura 4.6.** Análisis de Coordenadas Principales de 21 aislados de *Rhizoctonia solani* analizados con marcadores ISSR. Coeficiente de similitud Dice, % de variabilidad total (50,8). Grupos de anastomosis: AG 2-1 (rojo), AG 4 HG-I (negro), AG 4 HG-III (azul).

### 4.3.3 Análisis de la Varianza Molecular (AMOVA)

El resultado del Análisis de la Varianza Molecular se muestra en las Tablas 4.4, 4.5 y 4.6. El AMOVA indicó que la mayor parte de la variabilidad (86,92%) está dada por diferencias genéticas dentro de los grupos de anastomosis ( $\phi_{st}=0,13080$ ;

$p < 0,0000001$ ), mientras que el 13,08% restante se debió a diferencias entre los AG (Tabla 4.4).

**Tabla 4.4.** Análisis de la varianza molecular existente en los aislados de *Rhizoctonia solani*.

Fuente de Variación	% de la varianza total	Estadístico $\phi$	$p$
Entre AGs	13,08	$\phi_{st} = 0,13080$	$<0,0000001$
Dentro de AGs	86,92		

Al analizar los aislados de *R. solani* pertenecientes a los grupos de anastomosis AG 2-1 y AG 4, en forma independiente y en función del sitio de recolección, el AMOVA reveló que no existe una diferencia significativa entre sitios con un elevado polimorfismo dentro de los departamentos de donde se obtuvieron los aislados evaluados. (Tabla 4.5).

**Tabla 4.5.** Análisis de la varianza molecular existente en los aislados de *Rhizoctonia solani* AG 2-1

Fuente de variación	% de la varianza total	Estadístico $\phi$	$p$
<b>AG 2-1</b>			
Entre sitios	8,14 %	$\phi_{st} = 0,08142$	0,05865
Dentro de sitios	91,86 %		
<b>AG 4</b>			
Entre sitios	18,52 %	$\phi_{st} = 0,18524$	0,06452
Dentro de sitios	81,48 %		

#### 4.4 Discusión

Los análisis de ADN permiten la proyección de las regiones aleatorias del genoma de hongos para identificar las especies. Estos se utilizan generalmente para estudiar la estructura filogenética de las poblaciones de hongos. Sin embargo, estas técnicas han sido también útiles para la identificación de secuencias específicas utilizadas para la detección de hongos a nivel taxonómico, e incluso para diferenciar las cepas de la misma especie con rango diferente de hospedante, virulencia, grupo de compatibilidad o de tipo de apareamiento (Capote *et al.*, 2012).

Los marcadores moleculares son una herramienta importante para la caracterización genética en hongos fitopatógenos donde los estudios morfológicos no son suficientes para obtener resultados certeros (Sharma *et al.*, 2005).

La técnica de ISSR ha sido empleada satisfactoriamente para determinar la variabilidad en diferentes fitopatógenos, tales como *Phytophthora cactorum* (Hantula *et al.*, 2000), *Fusarium culmuron* (Mishra *et al.*, 2003), *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (Balmas *et al.*, 2005) y *M. phaseolina* (Jana *et al.*, 2005; Martínez-Hilders y Laurentin, 2012).

Los marcadores ISSR no se han usado anteriormente para los análisis de diversidad genética de *Rhizoctonia* procedentes de cultivos de tabaco en Argentina.

En este estudio se probaron 22 cebadores, de los cuales nueve generaron patrones de bandas polimórficas para todos los genotipos, encontrando un elevado nivel de polimorfismo entre los aislados de *Rhizoctonia* en tabaco. Esto coincide con numerosas investigaciones que han utilizado marcadores moleculares (Yang *et al.*,

1996; Ceresini *et al.*, 2002; Justesen *et al.*, 2003; Balali *et al.*, 2007; Mirmajlessi *et al.*, 2012; Zhou *et al.*, 2014).

En el presente estudio los marcadores ISSR permitieron agrupar a la mayoría de los aislados por grupo de anastomosis (AG 2-1, AG 4 HG-I, AG 4 HG-III). Dubey *et al.* (2012), analizaron la diversidad genética de 89 aislados de *R. solani* mediante ISSR, diferenciando grupos y subgrupos del hongo por AG. Stodart *et al.* (2007) lograron separar por marcadores ISSR aislados de *R. solani* obtenidos de remolacha azucarera en grupos y subgrupos (AG 2-1, AG 2-2, AG 2-2 IIIB y AG 2-2 IV). Dubey *et al.* (2012), evaluaron 89 aislados de *R. solani* obtenidos de 21 estados de la India, analizando siete grupos de anastomosis mediante los cebadores URPs, RAPD e ISSR, logrando la agrupación por AGs. Zhou *et al.*, 2014 analizaron 98 aislados de *R. solani* colectados de Alberta en Canadá, logrando separar mediante ISSR en 4 grupos de anastomosis AG 2-1, AG 2-2, AG 4, AG 8.

En este trabajo se obtuvieron patrones de bandas únicos para todos los aislados. El número de haplotipos observados con ISSR fue de un total de 21, lo que permitió identificar al 100% de los aislados con patrones de bandas únicos. Esta alta diversidad de haplotipos en *R. solani* se encuentra en concordancia con los resultados obtenidos por Taheri y Tarighi (2012) quienes reportaron un alto número de haplotipos para AG 2-2 empleando marcadores AFLP. También Khodayari *et al.* (2009), emplearon marcadores ISSR para analizar 25 aislados de *R. solani* AG 1 IA, reportando de 87 a 100% de bandas polimórficas. Dubey *et al.* (2012), analizaron 89 aislados de *R. solani* con 23 cebadores ISSR, obteniendo un 99,7% de polimorfismo. Asimismo Yang *et al.* (1996), indicaron una variación considerable entre aislados de *R. solani* AG 9. Además Mahmoodi *et al.* (2005), reportaron una alta diversidad genética entre aislados de *R. solani* AG 1 y AG 4, obtenidos de remolacha azucarera de diferentes regiones de Irán.

En el análisis de la varianza molecular (AMOVA) de los patrones de amplificación se comprobaron diferencias significativas entre grupos de anastomosis. Estos resultados coinciden con la diferenciación entre AG observada en el análisis de secuencias ITS realizado en el capítulo III, sugiriendo la existencia de regiones del genoma conservadas entre individuos de un mismo AG. No se observó diferenciación significativa, en base a los patrones moleculares, entre aislados de diferentes sitios de recolección, surgiendo la hipótesis de que el flujo génico estaría contribuyendo significativamente a la estructura poblacional del patógeno. Estos resultados podrían estar reflejando la dispersión natural del patógeno a través de propágulos asexuales (micelio, esclerocios) o transporte directo de material infectado. Resultados similares fueron observados por Montero-Tavera *et al.* (2013) al analizar aislados de *R. solani* de *Capsicum annum* de diferentes localidades en México. De igual manera Mirmajlessi *et al.* (2012), observaron una alta variabilidad genética entre aislados de *R. solani* AG 4, sin encontrar relación entre la diversidad observada y el origen de los aislados.

A pesar de que no existen reportes del estado teleomórfico (*Thanatephorus cucumeris*), en condiciones naturales asociados al cultivo de tabaco en el NOA, existen registros del mismo en otras regiones del mundo (Shew y Main, 1985; González *et al.*, 2011). El alto nivel de haplotipos observados en este estudio indicaría que la recombinación sexual podría estar ocurriendo en el campo. La dispersión de los propágulos sexuales podría contribuir en mayor medida a la distribución temporal y espacial del patógeno, generando además mayor diversidad genética en la población (Cubeta y Vilgalys, 1997; González *et al.* 2012).

Diferentes factores estarían ejerciendo presión de selección sobre la población del fitopatógeno, teniendo en cuenta que *Rhizoctonia* presenta una gran capacidad de

generar diversidad genética a través de mutaciones que le otorgan ventajas adaptativas. Como señala McDonald y Linde (2002), la población de este patógeno puede reaccionar de manera rápida y fácil ante cambios de factores en el ambiente como lo son las prácticas para su control en el campo. Uno de los factores que puede influenciar en este cambio es el uso de variedades con genotipos similares. Un estudio de la variabilidad genética de germoplasma de tabaco Tipo Virginia en el NOA, realizado empleando marcadores ISSR y SSR en 12 variedades comerciales y cinco conservadas en el Banco de germoplasma del NOA, reveló la existencia de una estrecha base genética entre las variedades utilizadas en la zona (Cuellar *et al.*, 2013). Esto coincide con reportes de diferentes autores a nivel mundial (Ren y Timko, 2001; Zhang *et al.*, 2006; Zhang *et al.*, 2008). De los resultados mencionados se puede hipotetizar que la amplia variabilidad genética observada en los aislados de *R. solani*, no sería producto únicamente del uso de diferentes variedades de tabaco con estrecha base genética, sino también del manejo que se realiza en el cultivo como ser la fertilización, riego, el empleo de escasos productos fitosanitarios y el incremento de dosis empleados para el control de esta enfermedad, además de no realizarse rotaciones en el cultivo. Estos factores estarían ejerciendo una presión de selección sobre la población del fitopatógeno, favoreciendo el origen de nuevos genotipos a partir de los cuales pueden surgir nuevas epidemias.

#### **4.5 Conclusión**

- La técnica de ISSR permitió detectar gran variabilidad genética en los aislados de *Rhizoctonia solani* estudiados, agrupándolos en su mayoría según grupo y subgrupo de anastomosis.
- La alta variabilidad genética existente entre y dentro de AGs, indicaría que la población tiene una amplia capacidad adaptativa, lo cual requiere de un desarrollo de estrategias integrales para el manejo de la enfermedad.
- Es importante destacar que este es el primer estudio de variabilidad genética de aislados de *Rhizoctonia solani* obtenidos de tabaco en el país.



---

# Capítulo V

---

Dinámica temporal de *Rhizoctonia solani*

Kühn en diferentes variedades de tabaco

Tipo Virginia

---





## CAPÍTULO V

### Dinámica temporal de *Rhizoctonia solani* Kühn en diferentes variedades de tabaco

#### Tipo Virginia

##### 5.1 Introducción

Una **epidemia** se define como la dinámica de cambio de una enfermedad, pudiendo ser cualquier cambio a nivel de estructura o función de una población de plantas inducida por una población de patógenos. Este cambio puede ser detectado cuando se estudia una población en el tiempo y espacio (Mora Aguilera *et al.*, 2012). Este análisis de la epidemia y de los factores que la influyen, es llamada epidemiología (Agrios, 2005).

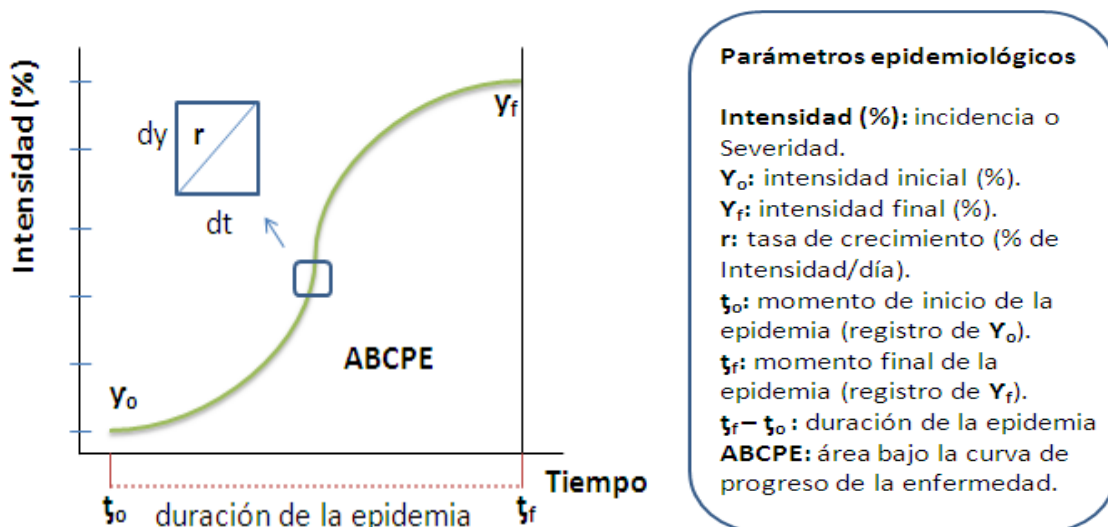
La **epidemiología** se destaca como una ciencia *cuantitativa* dentro de la fitopatología y es la encargada de analizar los efectos e importancia de variables cuantitativas para describir y entender la dinámica de una epidemia (Mora Aguilera *et al.*, 2012). De la historia del estudio de epidemias de enfermedades de plantas, el libro de Vanderplank (1963) titulado *Plant Disease: Epidemics and Control*, plasma una de las ideas más brillantes en esta área, la cual fue la cuantificar la enfermedad a través de los parámetros epidemiológicos. Es así que la epidemiología presenta dos objetivos, la comprensión de la estructura y comportamiento de las enfermedades en el campo y el principal objetivo que es la optimización del control de patologías (Bergamin Filho, 1995).

Asimismo es importante destacar que esta ciencia de mediciones es también una ciencia de *razonamiento integral* sobre bases biológicas. Es así que el análisis de la misma que durante mucho tiempo se la vio desde el tetraedro de la enfermedad, pasa hoy en día a visualizarse como un Sistema Epidemiológico formado por un conjunto de factores que determinan la intensidad de una epidemia (Mora Aguilera *et al.* 2012).

##### 5.1.1 Progreso temporal de una epidemia

El patrón de comportamiento de una epidemia en términos del número de lesiones, la cantidad de tejido dañado o el número de plantas enfermas, se puede representar por una curva que muestra el avance de la epidemia a través del tiempo. Esta curva se conoce como curva de progreso de la enfermedad y es el resultado de graficar la cantidad de enfermedad en una población de plantas en el tiempo (Achicano y López, 2000).

En los estudios temporales, los procesos biológicos, condicionados por el ambiente, se representan con una sucesión de cambios de intensidad de enfermedad expresados numéricamente en un solo valor  $y_i$  en un tiempo dado  $t_i$ . Esto se visualiza en una curva de progreso de enfermedad con los parámetros epidemiológicos que la caracterizan, resultado de la interacción del hospedante (cultivo), el patógeno (su vector), el ambiente (clima, suelo, etc.) y el hombre a través del manejo del sistema productivo, en una relación única en el transcurso del tiempo (Figura 5.1) (March *et al.*, 2010).



**Figura 5.1.** Curva de progreso de una epidemia y parámetros epidemiológicos que la caracterizan (March *et al.*, 2010).

En el contexto de un agroecosistema, es sabido que el manejo de cultivo interfiere en el comportamiento de las epidemias tanto en intensidad como en estructura. Claramente esto se puede observar en el punto de origen y forma de la curva, las cuales indican el período de aparición y la cantidad de inóculo inicial, la resistencia o susceptibilidad del hospedante, los factores climáticos y la efectividad de las medidas de control. El conocimiento de las curvas de progreso de una epidemia, su análisis y entendimiento, nos permitirán generar las bases para el desarrollo de estrategias de manejo (March *et al.*, 2010).

### 5.1.2- Utilización de modelos

El desarrollo dinámico de una epidemia es complejo, por lo cual en epidemiología, se utiliza en gran medida observaciones, mediciones, fórmulas matemáticas y estadísticas, así como la computación, que permiten representar esa dinámica de la epidemia, en términos de ecuaciones y de modelos matemáticos. Estos últimos son capaces de resumir en forma de expresiones matemáticas relativamente simples, la relación existente entre la enfermedad y el tiempo (Mora Aguilera *et al.* 2012).

Los modelos matemáticos o estadísticos empleados en el análisis del progreso de una epidemia son clasificados en dos grupos: empíricos o descriptivos y mecanísticos u exploratorios.

*Modelos empíricos:* son desarrollados para describir una relación observada entre dos o más variables. Estos modelos simplemente correlacionan datos observados. De este modo no tienen incorporada ninguna información previamente conocida sobre las variables dependiente e independiente

*Modelos mecanísticos:* son desarrollados a partir de un concepto, una hipótesis o una teoría, y no de un conjunto de datos como los empíricos. El modelo, por lo tanto, es escrito basado en un concepto, y entonces podrá ser testeado en cuanto a su precisión para describir una realidad.

En epidemiología se utilizan comúnmente los modelos empíricos, dada su simplicidad. Estos se constituyen en una herramienta para comparar epidemias, distinguir variedades, tratamientos de fungicidas, técnicas de manejo, cuantificar pérdidas y daños (Bergamin Filho, 1995).

### **5.1.2.1 Modelos de simulación de progreso de las enfermedades (Empíricos)**

#### **5.1.2.1.1 Modelo Exponencial (Malthus, 1798):**

Es de los dos primeros el modelo más simple empleado para el estudio del aumento de poblaciones. Puede ser descripto como:

$$dx/dt = r_e x$$

donde  $r_e$  es la tasa de aumento específico para este modelo. La interpretación biológica de la ecuación indica que la velocidad de aumento de la enfermedad:  $dx/dt$ , también llamada tasa absoluta de aumento de enfermedad, es proporcional a la propia cantidad de enfermedad. A pesar de la simplicidad puede ser usado para las fases iniciales de la epidemia, cuando la cantidad de la enfermedad no excede el 5 %.

#### **5.1.2.1.2 Modelo Logístico (Verhulst, 1838):**

Este modelo ha sido el más empleado para describir el progreso de la enfermedad. La ecuación diferencial para este modelo puede ser descripta como:

$$dx/dt = r_l x (1-x)$$

donde  $r_l$  es la tasa de aumento específico o tasa de infección aparente como la denominó Vanderplank (1963) para este modelo y 1 es la cantidad máxima de la enfermedad. El factor de corrección (1-x) representa la cantidad de tejido sano. La interpretación biológica indica que una velocidad de aumento de enfermedad es proporcional a la propia cantidad de enfermedad y la cantidad de tejido sano disponible. Para cantidades pequeñas de enfermedad (debajo de 5 %) el modelo logístico se confunde con el exponencial. Graficando  $x$  respecto del tiempo, se origina una curva en forma de S, conocida como curva logística, simétrica en torno de  $x = 0,5$ .

#### **5.1.2.1.3 Modelo Gompertz (Gompertz, 1825):**

La ecuación puede ser descripta:

$$dx/dt = r_g x [-\ln(x)]$$

donde  $r_g$  es la tasa específica para este modelo. El gráfico de  $dx/dt$  (respecto del tiempo), como acontece con el modelo logístico, muestra incrementos crecientes hasta que se alcanza el punto de inflexión, seguido de incrementos decrecientes que tienden a cero. El punto de inflexión, diferente del logístico, ocurre en el punto  $x = 0,37$  (1/e), resultando un curva  $dx/dt$  asimétrica inclinada hacia la izquierda. El gráfico de  $x$  respecto del tiempo, origina una curva también en forma de S pero se diferencia de la logística por su crecimiento más acentuado en el inicio. Este modelo, así como el logístico, es especialmente útil para describir enfermedades policíclicas (que presentan más de un ciclo infeccioso por ciclo del cultivo).

#### **5.1.2.1.4 Modelo Monomolecular (Mitscherlich, 1909):**

En este modelo la velocidad de aumento de la enfermedad es proporcional al inóculo inicial y la tasa, ambos supuestos constantes. La ecuación que describe el modelo es:

$$dx/dt = r_m (1-x)$$

donde  $r_m$  es la tasa específica para este modelo ( $r_m = \text{inóculo inicial} * \text{tasa}$ ) y (1-x) representa el tejido sano. El gráfico de  $dx/dt$  (respecto del tiempo) muestra que los incrementos son siempre decrecientes y que se aproximan a cero, en la medida que se agotan los tejidos sanos, originando una curva cóncava en relación a la abscisa, aproximándose asintóticamente a la cantidad máxima de enfermedad. Este modelo es especialmente útil para describir enfermedades monocíclicas (que presentan sólo un ciclo infeccioso por ciclo del cultivo).

### **5.1.2.2-Selección del modelo**

En el análisis de epidemias, uno de los pilares principales es la selección del modelo apropiado para describir el progreso de la enfermedad. Es importante porque los

parámetros estimados, son la base para el análisis estadístico y la comparación de las curvas de progreso.

La selección del modelo más apropiado, puede ser determinada en forma gráfica o analítica; esta última es la más común y se realiza mediante un análisis de regresión de mínimos cuadrados. De este análisis se debe tener en cuenta la significancia del modelo, significancia de los parámetros estimados, coeficiente de determinación ajustado, desviación estándar de la regresión lineal y el modelo de dispersión de los residuales vs los predichos (Cambell y Madden, 1990; Nutter y Parker, 1997).

### 5.1.3-Comparación de epidemias

La comparación de epidemias es la base para la comprensión de una epidemia. Nos ayuda a definir las similitudes y diferencias entre epidemias para una misma enfermedad ya sea en diferentes períodos, distintas localidades o bajo diferentes sistemas de manejo. Para ello es fundamental tener un buen conocimiento y entendimiento de la etiología, la ecología del hospedante y del patógeno y las epidemias estudiadas (Kranz, 2003).

Los parámetros epidemiológicos según Achicanoy Lopez (2000), utilizados para comparar las epidemias son:

**Tasa de incremento aparente (r):** cuantifica la relación hospedante-patógeno-ambiente. Indirectamente es la tasa inherente a la producción y dispersión del inóculo y a su incubación. Este parámetro suele ser utilizado para comparar tratamientos de productos fitosanitarios, prácticas culturales, comportamiento de cultivares, influencia de variables climáticas.

**Intensidad de la enfermedad inicial ( $y_0$ ):** es de principal ayuda para estimar indirectamente el inóculo infeccioso presente al inicio de una epidemia como consecuencia de un manejo determinado (fecha de siembra, rotación, labranzas, solarización), contaminación con semillas, mecanismo de dispersión del inóculo (viento, escorrentía de agua, labranzas).

**Área Bajo la Curva de Progreso de la Enfermedad (ABCPE):** integra todos los datos de la curva de progreso de la enfermedad, refleja su comienzo y las tasas epidémicas sin transformaciones. Como la duración de las epidemias puede variar, el ABCPE se divide por la duración ( $X_t$ ) para obtener el ABCPE estandarizada ( $ABCPE_e$ ); parámetro usado para comparar epidemias en distintos años y entre cultivares de distinto ciclo.

#### 5.1.3.1 Metodología de comparación

La comparación de epidemias puede ser clasificada en dos modalidades según el número de variables o parámetros incluidos: comparación univariada y comparación multivariada. La primera es la más frecuentemente usada por los epidemiólogos (Junior *et al.*, 2004).

Las metodologías empleadas para el análisis de **comparación univariada** son:

##### 5.1.3.1.1 Error estándar:

**5.1.3.1.1.1 Parámetros estimados para un mismo modelo:** el error estándar correspondiente a cada parámetro estimado al realizar el análisis de regresión lineal, puede utilizarse para establecer el intervalo de confianza correspondiente a la diferencia entre dos parámetros

$$(\mu_1 - \mu_2) \pm t [P/2; n_1 + n_2 - (2p)]. s[d]$$

donde  $\mu$  es el parámetro estimado,  $p$  es el número de parámetros de cada modelo;  $n_1$  y  $n_2$  el número de observaciones que se realizó para cada curva epidémica;  $t[ ]$  el valor de una tabla “t” con nivel de significancia  $P/2$  y  $[n_1 + n_2 - (2p)]$  grados de libertad, y  $s[d]$  el error estándar de la diferencias, que se calcula como la raíz cuadrada de la suma de las varianzas correspondientes a ambos parámetros:

$$s[d] = [s^2(\mu_1) + s^2(\mu_2)]^{1/2}$$

Si el intervalo de confianza no incluye a cero, los parámetros son significativamente diferentes a nivel de  $P$ .

#### 5.1.3.1.1.2 Parámetros estimados por distintos modelos:

Si los parámetros a comparar pertenecen a modelos distintos, se puede calcular la tasa absoluta media ponderada  $\rho$  (rho).

$$\rho = r * / 2m + 2$$

donde  $r$  es la tasa de infección aparente de los modelos molecular, Gompertz o logístico, que ha sido estimada por regresión lineal y  $m$  tiene los valores 0, 1 ó 2 para cada uno de ellos respectivamente. Por lo tanto, para obtener la tasa absoluta media ponderada ( $\rho$ ),  $r$  debe dividirse por 2, 4 ó 6, según sea la tasa de los modelos.

La tasa absoluta media ponderada puede usarse directamente para comparar las curvas epidémicas. Los valores de  $s$  obtenidos en el análisis de regresión lineal para cada parámetro estimado deben ser divididos también para obtener los correspondientes  $s^2$  ( $\rho$ ) de la ecuación

$$s[d] = [s^2(\mu_1) + s^2(\mu_2)]^{1/2}$$

#### 5.1.3.1.2 Prueba de “t”: Se usa el error estándar asociado

$$t = \frac{\mu_1 - \mu_2}{\sqrt{s^2 \mu_1 + s^2 \mu_2}}$$

Si el intervalo de  $t$  calculado es mayor o igual que el  $t$  de la tabla de “t”, hay diferencias significativas entre las tasas de infección aparente.

#### 5.1.3.1.3 Análisis de varianza

Es empleado cuando se tiene un diseño experimental con repeticiones, en lugar de usar el único valor de  $y$  correspondiente a cada evaluación en el tiempo, se puede usar los valores de  $y$  de cada una de las repeticiones en el análisis de regresión, o bien calcular la media de  $y$ , procediendo de acuerdo a lo desarrollado anteriormente.

#### 5.1.4 Aplicaciones

Las descripciones cuantitativas y análisis de temporal de una enfermedad fueron reconocidas y aplicadas desde el año 1930. Ware *et al.* (1932) y Ware y Young (1934), reportaron curvas ilustrando el efecto de la resistencia de un cultivar y el efecto de tratamientos de fertilización sobre la dinámica del marchitamiento del algodón. Large (1945, 1952), propuso el uso de la curva y tasa de progreso de la enfermedad como medidas demostrativas del beneficio de aplicación de fungicidas sobre el desarrollo del tizón tardío de la papa. Vanderplank (1963), marcó un punto clave en el análisis cuantitativo de datos epidemiológicos con sus contribuciones de los modelos. Introduciendo varios conceptos tales como la tasa de infección aparente, períodos de infección y latencia, demostró cómo las ecuaciones diferenciales podrían servir de base para cuantificar las curvas de progreso de la enfermedad y, por último, mostró el uso de estimaciones de los parámetros del modelo en la comparación de los efectos de tratamientos sobre el desarrollo de la enfermedad.

Posteriormente se registraron numerosos trabajos con aplicación de modelos y estimación de parámetros epidemiológicos. Campbell *et al.* (1984), analizaron el progreso del Black Shank (*Phytophthora nicotianae*) en tabaco, encontrando que los modelos más apropiados para describir la enfermedad fueron el Logístico y Gompertz. Burpee (1992), evaluó la resistencia de 35 cultivares de Festuca a *Rhizoctonia solani*. Para ello empleo el ABCPE, encontrando que este parámetro epidemiológico fue efectivo para detectar diferencias en susceptibilidad en los cultivares donde no fueron detectados por otros análisis de intensidad de la patología en diferentes tiempos. Pinto *et al.* (1998), analizaron las epidemias de la pudrición blanca del ajo (*Sclerotium cepivorum*), en diferentes épocas de plantación, evaluando día de inicio de la epidemia,

incidencia final de la enfermedad y duración de la epidemia, concluyendo que anticipándose a la época normal de plantación ocurre un atraso de la epidemia con menor duración y menor incidencia final de enfermedad.

Finalmente la resistencia genética en el manejo de enfermedades representa uno de los avances tecnológicos más importantes en la agricultura. Teniendo en cuenta la necesidad de reducción del uso de productos fitosanitarios y la implementación de una técnica que conduzca a una agricultura sustentable; este manejo se muestra como uno de los más deseables de alcanzar. Para lograr esto es de importancia realizar el estudio de la variabilidad existente en las variedades que se cultivan en la zona. Gil *et al.* (1992), evaluaron 12 variedades de tabaco Tipo Virginia, midiendo las principales características morfológicas requeridas por el mercado y la resistencia a las principales enfermedades en Cuba, encontrando dos variedades resistentes a *P. nicotianae* y de buena producción. Peñalver Martínez y González Guardiola (2001), han caracterizado morfológicamente dos aislados de *R. solani* y evaluaron el comportamiento de nueve variedades y líneas de tabaco en invernáculo. Destacaron tres líneas y una variedad comercial cuando se inoculó en la primera semana después del trasplante. Díaz *et al.* (2011), obtuvieron por cruzamiento tres líneas con alto rendimiento y que presentaban resistencia a *Peronospora tabacina*, *P. nicotianae* y a los nematodos del tipo *Meloidogyne incógnita*. En Argentina no existen investigaciones de variedades de tabaco utilizadas en las zonas productoras que estudien desde la epidemiología temporal, la relación con resistencia a enfermedades y teniendo en cuenta que las variedades utilizadas en el mundo son diferentes a las empleadas en nuestra producción, sería un aporte significativo el estudio de las mismas como un eslabón más dentro del manejo integrado.

### 5.1.5 Objetivos

- Evaluar variedades de tabaco en invernáculo frente a infecciones controladas por *R. solani*.
- Evaluar variedades de tabaco a campo frente a infecciones naturales por *R. solani*.
- Estimar la influencia de la temperatura, humedad relativa y precipitación sobre la intensidad (incidencia y severidad) de la podredumbre radicular por *R. solani* y el rendimiento.

## 5.2 Materiales y métodos

### 5.2.1 Evaluación del comportamiento sanitario de diferentes variedades de tabaco en invernáculo

Para la evaluación de las variedades en invernáculo, se emplearon las variedades MB37, PVH2291, PVH2275, PVH2299, PVH2254, PVH2241, K394, C69, PVH2248, NC471, NC196, PVEH189, B91, MB47, K326. El diseño experimental fue un diseño completamente aleatorizado (DCA) con 15 tratamientos y tres repeticiones. La unidad experimental constó de una bandeja con suelo esterilizado (1,5 Kg) a los cuales se le colocó 15 plantas de 60 días de edad, a éstas se le aplicó 15 gramos de granos de trigo colonizados por un aislamiento de *R. solani* AG 4 HG-I (seleccionado por ser el grupo de anastomosis más prevalente y la cepa de mayor agresividad= Rs 47) de 7 días de incubación en activo crecimiento a nivel del cuello en el suelo. (Figura 5.2). El desarrollo de la enfermedad se evaluó a los cinco días considerando incidencia y severidad con una escala según Carling y Leiner (1990b), de 1 a 5 (1=sin lesiones; 2=lesiones 2,5 a 5mm; 3=lesiones 5mm a 20mm; 4=lesiones  $\geq$ 20mm estrangulamiento del cuello y marchitamiento foliar; 5=muerte de la plántula). Además se determinó peso

seco de hoja, tallo y raíz de las variedades inoculadas y sus testigos, a los fines de calcular el porcentaje de reducción de peso por la enfermedad. Para el análisis de datos se aplicó para la variable incidencia y severidad un ANOVA y Test de Tukey para comparación de medias ( $p \leq 0,05$ ), y para la variable peso seco, la prueba de Wilcoxon. Para ello se utilizó el software estadístico InfoStat versión 2011 (Di Rienzo *et al.*, 2011).



**Figura 5.2.** Inoculación de *Rhizoctonia solani* en plantas. a) Diferentes variedades de tabaco en cámara de incubación. b) suelo empleado en las bandejas donde se colocaron los plantines. c) placa de Petri con granos de trigo colonizados por *Rhizoctonia solani*. d) detalle del grano de trigo colonizado.

## 5.2.2 Evaluación del comportamiento sanitario de diferentes variedades de tabaco en campo

### 5.2.2.1 Diseño de la investigación

Este estudio se llevó a cabo en lotes comerciales de tabaco en tres localidades agroecológicas de Salta (Chicoana, Cerrillos, Colon y San Agustín), durante dos campañas agrícolas (2008/09 y 2009/10), en el caso de San Agustín, sólo se registraron los datos de la primera campaña, dado que en la segunda se perdió el ensayo a los 40 DDT (días después del transplante), por adversidad climática (granizo). Estos lotes fueron seleccionados por presentar antecedentes de la podredumbre radicular por *Rhizoctonia*. Se evaluaron 10 variedades de tabaco Virginia (Tabla 5.1). El diseño experimental fue de bloques al azar (DBCA) con 11 tratamientos y tres repeticiones.



Cada parcela constó de dos surcos de 12 m de largo cada uno, distancia entre surcos de 1,20 m y distancia entre plantas de 0,40 m.

La variable de cuantificación de enfermedad empleada fue la incidencia (número de plantas afectadas por la enfermedad/total de plantas observadas), la cual fue evaluada cada 15 días.

Se evaluó el peso de cada variedad por parcela. Los resultados obtenidos fueron analizados a través de ANOVA y Test de Tukey para comparación entre medias ( $p \leq 0,05$ ). Para ello se utilizó el software estadístico InfoStat versión 2011 (Di Rienzo *et al.*, 2011).

### **5.2.2.2 Análisis temporal de la podredumbre radicular por *Rhizoctonia***

#### **5.2.2.2.1 Curvas de progreso de la enfermedad**

Se graficó la incidencia de la enfermedad en función del tiempo para cada variedad según sitio y campaña agrícola, a los fines de obtener las respectivas curvas de progreso de la patología.

#### **5.2.2.2.2 Modelización de las curvas epidémicas**

Las curvas de crecimiento se ajustaron a los modelos exponencial, logístico, Gompertz y monomolecular. Para ello se efectuó un análisis de regresión lineal simple, utilizando el software estadístico InfoStat versión 2011 (Di Rienzo *et al.*, 2011). Se eligió el modelo que describió mejor el progreso de la enfermedad para cada variedad y sitio de estudio en base al coeficiente de determinación ajustado ( $R^2$ ) y la desviación estándar de la regresión lineal (Campbell y Madden, 1990)

#### **5.2.2.2.3 Comparación de epidemias**

Una vez seleccionado el mejor modelo se realizó la comparación de epidemias empleando la metodología del error estándar para parámetros estimados para un mismo modelo (Campbell y Madden, 1990) y para distintos modelos se realizó el cálculo la tasa absoluta media ponderada rho ( $\rho = r^* / 2m + 2$ ), donde  $r^*$  es la tasa de infección aparente de los modelos monomolecular, Gompertz o logístico, que ha sido estimada por regresión lineal, y  $m$  tiene los valores 0, 1 ó 2 para cada uno de ellos respectivamente (Achicanoy Lopez, 2000).

También se compararon las epidemias a través del ABCPE, empleando el programa ABCPE v1.1 desarrollado por Mora Aguilera, G. y Acevedo Sánchez, G.. Este programa utiliza el método de integración trapezoidal (Campbell y Madden, 1990) y utilizando la ecuación:

$$\text{ABCPE} = \sum [(y_i + y_{i+1})/2] (t_{i+1} - t_i)$$

Donde  $n$  es el número de mediciones de la enfermedad en el tiempo; el término  $(y_i + y_{i+1})/2$ , es el punto medio entre  $(y_i + y_{i+1})$  que representa la cantidad de enfermedad en un intervalo de tiempo, correspondiente a la altura de cada rectángulo; y el término  $(t_{i+1} - t_i)$  representa el tiempo entre dos evaluaciones de la enfermedad e indica la anchura de cada rectángulo. Estos cálculos se analizaron y compararon mediante el empleo del análisis de varianza y la prueba de comparación de medias múltiples de Tukey ( $p \leq 0,005$ ), utilizando el software estadístico InfoStat versión 2011 (Di Rienzo *et al.*, 2011).

Asimismo se analizó la relación entre el rendimiento (kg/ha) y el ABCPE por variedad y sitio evaluados.

### **5.2.3 Efecto de variables climatológicas sobre el desarrollo de la enfermedad**

Con el objetivo de estudiar el efecto de la precipitación, humedad relativa y temperatura sobre el progreso de la enfermedad en las 11 variedades bajo investigación,



se empleó en primera instancia el análisis de correlación de diferentes variables meteorológicas para todas las variedades sin considerar procedencia.

Asimismo por sitio se evaluó el efecto de diferentes variables meteorológicas sobre las variedades, efectuándose análisis de senderos (relación causa-efecto), correlación de Spearman y regresión lineal (Bowers *et al.*, 1990, Rodríguez González *et al.*, 2006).

### 5.3 Resultados

#### 5.3.1 Evaluación del comportamiento sanitario de diferentes variedades de tabaco en invernáculo

Se observó un comportamiento diferencial de las variedades frente a las inoculaciones del aislamiento Rs 47 identificado como *R. solani* AG 4 HG-I. Este comportamiento se visualizó en las siguientes variables evaluadas.

##### 5.3.1.1 Incidencia y severidad

Se encontró diferencias altamente significativas para las variables evaluadas ( $p < 0,0001$ ). La variedad MB37 fue la que obtuvo menor valor de incidencia (1,10%), siguiendo PVH2291 y PVH2271 con 9%; y la de mayor incidencia K326 con un 67%. Para la severidad las variedades MB37, PVH2291 y PVH2271 fueron las que obtuvieron menor grado de daño con un nivel de escala de 2 frente al resto, siendo la variedad K326 que obtuvo un nivel de 4. (Figura 5.3 Tabla 5.1).



**Figura 5.3.** Síntomas de la podredumbre radicular del tabaco por *Rhizoctonia solani* en las diferentes variedades ordenados según la escala de severidad de 5 grados (1=sin lesiones; 2=lesiones 2,5 a 5mm; 3=lesiones 5mm a 20mm; 4=lesiones  $\geq 20$ mm estrangulamiento del cuello y marchitamiento foliar; 5=muerte de la plántula).

**Tabla 5.1.** Valores promedios del porcentaje de incidencia (número de plántulas afectadas por la enfermedad/total de plántulas evaluadas por cien) y grado de severidad (escala de 1 a 5) de la podredumbre radicular en variedades del tabaco por *Rhizoctonia solani*

Variedades	Incidencia	Severidad
MB37	1,10 <b>A*</b>	1,80 <b>A</b>
PVH2291	9 <b>AB</b>	1,80 <b>A</b>
PVH2275	9 <b>AB</b>	1,81 <b>A</b>
PVH2299	13 <b>BC</b>	1,93 <b>AB</b>
PVH2254	15 <b>CD</b>	2,93 <b>CDEF</b>
PVH2241	18 <b>DE</b>	2,87 <b>BCDEF</b>
K394	25 <b>EF</b>	2,93 <b>CDEF</b>
C69	27 <b>FG</b>	2,80 <b>ABCDE</b>
PVH2248	31 <b>GH</b>	2,69 <b>ABCD</b>
NC741	35 <b>HI</b>	3,20 <b>CDEF</b>
NC196	41 <b>IJ</b>	3,67 <b>EF</b>
NC810	47 <b>JK</b>	2,80 <b>BCDE</b>
PVEH189	48 <b>KL</b>	3,60 <b>DEF</b>
B91	49 <b>LM</b>	2,53 <b>ABC</b>
MB47	51 <b>MN</b>	3,47 <b>CDEF</b>
K326	67 <b>N</b>	3,80 <b>F</b>

\* letras diferentes indican diferencias significativas Tukey  $p \leq 0,05$

### 5.3.1.2 Peso seco

La inoculación con *Rhizoctonia* redujo el peso seco en las diferentes variedades de tabaco inoculadas con respecto a sus correspondientes testigos, resultando en un porcentaje de pérdidas para hoja de 3 a 70%, tallo 11 a 23% y raíz de 22 a 50%. Las variedades MB37 y PVH2241 no se diferenciaron de sus testigos para el peso en los diferentes tejidos evaluados. Por el contrario las variedades que obtuvieron diferencias significativas con sus testigos fueron MB47 (hoja, tallo y raíz  $p=0,0022$ ), K326 (hoja  $p=0,0012$ , tallo y raíz  $p=0,0070$ ), PVEH189 (hoja  $p=0,0260$ , tallo  $p=0,0268$ , raíz  $p=0,0012$ ), NC471 (hoja, tallo y raíz  $p=0,0082$ ), PVH2254 (hoja y tallo  $p=0,0117$ , raíz  $p=0,0035$ ) y PVH2248 (hoja  $p=0,0043$ , tallo  $p=0,0195$ , raíz  $p=0,0022$ ). Asimismo las variedades C69 y NC196 no se diferenciaron de sus testigos en el peso seco de hojas. C69, PVH2291, 91B, NC810 y K394 no se diferenciaron de sus testigos en el peso seco de tallo. Finalmente las variedades 91B y PVH2275 no se diferenciaron de sus testigos en el peso seco de raíz. (Tabla S1- Anexo).

### 5.3.2 Evaluación del comportamiento sanitario de diferentes variedades de tabaco en campo

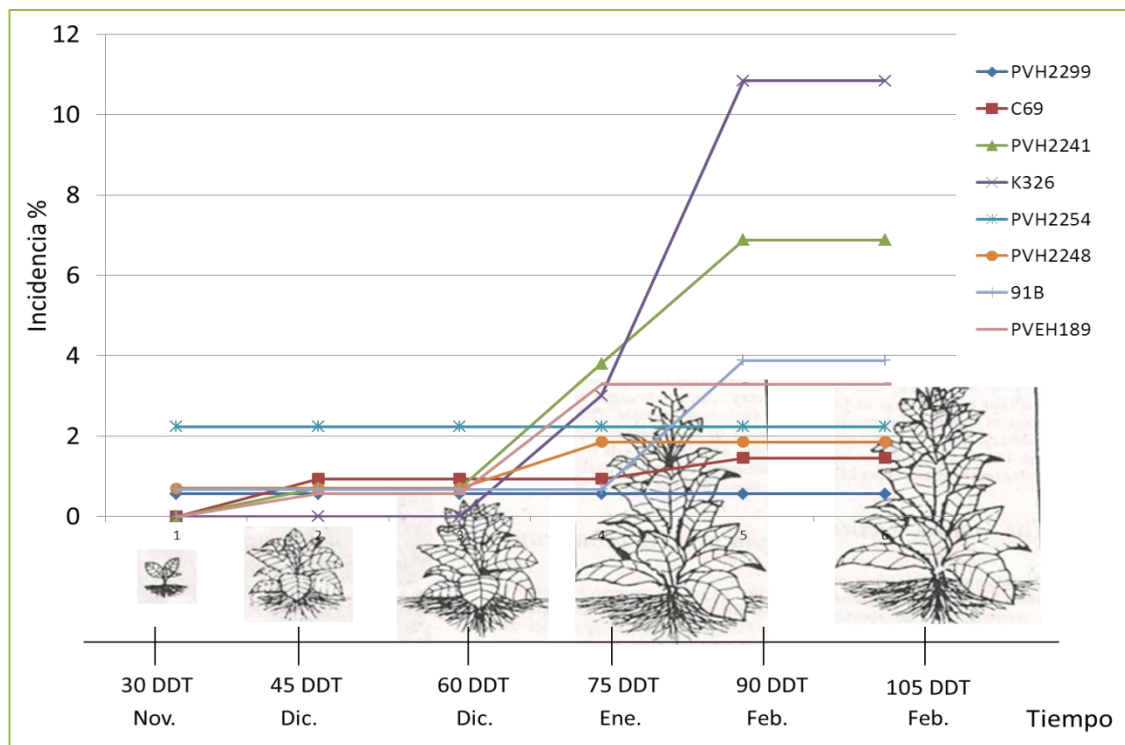
#### 5.3.2.1. Curvas de progreso de la enfermedad por sitio

Se graficó la incidencia en función del tiempo para cada variedad y sitio:

##### 5.3.2.1.1 Chicoana

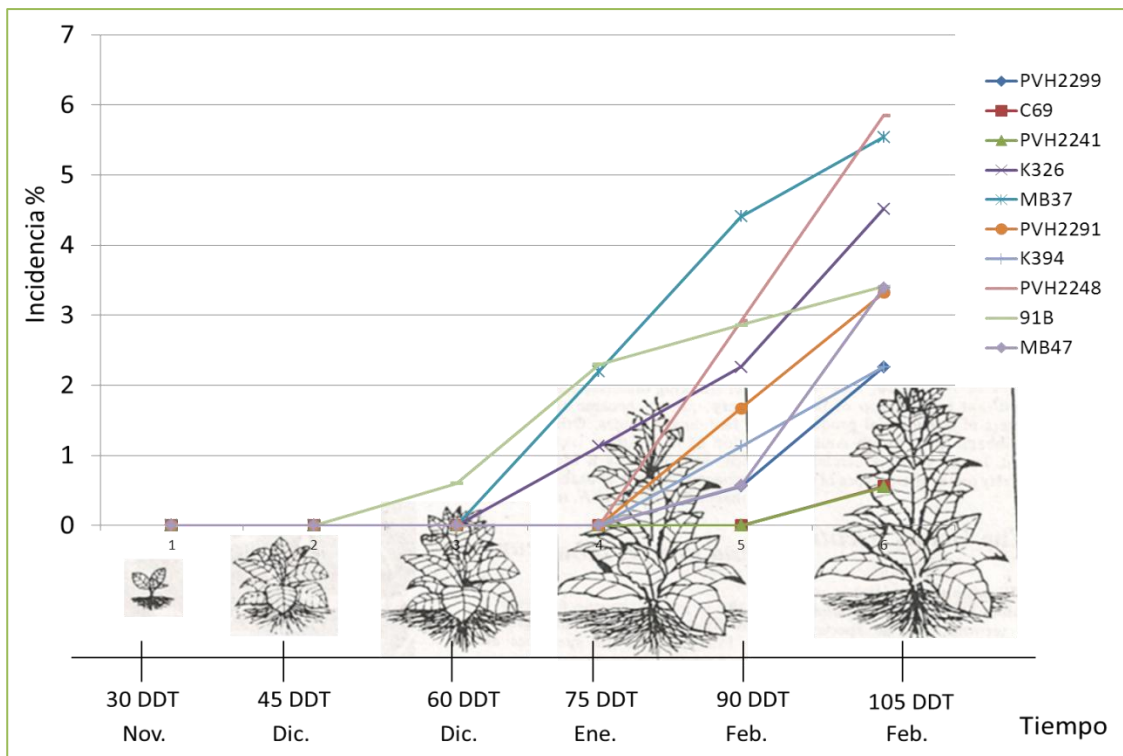
En la campaña agrícola 2008/09 las variedades NC471, PVH2291 y NC196 no manifestaron la enfermedad. Para el resto se registró el inicio de la epidemia a los 30DDT en las variedades PVH2299 y PVH2254, con 0,56 y 2,23% de incidencia, los cuales se mantuvieron constante hasta el último relevamiento de la enfermedad. A los 45DDT las variedades C69, PVH2241 y PVEH189 registraron 0,93, 0,71 y 0,57% de incidencia inicial incrementando los valores hasta 1,45, 6,88 y 3,29% de incidencia

final. A los 60DDT la variedad PVH2248 tuvo una incidencia inicial de 0,70% aumentando hasta 1,85% en el último registro. Finalmente a los 75DDT las variedades 91B y K326 manifestaron 0,67 y 3% de incidencia inicial, incrementándose estos valores hasta 3,88 y 10,84% de incidencia final. (Figura 5.4).



**Figura 5.4.** Curvas de progreso de la podredumbre radicular por *Rhizoctonia solani* en diferentes variedades de tabaco tipo Virginia en Chicoana (Salta) durante la campaña 2008/09.

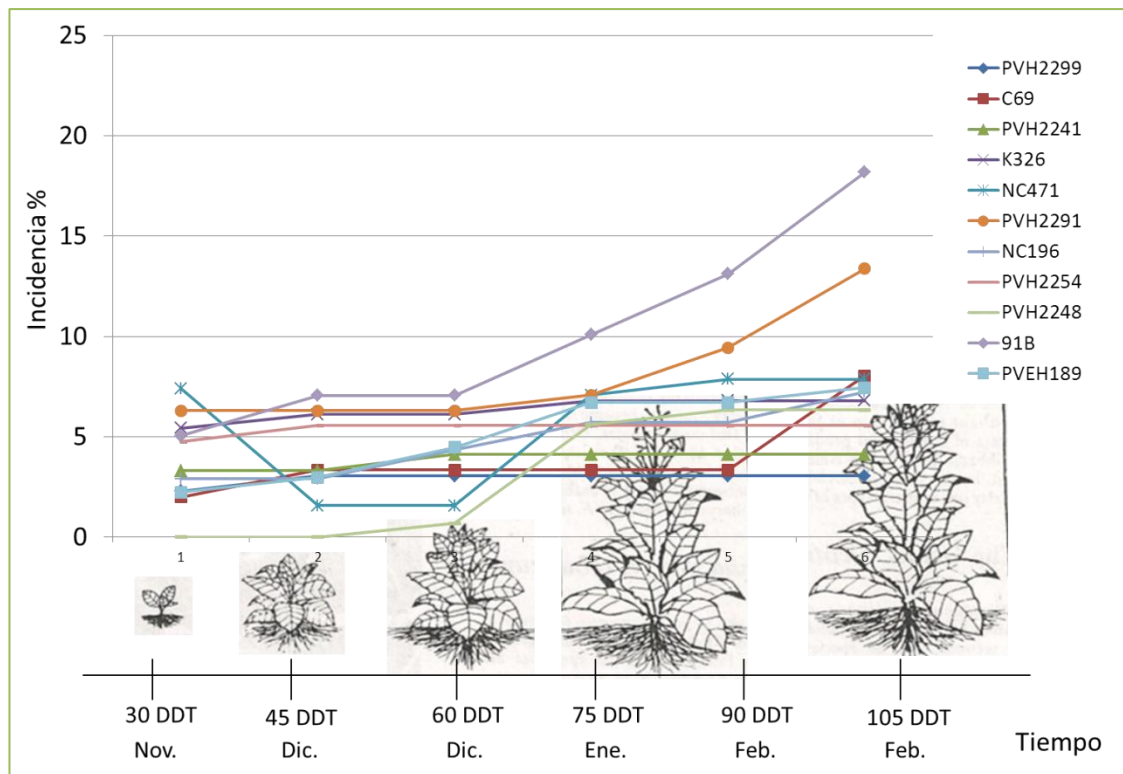
En la campaña agrícola 2009/10 la única variedad de tabaco que no presentó la patología fue PVH2254. En el resto de las variedades las epidemias se registraron más tarde en comparación con la campaña agrícola anterior, recién a los 60DDT la variedad 91B presentó un 0,6% de incidencia, los cual se incrementó hasta 3,41% en el último relevamiento de la enfermedad. A los 75DDT las variedades K326 y MB37 registraron 1,13 y 2,2% de incidencia inicial incrementando los valores hasta 4,52 y 5,54% de incidencia final. A los 90DDT las variedades PVH2241, PVH2299, PVH2248, MB47, K394, PVH22991 tuvieron valores de incidencia inicial de 0,55, 0,56, 2,92, 0,57, 1,13, 1,67 y 0,56%, manteniéndose constante hasta el último registro la variedad PVH2241 con 0,55% de incidencia, el resto de las variedades aumentaron los valores hasta 2,26, 5,85, 3,39, 2,26, 3,32 % en el último registro. Finalmente a los 105DDT las variedad C69 manifestó en el último registro de la enfermedad 0,56%. (Figura 5.5).



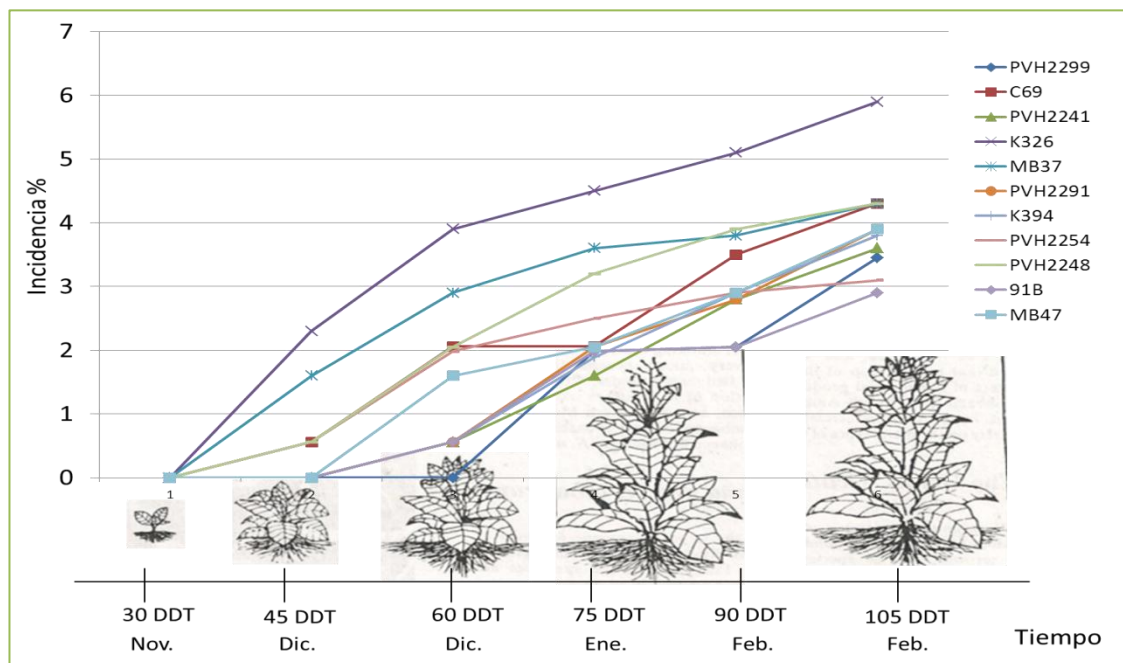
**Figura 5.5.** Curvas de progreso de la podredumbre radicular por *Rhizoctonia solani* en diferentes variedades de tabaco tipo Virginia en Chicoana (Salta) durante la campaña 2009/10.

### 5.3.2.1.2 Colon

En la campaña agrícola 2008/09 todas las variedades manifestaron la enfermedad. El primer registro de inicio de la epidemia fue a los 30DDT en la mayoría de las variedades PVH2299, C69, PVH2241, K326, NC471, PVH2291, NC196, PVH2254, 91B, PVEH189 con 2,29, 2,01, 3,31, 5,44, 1,41, 6,3, 2,9, 4,76, 5,05, 2,24% de incidencia, los cuales se incrementaron hasta el último relevamiento de la enfermedad en 3,05, 8,05, 4,13, 6,8, 8,7, 13,39, 7,25, 5,56, 18,18, 7,46%. A los 45DDT la variedad PVH2248 registró 0,7% de incidencia inicial incrementando hasta 6,34% de incidencia final. (Figura 5.6). En la campaña agrícola 2009/10 al igual que en la anterior, todas las variedades manifestaron enfermedad. El primer registro fue a los 45DDT en la cual las variedades C69, K326, MB37, PVH2248 y PVH2254 presentaron 1,6, 2,3 y 0,56 % de incidencia las tres últimas variedades, las mismas incrementaron hasta 4,3, 5,9, 4,3, 4,3 y 3,1% en el último relevamiento de la enfermedad. A los 60DDT las variedades PVH2241, PVH2291, K394, PVH2248 y PVH2254 registraron 0,56 las cuatro variedades mencionada y 1,6% de incidencia inicial la última, aumentando los valores hasta 3,6, 3,9, 3,8, 4,3, 3,1% de incidencia final. A los 75DDT la variedad PVH2299 tuvo un valor de incidencia inicial de 1,98%, obteniendo hasta 3,45% en el último registro de incidencia. (Figura 5.7).



**Figura 5.6.** Curvas de progreso de la podredumbre radicular por *Rhizoctonia solani* en diferentes variedades de tabaco tipo Virginia en Cerrillos (Salta) durante la campaña 2008/09.

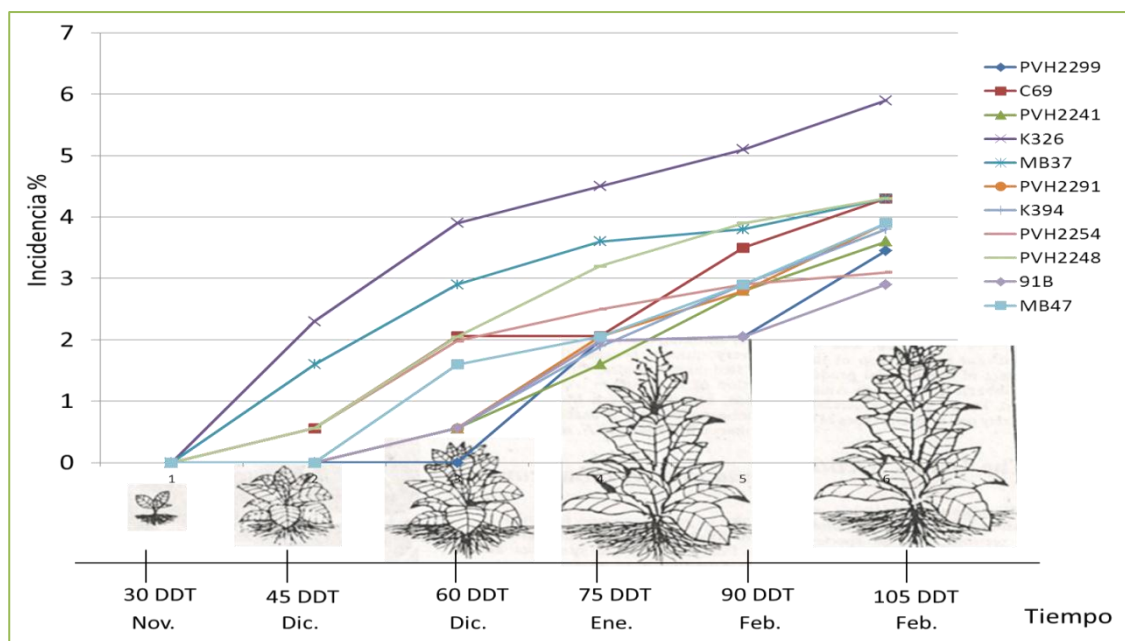


**Figura 5.7.** Curvas de progreso de la podredumbre radicular por *Rhizoctonia solani* en diferentes variedades de tabaco tipo Virginia en Colon (Salta) durante la campaña 2009/10.

### 5.3.2.1.3 San Agustín



En la campaña agrícola 2008/09 las variedades 91B, PVEH189 y PVH2254 no manifestaron la enfermedad. El primer registro de inicio de la epidemia fue a los 30DDT en las variedades PVH2291, PVH2241, NC471 y PVH2248 con 0,61, 1,66, 0,79, 0,69% de incidencia, de las cuales PVH2241 y PVH2248 se incrementaron hasta el último relevamiento de la enfermedad en 3,05 y 2,37 %. A los 75DDT las variedades PVH2299, C69 y K326 registraron 3,23, 0,64, 1,45% de incidencia inicial incrementando hasta 3,85 y 2,19% de incidencia final las dos últimas. Finalmente a los 90DDT la variedad NC196 tuvo 0,69% de incidencia, manteniéndose constante hasta la última observación. (Figura 5.8).



**Figura 5.8.** Curvas de progreso de la podredumbre radicular por *Rhizoctonia solani* en diferentes variedades de tabaco tipo Virginia en San Agustín (Salta) durante la campaña 2008/2009.

### 5.3.2.2 Modelización de las curvas epidémicas por sitio

#### 5.3.2.2.1 Chicoana

En la campaña 2008/09, la incidencia de la enfermedad en función del tiempo para las variedades C69, K326, PVEH189 se ajustaron al modelo monomolecular con coeficientes de determinación de 78 a 83, tasa epidémica de 0,00047 a 0,01 y cuadrado medio del error (CME) de 0,000071 a 0,01, mientras que las variedades PVH2241, PVH2248 y 91B, se ajustaron al modelo Gompertz con coeficientes de determinación que variaron entre 65 a 88, tasa epidémica de 0,0045 a 0,01 y CME de 0,01 a 0,07. Las variedades que tuvieron mayor inoculo inicial ( $y_0$ ) fueron las que se ajustaron al modelo Monomolecular. (Tabla S2 Anexo).

Para la campaña 2009/10, la incidencia de la enfermedad en función del tiempo para todas las variedades se ajustaron al modelo de Gompertz con coeficiente de determinación de 66 a 83, con tasas de infección aparente de 0,0083 a 0,0309 y CME de 0,12 a 0,30, presentándose las variedades PVH2241 y C69 con coeficientes de determinación bajo de 25 y tasas de infección aparente de 0,1786, con CME de 0,16. (Tabla S3 Anexo).

#### 5.3.2.2.2 Colon

En la campaña 2008/09, el progreso de la patología de las variedades PVH2299, C69, PVH2241, NC471, NC196 y PVH2254, se ajustaron al modelo de Gompertz con coeficientes de determinación que variaron de 20 a 91, con tasas epidémicas de 0,0007 a 0,01 y CME de 0,00087 a 0,14; las variedades K326, PVH2248, PVEH189 se ajustaron al modelo monomolecular con coeficientes de determinación de 79 a 89, con tasas epidémicas de 0,00061 a 0,0033 y CME de 0,000092 a 0,0022; las variedades PVH2291 y 91B con coeficientes de determinación de 73 y 95, con tasas epidémicas de 0,01 y CME de 0,01 a 0,03. Las variedades que tuvieron mayor inóculo inicial ( $y_0$ ) fueron las que se ajustaron al modelo Monomolecular. (Tabla S4 Anexo).

En el caso de la campaña 2009/10, el progreso de la enfermedad de todas las variedades evaluadas se ajustó al modelo monomolecular con coeficientes de determinación que variaron de 81 a 97, tasas de infección aparente de 0,00015 a 0,0022 y CME de 0,000096 a 0,00042 (Tabla S5 Anexo).

#### **5.3.2.2.3 San Agustín**

En la campaña 2008/09, el progreso de la patología en las variedades PVH2299, C69, NC196 y K326, se ajustaron al modelo Monomolecular con coeficientes de determinación que variaron de 65 a 84, con tasas epidémicas de 0,0003 a 0,0017 y CME de 0,000042 a 0,00089; la variedad PVH2241 se ajustó al modelo exponencial con un coeficiente de determinación de 64 y una tasa epidémica de 0,01 y CME de 0,02; y la variedad PVH2248 se ajustó al modelo de Gompertz con un coeficiente de determinación de 59, una tasa epidémica de 0,0033 y CME de 0,01. Las variedades que tuvieron mayor inóculo inicial ( $y_0$ ) fueron las que se ajustaron al modelo Monomolecular. (Tabla S6 Anexo)

No se muestran los resultados de la campaña 2009/2010, por pérdida del ensayo por granizo a los 40DDT.

### **5.3.2.3 Comparación de epidemias: inóculo inicial ( $Y_0$ ), tasa de infección aparente ( $r$ ), tasa media absoluta ponderada ( $\rho$ =rho) y área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE) por sitio de estudio**

#### **5.3.2.3.1 Chicoana**

##### **5.3.2.3.1.1 Inóculo inicial ( $Y_0$ )**

En la campaña agrícola 2008/09, se obtuvo diferencias significativas entre las variedades PVH2241 y PVH2248, observándose una menor incidencia inicial en la variedad PVH2248. (Tabla S2 Anexo). En la segunda campaña agrícola no se determinaron diferencias significativas.

##### **5.3.2.3.1.2 Tasa de infección aparente ( $r$ )**

En la campaña agrícola 2008/09, se observaron diferencias significativas entre las variedades K326 y C69, PVH2241 y PVH2248, PVH2241 y 91B, 91B y PVH2248, registrando menor tasa de infección aparente en las segundas variedades de cada par comparado. (Tabla S2 Anexo).

##### **5.3.2.3.1.3 Tasa absoluta media ponderada $\rho$ (rho)**

En la campaña agrícola 2008/09, se observaron diferencias significativas entre las variedades PVH2241 y C69, PVH2241 y PVEH189, 91B y C69, PVH2248 y K326, registrando menor  $\rho$  en las segundas variedades de cada par comparado. (Tabla S2 Anexo).

##### **5.3.2.3.1.4 Área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE) y rendimiento.**

El ABCPE para la podredumbre radicular en la campaña 2008/09 obtuvo valores comprendidos entre 0 y 370,20%-día, presentando diferencias altamente significativas entre las variedades ( $p < 0,0001$ ). Las variedades que no presentaron enfermedad y por lo

tanto obtuvieron valor 0 para ABCPE fueron PVH2291, NC471 y NC196, asimismo la variedad que obtuvo la menor área bajo la curva de progreso fue PVH2299, mientras que K326 fue el material genético que mayor ABCPE presentó. (Tabla S4 Anexo).

Para la variable rendimiento se observaron diferencias altamente significativas en la variedades evaluadas en las dos campañas agrícolas ( $p < 0,0001$ ). Las variedades con mejor rendimiento en ambas campañas fueron PVH2291, 91B y PVH2248, superando los 1900Kg/ha en el primer año y 2800Kg/ha en el segundo año. Asimismo se observó que no hubo correlación entre el rendimiento y el ABCPE para las diferentes variedades analizadas. (Tabla 5.2).



**Tabla 5.2.** Prueba de comparación de medias múltiple de Tukey ( $p \leq 0,05$ ) del ABCPE de la podredumbre radicular del tabaco por *Rhizoctonia solani* en diferentes variedades en Chicoana (Salta) en las campañas agrícolas evaluadas.

Variedades	08/09			$\rho(r:p)$	09/10			$\rho(r:p)$
	ABCPE	Rendimiento Kg/ha			Variedades	ABCPE	Rendimiento Kg/ha	
PVH2299	46,20 <b>AB**</b>	1532 <b>E</b>		1: 0,000017	PVH2299	42,30 <b>AB</b>	2710 <b>ABC</b>	0,96: 0,18
C69	86,75 <b>ABC</b>	1650 <b>D</b>		1: 0,06	C69	25,35 <b>AB</b>	2500 <b>CD</b>	0,68: 0,52
PVH2241	275,40 <b>DE</b>	1512 <b>E</b>		1: 0	PVH2241	25,35 <b>AB</b>	2480 <b>CD</b>	0,65: 0,55
K326	370,20 <b>E</b>	1126 <b>F</b>		0,91: 0,27	K326	118,50 <b>AB</b>	1896 <b>E</b>	0,50: 0,66
PVH2248	109,75 <b>BC</b>	1946 <b>C</b>		0: 0	MB37	182,25 <b>B</b>	2160 <b>DE</b>	0,53: 0,64
NC196	0 <b>A</b>	1476 <b>F</b>		0: 0	PVH2291	74,85 <b>AB</b>	3100 <b>A</b>	-0,79: 0,42
NC471	0 <b>A</b>	1168 <b>F</b>		0: 0	K394	50,80 <b>AB</b>	2650 <b>BC</b>	-0,76: 0,45
PVH2291	0 <b>A</b>	2074 <b>A</b>		0: 0	PVH2254	0 <b>A</b>	2600 <b>C</b>	0: 0
91B	151,58 <b>C</b>	2009 <b>B</b>		1: 0,02	PVH2248	131,60 <b>AB</b>	2810 <b>ABC</b>	-0,87: 0,33
PVH2254	183,98 <b>CD</b>	1598 <b>D</b>		-0,91: 0,27	91B	137,50 <b>AB</b>	2980 <b>AB</b>	-0,78: 0,43
PVEH189	165,15 <b>C</b>	2300 <b>A</b>		1: 0	MB47	42,30 <b>AB</b>	2680 <b>BC</b>	-0,34: 0,78

\* $\rho(Rho)$ : coeficiente de correlación de Pearson

\*\* letras diferentes indican diferencias significativas Tukey  $p < 0,05$

En 2009/10, se observaron diferencias significativas para las ABCPE de las diferentes variedades ( $p=0,0138$ ). Los valores obtenidos se comprendieron entre 0 y 182,25%-día, siendo PVH2254 la que no presentó enfermedad y MB37 la variedad que presentó el valor mayor de ABCPE.

### **5.3.2.3.2 Colon**

#### **5.3.2.3.2.1 Inoculo inicial (Yo)**

En la campaña agrícola 2008/09, se observaron diferencias significativas entre las variedades PVH2241 y PVH2299, PVH2254 y C69, PVH2254 y PVH2241, PVH2254 y PVH2299, PVH2241 y NC196, NC196 y PVH2299, K326 y PVH2248, K326 y PVEH189, observándose una menor incidencia inicial en las segundas variedades de cada par comparado. Tabla S4 Anexo. En la segunda campaña agrícola se determinaron diferencias significativas entre las variedades K326 y PVH2299, K326 y K394, K326 y PVH2241, K326 y PVH2291, PVH2254 y PVH2299, K394 y PVH2254, PVH2291 y 91B, MB37 y PVH2299, observándose una menor incidencia inicial en las segundas variedades de cada par comparado. (Tabla S5 Anexo).

#### **5.3.2.3.2.2 Tasa de infección aparente (r)**

En la campaña agrícola 2008/09, se observaron diferencias significativas entre las variedades C69 y PVH2241, PVEH189 y K326, PVH2248 y K326, NC196 y PVH2254, registrando menor tasa de infección aparente en las segundas variedades de cada par comparado (Tabla S4 Anexo). En la segunda campaña agrícola se determinaron diferencias significativas entre las variedades K326 y C69, K326 y PVH2241, K326 y 91B, K326 y PVH2254, C69 y 91B, PVH2248 y 91B, PVH2248 y PVH2254, registrando menor tasa de infección aparente en las segundas variedades de cada par comparado (Tabla S5 Anexo).

#### **5.3.2.3.2.3 Tasa absoluta media ponderada $\rho$ (rho)**

En la campaña agrícola 2008/09, se obtuvo diferencias significativas entre las variedades PVH2248 y PVH2299, PVH2248 y PVH2241, C69 y K326, C69 y 91B, PVEH y PVH2299, PVEH189 y PVH2241, registrando menor  $\rho$  en las segundas variedades de cada par comparado (Tabla S4 Anexo).

#### **5.3.2.3.2.4 Área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE) y rendimiento.**

Los valores de ABCPE para la podredumbre radicular en la campaña 2008/09 en las diferentes variedades, fueron entre 248,38 y 1825,58%-día, encontrándose diferencias altamente significativas ( $p<0,0005$ ). Las variedades que presentaron menor área bajo la curva de progreso fueron PVH2299, PVH2248, C69, NC471, PVH2241, NC196, PVH2254, K326 y PVH2291 las cuales se diferenciaron estadísticamente de 91B y PVH189 que presentaron los mayores valores (Tabla 5.3).

Para la variable rendimiento se observaron diferencias altamente significativas en la variedades evaluadas en las dos campañas agrícolas ( $p<0,0001$ ). Las variedades con mejor rendimiento en ambas campañas fueron PVH2291, PVH2248 y PVH2254, con rendimientos de 2300 a 2800 Kg/ha. Asimismo se observó que no hubo correlación entre el rendimiento y el ABCPE para las diferentes variedades analizadas (Tabla 5.3).

**Tabla 5.3.** Prueba de comparación de medias múltiple de Tukey ( $p \leq 0,05$ ) del ABCPE y rendimiento, de diferentes variedades de tabaco afectadas por la podredumbre radicular por *Rhizoctonia solani* en Colon (Salta) en las campañas agrícolas evaluadas.

Variedades	ABCPE	* $\rho(r:p)$	Rendimiento Kg/ha	Variedades	ABCPE	Rendimiento Kg/ha	* $\rho(r:p)$
<b>08/09</b>				<b>09/10</b>			
PVH2299	248,38 <b>A**</b>	1: 0,00034	1835 <b>D</b>	PVH2299	112,20 <b>A</b>	2833 <b>A</b>	1: 0
C69	377,90 <b>A</b>	-0,33: 0,78	1665 <b>D</b>	C69	187,20 <b>AB</b>	1643 <b>CD</b>	0,59: 0,60
PVH2241	427,33 <b>A</b>	-1: 0,0033	1995 <b>D</b>	PVH2241	128,40 <b>AB</b>	2497 <b>AB</b>	-0,46: 0,69
K326	554,38 <b>A</b>	1: 0,04	1822 <b>D</b>	K326	315,50 <b>C</b>	1992 <b>C</b>	-0,48: 0,68
PVH2248	299,10 <b>A</b>	1: 0,00044	2432 <b>C</b>	MB37	223 <b>BC</b>	2361 <b>D</b>	0,55: 0,63
NC196	440,45 <b>A</b>	1: 0,0023	2131 <b>D</b>	PVH2291	139,65 <b>AB</b>	2704 <b>A</b>	0,49: 0,67
NC471	392 <b>A</b>	1: 0	1935 <b>D</b>	K394	137,25 <b>AB</b>	2568 <b>AB</b>	0,46: 0,69
PVH2291	639,10 <b>A</b>	1: 0,01	2344 <b>C</b>	PVH2254	165,75 <b>AB</b>	2754 <b>A</b>	0,43: 0,71
91B	890,85 <b>AB</b>	1: 0,00034	2242 <b>D</b>	PVH2248	210,15 <b>AB</b>	2461 <b>AB</b>	0,47: 0,69
PVH2254	476,73 <b>A</b>	1: 0,01	2861 <b>A</b>	91B	112,20 <b>A</b>	2692 <b>A</b>	-0,47: 0,69
PVEH189	182,58 <b>B</b>	1: 0,0038	2705 <b>B</b>	MB47	156,75 <b>AB</b>	2744 <b>A</b>	-0,94: 0,23

\* $\rho(Rho)$ : coeficiente de correlación de Pearson y \*\* letras diferentes indican diferencias significativas Tukey  $p < 0,05$

En la campaña 2009/10, los valores de ABCPE presentaron diferencias altamente significativas ( $p < 0,0001$ ), presentando valores entre 112,20 y 315,20%-día. Las variedades PVH2299 y 91B fueron las que presentaron las menores ABCPE, diferenciándose estadísticamente del resto. Asimismo las variedades que presentaron los mayores valores de área bajo la curva de progreso, fueron MB37 y K326. (Tabla 5.3).

### 5.3.2.3.3 San Agustín

Se muestran los resultados de la campaña 2008/09 y no así los correspondientes a la campaña 2009/2010, por pérdida del ensayo por granizo a los 40DDT.

#### 5.3.2.3.3.1 Inóculo inicial (Yo)

En la campaña agrícola no se determinaron diferencias significativas.

#### 5.3.2.3.3.2 Tasa de infección aparente (r)

En la campaña agrícola 2008/09, se observaron diferencias significativas entre las variedades PVH2299 y NC196, C69 y NC196, K326 y NC196, registrando menor tasa de infección aparente en las segundas variedades de cada par comparado. (Tabla S6 Anexo).

#### 5.3.2.3.3.3 Tasa absoluta media ponderada $\rho$ (rho)

En la campaña agrícola 2008/09, se observaron diferencias significativas entre las variedades PVH2241 y PVH2299, PVH2241 y NC196, PVH2241 y C69, PVH2241 y PVH2248, registrando menor  $\rho$  en las segundas variedades de cada par comparado. (Tabla S6 Anexo).

#### 5.3.2.3.3.4 Área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE) y rendimiento.

Los valores de ABCPE para la podredumbre radicular en las diferentes variedades, fueron entre 0 y 435,60%-día, encontrándose diferencias altamente significativas ( $p < 0,0001$ ). Las variedades que no presentaron enfermedad y por lo tanto con valor 0 para ABCPE fueron PVH2299, PVH189 y NC196. Asimismo la variedad que presentó mayor área bajo la curva de progreso fue C69. (Tabla 5.4).

Para la variable rendimiento se observaron diferencias altamente significativas en la variedades evaluadas ( $p < 0,0001$ ). Las variedades con mejor rendimiento en ambas campañas fueron PVH2248, NC196 y PVH2254, con rendimientos de 1500 a 2500Kg/ha. Asimismo se observó que no hubo correlación entre el rendimiento y el ABCPE para las diferentes variedades analizadas. (Tabla 5.4).

**Tabla 5.4.** Prueba de comparación de medias múltiple de Tukey ( $p \leq 0,05$ ) del ABCPE y rendimiento, para las diferentes variedades de tabaco afectadas por la podredumbre radicular por *Rhizoctonia solani* en la campaña agrícola evaluada.

Variedades 08/09	ABCPE		Rendimiento Kg/ha		* $\rho$ (r:p)
PVH2299	201,90	<b>B**</b>	1244	<b>DC</b>	-0,99: 0,10
C69	435,60	<b>C</b>	1142	<b>DE</b>	0,57: 0,61
PVH2241	196,35	<b>B</b>	1089	<b>DE</b>	0,42: 0,73
K326	101,90	<b>AB</b>	1230	<b>D</b>	0,83: 0,37
PVH2248	87,45	<b>AB</b>	2537	<b>A</b>	0,42: 0,72
NC196	150,15	<b>AB</b>	1842	<b>B</b>	0,48: 0,72

**Tabla 5.4.** Continúa de página 132.

Variedades 08/09	ABCPE	Rendimiento Kg/ha	*ρ(r:p)
NC471	157,48 AB	884 E	0,10: 0,94
PVH2291	97,65 AB	1358 DC	0,32: 0,80
91B	0 A	1249 DC	0: 0
PVH2254	0 A	1510 C	0: 0
PVEH189	0 A	1142 DE	0: 0

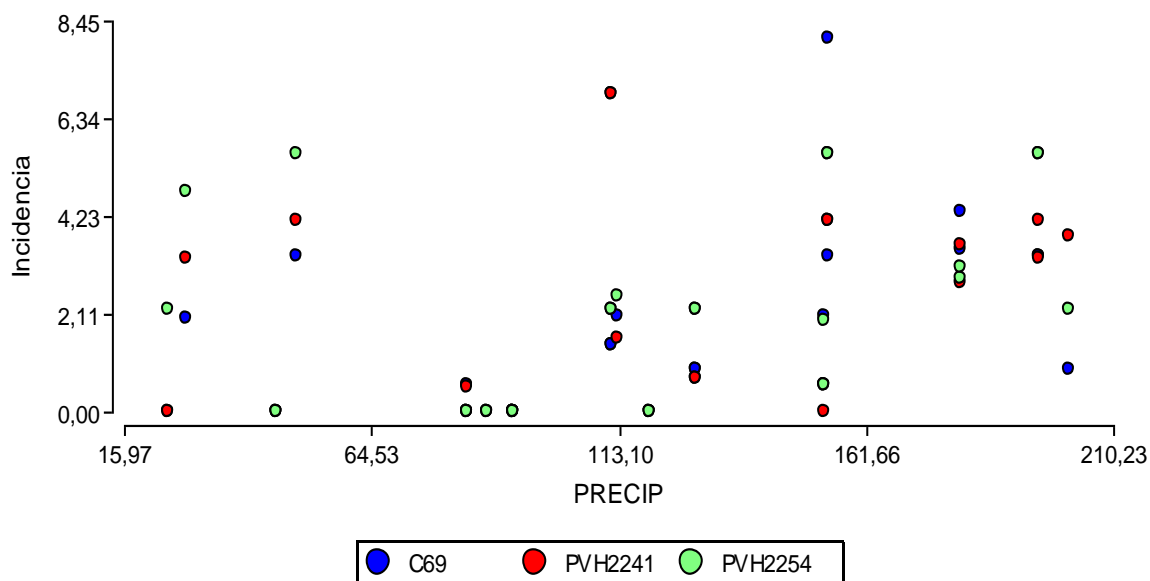
\*ρ(Rho): coeficiente de correlación de Pearson

\*\* letras diferentes indican diferencias significativas Tukey  $p < 0,05$

### 5.3.3 Efecto de variables climatológicas sobre el desarrollo de la enfermedad

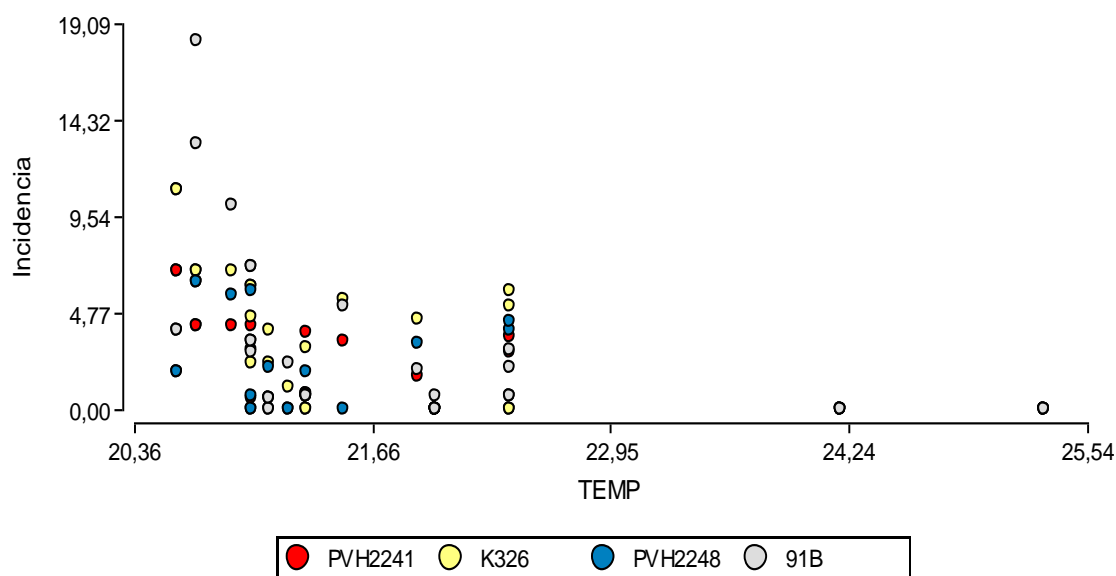
#### 5.3.3.1 Análisis de correlación para todas las variedades sin considerar procedencia.

La precipitación presentó correlación significativa con la incidencia de la enfermedad de las siguientes variedades: C69 ( $r=0,60$ ;  $p= 0,001$ ), PVH2241 ( $r=0,43$ ;  $p=0,04$ ) y PVH2254 ( $r=0,46$ ;  $p=0,02$ ). (Figura 5.9).



**Figura 5.9.** Incidencia en porcentaje de la podredumbre radicular por *Rhizoctonia* para variedades de tabaco que presentaron correlación significativa con la precipitación (mm).

La temperatura media anual presentó correlación significativa con la incidencia de la enfermedad de las siguientes variedades: PVH2241 ( $r=0,43$ ;  $p=0,0014$ ), K326 ( $r=0,30$ ;  $p=0,000067$ ), PVH2248 ( $r=0,24$ ;  $p=0,03$ ) y 91B ( $r=0,15$ ;  $p=0,00018$ ). (Figura 5.10).



**Figura 5.10.** Incidencia en porcentaje de la podredumbre radicular por *Rhizoctonia* para variedades de tabaco que presentaron correlación significativa con la temperatura media de ambiente (°C).

No se presentó correlación significativa entre temperatura y humedad.

### 5.3.3.2 Análisis de senderos, correlación y regresión lineal por sitio

#### 5.3.3.2.1 Chicoana

##### 5.3.3.2.1.1 Análisis de coeficientes de senderos

Para el estudio de relación causa-efecto se determinó una correlación significativa entre la incidencia de la enfermedad de la variedad C69 y la precipitación ( $r=0,61$ ;  $p=0,0348$ ), es decir que la precipitación influye sobre la incidencia de la podredumbre radicular en la variedad mencionada y no está determinada por la relación entre precipitación y temperatura.

Asimismo existe una influencia de la temperatura en la incidencia de la enfermedad para la variedad 91B ( $r=0,64$ ;  $p=0,0248$ ), y no está determinada por la precipitación.

##### 5.3.3.2.1.2 Análisis de coeficientes de correlación de Spearman

En la campaña 2008/09 se determinó correlación significativa entre la temperatura mínima del aire y la incidencia de la patología para las variedades PVH2248 ( $r=0,91$ ;  $p=0,04$ ) y PVEH 189 ( $r=0,91$ ;  $p=0,03$ ).

De igual manera se visualizó una correlación significativa para la humedad relativa del ambiente y la incidencia de la enfermedad en las variedades PVH2248 ( $r=0,96$ ;  $p=0,04$ ) y PVEH 189 ( $r=0,96$ ;  $p=0,03$ ).

En la campaña 2009/10 se determinó correlación significativa entre la temperatura media del aire y la incidencia de la patología para la variedad 91B ( $r=-0,86$ ;  $p=0,04$ ).

##### 5.3.3.2.1.3 Análisis de regresión lineal

Las variedades C69, PVH2241, K326, 91B presentaron una relación significativa inversa con la temperatura media y máxima ambiental (°C). Por otra parte la variedad C69 mostró una relación significativa con la humedad relativa media (%).

En la campaña 2009/10 las variedades MB37 y 91B mostraron una relación significativa inversa con la temperatura máxima y mínima ambiental (°C). (Tabla S7 Anexo).

#### 5.3.3.2.2 Colon

##### 5.3.3.2.2.1 Análisis de coeficientes de senderos

Se determinó una correlación significativa entre la incidencia de la enfermedad de la variedad C69 y la precipitación ( $r=0,46$ ;  $p=0,0221$ ), es decir que la precipitación influyó en la incidencia de la podredumbre radicular en la variedad mencionada y no está determinada por la relación entre precipitación y temperatura.

Asimismo existe una influencia de la temperatura en la incidencia de la enfermedad para la variedad PVH2241 ( $r=0,46$ ;  $p=0,0246$ ), y para K326 ( $r=0,54$ ;  $p=0,0068$ ), y no está determinada por la precipitación.

#### **5.3.3.2.2 Análisis de coeficientes de correlación de Spearman**

En la campaña 2008/09 se determinó correlación significativa entre la temperatura media del aire y la incidencia de la patología para la variedad 91B ( $r=-0,90$ ;  $p=0,04$ ). Asimismo para la temperatura máxima de suelo y la incidencia en NC471 ( $r=0,91$ ;  $p=0,04$ ). De igual manera se visualizó una correlación significativa para la humedad relativa media del ambiente y la incidencia de la podredumbre radicular en las variedades K326 ( $r=0,96$ ;  $p=0,03$ ), PVH2291 ( $r=0,94$ ;  $p=0,04$ ), NC196 ( $r=0,91$ ;  $p=0,04$ ), 91B ( $r=0,99$ ;  $p=0,03$ ), PVH2248 ( $r=0,96$ ;  $p=0,03$ ), PVEH189 ( $r=0,94$ ;  $p=0,04$ ). Para la variable humedad relativa mínima ambiente existió correlación significativa en las variedades K326 ( $r=0,96$ ;  $p=0,03$ ), PVH2291( $r=0,94$ ;  $p=0,04$ ), NC196 ( $r=0,91$ ;  $p=0,04$ ), 91B ( $r=0,99$ ;  $p=0,03$ ), PVH2248 ( $r=0,96$ ;  $p=0,03$ ), PVEH189 ( $r=0,94$ ;  $p=0,04$ ). En el caso de la humedad relativa máxima ambiente existió correlación significativa en las variedades PVH2291( $r=0,87$ ;  $p=0,05$ ), NC196 ( $r=0,86$ ;  $p=0,06$ ), 91B ( $r=0,94$ ;  $p=0,04$ ), PVH2248 ( $r=0,90$ ;  $p=0,04$ ), PVEH189 ( $r=0,87$ ;  $p=0,05$ ).

En la campaña 2009/10 no se determinó correlación significativa entre las variables meteorológicas y la incidencia de la podredumbre radicular.

#### **5.3.3.2.3 Análisis de regresión lineal**

Las variedades PVH2299, K326, NC471, NC196, PVH2254, PVH2248, 91B y PVEH189 presentan una relación significativa inversa con la temperatura media, máxima y mínima ambiental ( $^{\circ}\text{C}$ ), al igual que con la amplitud de la humedad relativa (%). Por otra parte las variedades mostraron una relación significativa con la temperatura media y mínima de suelo ( $^{\circ}\text{C}$ ), y con la humedad relativa media, mínima y máxima (%).

En la campaña 2009/10 las variedades MB37 y K326 mostraron una relación significativa con la humedad relativa máxima ambiental ( $^{\circ}\text{C}$ ). (Tabla S7 Anexo).

#### **5.3.3.2.3 San Agustín**

Se muestra los análisis de la campaña 2008/09 y no así los correspondientes a la campaña 2009/2010, por pérdida del ensayo por granizo a los 40DDT.

##### **5.3.3.2.3.1 Análisis de coeficientes de senderos**

Para el estudio de relación causa-efecto no se determinó una influencia de las variables meteorológicas sobre la incidencia de la podredumbre radicular.

##### **5.3.3.2.3.2 Análisis de coeficientes de correlación de Spearman**

Se determinó correlación significativa entre la humedad relativa media del ambiente y la incidencia en la variedad NC196 ( $r=0,87$ ;  $p=0,05$ ). También se observó correlación significativa para la variable humedad relativa máxima ambiente y la incidencia en las variedades C69 ( $r=0,87$ ;  $p=0,05$ ), K326 ( $r=0,89$ ;  $p=0,05$ ), NC196 ( $r=0,91$ ;  $p=0,04$ ). De igual manera para la humedad relativa mínima ambiente y la incidencia en las variedades PVH2299 ( $r=0,91$ ;  $p=0,04$ ), C69 ( $r=0,94$ ;  $p=0,04$ ), K326 ( $r=0,96$ ;  $p=0,05$ ), NC196 ( $r=0,87$ ;  $p=0,05$ ).

##### **5.3.3.2.3.3 Análisis de regresión lineal**

Las variedades C69, PVH2299 y K326 mostraron una relación significativa con la humedad relativa media y mínima ambiental (%) y una relación significativa inversa con la amplitud de humedad relativa ambiente (%). (Tabla S7 Anexo).

#### 5.4. Discusión

En el ensayo comparativo de variedades de tabaco en condiciones controladas, las variedades con mejor comportamiento con menos del 18% de incidencia y severidad menor a 3, fueron MB37, PVH2291, PVH2275, PVH2299, PVH2254, PVH2241, además se observó genotipos con niveles elevados de incidencia y con severidad menor a 3 como B91, PVH2248, K394 y C69. Shew y Melton (1995), observaron que no existía ausencia de la mancha foliar por *Rhizoctonia* en tabaco, pero si diferencias en los niveles de severidad de la enfermedad en diferentes genotipos de tabaco en campo y en cámara de crecimiento. Csinos y Stephenson (1999), evaluaron la resistencia de cultivares de tabaco a *R. solani* produciendo *damping-off*, mancha foliar y podredumbre radicular en invernáculo y campo, visualizando diferencias en incidencia y severidad, y mencionaron que los materiales evaluados fueron más sensibles a infecciones en campo. Asimismo Elliot *et al.* (2008), evaluaron 97 genotipos de tabaco frente a *R. solani* provocando *damping-off* y mancha foliar, encontrando diferencias en severidad, sin observar resistencia a la enfermedad en los materiales genéticos.

Las variedades que no manifestaron la podredumbre radicular por *R. solani* en Chicoana para la primera campaña fueron PVH2291, NC47 1 y NC196; y en la segunda campaña PVH2254. En San Agustín fueron para la primera campaña las variedades PVH2254, 91B y PVEH189. En la localidad de Colon todas las variedades manifestaron la enfermedad. Estos resultados estarían señalando la importancia de evaluar las variedades en distintos ambientes; en otras palabras, el triángulo de la enfermedad es un concepto temporal y espacialmente dinámico como se comprobó en este estudio.

La modelización de las curvas de progreso de la patología para las diferentes variedades de tabaco Tipo Virginia en los tres sitios evaluados, se ajustaron a los modelos Monomolecular, Gompertz y Exponencial. La única variedad que presentó un progreso de enfermedad que se ajustó al modelo Monomolecular en los tres sitios y durante las campañas consecutivas, excepto en la segunda de Chicoana fue la variedad K326, la cual se caracteriza por ser un material genético susceptible. Madden *et al.* (2007), relaciona el modelo Monomolecular con epidemias monocíclicas, en donde el inóculo proviene de epidemias previas, mientras que el modelo logístico es asociado a epidemias policíclicas en donde hay movimiento de inóculo de plantas enfermas a sanas. En el presente estudio el ajuste a los modelos de Gompertz y Logístico se puede atribuir al manejo convencional del cultivo, en el cual se generan movimientos de suelo hasta los 45 o 50DDT logrando dispersar el inóculo, además de producir lastimaduras en raíces. Campbell y Powell (1980), evaluaron los modelos Monomolecular y Logístico para describir a campo el progreso de *Phytophthora nicotianae* en tabaco y determinaron que el modelo Logístico fue el más apropiado para describir esta epidemia. Asimismo, Campbell *et al.* (1984) evaluaron el progreso del Black Shank (*P. nicotianae*) en diferentes variedades de tabaco en diferentes años, obteniendo ajuste a los modelos monomolecular, Gompertz y logístico indistintamente, asociándolo a que al crecer las raíces del tabaco, existe una mayor probabilidad de que encuentre el inóculo y se produzca la infección. En relación a ello Jeger (1987), mostró que el contacto entre la raíz y el inóculo en la modelización puede adquirir formas desde el monomolecular hasta los modelos de Gompertz, Logístico u Exponencial, dependiendo del producto del crecimiento de raíces y la densidad de inóculo.



Las variables epidemiológicas ( $y_0$ ,  $r$ ,  $\rho$ , ABCPE), fueron útiles para comparar las epidemias entre las variedades, pero la variable que logró mayor discriminación entre las epidemias en las diferentes variedades fue el ABCPE. Xu (2006), menciona que el enfoque de resumir los datos de progreso de la enfermedad en un valor es adecuado cuando los daños son proporcionales a la cantidad y duración total de la enfermedad, por lo cual es una variable apropiada para la evaluación de investigaciones de prácticas de manejo de enfermedades. Las variedades promisorias según el análisis comparativo de los parámetros epidemiológicos fueron para Chicoana la variedad PVH2291 y PVH2299 con menor ABCPE, las variedades PVH2248 y C69 que presentaron menor tasa de progreso de la enfermedad y si bien mostraron mayor ABCPE que las primeras variedades mencionadas, éstas no se diferencian a nivel estadístico, destacándose en rendimiento las variedades PVH2291 y PVH2248. En Colon las variedades PVH2299, PVH2241 con menor ABCPE en ambas campañas agrícolas, destacándose en la segunda campaña K394 y MB47 las cuales no se diferenciaron de las primeras a nivel estadístico, asimismo estas variedades obtuvieron menor  $y_0$  y  $r$ , en cuanto a rendimiento las variedades de mejor comportamiento fueron PVH2291, PVH2254 y PVH2248. Para San Agustín la variedad PVH2248 manifestó menor ABCPE y  $\rho$ , de igual forma para la tasa de progreso obtuvo valores bajos a pesar que estos no se diferenciaron estadísticamente y en rendimiento la variedad mencionada fue la de mejor comportamiento. En el análisis no se detectó una correlación entre la variable rendimiento y ABCPE, sin embargo se observó claramente como ejemplo que la variedad K326 caracterizada como material genético susceptible en la región para la enfermedad, en los resultados evidenció mayor ABCPE y menor rendimiento en los tres sitios evaluados en las diferentes campañas agrícolas. Fernández Aguilar *et al.* (2012), evaluó la respuesta de cuatro genotipos de maíz al complejo del achaparramiento (*S. kunkelli*) transmitido por *D. maydis* y su relación con el rendimiento y ABCPE, encontrando que la correlación de ambos, se encuentran asociados en forma directa en una manera muy débil, existiendo materiales que con índices muy altos de progreso de la enfermedad, obtuvieron rendimientos excelentes.

Es ampliamente estudiada la relación de una enfermedad con el ambiente, empleándose para el análisis de datos la regresión y correlación de la intensidad de la patología en función de las variables climáticas. En el presente estudio además de las técnicas estadísticas mencionadas, se empleó el análisis de sendero, el cual permite determinar la relación causa-efecto (Li, 1975). En el análisis de las variables meteorológicas versus la incidencia de la patología, sin importar procedencia o material genético, se determinó una correlación significativa con la precipitación y temperatura media anual. En relación al estudio por sitio se observó una relación causa efecto, correlación y relación significativa con la precipitación, humedad relativa y temperatura ambiental media y máxima, encontrándose en las dos últimas una relación significativa inversa. Se pudo observar que la manifestación de la enfermedad se dio a principios de diciembre con una temperatura ambiente de 22°C, máxima de 34°C, humedad relativa entre 70 a 81% y precipitación mensual de 92 a 195,6 mm, destacando que en Chicoana la enfermedad se asoció a los efectos de la temperatura media ambiente y en Colon y San Agustín al efecto de la humedad relativa ambiente. Existen diversas publicaciones relacionadas que mencionan que la agresividad del patógeno es favorecida por temperaturas elevadas en diferentes hospedantes en un rango de 20 a 37°C (Carling y Leiner, 1990a, Kousik *et al.* 1995, Tsrer, L., 2010, Orozco-Avitia *et al.*, 2013). Respecto del hospedante, Ribeiro Do Vale *et al.* (2004) mencionan que la influencia de la temperatura en la ocurrencia de las enfermedades producidas por patógenos

habitantes del suelo se deben principalmente a los efectos sobre la planta hospedante, por lo cual el estudio de materiales genéticos en un sitio es importante para determinar adaptación al ambiente y tolerancia a enfermedades. En cuanto a la humedad relativa ambiente, existen numerosas publicaciones asociadas a enfermedades foliares y no radiculares, lo cual lleva a pensar que la misma puede tener efecto sobre los materiales genéticos evaluados tornándolos susceptibles al patógeno, según Raper y Smith (1975), elevados porcentajes de humedad relativa ambiente afectan el crecimiento y desarrollo de la planta de tabaco.

## 5.5 Conclusión

- La variación en el comportamiento varietal del tabaco ante *Rhizoctonia solani* permitió identificar materiales con tolerancia a la podredumbre radicular, ofreciendo una táctica válida para el manejo de la enfermedad. Destacándose como variedades promisorias por menores valores de intensidad de enfermedad y mayor rendimiento, para Chiconá PVH2291 y PVH2248; para Colón PVH2299 y PVH2241; y para San Agustín PVH2248 y PVH2254.
- El ABCPE fue la variable más apropiada para comparar el progreso de la podredumbre radicular de las variedades de tabaco evaluadas, adecuándose a las interpretaciones biológicas de los efectos de los materiales genéticos sobre la enfermedad.
- Se comprobó que existe efecto de la temperatura, humedad relativa y precipitación favoreciendo el progreso de la enfermedad
- La mayoría de los materiales genéticos con mayor rendimiento, evaluados en invernáculo con inoculación asistida, coincidieron en igual comportamiento en campo frente a lotes con antecedentes de la patología.
- El análisis de la dinámica temporal de epidemias permitió interpretar y entender el comportamiento de la enfermedad en diferentes materiales genéticos de tabaco, generando una importante base de información para la toma de decisiones en la generación de una estrategia de manejo de la patología.

---

# Capítulo VI

---

Consideraciones finales

---



## CAPÍTULO VI

### Consideraciones finales

#### Contexto de la problemática abordada

El cultivo de tabaco que se realiza en las provincias de Salta y Jujuy, adquiere un lugar jerárquico en la región NOA debido a la importancia que posee a nivel socioeconómico, por su valor cultural y por el lugar que ocupa dentro de la producción provincial. Desde fines de los años noventa esta producción presentó diversos problemas fitosanitarios asociados a enfermedades radicales, las cuales se manifiestan con un marchitamiento en la parte aérea de la planta y podredumbre radicular. Entre ellas la podredumbre radicular por *Rhizoctonia*, es una de las patologías que causa mayores pérdidas en la producción. Cuanto mayor es el conocimiento de todas las características de una epidemia, más completa es la visión de la estructura del comportamiento del patosistema y mayor las posibilidades de su manejo.

#### Aspectos biológicos y epidemiológicos de enfermedades del tabaco causadas por *Rhizoctonia solani*, en el noroeste argentino

Uno de los principales objetivos del estudio de una enfermedad, es brindar herramientas para su manejo. Aquí es donde el enfoque de análisis de sistemas, nos permite conocer los procesos complejos caracterizados por la dinámica de interacción entre diferentes subsistemas, permitiéndonos tener una visión holística, para poder desarrollar estrategias de manejo de la enfermedad. Para ello es importante operar a nivel regional, lo cual implica generar mapas de distribución espacial que permitan conocer los niveles de intensidad de la patología y su localización en la región. A nivel mundial existen mapas de distribución espacial de enfermedades causadas por *Rhizoctonia solani*, generados por análisis geoestadístico, habiendo mapas de interacción con otros patógenos, mapas donde definen el número de muestra a relevar para futuros monitoreos y mapas de incidencia, severidad y prevalencia (Lannou y Savary, 1991; Schneider y Kocks, 1995; Hussain *et al.*, 2014). El **capítulo II**, aborda el estudio de la distribución espacial de la podredumbre radicular por *Rhizoctonia* en las provincias de Salta y Jujuy, obteniendo mapas que permitieron inferir que la distribución de la patología es agregada en un inicio y posteriormente aleatoria, asociada probablemente al manejo cultural del cultivo que influye en la dispersión de la misma. De igual manera se comprobó una correlación positiva entre las variables de intensidad de la enfermedad y la temperatura media ambiental, precipitación y humedad relativa ambiente, observándose en el mapa de predicción mayor severidad en los departamentos con temperaturas mayores. Lotes provenientes de almacigo flotante y bajo rotación, presentan menor riesgo epidemiológico. Estos resultados permitieron aceptar la hipótesis planteada de “*La distribución espacial de la podredumbre radicular por Rhizoctonia spp. en las provincias de Salta y Jujuy presentan variación según manejo y variables meteorológicas*”.

Diversos estudios fueron encarados a nivel mundial sobre la identificación del género *Rhizoctonia* causando enfermedades en tabaco. (Shew y Main, 1985; Meyer *et al.*, 1990; Shew y Melton, 1995; Nicoletti y Lahoz, 1995; Gutierrez *et al.*, 1997; Masuka, 1998; García *et al.*, 2009; Gurkanlic y Ozkoc, 2011). Sin embargo, en Argentina no existían antecedentes de estudios para identificar *Rhizoctonia spp.* asociadas a enfermedades en tabaco. En el **capítulo III**, se encuentra desarrollada la caracterización morfológica e identificación molecular mediante ITS, de aislamientos de *Rhizoctonia* pertenecientes a Salta y Jujuy. Se identificó como causantes de enfermedad en tabaco en

Salta y Jujuy, a los aislamientos como de *R. solani* AG 4 HG-I, AG 2-1 y AG 4 HG-III. Siendo AG 2-1, el primer reporte a nivel mundial asociado a la mancha en hoja en plantines de almácigo flotante en tabaco, además de ser el primer estudio del género en el cultivo de tabaco en Argentina. Estos resultados permitieron aceptar parcialmente la hipótesis “*En la región del NOA existen diferentes grupos de anastomosis de Rhizoctonia spp en tabaco que pueden ser identificados mediante caracteres morfológicos y moleculares que no fueron reportados en otras partes del mundo*”, dado que solamente un AG (AG 2-1) fue el primer reporte a nivel mundial, el resto ha sido reportado previamente (Gonzalez *et al.*, 2011).

La variabilidad genética en los fitopatógenos puede atribuirse no sólo a la adaptación a los cambios de ambiente físico natural, sino a cambios en las características genéticas de la población del hospedante y a los inducidos por las prácticas agrícolas (Arauz Cavallini, 1998). Existen numerosos reportes de estudios de variabilidad genética de *R. solani* en diferentes cultivos, empleando marcadores ISSR (Zietkiewicz *et al.*, 1994; Sharma *et al.* 2005; Stodart *et al.* 2007; González *et al.* 2012; Mirmajlessi *et al.*, 2012; Zheng *et al.* 2013). En el **capítulo IV**, se comprobó que la técnica ISSR es apta para el análisis de variabilidad de *R. solani*, determinándose en esta investigación una alta variabilidad genética en los aislamientos e indicando que la población de estudio posee una amplia capacidad adaptativa. Los resultados generados permiten aceptar la hipótesis “*En la región del NOA existen una alta variabilidad genotípica de los aislamientos de Rhizoctonia solani, que puede ser caracterizada por marcadores ISSR*”.

La epidemiología temporal se destaca como una ciencia *cuantitativa* dentro de la fitopatología y es la encargada de analizar los efectos e importancia de variables cuantitativas para describir y entender la dinámica de una epidemia. A nivel mundial es una ciencia que se aplicó a numerosos estudios de enfermedades en la búsqueda de determinar efectos de diferentes variables de manejo como tratamientos fitosanitarios, materiales genéticos, fertilización, riego, entre otras sobre la intensidad de la patología en el tiempo (Ware *et al.* 1932; Ware y Young 1934; Large, 1945, 1952; Vanderplank 1963; Campbell *et al.* 1984; Burpee 1992; Pinto *et al.* 1998; Gil *et al.* 1992; Peñalver Martínez *et al.* 2001; Díaz *et al.* 2011). A pesar de publicarse diversos estudios, en Argentina no existían investigaciones de variedades de tabaco utilizadas en las zonas productoras que estudiaran desde la epidemiología temporal la relación con resistencia a enfermedades. Teniendo en cuenta que las variedades de tabaco utilizadas en el mundo son diferentes a las empleadas en nuestra producción, sería un aporte significativo el estudio de las mismas como un eslabón más dentro del manejo integrado. Es por ello que en el **capítulo V**, se desarrolla la evaluación variedades de tabaco frente a infecciones controladas y naturales por *R. solani*, analizando la influencia de la temperatura, humedad relativa y precipitación sobre la intensidad (incidencia y severidad) de la podredumbre radicular y el rendimiento. Los resultados indicaron la aceptación de la hipótesis “*Las variedades de tabaco utilizadas en la región NOA presentan susceptibilidad diferencial frente a la podredumbre radicular por Rhizoctonia*”, permitiendo identificar materiales genéticos con tolerancia ante *R. solani* por ambiente evaluado y asimismo se enriqueció el trabajo con la comprobación de que existe efecto de la temperatura, humedad relativa y precipitación sobre el progreso de la enfermedad.

### **Aplicación de los resultados obtenidos**

El análisis de la epidemiología cuantitativa a nivel espacial y temporal, permitió reconocer momentos críticos en el cultivo de tabaco, asociados probablemente al

manejo del mismo. En general a partir de los 45DDT, la intensidad de la enfermedad se incrementa a nivel espacial y temporal. Estos momentos críticos, fueron aplicados en ensayos de productos fitosanitarios, en parcelas experimentales de la EEA Salta y en lotes comerciales de tabaco, realizando aplicaciones preventivas de enmiendas orgánicas, solución de microorganismos y productos fitosanitarios foliares. Cabe recalcar que esta aplicación obtuvo una distinción en los premios “Sustentar 2014”

Los estudios de identificación y caracterización de aislamientos de *R. solani*, genero la creación de un cepario en el Laboratorio de Sanidad Vegetal de la EEA Salta, estando los mismos empleados en la actualidad para la generación de oligonucleotidos específicos para detección del patógeno en muestras de suelo y tejido vegetal, con el objeto de usarlos en el servicio al productor de diagnóstico rutinario de laboratorio y en las líneas de investigación del INTA.

El estudio temporal, además de lo mencionado, apporto información de materiales genéticos con tolerancia a la enfermedad para los diferentes sitios evaluados.

### **Nuevos interrogantes surgidos a partir del presente estudio**

Serian necesarios estudios posteriores sobre la dispersión a nivel espacial (escala lote productivo comercial), a los fines de corroborar el daño radicular producto del laboreo con este análisis regional. Interrogantes acerca de la influencia de variables meteorológicas como ¿existirá una correlación con temperatura y humedad de suelo e intensidad de enfermedad?, ¿esta correlación sería más precisa para explicar la distribución espacial de la enfermedad?

En los estudios de identificación, aún quedan las siguientes interrogantes: ¿si se incrementa el número de aislamientos, se encontrarán otros AG no identificado en este estudio? ¿Cuál es el AG predominante en la etapa de almacigo? y ¿Cuál es su relevancia como fuente de inóculo?

Además se sugiere el incremento del número de aislamientos de *R. solani*, esto probablemente permita determinar asociaciones de variabilidad genética con variables de manejo del cultivo y surgiría así una nueva interrogante: ¿la alta variabilidad genética encontrada en los aislamientos, estaría influenciada por diferentes factores como ser el flujo génico por dispersión de propágulos y las prácticas de manejo?

En la temática de evaluación de variedades de tabaco mediante análisis temporal, surge como interés, evaluar materiales genéticos en la provincia de Jujuy, y sumar a este tipo de estudios las variables meteorológicas temperatura y humedad de suelo.

### **Conclusión general**

Esta tesis aporta valiosa e inédita información epidemiológica con directa aplicación a medidas de manejo de la enfermedad. Asimismo plantea y posibilita nuevas investigaciones futuras y necesarias. La visión holística de este patosistema a nivel local y regional, generó conocimiento que al ser difundidos en el medio productivo, permitirá un manejo integrado y sustentable.





---

## Publicaciones derivadas de la presente tesis

---

---



## Publicaciones derivadas de la presente tesis

### Trabajos publicados

#### -En revistas y anuarios indexados

**Capítulo V**-Mercado Cárdenas G., Carmona M., March G., Ramallo, A., Gimenez Monge, J.L. (2009). Comparación de 11 variedades de tabaco frente a las epidemias de la podredumbre radicular por *Rhizoctonia solani* en tres localidades de la provincia de Salta, Argentina. Anuario 2009/ 1° Edición, Salta. 74p. ISBN 978987679012-3

**Capítulo IV** -Mercado Cárdenas G., Ferreyra M., Carmona M., March G., Ramallo A., Monge J., Galván M. 2010. Análisis de variabilidad genética en aislamientos de *Rhizoctonia* spp. En tabaco empleando marcadores ISSR. Anuario 2010 Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, 68p. ISBN 978987-679-068-0.

**Capítulo III** -Mercado Cárdenas G, Galván M, Barrera V and M Carmona. 2012. "First Report of Target Spot of Tobacco Caused by *Rhizoctonia solani* (AG-2.1)". Plant Disease. 96 (3): 456. ISSN 0191-2917.

**Capítulo III** -Mercado Cárdenas G, Galván M, Carmona M, March G, Ramallo A y Monge J. "Molecular characterization and pathogenicity of *Rhizoctonia* spp. isolates from tobacco (*Nicotiana tabacum*) in northwestern Argentina." Tropical Plant Disease. En prensa (aprobado).

#### -En internet

**Capítulo III** Mercado Cárdenas G y M Galván. 2012. 27 sequences of *Rhizoctonia solani* isolates (18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence). NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). GenBank#:JQ616848-JQ616874.

### Trabajos en preparación:

**Capítulo II** -Mercado Cárdenas G, M, Carmona M, March G. Spatial distribution of root rot (*Rhizoctonia solani*) of tobacco, using geostatistics.

**Capítulo V** -Mercado Cárdenas G, M, Carmona M, March G. Temporal and quantitative analyses of root rot (*Rhizoctonia solani*) in different varieties of tobacco in Salta, Argentina.

### Trabajos publicados relacionados:

#### -Libro:

**Capítulo II y III** -Mercado Cárdenas, G. E. 2013. Enfermedades bióticas: Damping off, Mancha foliar por *Rhizoctonia*, podredumbre radicular por *Rhizoctonia*. In Mercado Cárdenas, G. E.; Giménez Monge J.L.; Ortega, A. E.. Manual de reconocimiento de plagas y enfermedades bióticas y abióticas en tabaco. 1ª ed.-salta: ediciones inta, 2013, 188 p. ISBN 978-987-679-200-4

#### -En revistas y anuarios indexados

**Capítulo II** -Gimenez Monge J.L., Mercado Cárdenas G., Lacci F., Ortega A., Arzeno J.L. 2010 Un enfoque integral del amarillamiento en el Tabaco. Panorama Agropecuario 10 (52): 3-7. ISSN 0325-9730.

**Capítulo II** -Mercado Cárdenas G., Alfaro R., Monge J. 2010. Prevalencia e incidencia de enfermedades radiculares y virales de *Nicotiana tabacum* en Salta y Jujuy-Argentina. Anuario 2010 Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, 68p. ISBN 978987-679-068-0.

**Capítulo III** -Mercado Cárdenas G, Galván M, Rodriguero M, Barrera, M. Carmona, G. March, A. Ramallo. 2012. Herramientas moleculares para el estudio de *Rhizoctonia* spp en

tabaco Tipo Virginia. Ciencia y Tecnología de los Cultivos Industriales. ISSN 1853-7677 (en prensa).

**-En internet**

**Capítulo III** -Mercado Cárdenas, G. E. Damping off en tabaco (*Rhizoctonia solani*). Inta.gob.ar/noticias/damping-off-en-tabaco-rhizoctonia-solani/. 8 de julio de 2013.

**Capítulo II y III** -Fiore, I.; Mercado Cárdenas, G.E.; Gimenez Monge, J.L.; Gopar, A. Problema del amarillamiento del cultivo de tabaco en el Valle de Lerma: buscando soluciones entre todos.  
[www.aader.org.ar/XVI\\_jornada/trabajos/archivos/2012/132\\_trabajo\\_edu\\_fiore.pdf](http://www.aader.org.ar/XVI_jornada/trabajos/archivos/2012/132_trabajo_edu_fiore.pdf).

**Distinciones relacionadas:**

**Capítulo V. PREMIO SUSTENTAR (Sustenstabilidad en los Sistemas Agroalimentarios) edición 2014**

Distinción: Mención especial. Rubro: Insumo, Tecnología y Servicios

Empresa: Convenio INTA EEA Salta-CHEMECO ARGENTINA SRL

Trabajo: Disminución de enfermedades radicales en cultivos intensivos (tabaco y tomate). Validación de protocolo de manejo epidemiológico para cada cultivo (especie) teniendo como foco principal el estudio de la epidemiología como visión holística del patosistema.

---

# Bibliografía

---

---



## Bibliografía

- Achicanoy López, H.** 2000. Descripción cuantitativa de las epidemias de las plantas. Revista Facultad Nacional Agronomía Medellín. Vol. 53 (1): 941-968.
- Agrios, G. N.** 2005. Plant Pathology. 5th Edition. Academic Press, USA.
- Alfenas, A.; Valverde Zauza, E.; Gomeide Mizubuti, E.; Ferreira, A.; Murilo Zerbini, F.; Pereira, F.; Rogeiro de Olivera, J.; Grassi de Freitas, L.; Maffia, L.; Pereira, O.; Alfenas Zerbini, P.; Gonçalves Maffia, R.; Gonçalves, R.; D'Arc de Lima Oliveira, R.; Dos Santos Neves, W.** 2007. Métodos em Fitopatologia Editora Universidade de Viçosa. 382pp.
- Anderson, N.A.** 1982. The genetics and pathology of *Rhizoctonia solani*. Annual Review of Phytopathology 20:329-347, EE.UU.
- Ansari, S. A.; Narayanan, C.; Wali, S. A.; Kumar, R.; Shukla, N.; Rahangdale, S. K.** 2012. ISSR markers for analysis of molecular diversity and genetic structure of Indian teak (*Tectona grandis* L.f.) populations. Annals of Forest Research. 55: 11-23.
- Arauz-Cavallini, L. F.** 1998. Fitopatología un enfoque agroecológico. Editorial de la Universidad de Costa Rica. Costa Rica. 137-138 pp.
- Bacharis, C.; Gouziotis, A.; Kalogeropoulou, P.; Koutita, O.; Tzavella-Klonari, K.; Karaoglanidis, G. S.** 2010. Characterization of *Rhizoctonia* spp. isolates associated with damping-off disease in cotton and tobacco seedlings in Greece. Plant Disease. 94: 1314-1322.
- Baker, R.** 1971. Analysis involving inoculum density soilborne plant pathogens in epidemiology. Phytopathology 61: 1280-1292.
- Baker, K.L.; Cook, R.J.** 1982. Biological Control of Plant Pathogens. Eds The American Phytopathological Society. 433p.
- Baldwin, B.G., Sanderson, M.J., Porter, J.M., Wojciechowski, M.F., Campbell, C.S., Donoghue, M.J.** 1995. The ITS region of nuclear ribosomal DNA: A valuable source of evidence on angiosperm phylogeny. Ann. Mo. Bot. Gard. 82: 247-277.
- Balali, G.R.; Neate, S.M.; Kasalkheh, A.M.; Stodart, B.J.; Melanson, D.L.; Scott E.S.** 2007. Intraspecific variation of *Rhizoctonia solani* AG 3 isolates recovered from potato fields in Central Iran and South Australia. Mycopathologia 163:105-115.
- Ballari, M.H.** 2005. Tabaco Virginia, aspectos ecofisiológicos y de la nutrición en condiciones de cultivo. Primera edición, Jujuy Agronomía, 224p.
- Balmas, V.; Scherm, B.; Di Primo, P.; Rau, D.; Marcello, A.; Migheli, Q.** 2005. Molecular characterization of vegetative compatibility group in *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* and f. sp. *lycopersici* by random amplification of polymorphic DNA and microsatellite-primed PCR. European Journal of Plant Pathology 111 (1): 1-8.
- Bandoni, R.J.** 1979. Safranin O as rapid nuclear stain for fungi. Mycologia 71: 873-874.
- Banniza, S.; Sy, A.; Bridge, P.D.; Simons, S.A.; Holderness, M.** 1999. Characterization of populations of *Rhizoctonia solani* in paddy rice fields in Cote d'Ivoire. Phytopathology 89: 414-420.

- Bergamin Filho, A.** 1995. Epidemiología. En: Bergamin Filho, A.; Kimati, H.; Amorim, L. (Eds.) Manual de Fitopatología, 3.ed.-São Paulo: Agronomía Ceres, p.539-553.
- Bornet, B.; Branchard, M.** 2001. Nonanchored Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) markers: reproducible and specific tools for genome fingerprinting. *Plant Molecular Biology Reporter* 19: 209-215.
- Botstein, D.; White, R.L.; Skolnick, M.; Davis R.W.**1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *The American Journal of Human Genetics* 32: 314-331
- Bowers, H.; Sonoda, R.M.; Mitchel, D.J.** 1990. Path coefficient analysis of the effect of rainfall variables on the epidemiology of *Phytophthora* blight of pepper caused by *Phytophthora capsici*. *Phytopathology* 80: 1439-1446.
- Burrough, P.A.; McDonnell, R.A.** 1998. Principles of Geographical Information Systems. Oxford Univ. Press, New York, USA.
- Braun, H.** 1930. Wurzeltoter der Kartoffel *Rhizoctonia solani*. Monog. z. Pflanzench. Springer, Berlin. 136p.
- Burpee L.L.** 1992. Assessment of resistance to *Rhizoctonia solani* in tall fescue based on disease progress and crop recovery. *Plant Disease* 76: 1065-1068.
- Burpee, L. L., Sanders, P. L., Cole, H. Jr.; Sherwood, R. T.** 1980. Anastomosis groups among isolates of *Ceratobasidium cornigerum* and related fungi. *Mycologia* 72: 689-701.
- Cambardella, C.A.; Moorman, T.B.; Novack, J.M.; Parkin, T.B.; Karalan, D.L.; Turco, R.F.; Konopka, A.E.** 1994. Field Scale Variability of Soil Properties in Central Iowa Soils. *Soil Science Society of American*. 58: 1501-1511.
- Campbell, C. L.; Powell, N. T.** 1980. Progression of diseases induced by soilborne pathogens: tobacco black shank. *Protection Ecology* 2: 177-182.
- Campbell C.L., Jacobi W.R., Powell N.T., Main C.E.** 1984. Analysis of disease progression and the randomness of occurrence of infected plants during tobacco black shank epidemics. *Phytopathology* 74: 230-235.
- Campbell, C.L.; Madden, L.V.** 1990. Introduction to plant disease epidemiology. John Wiley, New York, 532 pp.
- Capote, N.; Pastrana, A.M.; Aguado, A.; Sánchez-Torres, P.** 2012. Molecular Tools for detection of Plant Pathogenic Fungi and Fungicide Resistance, *Plant Pathology*, Dr. Christian Joseph Camagun (Ed.), ISBN: 978-953-51-0489-6, In Tech, Available from: <http://www.intechopen.com/books/plant-pathology/molecular-tools-for-detection-of-plant-pathogenic-fungi-and-fungicide-resistance>.
- Carling, D.E.; Leiner, R.H.** 1990a. Effect of temperature on virulence of *Rhizoctonia solani* and other *Rhizoctonia* on potato. *Phytopathology* 80: 930-934.
- Carling, D.E.; Leiner, R.H.** 1990b. Virulence of isolates of *Rhizoctonia solani* AG-3 collected from potato plant organs and soil. *Plant Disease* 74: 901-903.
- Carling, D.E.** 1996. Grouping in *Rhizoctonia solani* by Hyfal Anastomosis Reaction. *Sneh et al.(eds.)*, En: *Rhizoctonia Species: Taxonomy, Molecular Biology, Ecology, Pathology and Disease Control*, Kluwer Academic Publishers. pp 37-47.



- Carling, D.E.; Kuninaga, S.; Brainard, K.A.** 2002. Hyphal anastomosis reactions, rDNA-internal transcribed spacer sequences, and virulence level s among subsets of *Rhizoctonia solani* anastomosis group-2 (AG2) and AG-BI. *Phytopathology* 92: 43-50.
- Carmona, M.; Moschini, R.; Conti H.** 1997. Meteorological factors influencing the incidence of barley scald and its spatial distribution over the Argentine Pampas Region. *Journal of Plant Pathology*, 79 (3): 203-209.
- Ceresini, P.C.; Shew, H.D.; Vilgalys, R.J.; Cubeta, M.A.** 2002. Genetic diversity of *Rhizoctonia solani* AG-3 from potato and tobacco in North Carolina. *Mycologia* 94: 437-449.
- Chaijuckam, P.; Davis, R. M.** 2010. Characterization of diversity among isolates of *Rhizoctonia oryzae-sativae* from California rice fields. *Plant Disease* 94: 690-696.
- Chellemi, D. O.; Rohrbach, K.G.; R. Yost, R.S.; Sonoda, R.M.** 1988. Analysis of the spatial pattern of plant pathogens and diseased plants using geostatistics. *Phytopathology*. 78: 221-226.
- Chiles, J. P.; Delfiner, P.** 1999, *Geostatistics, Modelling Spatial Uncertainty*, Eds. Wiley-Interscience, 720p.
- Ciampi, M.B.; Meyer, M.C.; Costa, M.J.N.; Zala, M.; McDonald, B.A.; Ceresini, P.C.** 2008. Genetic structure of populations of *Rhizoctonia solani* anastomosis group-1 IA from soybean in Brazil. *Phytopathology* 98: 932-941.
- Clayton, E.E.** 1941. Control of flue-cured tobacco root diseases by crop rotation. U.S. Department of Agriculture, 120p.
- Cole, J.S.; Zvenyika, Z.** 1987. Triadimenol drenches and residues in tobacco seedbeds improve growth and disease control in transplants. *Plant Pathology* 36: 389-393.
- Cole, J.S.; Zvenyika, Z.** 1988. Integrated control of *Rhizoctonia solani* and *Fusarium solani* in tobacco transplants with *Trichoderma harzianum* and triadimenol. *Plant Pathology*, 37 (2): 271-277.
- Cook, R.J.; Baker, K.F.** 1983. Nature and practice of biological control of plant pathogens. St. Paul. Eds. APS Press.
- Cressie, N.**, 1993, *Statistics for spatial data*, Ed. Wiley Interscience, 928p.
- Cruick-Shank, R.H.** 1990. Pectic zymograms as criteria in taxonomy of *Rhizoctonia*. *Mycological Research* 94: 938-946.
- Csinos, A.S.; Stephenson, M.G.** 1999. Evaluation of fungicides and tobacco cultivar resistance to *Rhizoctonia solani* incited target spot, damping off and sore shin. *Crop Protection* 18:373-377.
- Cubeta, M.A.; Vilgalys, R.** 1997 Population biology of the *Rhizoctonia solani* complex. *Phytopathology* 87: 480-484.
- Cuellar, D.; Aparicio, M.; Mercado Cárdenas, G.; Galván, M.; Taboada, G.; Galli, J.; Martínez, M.; Ibarra, L.; Menéndez Sevillano, M.; Toncovich, M.E.** 2013. Variabilidad genética en germoplasma de tabaco Tipo Virginia empleando marcadores moleculares. *Ciencia y Tecnología de los Cultivos Industriales* 3(4): 24-29.
- De Candolle, A.P.** 1815. *Flore Française*. Edición 3, Vol. 5, Desrary, France.

- Díaz, H. M.; Gil, G. M.; Mena, P. E.; Licourt, P. D.** 2011. San Luis 21, nueva variedad de tabaco Virginia resistente a las principales enfermedades, de alto rendimiento y buena calidad. *Tobacco Irrigation*, Vol. 2, N° 1: 19-20.
- Di Rienzo, J.A.; Casanoves, F.; Balzarini, M.G.; Gonzalez, L.; Tablada, M.; Robledo, C.W.** 2011. InfoStat versión 2011. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>
- Dodman, R. L.; Barker, K. R.; Walker, J. C.** 1968. A detailed study of the different modes of penetration by *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology* 58: 1271-1276.
- Doyle J. J.; Doyle J. L.** 1990. A rapid DNA isolation procedure from small quantities of fresh leaf tissues. *Phytochemical Bulletin* 19: 11-15.
- Dubey, S.C.; Tripathi, A.; Upadhyay, B.K.** 2012. Molecular diversity analysis of *Rhizoctonia solani* isolates infecting various pulse crops in different agro-ecological regions of India. *Folia Microbiologica*, 57: 513-524.
- Elliott, P. E.; Lewis, R. S.; Shew, H. D.; Gutierrez, W. A.; Nicholson, J. S.** 2008. Evaluation of tobacco germplasm for seedling resistance to stem rot and target spot caused by *Thanatephorus cucumeris*. *Plant Disease*, 92:425-430.
- Excoffier, L.; Smouse, P.E.; Quattro, J.M.** 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* 131: 479-491.
- Fernández-Aguilar, R.; Oyervides García, A.; López Benítez, A.; Espinoza Velázquez, J.; Rodríguez Herrera, S.** 2012. Respuesta de cuatro genotipos de maíz tropical al achaparramiento Ocasionado por *Spiroplasma kunkelli*. *Agraria* 9 (3): 81-87.
- Fernández de Ullivarri, D.** 1990. El cultivo de los tabacos claros. Centro regional Salta-Jujuy EEA – Salta. Salta. Argentina. Edición Comunicaciones Agropecuarias. 78 p.
- Gallardo, A.; Maestre, F.T.** 2008. Métodos geoestadísticos para el análisis de datos ecológicos especialmente explícitos En: Maestre F.T., Escudero A., Bonet, A. (Eds.), *Introducción al Análisis Espacial de Datos en Ecología y Ciencias Ambientales: Métodos y Aplicaciones*. Universidad Rey Juan Carlos, 215-272.
- García, M.G.; Ramos, E.R.; Chacon, O.C.; Bocourt, Y.P.; Ochoa, R.R.** 2009. First report of binucleate *Rhizoctonia* causing damping off in Tobacco seedlings in Cuba. *Fitosanidad*, 13(3): 221.
- Ghini, R.; Morandi, M.A.** 2006. Biotic and abiotic factors associated with soil suppressiveness to *Rhizoctonia solani*. *Sci. Agric. (Piracicaba, Braz.)*, Vol.63, N°2: 153-160.
- Gil, M.; Peñalver, N.; Del Castillo, N.** 1992. Comportamiento de nuevas variedades de tabaco virginia en Cuba. *Cultivos Agroindustriales* Vol. 2, N° 2: 23-33.
- Godoy-Lutz, G.; Steadman, J.R.; Higgins, B.; Powers, K.** 2003. Genetic variation among isolates of the web blight pathogen of common bean based on PCR–RFLP of the ITS-rDNA region. *Plant Disease* 87: 766–771.
- Godoy-Lutz G.; Kuninaga S.; Steadman J.R.; Powers K.** (2008). Phylogenetic analysis of *Rhizoctonia solani* subgroups associated with web blight symptoms on common bean based on ITS-5.8S rDNA. *Journal of General Plant Pathology* 74:32–40

- Goodspeed, T. H.** 1954. The genus *Nicotiana*. *Chronica Botanica* 16: 1-536.
- González-Hernández D.** 2002. Estado actual de la taxonomía de *Rhizoctonia solani* Kühn. *Revista mexicana de Fitopatología Volumen* 20 (2): 200-205.
- González, M.; Merardo, P.; Metraux, J.P.; González García, V.; Bolton, M.; Borrás Hidalgo, O.** 2011. Tobacco leaf spot and root rot caused by *Rhizoctonia solani* Kühn. *Molecular Plant Pathology* 12(3): 209-216.
- González, N.; Godoy-Lutz, G.; Steadman, J.; Higgins, R.; Eskridge, K.** 2012. Assessing genetic diversity in the web blight pathogen *Thanatephorus cucumeris* (anamorph=*Rhizoctonia solani*) subgroups AG-1-IE and AG-1-IF with molecular markers. *Journal of General Plant Pathology* 78: 85–98.
- González, V.; Portal-Onco, M.A.; Rubio-Susan, V.** 2006.: Review. Biology and systematics of the form Genus *Rhizoctonia*. *Spanish Journal of Agricultural Research* 4 (1): 55-79.
- González García, M.** 2008. Aspectos de sistemática y biología del complejo *Rhizoctonia*. *Fitosanidad* 12 (3): 147-159.
- Goovaerts, P.** 1997. *Geostatistics for Natural Resource Evaluation*. Ed. Oxford University Press, New York. 483p.
- Gower, J.C.; Digby, P.G.N.** 1981. Expressing complex relationships in two dimensions, In: *Interpreting Multivariate Data* (V. Barnett, ed.), pp. 83-118, *John Wiley & Son, INC*.
- Gurkanli, C.T., Ozkoc, I.; Gunduz I.** 2009. Molecular and conventional identification and pathogenicity of *Rhizoctonia solani* isolates from Tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) in Samsun, Turkey. *Journal of Phytopathology* 157: 686-696.
- Gurkanlic, C.T.; Ozkoc, I.** 2011. First report of B.N. *Rhizoctonia* from Tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) in Samsun, Turkey. *Pak. J. Bot.*, Vol 43, N° 1: 51-57.
- Gutierrez, W. A.; Shew, H. D.; Melton, T. A.** 1997. Sources of inoculum and management for *Rhizoctonia solani* damping-off on tobacco transplants under greenhouse conditions. *Plant Dis.* 81:604-606.
- Gveroska, B.; Ziberoski, B.** 2011. The influence of *Trichoderma harzianum* on reducing root rot disease in tobacco seedlings caused by *Rhizoctonia solani*. *International Journal of Pure and Applied Sciences and Technology*, 2(2): 1-11.
- Hao, J.; Subbarao, K.** 2005. Comparative analyses of lettuce drop epidemics caused by *Sclerotinia minor* and *Sclerotinia sclerotiorum*. *Plant Disease* 89: 717-725.
- Hall, T.A.** 1999. Bioedit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis 135 program for Windows 95/98/ NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 41, 95–98.
- Hantula, J.; Dusabenyagasani, M.; Hamelin, R.C.** 1996. Random amplified microsatellites (RAMS)- a novel method for characterizing genetic variation within fungi. *European Journal of forest Pathology* 26: 159–166.
- Hantula, J.; Lilja, A.; Nuorteva, H.; Parikka, P.; Werres, S.** 2000. Pathogenicity, morphology and genetic variation of *Phytophthora cactorum* from strawberry, apple, rhododendron, and silver birch. *Mycological Research* 104(9): 1062-1068.
- Herr, L.J.** 1979. Practical nuclear staining procedure for *Rhizoctonia*-like fungi.

Phytopathology 69: 958-961.

- Hunziker, A. T.** 2001. *The Genera of Solanaceae*. A. R. G. Gantner Verlag, Ruggell.
- Hussain, A.; Awan, M.S.; Morari, F.; Iqbal, Sh.M.; Hassan, S.N.** 2014. Spatial analysis of potato black scurf disease distribution using GIS and variability of *Rhizoctonia solani* isolates in Central Karakoram National Park Gilgit-Baltistan, Pakistan. *International Journal of Biosciences* 4 (2): 17-27.
- Hyakumachi, M.; Ui, T.** 1987. Non-self-anastomosing isolates of *Rhizoctonia solani* obtained from fields of sugar-beet monoculture. *Transactions of the British Mycological Society* 89:155-159.
- Hyakumachi, M.; Priyatmojo, A.; Kubota, M.; Fukui, H.** 2005. New anastomosis groups, AG-Tand AG-U, of binucleate *Rhizoctonia* spp. causing root and stem rot of cutflower and miniature roses. *Phytopathology* 95,784-792.
- Jana, T.; Sharma, T.; Singh, N.** 2005. SSR-based detection of genetic variability in the charcoal root rot pathogen *Macrophomina phaseolina*. *Mycological Research* 109:81-86.
- Jeger, M.J.** 1987. The influence of root growth and inoculum density on the dynamics of root disease epidemics: Theoretical analysis. *New Phytologist*, 107: 459-478.
- Jiménez Díaz, Rafael; Castillo Castillo, Pablo; Navas Cortés, Juan.** 2004. Muestreo, cuantificación y caracterización patogénica de hongos y nematodos fitopatógenos en el suelo: implicaciones para el control de enfermedades. *Phytoma España* 164: 138-142.
- Johnk, J. S.; Jones, R.K.** 1993. «Differentiation of Population of AG-2-2 of *Rhizoctonia solani* by Analysis of Fatty Acids», *Phytopathology* 83:278-283, EE.UU.
- Jones, R.K.; Belmar, S.B.** 1989 Characterization and pathogenicity of *Rhizoctonia* spp. isolated from rice, soybean, and other crops grown in rotation with rice in Texas. *Plant Disease*. 73:1004-1010.
- Junior, W.C; Pozza, E.A.; Ribeiro do Vale, F.X.; Mora Aguilera, G.** 2004. Análise Temporal de Epidemias. In: *Epidemiologia aplicada ao manejo de doenças de plantas*. Ribeiro do Vale, F.X.; Junior, W.C.; Zambolim, L. (Eds.). Perfil Editora 240p.
- Justesen, A.F.; Yohalem, D.; Bay, A.; Nicolaisen, M.** 2003. Genetic diversity in potato field populations of *Thanatephorus cucumeris* AG 3, revealed by ITS polymorphism and RAPD markers. *Mycol. Res.* 107: 1323-1331.
- Khodayari, M.; Safaie, N.; Shamsbakhsh, M.** 2009. Genetic Diversity of Iranian AG1-IA Isolates of *Rhizoctonia solani*, the Cause of Rice Sheath Blight, Using Morphological and Molecular Markers. *Journal of Phytopathology*, 157: 708–714.
- Kimati, H.** 1995. Controle químico. En: Bergamin Filho, A.; Kimati, H.; Amorim, L. (Ed.). *Manual de fitopatologia*. v.1: Princípios e conceitos. 3ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. 761-785pp.
- Kistler, H.C.** 1997. Genetic diversity in the plant-pathogenic fungus *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology*, 87: 474–479.
- Knapp, S.; Chase, M.; Clarkson, J.** 2004. Nomenclatural changes and a new sectional classification in *Nicotiana* (Solanaceae). *Taxon* 53 (1): 73–82.

- Kousik, C.S.; Snow, J.P.; Berggren, G.T.; Harville, B.G.** 1995. Effect of temperature on virulence of *Rhizoctonia solani* on soybean leaves and seedlings. *Plant Pathology* 44: 580-586.
- Kranz, J.** 2003. *Comparative Epidemiology of Plant Disease*. Springer, New York, USA, 206p.
- Krige, Danie G.** 1951. A statistical approach to some basic mine valuation problems on the Witwatersrand. *J. of the Chem., Metal and Mining Society of South Africa* 52 (6): 119–139.
- Krupa, S.W.; Dommergues, Y.K.** 1981. *Ecology of root pathogens*. Second edition. Elsevier Scientific publishing company. USA. 292p.
- Kucharek, T.A., Trevola, R., Tyree, A.** 1992. Suppression of foliar blight and sore sin of tobacco caused by *Rhizoctonia solani* with iprodione. *Abstract Phytopathology* 82(4), 499.
- Kühn, J.G.** 1858. *Die Krankheiten der Kulturegewächse, ihre ursachen und ihre Verhütung*. Gustav Bosselmann, Berlin, 312p.
- Kuramae, E. E.; Buzeto, A.L.; Nakatani, A.K.; Souza, N.L.** 2007. rDNA-based characterization of a new binucleate *Rhizoctonia* spp. causing root rot on kale in Brazil. *European Journal of Plant Pathology* 119 (4):469-475.
- LaMondia J.A.** 2012. Efficacy of azoxystrobin fungicide against sore shine of shade tobacco caused by *Rhizoctonia solani*. *Tobacco Science* 49: 1-3.
- Lannou, C.; Savary, S.** 1991. The spatial structure of spontaneous epidemics of different diseases in a groundnut plot. *Netherlands Journal of Plant Pathology* 97: 355-368.
- Large E. C.** 1945. Field trials of copper fungicides for the control of potato blight I. Foliage protection and yield. *Annals of Applied Biology* 32: 319-329.
- Large E. C.** 1952. The interpretation of progress curves for potato blight and other plant disease. *Plant Pathology* 1: 109-117.
- Larkin, R.; Gumpertz, M.; Ristaino, J.** 1995. Geostatistical Analysis of *Phytophthora* epidemic development in commercial bell pepper fields. *Phytopathology* 85: 191-203.
- Laroche, J. P.; S. Jabaji-Hare; P. M. Charest.** 1992. «Differentiation of Two Anastomosis Groups of *Rhizoctonia solani* by Isozyme Analysis», *Phytopathology* 82:1387-1393, EE.UU.
- Lecoustre, R., D.; Fargette, C.; Fauquet, A.; de Reffye, P.** 1989. Analysis and mapping of the spatial spread of *African Cassava Mosaic Virus* using geostatistics and the kriging technique. *Phytopathology*. 79: 913-920.
- Legendre, L.; Legendre, P.** 1983. *Numerical Ecology: developments in environmental modeling*, 3. Elsevier, Amsterdam, The Netherlands.
- Li, C.C.** 1975. *Path analysis: a primer*. California Boxwood, Pacific Grove. 346p.
- Li, H.; Wu, B.; Yan, S.** 1998. Aetiology of *Rhizoctonia* in sheath blight of maize in Sichuan. *Plant Pathology* 47: 16-21.
- Linnaeus, C.** 1753. *Species Plantarum*, ed. 1. Salvius, Stockholm.
- Liu, S.L.; Sinclair, J.B.** 1992. Genetic diversity of *Rhizoctonia solani* anastomosis group 2. *Phytopathology* 82: 778-787.

- Liu, Z. L.; J. B. Sinclair.** 1993 «Differentiation of Intraspecific Groups Within Anastomosis Group I of *Rhizoctonia solani* Using Ribosomal DNA Internal Transcribed Spacer and Isozyme Analysis», *Can. J. Plant pathol.* 12:376-382, Canadá.
- Liu, Z. L.; L. L. Domier; J. B. Sinclair.** 1993. «ISG-Specific Ribosomal DNA Polymorphism of the *Rhizoctonia solani* Species Complex», *Mycologia* 85 (5):795-800, EE.UU.
- López Olmos, K.; Hernández Delgado, S.; Mayek Pérez, N.** 2005. AFLP fingerprinting for Identification of Anastomosis Groups of *Rhizoctonia solani* Kühn from Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 23(2): 147-151.
- Londoño, L.** 2007. Modelización y análisis espacial. Universidad de San Buenaventura. Facultad de Ingeniería Medellín.
- Lucas, G.** 1975. Diseases of Tobacco. Third Edition. Biological Consulting Associates Box 5726. Raleigh, North Carolina. pp. 174-190.
- MacNish, G.C.; Carling, D.E.; Sweetingham, M.W.; Brainard, K.A.** 1994. Anastomosis group (AG) affinity of pectic isozyme (zymogram) groups (ZG) of *Rhizoctonia solani* from the Western Australian cereal-belt. *Mycological Research*, 98: 1369-1375.
- MacNish, G.C.; Sweetingham, M.W.** 1993. Evidence of stability of pectic zymogram groups within *Rhizoctonia solani* AG-8. *Mycol. Res.* 97: 1056-1058.
- Madden, L.; Hughes, G.; Van den Bosch, D.** 2007. The study of plant disease epidemics. The American Phytopathological Society, APS Press, St. Paul, MN. 432 p.
- Mahmoudi, B.; Mesbah, M.; Rahimian, H.; Alizadeh, A.; Noruzi, P.** 2005. Genetic diversity of sugar beet isolates of *Rhizoctonia solani* revealed by RAPD-PCR and ITS.rDNA analysis. *Iranian Journal of Plant Pathology*, 41: 223-227.
- MAGYP.** 2014. Programa de Reconversión de Áreas Tabacaleras. <http://www.mininterior.gov.ar/municipios/progmasinfo.php?programa=245&idName=municipios&idNameSubMenu=municipiosMun&idNameSubMenuDer=municipiosMunGuia&idNameSubMenuDerNivel2=&idNameSubMenuDerPrincipal=>
- Mahmoud, Y.A.; Gaafar, R.M.; Mubarak, H.M.** 2007. Genetic Diversity among Nile Delta Isolates of *Rhizoctonia solani* Kühn Based on Pathogenicity, Compatibility, Isozyme Analysis and Total Protein Pattern. *Turk. J. Bot.* 31: 19-29.
- McDonald, B.A., Linde, C.** 2002. Pathogen population genetics, evolutionary potential and durable resistance. *Annual Review of Phytopathology* 40:349–379.
- Malthus, T.** 1798. An Essay on the Principle of Population. Printed for J. Johnson, in St. Paul's Church-Yard, London.
- March, G.J.; Oddino, C.; Marinelli, A** 2010. Manejo de las enfermedades de los cultivos según parámetros epidemiológicos. 1a ed. Córdoba, 193p.
- Martin S.B.** 1988. Identification, isolation and pathogenicity of anastomosis groups of binucleate *Rhizoctonia* spp. from strawberry roots. *Phytopathology* 78: 379-384.
- Martin, F.N.** 2000. *Rhizoctonia* spp., recovered from strawberry roots in central coastal California. *Phytopathology* 90: 345-353.

- Martínez-Hilders, A.; Laurentin, H.** 2012. Caracterización fenotípica y molecular de *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. Proveniente de la zona de producción de Ajonjolí en Venezuela. *Bioagro* 24(3):187-196.
- Masuka, A.J.** 1998. Binucleate *Rhizoctonia* on tobacco in Zimbabwe. *Plant Disease*, 82: 263.
- Matsumoto, T.; Yamamoto, W.; Hirane, S.** 1932. Physiology and parasitology of the fungi generally referred to as *Hypochnus sasaki* Shirai. I. Differentiation of the strains by means of hyphal fusion and culture in differential media 4:370–388
- McDonald, B.A.; Linde, C.** 2002. Pathogen population genetics, evolutionary potential, and durable resistance. *Annual Review of Phytopathology* 40: 349–79.
- McNew, G. L.** 1960. The nature, origin, and evolution of parasitism. IN: Horsfall, J. G.; Dimond, A. E.(eds). *Plant Pathology*. Vol. II. New York. Academic Press. Pp 20-66.
- Mercado Cárdenas, G.; Galván, M.; Barrera, V.; Carmona, M.** 2012. First report of target spot of tobacco caused by *Rhizoctonia solani* (AG-2.1). *Plant Disease*. 96(3): 456.
- Mercado Cárdenas G., Pérez Brandán C., Gimenez Monge, J.L. y Chocobar M.** 2009. Patologías que afectan al cultivo de tabaco en la provincia de Salta y Jujuy (Argentina). *Anuario 2009/ 1º Edición, Salta*. 74p.
- Meyer J.C., Van Wyk R.J., and Phillips A.J.** 1990. *Rhizoctonia* leaf spot of tobacco in South Africa. *Plant Pathology* 39: 206-207.
- Meyer, W.; Mitchell, T.G.; Freedman, E.Z.; Vilgalys, R.** 1993. Hybridization probes for conventional DNA fingerprinting used as single *primers* in the polymerase chain reaction to distinguish strains of *Cryptococcus neoformans*. *Journal of Clinical Microbiology* 31: 2274-2280.
- Mihail, J. D.; Alcorn, S. M.** 1987. *Macrophomina phaseolina*: Spatial Patterns in a Cultivated Soil and Sampling Strategies. *Phytopathology*., 77: 1126-1131.
- Michereff, S.; Andrade, D.E.G.T.; Peruch, L.; Menezes, M.** 2005. “Importância dos patógenos e das doenças radiculares em solos tropicais”. Michereff, S.; Andrade, D.E.G.T.; Menezes, M.(eds.) *Ecologia e Manejo de Patógenos Radiculares em Solos Tropicais*, 1-18pp.
- Mirmajlessi, M.S.; Safaie, N.; Mostafavi, H.A.; Mansouripour, S.M.; Mahmoudy, S.B.** 2012. Genetic diversity among crown and root rot isolates of *Rhizoctonia solani* isolated from cucurbits using PCR based techniques. *African Journal of Agricultural Research* 7(4): 583-590.
- Mishra, P.K.; Fox, R.T.V.; Culham A.** 2003. Development of a PCRbased assay for rapid and reliable identification of pathogenic *Fusaria*. *FEMS Microbiol Lett* 218:329–332.
- Mitscherlich, E.A.** 1909. Des Gesetz des Minimums und das Gesetz des abnehmended Bodenertrages. *Landwirsch. Jahrb.* 3: 537-552.
- Montero Tavera, V.; Guerrero Aguilar, B.Z.; Anaya López, J.L.; Martínez Martínez, T.O.; Guevara Olvera, L.; González Chavira, M.M.** 2013. Diversidad genética de aislados de *Rhizoctonia solani* (Kühn) de Chile en México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 4 (7): 1043-1054.

- Moral García, F.J.** 2004. Aplicación de la geoestadística en las ciencias ambientales. *Ecosistemas* 13 (1): 78-86.
- Mora Aguilera, G.; March, G.; Marinelli, A., Micherff S.** 2012. Epidemiología. Fundamentos y Aplicaciones en Patosistemas Agrícolas. UNRC. Argentina (en edición).
- Moschini, R.; Carmona, M.; Barreto D.; Conti H.** 1996. Modelos basados en variables meteorológicas para predecir la incidencia de la mancha en red de la cebada cervicera: Evaluación del potencial climático respecto a la enfermedad. *Fitopatología Brasileira*. 21 (3): 373-380.
- Moschini, R.; Pioli, R.; Carmona M.; Sacchi, O.** 2001. Empirical predictions of wheat head blight in the Northern Argentinean pampas region. *Crop Science*. 41: 1541-1545
- Moschini, R.C.; Carranza, M.R.; Carmona, M.** 2004 Meteorological-based predictions of wheat head blight epidemic in the southern argentinean pampas region. *Cereal Research Communications* 32: 45-52.
- Moschini, R.C.; Martínez, M.; Conti, H.A.; Cazenave, G.; Galvani, G.** 2007. Los cultivos de soja y trigo: herramientas para la predicción y manejo de enfermedades en argentina. In: Simposio Mundo Agro 2007: Intensificación de los sistemas de producción y el manejo del riesgo en agricultura. Incorporando nuevas tecnologías para el manejo de los cultivos. Buenos Aires, Hotel Milton, junio. pp.39-48.
- Muyolo, N. G.; Lipps, P.E.; Schmitthenner, A.F.** 1993. Anastomosis grouping and variation among isolates of *Rhizoctonia solani* associated with dry bean and soybean in Ohio and Zaire. *Phytopathology* 83: 438-444.
- Nelson, M.R.; Orum, T.V.; Jaime-García, R.; Nadeem, A.** 1999. Applications of Geographic Information Systems and Geostatistics in Plant Disease Epidemiology and Management. *Plant Disease* 83(4): 309-319.
- Nicoletti, R.; Lahoz,E.**1995. Recovery of *Rhizoctonia solani* AG-5 from Tobacco in Italy. *Plant Disease* 79:540.
- Nicoletti, R.; Lahoz,E.; Kanematsu, S.; Naito, S.; Contillo, R.** 1999. Characterization of *Rhizoctonia solani* isolates from tobacco fields related to Anastomosis Groups 2-1 and BI (AG2-1 and AG BI). *Journal of Phytopathology.*, 147: 71-77.
- Nimbole, P.** 2009. GIS ArcMap (ArcMap Versión 9.2). <https://connect.ncdot.gov/projects/planning/TPB%20Training%20Presentations/ArcGIS%20Frequently%20Asked%20Questions.pdf>.
- Nutter, F.W.; Parker, S.K.** 1997. Fitting disease progress curves using EPIMODEL. En: Exercises in plant disease Epidemiology. Francl, L.; Neher, D.A. (Eds.). APS Press, St. Paul, MN, 24-28.
- Olanya, M.; Campbell, C. L.** 1988. Effects of Tillage on the Spatial Pattern of Microsclerotia of *Macrophomina phaseolina*. *Phytopathology*, 78: 217-221
- Ogoshi, A.; Oniki, M.; Araki, T.; Ui, T.** 1983. Anastomosis groups of binucleate *Rhizoctonia* in Japan and North America and their perfect states. *Mycological Society. Japan* 24: 79-87.



- Ogoshi, A.** 1987. Ecology and pathogenicity of anastomosis and intraspecific groups of *Rhizoctonia solani* Kühn. Annual Review of Phytopathology 25: 125-143.
- Ornaghi, J.A.; March, G.L.; Moschini, R.; Martínez, M.I.; Boito, G.T.** 2008. Predicción del nivel poblacional de *Delphacodes kuscheli* vector del Mal del Río Cuarto Virus y riesgo climático de la región pampeana según modelos meteorológicos. In: Resúmenes, 1° Congreso Argentino de Fitopatología. Córdoba, Argentina, Mayo, 296p.
- Orozco-Avitia, A.; Esqueda, M.; Meza, A.; Tiznado, M.; Gutierrez, A.; Gardea, A.** 2013. Temperature effect on *Rhizoctonia solani* analyzed by microcalorimetry. Agricultural and Biological Sciences 8 (2): 162-166.
- O'Sullivan, E.; Kavanagh, J.A.** 1991. Characteristics and pathogenicity of isolates of *Rhizoctonia* spp. associated with damping-off of sugar beet. Plant Pathology 40(1): 128-135.
- Page, R. D. M.** 1996. TREEVIEW: An application to display phylogenetic trees on personal computers. Computer Applications in the Biosciences 12: 357-358.
- Parmeter, J.R. Jr; Whitney, H.S.; Platt, W.D.** 1967. Affinities of some *Rhizoctonia* species that resemble mycelium of *Thanatephorus cucumeris*. Phytopathology 57: 218-222.
- Parmeter, J. R.** 1970. *Rhizoctonia*, biology and pathology. Edited by J.R.Parmeter. University of California Press, Berkeley & Los Angeles. 255p.
- Parmeter, J.R. Jr; Whitney, H.S.** 1970. Taxonomy and nomenclature of the imperfect state. En. *Rhizoctonia solani*: Biology and pathology. Ed. Parmeter JR Jr , University of California Press, USA. pp. 7-19.
- Pascual, C.B.; Toda, T.; Raymondo, A.D.; Hyakumachi, M.** 2000. Characterization by conventional techniques and PCR of *Rhizoctonia solani* isolates causing banded leaf sheath blight in maize. Plant Pathology 49: 108-118.
- Peñalver Martínez, N.; González Guardiola, Y.** 2001. Caracterización morfológica de dos aislados de *Rhizoctonia solani* Kuhn y su comportamiento frente a nueve variedades y líneas de tabaco. <http://www.apsnet.org/meetings/div/cr01abs.asp>.
- Piccolo, M. A.** 2004. Producción y Comercialización Mundial y Nacional de Tabaco. INTA EEA Salta. 12p.
- Pinto, C. M. F.; Maffia, L. A.; Berger, R. D.; Mizubuti, E. S. G.; Casali, V. W. D.** 1998. Progress of white rot on garlic cultivars planted at different times. Plant Disease 82:1142-1146.
- Pradeep, R.; Sarla, M.; Siddiq, E.A.** 2002. Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. Euphytica, 128 (1): 9-17.
- Ramírez, J.F.; González, A.; Sánchez, J.R.; de León C.** 2011. Modelización y generación de mapas del comportamiento espacial de *Sporisorium reilianum* ((Kühn) Langdon y Fullerton) en Estado de México, México. Revista Facultad de Ciencias Agrarias UNCUYO 3 (2): 157-173.
- Raper, D.C.; Smith, T.W.** 1975. Factors affecting the development of flue-cured tobacco grown in artificial environments. Agronomy Journal 67: 307-312.
- Reis, E.M.; Casa, R.T.; Carmona, M.** 2002. Elementos para el manejo de enfermedades. En: Sarandón, S. Ed. Prácticas alternativas de manejo para una

agricultura sustentable. Agroecología: El camino a una agricultura sustentable. pp. 275-308.

**-Reis, E.M.; Casa, R.T.; Segalin, M.; Deuner, E.; Carmona, M.A.** 2009. Estratégias para a produção de material de propagação vegetal livre de patógenos. *Abrates*, 19: 19-36.

**-Reis, E.M.; Casa, R.T.; Hoffmann, L.L.** 2005. Controle Cultural de Doenças Radiculares. Michereff, S.; Andrade, D.E.G.T.; Menezes, M.(eds.) *Ecologia e Manejo de Patógenos Radiculares em Solos Tropicais*, 278-301pp.

**-Ren, N.; Timko, M.P.** 2001. AFLP analysis of genetic polymorphism and evolutionary relationships among cultivated and wild *Nicotiana* species. *Genome* 44 (4): 559-571.

**-Ribeiro Do Vale, F.X; Junior, C. J. W.; Zambolin, L.** 2004. Epidemiologia aplicada ao manejo de doenças de plantas. Perfil Editora. Belo Horizonte. 532p.

**-Robinson, R.** 1987. Host Management in Crop Pathosystems. Mac Millan Publishing Co. New York. 763p.

**-Rodríguez Faraldo, M.A.; Orestes Zilocchi, H.** 2012. Historia del cultivo de tabaco en Salta. Edición Buenos Aires: Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca, 224 p.

**-Rodríguez González, G.; Silva-Acuña, R.; Cásares Moizant, R.; Díaz Quintana, A.** 2006. Aplicación del análisis de sendero a la época del incremento poblacional de *Opsiphanes cassina* Felder (Lepidoptera: Nymphalidae), en palma aceitera. *Entomotropica* 23(1): 161-169.

**-Rogers, J.D.** 1965. The conidial stage of *Coniochaeta lignaria*: morphology and cytology. *Mycologia* 57: 368-378.

**-Rohlf, M.** 1998 'NTSYS-pc. Numerical taxonomy and multivariate analysis system.' Version 2.0. (State University of New York: New York).

**-Rosewich, U.L.; Pettway, R.E.; McDonald, B.A.; Kistler, H.C.** 1999. High levels of gene flow and heterozygote excess characterize *Rhizoctonia solani* AG-1 IA (*Thanatephorus cucumeris*) from Texas. *Fungal Genet. Biol.* 28: 148-159.

**-Saitou, N.; Nei, M.** 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.* 4 (4): 406-425.

**-Sambroock, J.; Fritsch, E.T.; Maniatis, T.** 1989. Molecular cloning. A Laboratory Manual.' (Cold Spring Harbor: New York).

**-Schoch, C.L.; Seifert, K.A.; Huhndorf, S.; Robert, V.; Spouge, J.L.; Levesque, C.A.; Chen, W.; Fungal Barcoding Consortium.** 2012. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi, *PNAS* 109(16): 6241-6246.

**-Schneider, J.H.M.; Kocks, G.C.** 1995. Mapping *Rhizoctonia* disease using geostatistics to reduce sampling. Abstract N° P-5-5. International Symposium on *Rhizoctonia*. Noorwijkerhout, The Netherlands.

**-Schneider, J.H.M.; Salazar, O.; Rubio, V.; Keijer, J.** 1997. Identification of *Rhizoctonia solani* associated with field-grown tulips using ITS rDNA polymorphism and pectic zymograms. *European Journal of Plant Pathology* 103: 607-622.

**-Schneider, S.; Roessli, D.; Excoffier, L.** 2000. Arlequin: A software for population

genetics data analysis.' Version 2000. (University of Geneva: Geneva).

-**Sharma, M.; Gupta, S.K.; Sharma, T.R.** 2005. Characterization of variability in *Rhizoctonia solani* by using morphological and molecular markers. *Journal of Phytopathology* 153: 449–456.

-**Sharon, M.; Kuninaga, S.; Hyakumachi, M.; Sneh, B.** 2006. The advancing identification and classification of *Rhizoctonia* spp. using molecular and biotechnological methods compared with the classical anastomosis grouping. *Mycoscience* 47: 299–316.

-**Sharon, M.; Kuninaga, S.; Hyakumachi, M.; Naito, S.; Sneh B.** 2008. Classification of *Rhizoctonia* spp. using rDNA-ITS sequence analysis supports the genetic basis of the classical anastomosis grouping. *Mycoscience*. 49: 93-114.

-**Sherwood, R.T.** 1969. Morphology and physiology in four anastomosis groups of *Thanatephorus cucumeris*. *Phytopathology* 59: 1924–1929.

-**Shew, H.D.; Lucas, G.B.** 1991. Compendium of Tobacco Diseases. The American Phytopathological Society. 68p.

-**Shew, H.D.; Main, C.E.** 1985. *Rhizoctonia* leaf spot of flue-cured tobacco in North Carolina. *Plant Disease* 69:901-903.

-**Shew, H.D.; Melton, T.A.** 1995. Target spot of tobacco. *Plant Disease*, 79: 6-11.

-**Sneath, P.H.; Sokal, R.R.** 1973. Numerical taxonomy. (Freeman: San Francisco).

-**Sneh, B.; Burpee, L.; Ogoshi, A.** 1991. Identification of *Rhizoctonia* species. The American Phytopathological Society, APS Press, EE.UU.

-**Stefanova, M.; Sandoval, LL.; Martínez, M.; Heredia, I.; Ariosa, M.; Arévalo, R.** 2004. Control de hongos fitopatógenos del suelo en semilleros de tabaco con *Trichoderma harzianum*. *Fitosanidad* 8 (2): 35-38.

-**Stodart, B.; Harvey, P.R.; Neate, S.M.; Melanson, D.L.; Scott, E.S.** 2007. Genetic variation and pathogenicity of anastomosis group 2 isolates of *Rhizoctonia solani* in Australia. *Mycological Research* 3: 891-900.

-**Sumith, J.A.; Bandara, J.M.R.S.** 2002. Effect of potassium on the development and severity of damping-off in Tobacco (*Nicotiana tabacum* L.). *Annals of the Sri Lanka Department of Agriculture* 4:327–335.

-**Sweetingham, M.W.; Cruickshank, R.H.; Wong, D.H.** 1986. Pectic zymograms and taxonomy and pathogenicity of the Ceratobasidiaceae. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 86: 305-311.

-**Swofford, D.L.** 2002. PAUP\*. Phylogenetic analysis using parsimony (\*and other methods), Version 4. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts, USA.

-**Taheri, P.; Gnanamanickam, S.; Höfte, M.** 2007. Characterization, genetic structure and pathogenicity of *Rhizoctonia* spp. associated with rice sheath diseases in India. *Phytopathology* 97: 373-383.

-**Taheri, P.; Tarighi, S.** 2012. Genetic and virulence analysis of *Rhizoctonia* spp. associated with sugar beet root and crown rot in the northeast region of Iran. *Plant Disease* 96:398-408.

-**Taliei, F.; Safaie, N.; Aghajani, M.A.** 2013. Spatial distribution of *Macrophomina phaseolina* and soybean charcoal rot incidence using geographic information system (A

case study in Northern Iran). *Journal of Agricultural Science and Technology* 15: 1523-1536.

-**Tapia Granados, J.A.; Nieto, F.J.** 1993 Razón de posibilidades: una propuesta de traducción de la expresión odds ratio. *Salud Pública Mexico*, 35: 419-424

-**Tautz, D.** 1989. Hypervariability of simple sequences as a general source of polymorphic DNA markers. *Nucleic Acids Res.* 17: 6463-6471.

-**Thompson, J.D.; Higgins, D.G.; Gibson, T.J.** 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research.* 22:4673-4680.

-**Toda T.; Hyakumachi M.; Arora DK.** 1999. Genetic relatedness among and within different *Rhizoctonia solani* anastomosis groups as assessed by RAPD, ERIC and REP-PCR. *Microbiological Research* 154:247–258.

-**Toncovich, M.E; Piccolo, M.A.** 2008. Cadena de Tabaco Salta-Jujuy. INTA EEA Salta. 8p.

-**Tsrör, L.** 2010. Biology, epidemiology and management of *Rhizoctonia solani* on potato. *Journal of Phytopathology* 158: 649-658.

-**Tu C.C.; Roberts D.A.; Kimbrough J.W.** 1969. Hyphal fusion, nuclear condition and perfect stage of three species of *Rhizoctonia*. *Mycologia* 61: 775-783.

-**Tu, C.; Hsieh, T.; Chang, Y.** 1996. Vegetable diseases incited by *Rhizoctonia* sp. Pages 369-377 in: *Rhizoctonia* Species: Taxonomy, Molecular Biology, Ecology, Pathology and Disease Control. B. Sneh, S. Jabaji-Hare, S. Neate, and G. Dijst eds. Kluwer Academic, Dordrecht, The Netherlands.

-**Vanderplank, J.E.** 1963. *Plant Diseases: epidemics and control.* New York: Academic Press, 349p.

-**Vieira, S. R.; Hatfield, J.L.; Nielsen, D.R.; Biggar, J.W.** 1983. Geostatistical theory and application to variability of some agronomical properties. *Hilgardia*.51: 1-75.

-**Verhult, P.F.** 1838. Notice sur la loi que la population suit dans son accroissement. *Correspondances Mathematiques et Physiques*, 10, 113-121.

-**Vilgalys, R.; Cubeta, M.A.** 1994. Molecular systematics and population biology of *Rhizoctonia*. *Annual Review of Phytopathology* 32:135-155.

-**Vilgalys R.; Gonzalez D.** 1990. Ribosomal DNA restriction fragment length polymorphism in *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology* 80:151–158.

-**Vos, P.; Hogers, R.; Bleeker, M.; Reijmans, M.; Vane Lee, T.; Hornes, M.; Frijters, A.; Pot, J.; Paleman, J.; Kuiper, M. and Zabeau, Y.** 1995. AFLP: A new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Res* 23(21): 4407-4414.

-**Walker, J. C.** 1973. *Patología Vegetal.* Traducción de la 2ª edición americana por Antonio Aguirre Azpeitia. Ediciones OMEGA, S.A. Barcelona. 818p.

-**Ware J.O., Young V.H., Janssen G.** 1932. Cotton wilt studies. III. The behavior of certain cotton varieties grown on soil artificially infested with the cotton wilt organism. *University of Arkansas Agricultural Experimental Station Bulletin* 269, Fayetteville, AR, 51 pp.

- Ware J.O.; Young V.H. 1934. Control of cotton and rust. University of Arkansas Agricultural Experimental Station Bulletin 308, Fayetteville, AR, 23 pp.
- Weltzien, H. C. 1967. Geopathologie der pflanzen. Z. Pflanzenkrankh. (Pflanzenpathol.) Pflanzenschutz 74:175-189.
- Weltzien, H. C. 1972. Geophytopathology. Annual Review Phytopathology. 10:277-298.
- Weltzien, H.C. 1978. Geophytopathology. En: Plant Disease, an advanced treatise, Vol. II: How Disease Develops in Populations (Horsfall, J.G. and Cowling, E.B., eds), Academic Press, New York, 339-360pp.
- Weltzien, H.C. 1988. Use of geophytopathological information. Experimental Techniques in Plant Disease Epidemiology (Kranz, J. and Rotem, J., eds), Springer, Berlin.
- Wester, R.; Oliver, M. 1990. Statistical methods in soil and land resource survey. Oxford. University Press. 307p.
- White, T.J.; Bruns, T.; Lee, S.; Taylor, J.W. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. Pages 315-322 en: PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications. M.A. Innis, D.H. Gelfand, J.J. Sninsky and T.J. White eds. Academic Press Inc., New York.
- Welsh, J.; McClelland, M. 1990. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. Nucleic Acids Res. 18: 7213-7218.
- Williams, J.G.K.; Kubelik, A.R.; Livak, K.J.; Rafalski, J.A.; Tingey, S.V. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acids Res. 18: 6531-6535.
- Xu, X. 2006. Modelling and interpreting disease progress in time. In: The epidemiology of plant disease. Cooke BM, Gareth Jones D and Kaye B (eds) Springer, Dordrecht, The Netherlands, pp. 215-238.
- Yamamoto, D.T.; Uchida, J.Y. 1982. Rapid nuclear staining of *Rhizoctonia solani* and related fungi with acridine orange and with safranin o. Mycologia 74:145-149.
- Yang, J.; Kharbanda, P.D.; Wang, H.; McAndrew, D.W. 1996. Characterization, virulence and genetic variation of *Rhizoctonia solani* AG-9 in Alberta. Plant Disease, 80: 513-518.
- Yulianti, T.; Hidayah, N. 2011. Soil Amendments with Organic Matter for The Control of Hollow Stalk (*Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*) of Besuki Cigar Tobacco. Journal of Agricultural Science, Vol 33, No 2.
- Zala, M.; McDonald, B.; Bernardes de Assis, A.J. 2008. Highly polymorphic microsatellite loci in the rice- and maize-infecting fungal pathogen *Rhizoctonia solani* anastomosis group 1 IA. Molecular Ecology Resources, 8, 686-689.
- Zhang, H.; Liu X.; Li, T.S.; Yang, Y. 2006. Genetic diversity among flue-cured tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) revealed by amplified fragment length polymorphism. Botanical Studies 47: 223-229.
- Zhang, H.; Liu X.; He, C.; Yang, Y. 2008. Genetic diversity among Flue-cured tobacco cultivars based on RAPD and AFLP markers. Brazilian Archives of Biology and Technology 51(6): 1097-1101.

- Zhao, Y.; Wu, Y.; Fu, Y.; An, M.; Chen, J.; Zhao, X.** 2013. Characterization of *Rhizoctonia solani* AG-3 isolates causing Target Spot of Flue-cured Tobacco in China. *Advanced Materials Research*. 17: 4321-4325.
- Zhou, Q.X.; Hwang, S.F.; Fu, H.T.; Strelkov, S.E.; Gossen, B.D.** 2014. Genetic variation of *Rhizoctonia solani* isolates from canola in Alberta, Canada. *Canadian Journal of Plant Science* 94: 671–681.
- Zietkiewicz, E.; Rafalski A.; Labuda, D.** 1994. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics* 20: 176-183.
- Zuber, M.; Manibhushanrao, K.** 1982. Studies on comparative gel electrophoretic patterns of proteins and enzymes from isolates of *Rhizoctonia solani* causing sheath blight disease in rice. *Canadian Journal of Microbiology* 28: 762-771.

---

# Anexo

---





(S1). Prueba de Wilcoxon para la variable Peso seco (g) en la población sana e inoculada para las diferentes variedades.

Variedades	Tejido	Inoculada	Sana	P (2 colas)
<b>PVH2299</b>	Hoja	7,96	9,37	0,0325
	Tallo	3,54	4,11	0,2100
	Raíz	1,31	1,83	0,1385
<b>C69</b>	Hoja	7,65	9,40	0,2100
	Tallo	3,74	4,10	0,5628
	Raíz	0,88	1,22	0,0022
<b>PVH2291</b>	Hoja	6,72	7,12	0,0022
	Tallo	2,77	3,37	0,1494
	Raíz	1,03	1,40	0,0584
<b>91B</b>	Hoja	8,13	9,46	0,0584
	Tallo	4,25	4,59	0,8095
	Raíz	1,29	1,63	0,4675
<b>MB47</b>	Hoja	5,27	7,27	0,0022
	Tallo	3,30	4,30	0,0022
	Raíz	0,89	1,52	0,0022
<b>PVH2275</b>	Hoja	6,97	8,20	0,0584
	Tallo	2,57	3,23	0,0584
	Raíz	1,18	1,35	0,2100
<b>MB37</b>	Hoja	10,67	11	0,8095
	Tallo	4,13	4,37	0,2749
	Raíz	1,24	1,34	0,1494
<b>K326</b>	Hoja	5,37	7,69	0,0012
	Tallo	2,87	3,63	0,0070
	Raíz	0,83	1,13	0,0070
<b>NC810</b>	Hoja	8,67	10,09	0,0221
	Tallo	3,80	4,12	0,3310
	Raíz	1,09	2,17	0,0035
<b>PVEH189</b>	Hoja	5,80	7,28	0,0260
	Tallo	2,87	3,46	0,0268
	Raíz	0,97	1,24	0,0012
<b>PVH2241</b>	Hoja	8,27	8,97	0,3089
	Tallo	3,10	3,91	0,2436
	Raíz	1,05	1,31	0,2203
<b>NC471</b>	Hoja	8,40	10,29	0,0082
	Tallo	3,53	4,40	0,0082
	Raíz	1,16	2,31	0,0082
<b>NC196</b>	Hoja	8,43	9,49	0,1107
	Tallo	3,60	4,17	0,0117
	Raíz	1,13	1,95	0,0082
<b>PVH2254</b>	Hoja	7,83	8,94	0,0117
	Tallo	3,40	4,29	0,0117
	Raíz	1,26	1,84	0,0035
<b>K394</b>	Hoja	8,28	8,50	0,0281
	Tallo	3,22	3,42	0,0952
	Raíz	1,26	1,88	0,0022
<b>PVH2248</b>	Hoja	7,48	7,98	0,0043
	Tallo	2,88	3,23	0,0195
	Raíz	0,93	1,28	0,0022

(S2). Estadísticas consideradas para el ajuste y selección de modelos para describir el progreso temporal de la podredumbre radicular del tabaco por *Rhizoctonia solani* en Chicoana (Salta) durante la campaña agrícola 2008/09.

Sitio	Variedad	Modelo <sup>a</sup>	R <sub>2</sub> <sup>b</sup>	Y <sub>0</sub> <sup>c</sup>	p(y <sub>0</sub> ) <sup>c</sup>	r <sup>d</sup>	p(r) <sup>d</sup>	p(m) <sup>e</sup>	CME <sup>f</sup>	ρ <sup>g</sup>
<b>Chicoana</b>	PVH2299	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	C69	Monomolecular	79	0,01	0,16	0,00047	0,018	0,018	0,000071	0,000235
	K326	Monomolecular	83	-0,08	0,2693	0,01	0,0119	0,0119	0,01	0,000235
	PVH2241	Gompertz	88	-2,01	0,0005	0,02	0,0053	0,0053	0,07	0,000235
	PVH2248	Gompertz	78	-1,39	<0,0001	0,0045	0,0206	0,0206	0,01	0,001125
	91B	Gompertz	65	-1,50	0,0003	0,01	0,0328	0,0328	0,03	0,0025
	PVEH189	Monomolecular	78	-2,50	0,8919	0,0015	0,0125	0,0125	0,00059	0,00075
	PVH2291	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	NC471	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	NC196	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	PVH2254	0	0	0	0	0	0	0	0	0

<sup>a</sup> Modelo: 0 sin ajuste de modelo por presentar incidencia constante, -: sin ajuste por no presentar la enfermedad.

<sup>b</sup> R<sup>2</sup>: coeficiente de determinación ajustado.

<sup>c</sup> Y<sub>0</sub>: inoculo inicial / p(Y<sub>0</sub>): probabilidad asociada al inoculo inicial.

<sup>d</sup> r: tasa de infección aparente / p(r): probabilidad asociada a la tasa de infección aparente.

<sup>e</sup> p(m): probabilidad asociada al modelo.

<sup>f</sup> CME: cuadrado medio del error. <sup>g</sup> ρ (rho): tasa absoluta media ponderada

(S3). Estadísticas consideradas para el ajuste y selección de modelos para describir el progreso temporal de la podredumbre radicular por *Rhizoctonia solani* en Chicoana (Salta) durante la campaña agrícola 2009/10.

Sitio	Variedad	Modelo <sup>a</sup>	R <sub>2</sub> <sup>b</sup>	Y <sub>0</sub> <sup>c</sup>	p(y <sub>0</sub> ) <sup>c</sup>	r <sup>d</sup>	p(r) <sup>d</sup>	p(m) <sup>e</sup>	CME <sup>f</sup>
<b>Chicoana</b>	PVH2299	Gompertz	82	-2,50	0,0005	0,02	0,0083	0,0083	0,12
	C69	Gompertz	25	-2,739	0,0007	0,01	0,1786	0,1786	0,16
	K326	Gompertz	83	-2,82	0,0004	0,03	0,0076	0,0076	0,14
	PVH2241	Gompertz	25	-2,73	0,0007	0,01	0,1786	0,1786	0,16
	PVH2248	Gompertz	67	-2,99	0,0015	0,03	0,0293	0,0293	0,30
	MB37	Gompertz	81	-2,83	0,0008	0,03	0,0096	0,0096	0,19
	MB47	Gompertz	66	-2,91	0,0008	0,02	0,0309	0,0309	0,20
	PVH2291	Gompertz	67	-2,93	0,0010	0,02	0,0295	0,0295	0,22
	K394	Gompertz	67	-2,89	0,0007	0,02	0,0295	0,0295	0,19
	91B	Gompertz	82	-2,50	0,0005	0,02	0,0083	0,0083	0,12
	PVH2254	0	0	0	0	0	0	0	0

<sup>a</sup> Modelo: 0 sin ajuste de modelo por presentar incidencia constante. -: sin ajuste por no presentar la enfermedad.

<sup>b</sup> R<sup>2</sup>: coeficiente de determinación ajustado.

<sup>c</sup> Y<sub>0</sub>: inoculo inicial / p(Y<sub>0</sub>): probabilidad asociada al inoculo inicial.

<sup>d</sup> r: tasa de infección aparente / p(r): probabilidad asociada a la tasa de infección aparente.

<sup>e</sup> p(m): probabilidad asociada al modelo. <sup>f</sup> CME: cuadrado medio del error.

(S4). Estadísticas consideradas para el ajuste y selección de modelos para describir el progreso temporal de la podredumbre radicular del tabaco por *Rhizoctonia solani* en Colon (Salta) durante la campaña agrícola 2008/09.

Sitio	Variedad	Modelo <sup>a</sup>	R <sub>2</sub> <sup>b</sup>	Y <sub>0</sub> <sup>c</sup>	p(y <sub>0</sub> ) <sup>c</sup>	r <sup>d</sup>	p(r) <sup>d</sup>	p(m) <sup>e</sup>	CME <sup>f</sup>	ρ <sup>g</sup>
<b>Colon</b>	PVH2299	Gompertz	26	-0,93	<0,0001	0,00096	0,1738	0,1738	0,0016	0,00024
	C69	Gompertz	50	-1,01	0,0009	0,01	0,0699	0,0699	0,03	0,0025
	PVH2241	Gompertz	61	-0,82	<0,0001	0,0014	0,0402	0,0402	0,0011	0,00035
	, K326	Monomolecular	79	0,19	<0,0001	0,00061	0,0117	0,0117	0,000092	0,000305
	NC471	Gompertz	20	-0,86	0,0314	0,01	0,3567	0,3567	0,14	0,0025
	PVH2291	Exponencial	73	-1,80	0,0001	0,01	0,0191	0,0191	0,03	0,0025
	NC196	Gompertz	91	-0,91	<0,0001	0,01	0,0018	0,0018	0,0032	0,0025
	PVH2254	Gompertz	26	-0,62	<0,0001	0,0007	0,1738	0,0018	0,00087	0,000175
	PVH2248	Monomolecular	82	-0,02	0,4927	0,0033	0,0084	0,0084	0,0022	0,00165
	91B	Exponencial	95	-1,87	<0,0001	0,01	0,0007	0,0007	0,01	0,0025
	PVEH189	Monomolecular	89	0,06	0,0298	0,0026	0,0029	0,0029	0,00074	0,0013

<sup>a</sup> Modelo: 0 sin ajuste de modelo por presentar incidencia constante, -: sin ajuste por no presentar la enfermedad.

<sup>b</sup> R<sup>2</sup>: coeficiente de determinación ajustado.

<sup>c</sup> Y<sub>0</sub>: inoculo inicial / p(Y<sub>0</sub>): probabilidad asociada al inoculo inicial.

<sup>d</sup> r: tasa de infección aparente / p(r): probabilidad asociada a la tasa de infección aparente.

<sup>e</sup> p(m): probabilidad asociada al modelo. <sup>f</sup> CME: cuadrado medio del error. <sup>g</sup> ρ (rho): tasa absoluta media ponderada.

(S5). Estadísticas consideradas para el ajuste y selección de modelos para describir el progreso temporal de la podredumbre radicular del tabaco por *Rhizoctonia solani* en Colon (Salta) durante campaña agrícola 2009/10.

Sitio	Variedad	Modelo	R <sub>2</sub>	Y <sub>0</sub>	p(y <sub>0</sub> )	r	p(r)	p(m)	CME	ρ
<b>Colon</b>	PVH2299	Monomolecular	81	-0,02	0,3276	0,0014	0,0095	0,0095	0,00042	0,0007
	C69	Monomolecular	97	-0,0023	0,7604	0,0017	0,0003	0,0003	0,000096	0,00085
	PVH2241	Monomolecular	93	-0,02	0,1537	0,00015	0,0012	0,0012	0,00016	0,00007
	K326	Monomolecular	90	0,03	0,1467	0,0022	0,0025	0,0025	0,00052	0,0011
	MB37	Monomolecular	85	0,0043	0,8105	0,0019	0,0058	0,0058	0,00057	0,00095
	PVH2291	Monomolecular	92	-0,02	0,1926	0,0016	0,0015	0,0015	0,00021	0,0008
	K394	Monomolecular	93	-0,02	0,1676	0,0016	0,0013	0,0013	0,0002	0,0008
	PVH2254	Monomolecular	92	0,01	0,4543	0,0013	0,0017	0,0017	0,00014	0,00065
	PVH2248	Monomolecular	97	0,00082	0,9131	0,0018	0,0002	0,0002	0,000099	0,0009
	91B	Monomolecular	90	-0,01	0,3563	0,0012	0,0025	0,0025	0,00015	0,0006
	MB47	Monomolecular	96	-0,01	0,3012	0,0016	0,0004	0,0004	0,00011	0,0008

<sup>a</sup> Modelo: 0 sin ajuste de modelo por presentar incidencia constante, -: sin ajuste por no presentar la enfermedad.

<sup>b</sup> R<sup>2</sup>: coeficiente de determinación ajustado.

<sup>c</sup> Y<sub>0</sub>: inoculo inicial / p(Y<sub>0</sub>): probabilidad asociada al inoculo inicial.

<sup>d</sup> r: tasa de infección aparente / p(r): probabilidad asociada a la tasa de infección aparente.

<sup>e</sup> p(m): probabilidad asociada al modelo. <sup>f</sup> CME: cuadrado medio del error. <sup>g</sup> ρ (rho): tasa absoluta media ponderada.

(S6). Estadísticas consideradas para el ajuste y selección de modelos para describir el progreso temporal de la podredumbre radicular del tabaco por *Rhizoctonia solani* en San Agustín durante la campaña agrícola 2008/09.

Sitio	Variedad	Modelo <sup>a</sup>	R <sub>2</sub> <sup>b</sup>	Y <sub>0</sub> <sup>c</sup>	p(y <sub>0</sub> ) <sup>e</sup>	r <sup>d</sup>	p(r) <sup>d</sup>	p(m) <sup>e</sup>	CME <sup>f</sup>	ρ <sup>g</sup>
<b>San Agustín</b>	PVH2299	Monomolecular	73	-0,01	0,5499	0,0017	0,0186	0,0186	0,00089	0,00085
	C69	Monomolecular	71	-0,02	0,3009	0,0014	0,0226	0,0226	0,00073	0,0007
	PVH2241	Exponencial	64	-3,12	<0,0001	0,01	0,0348	0,0348	0,02	0,005
	K326	Monomolecular	84	-0,01	0,3153	0,001	0,0067	0,0067	0,00019	0,0005
	PVH2248	Gompertz	59	-1,31	<0,0001	0,0033	0,0466	0,0466	0,01	0,00165
	NC196	Monomolecular	65	-0,005	0,3382	0,0003	0,0328	0,0328	0,000042	0,00015
	NC471	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	PVH2291	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	91B	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	PVH2254	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PVEH189	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

<sup>a</sup> Modelo: 0 sin ajuste de modelo por presentar incidencia constante, -: sin ajuste por no presentar la enfermedad.

<sup>b</sup> R<sup>2</sup>: coeficiente de determinación ajustado.

<sup>c</sup> Y<sub>0</sub>: inoculo inicial / p(Y<sub>0</sub>): probabilidad asociada al inoculo inicial.

<sup>d</sup> r: tasa de infección aparente / p(r): probabilidad asociada a la tasa de infección aparente.

<sup>e</sup> p(m): probabilidad asociada al modelo. <sup>f</sup> CME: cuadrado medio del error. <sup>g</sup> ρ (rho): tasa absoluta media ponderada.

(S7). Estadísticas de la relación de variables climáticas e incidencia de la podredumbre radicular por *Rhizoctonia* por sitio y variedad.

	Variedad	Variable meteorológica	Modelo de Regresión lineal	Coef. de determinación ajustado (R <sup>2</sup> )	p-Valor	
Chicoana 2008/09	C69	T°C media de aire	y=18-0,80X	0,99	<0,0001	
		T°C máx. de aire	y=10,21-0,27X	0,69	0,0246	
		HR% media	y=-4,52+0,07X	0,75	0,0167	
		PVH2241	T°C media de aire	y=88-3,99X	0,62	0,04
T°C máx. de aire			y=62,02-1,72X	0,78	0,0121	
	K326	T°C máx. de aire	y=106,19-3,03X	0,88	0,0036	
	91B	T°C máx. de aire	y=34,10-0,96X	0,93	0,0013	
Chicoana 2009/10	MB37	T°C máx. de aire	y=33,81-0,89X	0,64	0,0351	
		T°C mín. de aire	y=30,03-2,22X	0,75	0,0161	
		91B	T°C máx. de aire	y=22,24-0,18X	0,75	0,0159
	T°C mín. de aire		y=20,05-1,47X	0,91	0,0019	
Colon 2008/09	PVH2299	T°C med. de aire	y=22,54-0,94X	0,73	0,0183	
		T°C máx. de aire	y=10,05-0,26X	0,70	0,0232	
		T°C mín. de aire	y=0,40-0,22X	0,90	0,0025	
		T°C med. de suelo	y=-0,54+0,24X	0,86	0,0046	
		T°C mín. de suelo	y=1,61+0,14X	0,64	0,0340	
		HR med. de aire	y=0,24+0,24X	0,70	0,0229	
		HR mín. de aire	y=-2,36+0,06X	0,90	0,0025	
	K326	T°C med. de aire	y=43,64-1,78X	0,86	0,0048	
		T°C máx. de aire	y=18,63-0,45X	0,63	0,0358	
		HR med. de aire	y=0,90+0,07X	0,97	0,0002	
		HR máx. de aire	y=2,33+0,09X	0,72	0,0206	
		HR mín. de aire	y=2,88+0,06X	0,89	0,0032	
		NC471	Amplitud HR aire	y=20,05-0,46X	0,81	0,0093
		NC196	HR med. de aire	y=-9,53+0,19X	0,62	0,0398
HR mín. de aire			y=-5,69+0,17X	0,81	0,0087	
	PVH2254	T°C med. de aire	y=20,07-0,98X	0,73	0,0183	
		T°C máx. de aire	y=12,93-0,28X	0,70	0,0232	

(S7). Continua de pagina 215

Sitio/Campaña Agr.	Variedad	Variable meteorológica	Modelo de Regresión lineal	Coef. de determinación ajustado (R <sup>2</sup> )	p-Valor
		T°C min. de aire	$y=2,77+0,23X$	0,90	0,0025
		T°C med. de suelo	$y=1,78+0,25X$	0,86	0,0046
		T°C min. de suelo	$y=4,05+0,15X$	0,64	0,0340
		HR med. de aire	$y=2,60+0,04X$	0,70	0,0229
		HR máx. de aire	$y=-0,13+0,06X$	0,90	0,0025
	PVH2248	HR med. de aire	$y=-23,90+0,35X$	0,64	0,0343
		Amplitud HR aire	$y=18,24-0,48X$	0,81	0,0094
		HR min. de aire	$y=-17,62+0,34X$	0,95	0,0005
	91B	T°C med. de aire	$y=293,54-13,52X$	0,59	0,0466
		HR min. de aire	$y=-18,63-0,47X$	0,77	0,0138
	PVEH-189	T°C med. de aire	$y=139,89-6,43X$	0,69	0,0254
		HR med. de aire	$y=-14,69+0,26X$	0,80	0,0105
		HR min. de aire	$y=-8,68-0,23X$	0,91	0,0019
Colon 2009/10	K326	HR máx. de aire	$y=-42,99+0,52X$	0,60	0,0442
	MB37	HR máx. de aire	$y=-32,47+0,40X$	0,40	0,0438
San Agustín 2008/09	PVH2299	HR med. de aire	$y=-12,95+0,19X$	0,60	0,0437
		HR min. de aire	$y=-9,69+0,19X$	0,92	0,0014
		Amplitud HR aire	$y=10,09-0,27X$	0,84	0,0062
	C69	HR min. de aire	$y=-7,19+0,14X$	0,57	0,0497
	K326	HR med. de aire	$y=-7,84+0,11X$	0,57	0,0507
		Amplitud HR aire	$y=6,09-0,16X$	0,81	0,0093