

EFICIENCIA DE DIFERENTES MÉTODOS DE INOCULACIÓN ARTIFICIAL DE *Macrophomina phaseolina* EN SOJA (*Glycine max.* (L.)MERRIL.)¹

RAMIREZ FERREIRA, Y. C.²
ORREGO FUENTE, A. L.³

SUMMARY

The present work was carried out in the laboratory and green house of the Division of Fitopatología of the Departamento de Protección Vegetal of the Facultad de Ciencias Agrarias at the Universidad Nacional de Asunción, in San Lorenzo's city, Paraguay. The purpose of the investigation was to determine the most efficient method of inoculation of the fungus *Macrophomina phaseolina* in soybean plants. The experiment was developed during the months of January to July, 2008. The experimental design employed was the completed at random with 7 treatments and 4 repetitions, totalizing 28 parcel units, each parcel unit had 10 plants. The used inoculation methods were: 1) five wounds + one disk of the fungus; 2) no wounds + one disk of the fungus; 3) one disk of the fungus in the base of the plant's neck; 4) four disks of the fungus around the base of the plant's neck; 5) two disks of the fungus on the floor; 6) fungus superficial scrapes with toothpick puncture; 7) witness treatment. The evaluated variables were: determination of the percentage of effectiveness and level of damage caused by different inoculation methods. The obtained results demonstrates that the method of inoculation with toothpick had a percentage of effectiveness of 73% and level of damage 5 up to the 60 days, while the inoculation method with five wounds had an effectiveness of 52% with a level of damage 4 up to the 60 days. The other treatments without wounds, inoculated with one disk in the plant's neck, with four disks and deposition of the disk on the floor, were not effective since the infection percentage and level of damage were smaller. The most efficient method of inoculation and one of the most dramatic was the toothpicks method that caused the premature death of plants.

KEY-WORDS: *Macrophomina phaseolina*, methods of inoculation, soybean, toothpick, wounds.

RESUMEN

El presente trabajo fue realizado en el laboratorio e invernadero de la División de Fitopatología del Departamento de Protección Vegetal de la Facultad de Ciencias Agrarias (FCA), perteneciente a la Universidad Nacional de Asunción (UNA), en la ciudad de San Lorenzo, Paraguay. La finalidad de la investigación fue determinar el método de inoculación más eficiente del hongo *Macrophomina phaseolina* en plantas de soja. El experimento se desarrolló durante los meses de enero a julio del año 2008. El diseño experimental empleado fue el completamente al azar, con 7 tratamientos y 4 repeticiones, totalizando 28 unidades parcelarias, cada unidad parcelaria contó con 10 plantas. Los métodos de inoculación utilizados fueron: 1) Cinco heridas + un disco del hongo; 2) sin heridas + un disco del hongo; 3) un disco del hongo en la base del cuello de la planta; 4) Cuatro discos del hongo alrededor de la base del cuello de la planta; 5) Dos discos del hongo en el suelo; 6) punción con escarbadientes raspados superficialmente con el hongo; 7) tratamiento testigo. Las variables evaluadas fueron: determinación del porcentaje de efectividad y nivel de daño causado por los diferentes métodos de inoculación. Los resultados obtenidos demuestran que el método de inoculación con escarbadientes tuvo un porcentaje de efectividad del 73% y nivel de daño 5 a los 60 días, mientras que el método de inoculación con cinco punciones tuvo una efectividad del 52% con un nivel de daño 4, a los 60 días. Los demás tratamientos sin heridas, con un disco en el cuello de la planta, con cuatro discos del hongo en el cuello de la planta y deposición del disco en el suelo, no fueron efectivos ya que el porcentaje de infección y nivel de daño fueron menores. El método de inoculación más eficiente y uno de los más drásticos fue el método con escarbadientes que provocó la muerte prematura de las plantas.

PALABRAS-CLAVE: *Macrophomina phaseolina*, métodos de inoculación, soja, escarbadientes, heridas.

¹Parte de la tesis de Graduación presentada a la Orientación de Protección Vegetal de la FCA-UNA.

²Ing. Agr., Egresada de la FCA-UNA- E-mail: yenyferrer@hotmail.com. Autora para correspondencia.

³Ing. Agr., Profesora Orientadora. Facultad de Ciencias Agrarias. UNA

INTRODUCCIÓN

La Soja, *Glycine max* L., es una planta originaria de la región este de Asia, pertenece a la familia Fabaceae, es una planta anual de consistencia herbácea, tallos rígidos, fuertes y erectos. La altura, según variedades y condiciones de cultivo, está comprendida entre 40 cm y 1.5 m, las hojas de color verde característico, el fruto es una legumbre o vaina que contiene de 1 a 4 semillas esféricas, la fecundación es autógama (Norman, 1983).

El cultivo de la Soja fue introducido por primera vez en nuestro país en el año 1946, por el Instituto Agronómico Nacional (IAN), y de ahí su distribución en los diferentes departamentos (Mikasaka & Medina, 1981).

La soja es un cultivo de gran importancia económica para el Paraguay, ya que representa la mayor fuente de divisas originada en el sector agrícola lo que hace que se cultive en grandes extensiones debido a su productividad y rentabilidad. Las zonas de mayor distribución de la soja son los Departamentos de Itapúa, Alto Paraná, Canindeyú y Caazapá.

Debido a que la soja se cultiva a gran escala en nuestro país, y teniendo en cuenta la preferencia de los productores en la utilización de una variedad genéticamente modificada, a fin de obtener mejores resultados en la producción, han aparecido enfermedades, que antes no eran de importancia económica, como las enfermedades de fin de ciclo. Esto se debe a que mediante el mejoramiento genético, se incorpora un gen nuevo, pero se pierde otro.

Actualmente numerosas enfermedades atacan al cultivo de la soja. Las enfermedades del tallo y raíz son las principales debido a que limitan la absorción, transporte de agua y nutrientes a la planta, entre ellas se encuentran: Cancro del tallo, Antracnosis, Quema de las vainas y pudrición carbonosa del tallo y raíz.

De entre estas enfermedades, la pudrición carbonosa del tallo y raíz, causada por el hongo *Macrophomina phaseolina* ha adquirido gran importancia económica, por atacar las principales zonas de producción de la soja causando grandes pérdidas en el rendimiento del cultivo. Según Menezes & Alves de Oliveira (1993), *Macrophomina phaseolina* pertenece a la clase Deuteromycete, Subclase Coelomycetidae, Orden Sphaeropsidales, Familia Sphaeropsidaceae.

Este hongo además de atacar a la soja también afecta a otros cultivos como poroto, maíz, sorgo, algodón, girasol y sésamo (Panizzi et al., 2005).

Uno de los principales síntomas en la planta, es la pudrición de raíz y tallo, y por consecuencia, secamiento total de la planta antes del llenado de los granos, razón por la cual este problema ha adquirido gran impor-

tancia, ya que es una enfermedad que aparece al final del ciclo, causando invalorable pérdidas en la producción de soja (Avila, 1987).

Existen pocas investigaciones a cerca de este hongo, motivo por el cual, el objetivo de este trabajo, se basa en determinar el método de inoculación artificial más eficiente, de tal manera a que estos resultados sirvan de base para futuros estudios de investigación, ya que no se conocen métodos específicos de control del patógeno

METODOLOGÍA

Localización y Época del experimento

El experimento se llevó a cabo, en el laboratorio e invernadero de la División de Fitopatología, Departamento de Protección Vegetal, de la Facultad de Ciencias Agrarias (FCA), Universidad Nacional de Asunción (UNA), situado en San Lorenzo, Paraguay durante los meses de enero a julio del 2008.

Material Biológico

- Plantas de soja.
- Cultivo puro del hongo *Macrophomina phaseolina*.

Medios de Cultivo y Aislamiento del hongo

Plantas de soja infectadas con *Macrophomina phaseolina*, se utilizaron para el aislamiento del hongo. Se procedió a la limpieza de la campana de aislamiento con alcohol al 70%, activándose la luz ultravioleta por una hora. Se cargaron las placas de Petri, con el medio de cultivo Agar Agua (20g de Agar en 1 litro de Agua), el hongo se aisló a partir de segmentos del tallo, más próxima al suelo, aproximadamente de 0.5 a 1cm de largo. La desinfestación del material se realizó mediante la inmersión del mismo en alcohol al 70% durante 20 segundos luego se colocó en una solución de Hipoclorito de sodio (1:3) por 20 segundos, seguido de triple enjuague con agua destilada esterilizada. Se secaron las muestras para la eliminación de exceso de agua con papel absorbente y posterior siembra de las muestras.

Para la siembra se colocaron 3 segmentos del tallo por placa, en medio de cultivo AA evitando el movimiento de las mismas, posteriormente las placas fueron incubados por 4 días a fin de permitir el crecimiento del hongo en condiciones ambientales de laboratorio.

Obtención del inóculo

Una vez observado el crecimiento del patógeno, en AA, y comprobado el crecimiento del hongo *Macrophomina phaseolina*, mediante observación microscópica, se procedió al repicaje en el medio de cultivo PDA (20gr Papa, 20gr de Dextrosa, 20gr de Agar), para la obtención del cultivo puro del hongo.

Obteniéndose el cultivo puro del hongo se realizó la

multiplicación masiva en PDA. Las placas fueron incubadas a temperatura ambiente, con régimen de luminosidad continua a fin de favorecer la formación de conidios dentro de picnidios.

Diseño experimental

El diseño utilizado fue completamente al azar, con 7 tratamientos y 4 repeticiones, equivalente a 28 unidades parcelarias y cada unidad parcelaria contó con 10 plantas.

Los tratamientos utilizados fueron los siguientes:

T1: Inoculación con cinco heridas + un disco (cinco puncciones con aguja)

T2: Inoculación sin heridas con un disco (se adhiere el hongo al tallo de la planta)

T3: Inoculación con un disco del hongo en la base del cuello de la planta

T4: Inoculación con cuatro discos del hongo alrededor de la base del cuello de la planta

T5: Inoculación con dos discos del hongo en el suelo

T6: Inoculación con escarbadientes en el tallo de la planta

T7: Testigo: sin el disco del hongo

Diferentes métodos de inoculación del hongo *Macrophomina phaseolina* en plantas de soja bajo invernadero

En condiciones de invernadero fueron sembradas semillas de soja. posterior al raleo quedo establecido el siguiente distanciamiento: 30 cm entre hileras y 10 cm entre plantas. A los 40 días después de la siembra, a inicios de la floración, se realizó la inoculación de plantas por diferentes métodos.

Para efectuar la inoculación del hongo en las plantas, se extrajeron discos de 5 mm de diámetro del cultivo puro del hongo del medio PDA, con la ayuda de un sacabocado.

La región de la planta a ser inoculada fue previamente desinfectada con alcohol al 70% y limpiado con algodón.

La cantidad de discos del hongo utilizados difirieron según los tratamientos, y para su fijación por el tallo fueron envueltos con cinta adhesiva transparente, en los diferentes métodos de inoculación artificial, en las plantas en prueba.

Inoculación con cinco heridas + un disco

Para este método de inoculación se realizaron cinco heridas, en el tallo, a 3cm del cuello de la planta (con la ayuda de una aguja) y se colocó un disco del inóculo sobre las heridas fijándola mediante la cinta adhesiva. Posterior a ello, se realizó el riego con agua mediante un aspersor manual y se colocaron bolsas transparentes de polietileno, de tal manera a conservar la humedad y dar

condiciones de colonización al hongo.

Inoculación sin heridas con un disco a 3 cm del cuello de la planta

La inoculación se realizó sin causar heridas a la planta, a 3 cm del cuello de la misma, se colocó el disco del hongo *Macrophomina phaseolina* fijando con la cinta adhesiva. Posteriormente se realizó el riego con agua mediante un aspersor manual, se colocaron las bolsitas de polietileno transparente para mantener la humedad y favorecer la colonización del hongo.

Inoculación en la base del cuello con un disco del inóculo

La inoculación se realizó en el cuello de la planta, sin causar heridas. Un disco del hongo *Macrophomina phaseolina* fue colocado fijandose el mismo con la cinta adhesiva en la base del tallo. Seguidamente se realizó el riego con agua mediante un aspersor manual, se colocaron las bolsitas para mantener la humedad y permitir la colonización del patógeno.

Inoculación en la base del cuello de la planta con cuatro discos del inóculo

La inoculación se realizó en el cuello de la planta, depositando cuatro discos alrededor del tallo sin causar heridas fijando con cinta adhesiva, posteriormente se realizó el riego con agua mediante un aspersor manual, se colocaron las bolsas de polietileno para mantener la humedad y facilitar las condiciones de colonización del hongo.

Inoculación con dos discos del hongo en el suelo

La inoculación se realizó depositando dos discos del hongo en el suelo, a 2 cm a cada lado de la planta. Seguidamente se realizó el riego con agua mediante un aspersor manual, se colocaron las bolsas para mantener la humedad y favorecer la colonización del patógeno.

Inoculación con heridas de escarbadientes

La inoculación se realizó raspando previamente con el escarbadientes la parte superficial del hongo contenido en el medio de cultivo. Luego se introdujo el escarbadientes a 3 cm sobre el cuello de la planta en forma superficial, dejando el mismo, por la planta. Se realizó el riego con agua mediante un aspersor manual, se colocaron las bolsas para mantener la humedad y favorecer las condiciones de colonización del hongo.

Evaluación

Una vez inoculadas las plantas después de 72 hs se retiraron las bolsas y observaron las mismas coincidiendo

do con el progreso de la enfermedad a los 15, 30, 45 y 60 días (Ver tabla 1).

Las variables evaluadas fueron:

- Porcentaje de eficiencia de los métodos de inoculación

Para la determinación del porcentaje de eficiencia de los métodos de inoculación se consideró la muerte de plantas, posteriormente esas plantas fueron llevadas al laboratorio y sembradas en medio de cultivo AA, para corroborar que la muerte fue causada por el hongo. El cálculo en porcentaje se obtuvo, teniendo en cuenta el número total de plantas infectadas por *Macrophomina phaseolina* multiplicado por 100 y dividido el número total de plantas en estudio.

- Nivel de daño de los métodos de inoculación

Para la determinación del nivel de daño de los métodos de inoculación, fue creada una escala de daño con 5 niveles, que se puede apreciar en la Tabla 1.

TABLA 1 - Escala de daño causado por *Macrophomina phaseolina* en plantas de soja inoculadas por diferentes métodos. FCA-UNA, San Lorenzo, Paraguay, 2008.

Escala de daño	Síntomas
0	No se observan síntomas en la región inoculada.*
1	Se observa crecimiento micelial y las lesiones varían de 0.5cm a 1cm de largo en la región inoculada.
2	Se observan lesiones con bordes rojizos que varían de 1cm a 2cm de largo en la región inoculada.
3	Se observan lesiones necróticas, que abarcan la mitad del cuello de la planta, y ligera clorosis de la planta.
4	Se observan lesiones necróticas con puntos negros, que abarcan completamente el cuello de la planta, y marchitez.
5	Muerte de la planta

* Escala creada en base a los síntomas del desarrollo de la enfermedad con los profesores Ing. Agr. Cesar Pino, Ing. Agr. Aída Orrego.

Análisis de Varianza

Los resultados fueron sometidos a análisis de varianza. Para comparar las medias fue empleado el test de Tukey al 5% de probabilidad.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Nivel de daño causado por *Macrophomina phaseolina*

En cuanto a nivel de daño, según los promedios obtenidos, a medida que transcurría el tiempo se observaron que las plantas inoculadas artificialmente, a los 15 días no presentaban grandes lesiones, a los 30 días se observó un nivel de daño con medias entre 1 a 3 de acuerdo a la escala pre-establecida; a los 45 días se observó mayores daños variando con un nivel de daño 2 a 4 y a

los 60 días se evidenció la muerte de las plantas.

Nivel de daño, 15 días después de la inoculación con *Macrophomina phaseolina*

Según las medias obtenidas, en cuanto al nivel de daño, se observó que las plantas a los 15 días no presentaban grandes lesiones en la región inoculada, el nivel de daño varió entre 0 a 2. En el método de inoculación con escarbadientes, las lesiones presentaron mayor avance que los demás tratamientos llegando a un nivel de daño 2. También en el tratamiento con cinco heridas + un disco se observó el avance de la infección llegando a un nivel 1. Sin embargo en los tratamientos restantes, sin heridas, la infección no fue verificada.

Nivel de daño, 30 días después de la inoculación con *Macrophomina phaseolina*

En cuanto a nivel de daño según las medias obtenidas, se observó que las plantas a los 30 días, en algunos tratamientos presentaban moderadas lesiones. Para los métodos con escarbadientes y con cinco heridas + un disco, el nivel de daño varió entre 2 a 3, las plantas presentaban clorosis y poca turgencia de hojas y vainas.

En la región del tallo de estas plantas se observó manchas longitudinales de color marrón, dichos resultados coinciden con las afirmaciones de Ávila (1987), destacando que *Macrophomina phaseolina* causa manchas longitudinales en el tallo y la planta pierde turgencia debido al ataque del hongo.

Nivel de daño, 45 días después de la inoculación con *Macrophomina phaseolina*

Transcurrido 45 días después de la inoculación, las plantas inoculadas presentaban menor crecimiento en altura en comparación al testigo y se observaron mayores daños variando, entre 2 a 4, en la escala de daño. El método con escarbadientes fue uno de los más drásticos, ya que en algunas plantas se observaron lesiones necróticas con puntos negros que abarcaban completamente el cuello de la planta y presentaban marchitez. En la escala de daño el nivel es de 4. En el tratamiento con 5 heridas + un disco, se pudo observar que el daño causado por el hongo fue también severo, ya que las plantas presentaban lesiones alrededor del cuello y clorosis, con un valor de 3 en la escala de daño. Estos síntomas observados concuerdan con lo citado por Almeida et al. (2005), quienes afirman el deterioro en la raíz, pudriciones, marchitamiento, clorosis y caída prematura de las hojas, a causa del ataque del hongo. No obstante, en los tratamientos realizados sin heridas los daños fueron menores, las lesiones no tomaron toda la planta, solo parte de ella, considerando la escala de daño, entre 2 a 3.

Nivel de daño en plantas de soja, 60 días después de la inoculación, con *Macrophomina phaseolina*

A los 60 días, las plantas presentaban marchitez en todos los tratamientos, algunas plantas llegaron a una madurez fisiológica incluyendo el testigo. En los tratamientos con escarbadientes (T6) y con cinco heridas + un disco (T1), quedaron pocas plantas ya que murieron prematuramente por el rápido avance de la enfermedad.

Promedio del nivel de daño causado por *Macrophomina phaseolina* a los 15, 30, 45 y 60 días

En las Tabla 2 y Figura 1, se destacan que a los 15 días los valores medios del nivel de daño para los tratamientos T1, T2, T3, T4 y T5 son estadísticamente similares, llegando al nivel 1. En el tratamiento con escarbadientes, el nivel de daño fue mayor, siendo dentro de la escala su valor 2, este valor difiere estadísticamente del tratamiento testigo con valor 0. A los 30 días el mayor daño se observó en el método con escarbadientes llegando a un nivel 3 y el menor valor se registró en el tratamiento con inoculación en el suelo con valor 2 y el testigo con nivel 1, en los demás tratamientos los valores fueron iguales entre sí. A los 45 días, el menor daño se registró en los tratamientos con inoculación en el suelo y testigo con un nivel 2, el mayor daño se produjo en el tratamiento con escarbadientes, con un valor 4, aunque no difiriendo estadísticamente de los tratamientos sin heridas T1, T2, T3 y T4.

TABLA 2 - Promedio del nivel de daño causado por *Macrophomina phaseolina* a los 15, 30, 45 y 60 días. FCA-UNA, San Lorenzo, Paraguay, 2008.

Tratamientos	15 días	30 días	45 días	60 días
T1: Inoc. con 5 heridas + un disco	1 ab*	2 ab*	3 ab*	4 ab*
T2: Inoc. sin heridas con un disco	1 bc	2 ab	3 abc	4 bc
T3: Inoc. sin heridas 1 disco en el cuello	1 abc	2 ab	3 abc	3 bc
T4: Inoc. sin heridas con 4 discos en el cuello	1 bc	2 ab	3 abc	4 bc
T5: Inoc. en el suelo con dos discos	1 cd	2 b	2 bc	3 cd
T6: Inoc. con escarbadientes	2 a	3 a	4 a	5 a
T7: Testigo	0 d	1 c	2 c	2 c

*Valores promedios en una misma columna seguidos de letras iguales no difieren significativamente, según el test de Tukey al 5 % de probabilidad.

Porcentaje de eficiencia de los métodos de inoculación.

Inoculación con cinco heridas + un disco del hongo

En cuanto a la inoculación con cinco heridas + un disco, presentó un porcentaje de 52% de eficiencia, además.

Inoculación sin heridas con un disco del hongo, a 3 cm del cuello de la planta

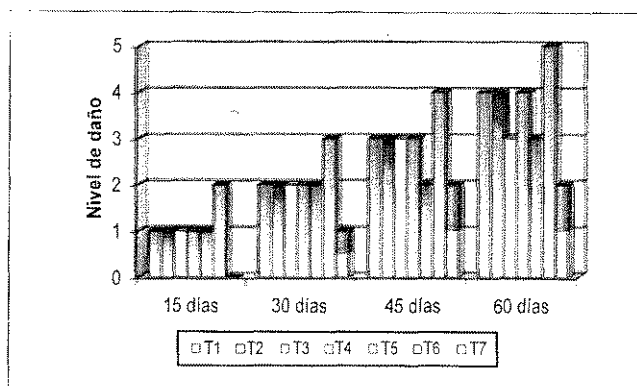


FIGURA 1- Nivel de daño causado por *Macrophomina phaseolina* a los 15, 30, 45 y 60 días de la inoculación de las plantas de soja. FCA-UNA, San Lorenzo, Paraguay, 2008.

El tratamiento sin heridas con un disco colocado a 3 cm del cuello de la planta, presentó un porcentaje de infección del 30%. Se puede destacar también la capacidad de penetración del hongo *Macrophomina phaseolina*, pues aunque la planta no recibió heridas, lo mismo progresó la infección, aunque de manera mas lenta comparado con aquellas que sufrieron heridas.

Inoculación sin heridas con un disco en la base del cuello de la planta de soja

El tratamiento sin heridas con un disco en la base del cuello, presentó un porcentaje de efectividad de 30.1%.

Inoculación sin heridas con cuatro discos en la base del cuello

El tratamiento sin heridas, con cuatro discos en la base del cuello de la planta, tuvo un porcentaje de infección del 29.2%.

Inoculación con dos discos depositados en el suelo

El tratamiento con dos discos del hongo colocados en el suelo tuvo un porcentaje de efectividad del 14.7%. Estos resultados son distintos a los obtenidos por Díaz & Rodríguez (1987), quienes afirman que el hongo *Macrophomina phaseolina* infectó en un 62% a plantas de frijol utilizando el método de inoculación en el suelo con semillas de sorgo al 1%. Esta diferencia podría explicarse debido a la cantidad de inóculo depositado en el suelo, aunque no se desprecia la capacidad del hongo de instalarse en el suelo e infectar a sus hospederos.

Inoculación con heridas con escarbadientes en el tallo

Según los resultados de este trabajo, en el tratamiento con inoculación con escarbadientes, tuvo un porcentaje de efectividad del 72%, destacando también la muerte prematura de plantas comparado al testigo.

Efectividad de los diferentes métodos de inoculación

En la Tabla 3, se puede destacar que el mayor porcentaje de efectividad se obtuvo en el tratamiento con escarbadientes, con 73% y fue estadísticamente similar al tratamiento con cinco heridas + un disco, con 52% de efectividad, aunque ésta última no difiere estadísticamente del tratamiento sin heridas con un disco en el cuello de la planta. Se puede resaltar en la Tabla 3, que existen diferencias estadísticas entre los tratamientos con escarbadientes; sin heridas con un disco a 3 cm del cuello y el testigo.

TABLA 3 - Medias del porcentaje de efectividad de los diferentes métodos de inoculación artificial de *Macrophomina phaseolina* en soja, FCA - UNA. San Lorenzo, Paraguay, 2008.

Tratamientos	Porcentaje de eficiencia (%)
T1: Inoc. con 5 heridas + un disco	52 ab*
T2: Inoc. sin heridas con un disco	30 c
T3: Inoc sin heridas con dos discos	30 bc
T4: Inoc sin heridas con cuatro discos	29 cd
T5: Inoc sin heridas con dos discos en el suelo	14 cd
T6: Inoc con heridas con escarbadientes	73 a
T7: Testigo	8 d

*Valores promedios en una misma columna seguidos de letras iguales no difieren significativamente, según la prueba de Tukey al 5 % de probabilidad.

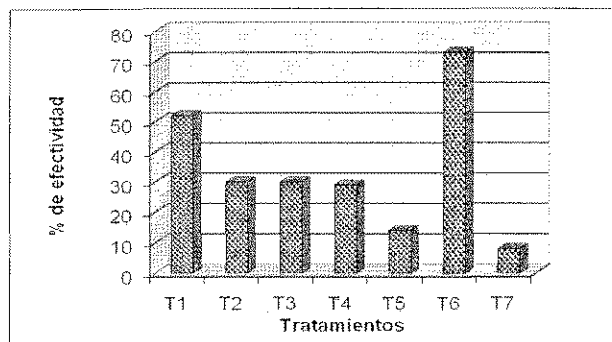


FIGURA 2 - Porcentaje de eficiencia de los diferentes métodos de inoculación artificial de *Macrophomina phaseolina* en plantas de soja FCA-UNA, San Lorenzo, Paraguay, 2008.

En la Figura 2, se observa que en las plantas inoculadas artificialmente con el hongo *Macrophomina phaseolina*, entre todos los tratamientos, la inoculación con escarbadientes tuvo el mayor porcentaje de efectividad comparado a los otros métodos. El tratamiento con heridas + un disco, también tuvo un porcentaje elevado, aunque no mayor al método de escarbadientes, pero superando a los demás métodos realizados sin heridas. El menor porcentaje de efectividad se observó en el método de inoculación con dos discos en el suelo.

CONCLUSIONES

Los datos obtenidos, en este trabajo y en las condiciones en que fue desarrollado el mismo, permiten llegar a las siguientes conclusiones:

- Los métodos de inoculación artificial del hongo *Macrophomina phaseolina*, con heridas, tienen mayor eficiencia en comparación a los realizados sin heridas.
- El método de inoculación con heridas, realizado con escarbadientes, es el más eficiente en cuanto a porcentaje de infección de plantas con un 73% y causa mayor daño a la planta ocurriendo su muerte a los 45 días.
- El hongo *Macrophomina phaseolina* penetra directamente los tejidos del hospedero, aunque no se practiquen heridas en la planta. Discos del hongo *Macrophomina phaseolina* colocados en el suelo, ocasionan infecciones en los hospederos.

LITERATURA CITADA

- ALMEIDA, A; FERREIRA, L; YORINORI, J; SILVA, J; HENNING, A; GODOY, C; COSTAMILAN, L; MEYER, M. 2005. Doenças da soja (*Glycine max*). IN: KIMATI, H; AMORIN, L; REZENDE, J; BERGAMIN FILHO, A; CAMARGO, L. (Eds.). Manual de fitopatologia. São Paulo, BR: Agronômica Ceres. p. 569-588
- AVILA, J. 1987. Enfermedades del Frijol. México D. F: Trillas. 131p.
- DIAZ, H. & RODRIGUEZ, E. 1987. Evaluación de métodos de inoculación de *Macrophomina phaseolina* en Frijol. Revista fitopatológica mexicana. En línea. Consultado el 20 de octubre de 2008. Disponible en <http://orton.catie.ac.cr/Ssidalc.centro/inter-nacional.de.agricultura/>.
- MENEZES, M & ALVES DE OLIVEIRA, M. 1993. Fungos Fitopatogénicos. Br: UFRPE
- MIYASAKA, S; MEDINA, J.C. 1981. A soja no Brasil. São Paulo, BR: ITAL. 1062p.
- NORMAN, G. 1983. Fisiología, agronomía y utilización de la soja. Buenos Aires, AR: Hemisferio Sur S.A. 247p.
- PANIZZI, R; FERNANDEZ, N; CAMARGO, M. 2005. Doenças do sorgo (*Sorghum bicolor*). IN: KIMATI, H; AMORIN, L; REZENDE, J; BERGAMIN FILHO, A; CAMARGO, L. (Eds.). Manual de fitopatologia. São Paulo, BR: Agronômica Ceres. p. 597-606.