

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS



Control biológico del añublo sureño (*Sclerotium rolfsii* L.) en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) con *Trichoderma harzianum* R. y tres biopreparados como enmienda al suelo y tratamiento a la semilla.

POR:

YESENIA MARISOL GUARDADO TORRES

DIANA ALEXANDRA RAMIREZ SEGOVIA

CIUDAD UNIVERSITARIA, MAYO DE 2018

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
DEPARTAMENTO DE PROTECCIÓN VEGETAL



Control biológico del añublo sureño (*Sclerotium rolfsii* L.) en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) con *Trichoderma harzianum* R. y tres biopreparados como enmienda al suelo y tratamiento a la semilla.

POR:

YESENIA MARISOL GUARDADO TORRES

DIANA ALEXANDRA RAMÍREZ SEGOVIA

REQUISITO PARA OPTAR AL TITULO DE:

INGENIERA AGRÓNOMO

CIUDAD UNIVERSITARIA, MAYO DE 2018

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR:

LIC. MSC. ROGER ARMANDO ARIAS ALVARADO

SECRETARIO GENERAL:

LIC. CRISTÓBAL HERNÁN RÍOS BENÍTEZ

FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS

DECANO:

ING. AGR. MSC. JUAN ROSA QUINTANILLA QUINTANILLA

SECRETARIO:

ING. AGR. MSC. LUIS FERNANDO CASTANEDA ROMERO

JEFE DEL DEPARTAMENTO DE PROTECCION VEGETAL

ING. AGR. MSC. ANDRÉS WILFREDO RIVAS FLORES

DOCENTE DIRECTOR

ING. AGR. MSC. ANDRÉS WILFREDO RIVAS FLORES

COORDINADOR GENERAL DE PROCESOS DE GRADUACIÓN

ING. AGR. RICARDO ERNESTO GÓMEZ ORELLANA

RESUMEN

La investigación se realizó en el laboratorio e invernadero del Departamento de Protección Vegetal de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de El Salvador, durante los meses de marzo a mayo de 2017, se evaluó la efectividad de control de tres biopreparados (lombriabono, bocashi y microorganismos de montaña), un antagonista *Trichoderma harzianum* (Excalibur Gold®), un testigo relativo (Hidróxido de Cobre (Kocide WG ®) y un testigo absoluto (sin tratamiento); y dos métodos de aplicación (Enmienda al suelo y Peletización a la semilla), sobre hongo patógeno *Sclerotium rolfsii* L. causante de la enfermedad del Añublo sureño en el cultivo de frijol. Se realizó un ensayo con 11 tratamientos y 5 repeticiones, más un duplicado del ensayo, el cultivo se llevó en condiciones de invernadero desde la siembra hasta el primer mes, que es la etapa crítica de infección por el patógeno, inoculando el hongo patógeno en sustrato estéril, tomándose datos de emergencia a los 5 días de sembrado el frijol y luego cada 3 días para medir el nivel de infección. La toma de datos se realizó por la presencia de signos del patógeno y síntomas de la enfermedad, se evaluó la emergencia, infección en semilla e infección en planta.

Los métodos de aplicación tuvieron influencia en el control de infección por *Sclerotium rolfsii* L. en semilla ($\chi_1=93.96\%$ $P=2.2 \times 10^{-16}$). Donde el menor porcentaje de probabilidad lo obtuvo enmienda al suelo (2.5%, EE=0.60), demostrando que esta práctica permite disminuir los efectos del patógeno sobre las semillas de frijol. La evaluación para la aplicación únicamente de los productos, mostró diferencias para la infección a la semilla ($\chi_4=62.52$, $P<8.55 \times 10^{-13}$), por lo cual se puede concluir que los tratamientos con productos biológicos sí tienen influencia en el comportamiento y desarrollo del patógeno, ya que la actividad microbiana existente puede inhibir o potenciar el desarrollo de infecciones. Para la interacción de los productos únicamente como peletizado a la semilla fue *Trichoderma harzianum* (Excalibur Gold FS®) el que presentó menor porcentaje de infección en semilla (4.5% EE=3.2%). Existieron fuerte efectos de interacción entre productos y formas de aplicación, para la emergencia ($X_4=48.921$ $P=6.066 \times 10^{10}$), infección en semilla ($X_4=32.894$ $P=1.256 \times 10^6$) e infección en planta ($X_4=15.6784$ $P=0.003483$).

Palabras claves

Sclerotium rolfsii L. Biopreparados, *Trichoderma harzianum*, peletizado de semilla, enmiendas al suelo, Cultivo de Frijol (*Phaseolus vulgaris* L.).

SUMMARY

The research was conducted in the laboratory and greenhouse of the Department of Plant Protection of the Faculty of Agricultural Sciences of the University of El Salvador, during the months of March to May 2017, the control effectiveness of three biopreparations (lombriabono, bocashi and mountain microorganisms), an antagonist *Trichoderma harzianum* (Excalibur Gold®), a relative control (Copper Hydroxide, (Kocide WG ®) and an absolute control (no treatment); and two methods of application (soil amendment and seed pelleting), on pathogenic fungus *Sclerotium rolfsii* L., which causes Southern blight disease in bean cultivation. The assay was conducted with 11 treatments and 5 repetitions, plus a duplicate of the assay, the crop was carried from planting to the first month, which is the critical stage of infection by the pathogen. The assay was carried out in greenhouse conditions, inoculating the pathogenic fungus in sterile substrate, taking emergency data 5 days after planting the bean and then every 3 days to measure the level of infection. The data collection was done by the presence of signs of the pathogen and symptoms of the disease, the emergence, infection in seed and plant infection were evaluated.

The methods of application had influence in the control of infection by *Sclerotium rolfsii* L. in seed ($\chi^2=93.96$ $P=2.2 \times 10^{-16}$). Where the lowest percentage of probability was obtained by soil amendment (2.5%, EE=0.60), demonstrating that this practice reduces the effects of the pathogen on bean seeds. The evaluation for the application only of the products, showed differences for the infection to the seed ($\chi^2=62.52$, $P < 8.55 \times 10^{-13}$), for which it can be concluded that the treatments with biological products do influence the behavior and development of the pathogen since the existing microbial activity can inhibit or potentiate the development of infections. For the interaction of the products only as pelleted to the seed was *Trichoderma harzianum* (Excalibur Gold FS®) which presented lower percentage of infection in seed (4.5% EE=3.2%). There were strong effects of interaction between products and forms of application, for emergencies ($X^2=48.921$ $P=6.066 \times 10^{-10}$), infection in seed ($X^2=32.894$ $P=1.256 \times 10^{-6}$) and plant infection ($X^2=15.6784$ $P=0.003483$).

Keywords

Sclerotium rolfsii L. Biopreparations, *Trichoderma harzianum*, seed pelleting, soil amendments, bean cultivation (*Phaseolus vulgaris* L.).

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por ser fuente de sabiduría y darme la dicha de cumplir mis propósitos y crecer.

A mi familia, por su sacrificio en bien de mi educación, y por el amor que me brindan.

Marisol Torres, compañera eterna y amiga.

Ing Andrés Rivas, por su tiempo, aportes de conocimiento y ayuda en el desarrollo de esta investigación.

Ing Rafael Paniagua, por su tiempo, el conocimiento compartido, apoyo y consejos, y por recibirnos siempre con calidez.

Ing Polito, por sus consejos y conocimiento, por animarnos a completar esta meta.

Ing Sermeño, por sus aportes en la revisión del anteproyecto.

Niña Andrea (Lab. de Parasitología Vegetal CENTA), quien nos donó el inóculo inicial del hongo *Sclerotium rolfsii* L.

Lic Rudy y Lic Erroa, por su orientación y conocimientos sobre los procesos de laboratorio.

Gaby Ventura y Helen Rivas, compañeras y amigas por darnos su confianza.

Al Chelito, por sus consejos, apoyo y cariño.

Al personal docente y administrativo del Departamento de Protección Vegetal, de la Facultad de Ciencias Agronómicas y de la Estación Experimental y de Prácticas de la Facultad.

A todas y todos los compañeros y amigos de la facultad, quienes formaron parte de este camino e hicieron inolvidables los años de carrera en la Facultad de Agronomía, en especial a Josué, Valery, Javier, Luis y Marisol.

Diana Segovia

DEDICATORIAS

A Marta Segovia, Abuela y ejemplo de lucha y perseverancia.

A Rosario y Wilfredo, por su amor, confianza y soporte en cada etapa de mi vida.

A mí, por hacer de cada esfuerzo una meta cumplida.

Diana Segovia

AGRADECIMIENTOS

A mi abuelita Marta Alicia Quintanilla, la matriarca de toda mi familia y la que fomenta a diario nuestros deseos de salir adelante. Nuestra raíz.

A mi mamá Ana Miriam Torres Quintanilla, que su compromiso social con dejar un mundo mejor del que encontró, sembró en mí, la firme idea de luchar por mis ideales. Es mi ejemplo a seguir, mi guía en todos los caminos que recorro y mi refugio.

A mi papá Efraín Guardado Guardado que sus ideales filosóficos de lucha social, sus consejos y pensamientos me permiten entender el mundo, construir mi historia y agarrarle la onda a la vida.

A mi querida Mama Yana, que desde la distancia espiritual me acompaña y me guía.

A mi hermana mayor Clara Miriam Guardado Torres, por creer en mí cada vez que sentí desfallecer, por enseñarme los argumentos lógicos que debo seguir día a día para no perder el enfoque, por enseñarme con el ejemplo que el esfuerzo y el compromiso nos permiten cambiar el mundo.

A mi hermana Virginia Elizabeth Guardado Torres, para esa mujer con alma de flor símbolo claro de que el compromiso, la valentía y la certeza en sí misma, pueden construir los caminos, aunque estos sean inciertos. Interminable una mujer, Inmarchitable una mujer, inolvidable una mujer.

A mi amiga, hermana y alma gemela, Diana Segovia que con sus silencios y ocurrencias iluminaron toda mi carrera, gracias por compartir conmigo este lindo y difícil camino, que el destino nos permita seguir construyendo historias.

A mis amigas y amigos incondicionales, que me enseñaron un mundo nuevo de oportunidades y sueños Gabriela, Helen, Valery, Fátima, Chino, Luison, Javier y Fernando.

A mi compañero de viajes, sueños e historias, cada palabra que compartimos forma parte de lo que soy ahora, sos mi sueño preferido, y no quisiera un día notar, que este encuentro no me sucedió jamás (R. C.). A todas las maravillosas mujeres de tu familia que me acogieron como una más del clan, por sus consejos y por creer en mí, especialmente M.A.

A nuestro asesor, docente y jefe Ing. Andrés Rivas que con su amplia experiencia y conocimiento siempre nos brindó herramientas de análisis para concluir este largo proceso. Por aceptarnos como tesis y compartirnos su pasión por la Fitopatología.

A nuestro asesor y compañero Ing. Miguel Paniagüa, que creyó en nosotras y nos acompañó en este largo camino con todo su conocimiento y sus consejos.

Al Ing. Polito por toda la confianza que depositó en nosotras y en nuestra investigación a lo largo de la carrera, por sus chocolates que levantaban los ánimos.

A Niña Andrea del Laboratorio de Parasitología Vegetal del CENTA por proporcionarnos el inóculo de nuestro hongo, sin el cual la investigación no hubiera podido ser realizada.

Marisol Guardado

DEDICATORIAS

A Monseñor Romero, por indicarme siempre el camino de la verdad y la justicia.

A las mujeres,

Que llevan dentro en la raíz tal fortaleza,

ni la sangre las bota,

ni en la muerte doblan la cabeza,

Saben que la palma es un suspiro

Coronado de esperanza y de belleza... Buena fe

Marisol Guardado

INDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
2.1 Origen e Importancia del Cultivo de Frijol Común	3
2.2 Clasificación Taxonómica del Frijol Común	3
2.3 Descripción morfológica de la Planta de Frijol común	4
2.4 Requerimientos de Clima y Suelo del Cultivo de Frijol	5
2.5 Requerimientos edáficos.....	5
2.6 Principales Enfermedades del Frijol (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.)	6
2.6.1 Mustia hilachosa (<i>Thanatephorus cucumeris</i> (Frank) Donk)	6
2.6.2 Mancha angular (<i>Phaeoisariopsis griseola</i> (Sacc.) Ferraris)	7
2.6.3 Antracnosis (<i>Colletotrichum lindemuthianum</i> (Sacc. y Magn.) Scrib)	7
2.6.4 Añublo Sureño o Pudrición Radical (<i>Sclerotium rolfsii</i> L.)	8
2.6.4.1 Daños, Síntomas y Signos del Patógeno	8
2.7 Control	11
2.7.1 Control cultural	12
2.7.2 Empleo de genotipos resistentes o tolerantes.....	12
2.7.3 Control químico	13
2.7.4 Control biológico.....	13
2.7.4.1 Mecanismos de Acción de los medios biológicos en el suelo.....	14
2.7.4.1.1 Teoría de Supresión del Suelo a Enfermedades	14
2.7.4.1.2 Teoría de la Energía Orgánica	15
2.7.4.1.3 Teoría del Equilibrio de la Población de Microorganismos en el Suelo....	15
2.7.4.2 Microorganismos de Montaña	15
2.7.4.3 Lombriabono	16
2.7.4.4 Bocashi	17
2.7.4.5 <i>Trichoderma harzianum</i> R.....	17
2.7.4.5.1 Descripción	17
2.7.4.5.2 Clasificación.....	18
2.7.4.5.3 Mecanismos de Acción	18
2.7.4.6 Métodos de aplicación del control biológico	19
2.7.4.6.1 Recubrimiento o peletizado a la semilla	19
2.7.4.6.2 Enmiendas al suelo.....	19

3.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	21
3.1	Descripción del Estudio.....	21
3.2	Metodología de Laboratorio	21
3.3	Metodología de invernadero	23
3.4	Métodos de aplicación del ensayo	25
3.4	Metodología Estadística.....	27
4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	31
4.1.	Efecto del método de aplicación	31
4.1.1.	Aplicación de enmiendas sólidas vs enmiendas líquidas.....	32
4.2.	Efecto de producto en la incidencia de la enfermedad.....	33
4.2.1.	Productos.....	33
4.2.2.	Interacción de productos vs tratamiento a la semilla (peletizado)	34
4.2.3.	Interacción producto por enmienda al suelo	37
4.3.	Interacción: Forma de Aplicación x Producto	39
4.4.	Análisis de Costo/Efectividad.....	41
5.	CONCLUSIONES	45
6.	RECOMENDACIONES.....	46
7.	BIBLIOGRAFÍA.....	47

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Tratamientos y dosis de ensayo en Invernadero.	25
Cuadro 2. Evaluación Económica de los Tratamientos para mil plantas.	29
Cuadro 3. Análisis de devianza para el efecto del método de aplicación.	31
Cuadro 4. Probabilidad de ocurrencia para enmiendas líquidas y sólidas.....	33
Cuadro 5. Análisis de devianza para el efecto de productos en incidencia de la enfermedad.	33
Cuadro 6. Análisis de desvianza para el efecto de productos x peletizado.	34
Cuadro 7. Mejores tratamientos según prueba de Tukey en infección en emergencia y semilla.	35
Cuadro 8. Análisis de desvianza para el efecto de productos por enmienda.....	37
Cuadro 9. Análisis de desvianza para interacción entre método de aplicación y producto.	39
Cuadro 10. Evaluación económica de los Tratamientos para mil plantas.....	41
Cuadro 11. Comparación de costo de Productos recomendados para el control de <i>Sclerotium rolfsii</i> L. en frijol vrs tratamiento más efectivo lombriabono.....	43

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Épocas de aparición de enfermedades durante el ciclo del cultivo.....	6
Figura 2. Síntomas de amarillamiento, marchitez y masa blanca con estructuras redondas en plantas de frijol (CIAT 1981).	9
Figura 3. Ciclo vital de <i>Sclerotium rolfsii</i> L. en manzano.	11
Figura 4. Muestreo de Suelo en la Estación Experimental y de Prácticas.	22
Figura 5. Obtención de Material vegetativo enfermo.	22
Figura 6. Preparación de Medio de Cultivo PDA.	23
Figura 7. Preparación de Cajas Petri y Aislamiento del hongo.....	23
Figura 8. Preparación y Esterilización de Sustrato.	24
Figura 9. Preparación de Inóculo inicial de <i>Sclerotium rolfsii</i> L.....	24
Figura 10. Inoculación del Hongo <i>Sclerotium rolfsii</i> L en Suelo para siembra de frijol.	25
Figura 11. Preparación de Tratamientos con Biopreparados para Ensayo en Invernadero.	25
Figura 12. Montaje de Ensayo, siembra y aplicación de tratamientos.	25
Figura 13. Distribución en invernadero de tratamientos del ensayo en frijol para el control de <i>Sclerotium rolfsii</i> L.....	28
Figura 14. Efecto del método de aplicación en emergencia, infección en emergencia e infección en planta.	31
Figura 15. Efecto de la interacción producto por peletizado para infección en semilla y emergencia.	36
Figura 16. Efecto de productos aplicados como enmienda al suelo en emergencia, infección a la semilla e infección en planta.	38
Figura 17. Interacción entre productos y formas de aplicación y su efecto en el Porcentaje de emergencia e infección por <i>Sclerotium rolfsii</i> L.	40

1. INTRODUCCIÓN

El frijol es una leguminosa de gran importancia en el consumo humano a nivel mundial, principalmente en los países en desarrollo, debido a su alto contenido en proteínas y nutrientes. América Latina ocupa el primer lugar entre las regiones tropicales del mundo en cuanto a la producción y al consumo de frijol. Este grano se cultiva en todo el continente. En América Central, el frijol se cultiva en las vertientes secas y cálidas del pacífico sin embargo, la producción está sujeta a numerosas limitaciones que varían de región a región. Los principales factores responsables de los rendimientos bajos son la alta presión de enfermedades e insectos, el frijol es probablemente uno de los cultivos más susceptibles a estos factores (CIAT 1994).

La Enfermedad de Añublo sureño del Frijol, ocasionada por el hongo patógeno *Sclerotium rolfsii* L. puede llegar a representar el 25% de las pérdidas del cultivo durante épocas secas y calientes. La importancia de esta enfermedad radica en que el patógeno puede atacar a la planta durante todo su ciclo de vida y sobrevivir en residuos de siembras anteriores de frijol u otras plantas y en el suelo por lo menos un año (Red SICTA & IICA, 2008).

Sclerotium rolfsii L. es un patógeno que afecta gran variedad de plantas, su forma de dispersión y reproducción le permite sobrevivir y dañar aun cuando sea solamente un propágulo del hongo, ya que se extiende de forma rápida si tiene el medio adecuado para hacerlo. De acuerdo a investigaciones, el hongo *Trichoderma harzianum* ha sido registrado como un controlador efectivo de *S. rolfsii* L. Además, se conoce que los microorganismos del suelo juegan un papel fundamental en el control de patógenos, por lo que la salud de este es de gran importancia para reducir pérdidas y obtener buenos rendimientos.

En la región del Perú, en los últimos años se han estudiado y promovido tecnologías alternativas para el control del Añublo Sureño del frijol, entre estas destacan el uso de biopreparados como el bocashi, lombriabono y microorganismos de montaña (IPES *et al.* 2010). Basado en su gran versatilidad, sus altas tasas de reproducción y sus capacidades biosintetizadoras, los microorganismos han sido utilizados en muchas aplicaciones, incluyendo la protección al medio ambiente y la biotecnología agrícola, estos son particularmente efectivos bajo condiciones óptimas de sustrato, disponibilidad de agua, presencia o ausencia de oxígeno, pH y temperatura ambiental. La oferta de productos

microbianos, como inoculantes para contrarrestar problemas en los cultivos, ha aumentado rápidamente en los mercados. Un gran número de microorganismos como bacterias, hongos, actinomicetos y cianobacterias, son usados para remediar problemas asociados con el uso de fertilizantes químicos y plaguicidas, y están ahora siendo aplicados ampliamente en la agricultura orgánica. Entre los resultados atribuidos a estos microorganismos aplicados a suelos, está el mejoramiento de sus características físicas, químicas, y biológicas, así como la supresión de ciertas enfermedades como el Mal del talluelo causado por *Pythium sp.*, *Rhizoctonia sp.* y *Phytophthora sp.* También la Marchitez causada por *Fusarium oxysporum*, *Pseudomonas solanacearum* (Acosta Almánzar 2012).

En la investigación que se presenta se evaluaron tres biopreparados, bocashi, lombriabono y microorganismos de montaña; el producto comercial *Trichoderma harzianum* (Excalibur Gold FS®), un fungicida químico, (Kocide WG ®) como testigo relativo y un testigo absoluto, en dos formas de aplicación, como peletizado de semilla y enmienda al suelo, con la finalidad de determinar su efectividad en el control del hongo *S. rolfsii* L. en condiciones de invernadero, así como la relación de costo-efectividad de los tratamientos.

La importancia de la investigación se debe a las pérdidas que este patógeno puede generar en cultivos de frijol, y al difícil manejo para su control, debido a la naturaleza del hongo y su capacidad de permanecer viable en residuos de cultivo y en suelo durante largos períodos de tiempo, lo que genera infección en fases tempranas del cultivo y bajo rendimiento, afectando esto no solo la economía de nuestros productores y productoras, sino también la seguridad alimentaria.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. Origen e Importancia del Cultivo de Frijol Común

Los estudios arqueológicos indican que el frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.), es originario del continente americano. Se han encontrado evidencias, con antigüedad de 5000 a 8000 años, en algunas regiones de México, Estados Unidos y Perú. Existe un acuerdo relativo que indica a México como su lugar de origen, pero también se menciona que en Perú, por encontrarse allí ejemplares de las especies silvestres de los cinco grupos de frijoles más cultivados (SENA, SAC, & FENALCE, 2010).

La Producción mundial de frijol creció a una tasa promedio anual de 0.8 % entre 2003 y 2013, para ubicarse en 22.8 millones de toneladas. Esta tendencia en la cosecha de la leguminosa se deriva de un crecimiento promedio anual de 0.2 por ciento en la superficie cosechada y de 0.6 por ciento en el rendimiento promedio, durante el periodo señalado. El 64.8 por ciento de la producción mundial de frijol en 2013 se concentró en siete países: Myanmar (16.2 por ciento), India (15.9 por ciento), Brasil (12.7 por ciento), Estados Unidos (7.9 por ciento), México (5.7 por ciento), Tanzania (4.9 por ciento), y China (4.5 por ciento) (RIFA, 2015).

En El Salvador, para los años 2014-2015 la superficie sembrada de Frijol fue de 173,538 mz, obteniéndose una producción de 2,625,984 qq, lo cual representa un rendimiento de 15.1 qq/mz. En términos generales, se puede decir que, en los últimos años, la producción de frijol a nivel local ha aumentado gracias a que se han dedicado un mayor número de manzanas a la siembra de dicho grano y también al incremento en el rendimiento de dicho cultivo, lo que se denomina productividad por manzana (MAG 2015).

2.2 Clasificación Taxonómica del Frijol Común

Desde el punto de vista taxonómico, esta especie es el prototipo del género *Phaseolus* y su nombre científico es *Phaseolus vulgaris* L. asignado por Linneo en 1753. Pertenece a la tribu Phaseoleae de la subfamilia Papilionoideae dentro del orden Fabales.

Reino: Plantae
Subreino: Embryobiontha
División: Magnoliophyta
Clase: Magnoliopsidae
Subclase: Rosidae
Orden: Fabales
Familia: Fabaceae
Género: *Phaseolus*
Especie: *vulgaris* L. (CIAT 1984)

2.3 Descripción morfológica de la Planta de Frijol común

Los principales componentes dentro de la morfología de la planta de Frijol son:

- Raíz: En la primera etapa de desarrollo, el sistema radical está formado por la radícula del embrión, la cual se convierte posteriormente en la raíz principal o primaria. A los pocos días de la emergencia de la radícula es posible ver las raíces secundarias. Como miembro de la subfamilia Papilionoideae, *Phaseolus vulgaris* L. presenta nódulos distribuidos en las raíces laterales de la parte superior y media del sistema radical (CIAT 1984).
- Tallo: El tallo puede ser identificado como el eje central de la planta el cual está formado por una sucesión de nudos y entrenudos.
- Flor: La flor del frijol es una típica flor papilionácea. La morfología floral de *Phaseolus vulgaris* L. favorece el mecanismo de autopolinización.
- Fruto: El fruto es una vaina con dos valvas, las cuales provienen del ovario comprimido. Puesto que el fruto es una vaina, esta especie se clasifica como leguminosa. El color depende de la variedad.
- Hoja: Las hojas del frijol son de dos tipos, simples y compuestas, están insertadas en los nudos del tallo y las ramas.
- Semilla: La semilla tiene una amplia variación de color (blanco, rojo, crema, negro, café, etc.), de forma y de brillo. La combinación de colores también es muy frecuente. Pueden tener varias formas: cilíndrica, de riñón, esférica u otras (CIAT 1984).

2.4 Requerimientos de Clima y Suelo del Cultivo de Frijol

2.4.1 Temperatura

La planta de frijol se desarrolla bien entre temperaturas promedio de 15 a 27°C, las que generalmente predominan a elevaciones de 400 a 1,200 msnm, pero es importante reconocer que existe un gran rango de tolerancia entre diferentes variedades (Cabrera y Castillo 2008).

2.5 Requerimientos edáficos

El Cultivo de frijol requiere suelos fértiles, con buen contenido de materia orgánica; las texturas del suelo más adecuadas son las medias o moderadamente pesadas, con buena aireación y drenaje, ya que es un cultivo que no tolera suelos compactos, la poca aireación y acumulación de agua. El pH óptimo fluctúa entre 6.5 y 7.5; dentro de este rango la mayoría de los elementos nutritivos del suelo presentan una máxima disponibilidad para la planta. El frijol tolera pH hasta de 5.5, aunque debajo de éste, presenta generalmente síntomas de toxicidad de aluminio y/o manganeso (Cabrera y Castillo 2008).

2.5.1 Agua

El agua es indispensable para el desarrollo del cultivo y para su rendimiento. Hay líneas y variedades que muestran buena tolerancia a deficiencias hídricas, dando rendimientos aceptables en esas condiciones, tolerancia que puede estar basada en la mayor capacidad de extracción de agua de capas profundas del suelo (Cabrera y Castillo 2008).

2.5.2 Luminosidad

Obviamente el papel principal de la luz está en la fotosíntesis, pero la luz también afecta la fenología y morfología de una planta por medio de reacciones de fotoperíodo y elongación. A intensidades altas puede afectar la temperatura de la planta (Cabrera y Castillo 2008).

2.6 Principales Enfermedades del Frijol (*Phaseolus vulgaris* L.)

Las enfermedades ocasionan pérdidas considerables en el rendimiento del frijol cuando no son prevenidas en forma oportuna. Cuando una enfermedad se desarrolla completamente sobre el cultivo, es difícil su control. Un gran número de enfermedades causadas por virus, hongos y bacterias afectan al cultivo de frijol. Las principales enfermedades son: mustia hilachosa, *Thanatephorus cucumeris*; mancha angular, *Phaeoisariopsis griseola*; antracnosis, *Colletotrichum lindemuthianum* y la roya, *Uromyces appendiculatus* (Red SICTA & IICA, 2008). Pueden aparecer en diferentes etapas del cultivo como se refleja en la Figura 1.

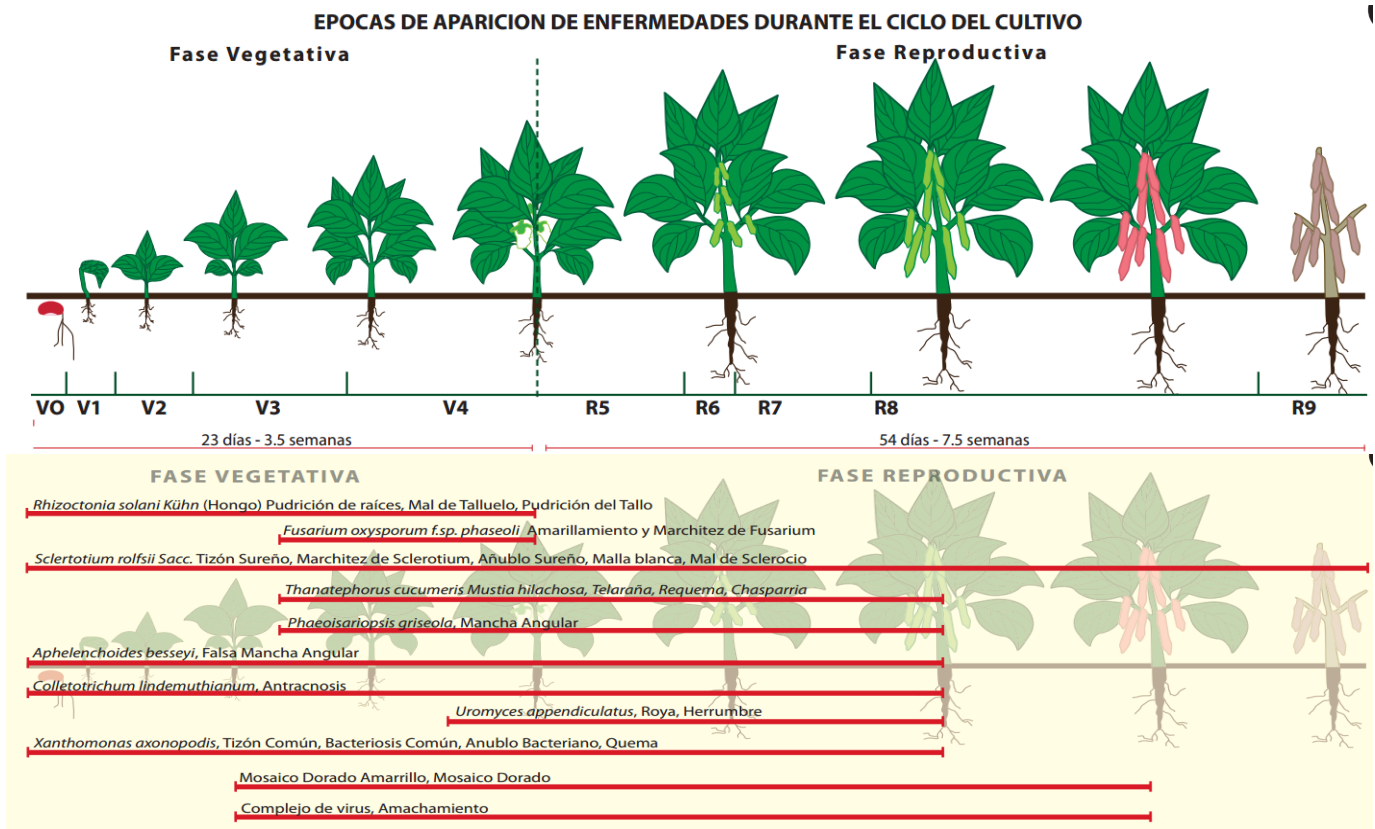


Figura 1. Épocas de aparición de enfermedades durante el ciclo del cultivo.

2.6.1 Mustia hilachosa (*Thanatephorus cucumeris* (Frank) Donk)

Las principales fuentes de inóculo son los esclerocios y micelio del hongo, presentes en el suelo o en residuos de cosecha contaminados, dispersados por la acción de las gotas de

lluvias. Las basidiosporas del hongo también pueden causar infección al ser diseminadas por el viento. La semilla infectada puede diseminar el patógeno hacia otros lotes y actuar como fuente de inóculo primario.

La mustia ataca el follaje, tallos, ramas y vainas del frijol, en cualquier etapa de desarrollo del cultivo. En la infección por esclerocios y micelio, los síntomas aparecen como pequeñas lesiones acuosas circulares de 1 a 3 mm de diámetro, que a medida que se desarrolla la infección adquieren un color café, delimitado por un halo oscuro. Las hojas se adhieren entre sí y se produce defoliación severa. Las vainas jóvenes pueden quedar totalmente destruidas; mientras que, en las vainas maduras, las lesiones se unen y causan daños severos y muerte (Red SICTA & IICA, 2008).

2.6.2 Mancha angular (*Phaeoisariopsis griseola* (Sacc.) Ferraris)

Esta enfermedad se presenta mayormente en zonas y épocas con temperaturas moderadas (16 a 28°C, óptimo de 24°C), y alta humedad relativa alternada con períodos cortos de baja humedad. El inóculo proviene de la cosecha anterior. La diseminación puede ocurrir por el contacto de la plántula con el residuo infectado al momento de emerger, salpique de las gotas de lluvia sobre el residuo o por esporas del hongo transportadas por el viento desde lotes vecinos. La transmisión por semilla es relativamente baja, pero representa un peligro potencial según el nivel de daños en las vainas. Los síntomas pueden aparecer inicialmente en las hojas primarias, y se generalizan en las plantas después de la floración o inicio de la formación de vainas. Cuando las lesiones están bien establecidas en el follaje, son típicamente angulares en ambos lados de las hojas (Red SICTA & IICA, 2008).

En ataques severos, las hojas se tornan amarillentas y mueren, ocasionando la defoliación prematura de las plantas. En el tallo, ramas y pecíolos, las lesiones son de color café-rojizo, con bordes oscuros y de forma alargada. En las vainas, las manchas son ovaladas y circulares, con centros café-rojizos y ocasionalmente con bordes oscuros (Red SICTA & IICA, 2008).

2.6.3 Antracnosis (*Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. y Magn.) Scrib)

La antracnosis se presenta principalmente a elevaciones mayores a 1,000 msnm. La infección y desarrollo del patógeno son favorecidos por temperaturas entre 13 y 26°C, óptimo de 17-18°C), y alta humedad relativa en forma de lluvias moderadas y frecuentes.

Las fuentes primarias de inóculo provienen de residuos de cosecha, semillas infectadas y plantas enfermas de lotes vecinos. Las esporas son diseminadas por la lluvia y el viento (Red SICTA & IICA, 2008).

La antracnosis puede afectar cualquier órgano aéreo (excepto flores) y en cualquier etapa de desarrollo; aunque los síntomas severos se observan en pecíolos, hojas y vainas. En el follaje, los síntomas se presentan a lo largo de las nervaduras en el haz de las hojas y consisten en lesiones de color ladrillo a púrpura. Las lesiones pueden observarse en los cotiledones cuando el inóculo proviene de la semilla o de residuos de cosecha; y al diseminarse la infección, en los pecíolos, tallos, ramas y vainas. Las infecciones en vainas son frecuentes y aparecen en forma de chancros hundidos, redondeados, con márgenes delimitados por anillos negros o bordes café-rojizos (Red SICTA & IICA, 2008).

2.6.4 Añublo Sureño o Pudrición Radical (*Sclerotium rolfsii* L.)

El añublo sureño, o pudrición radical por *Sclerotium*, es una enfermedad causada por el hongo *Sclerotium rolfsii* L., el cual es un hongo fitopatógeno, habitante del suelo, con un amplio rango de hospedadores en los que causa podredumbres de raíz y cuello. Se presenta en muchos países y regiones situadas entre los 38° de las latitudes norte y sur. Los nombres comunes frecuentemente utilizados para denominar el añublo sureño en América Latina son: marchitamiento de *Sclerotium*, tizón sureño, maya o malla blanca, pudrición húmeda, mal de esclerocio, tizón del sur y murcha de *Sclerotium* (Cardona *et al.* 1982).

La Enfermedad de Añublo sureño del Frijol, ocasionada por el hongo patógeno *Sclerotium rolfsii* L. puede llegar a representar el 25% de las pérdidas del cultivo durante épocas secas y calientes. La importancia de esta enfermedad radica en que el patógeno puede atacar a la planta durante todo su ciclo de vida y sobrevivir en residuos de siembras anteriores de frijol u otras plantas y en el suelo por lo menos un año (Red SICTA & IICA, 2008).

2.6.4.1 Daños, Síntomas y Signos del Patógeno

Este patógeno puede afectar la planta en todas las etapas de desarrollo. El ataque tanto en la germinación como en el estado de plántula, reduce la población. En el estado de

plántula, el ataque puede causar un marchitamiento completo, sin embargo, si la disminución de la población no es muy grande, las plántulas sobrevivientes pueden compensar las pérdidas en producción, y el daño total no será muy grande (CIAT 1981).

Al arrancar una plántula afectada, se observa la sintomatología típica de la enfermedad, tallo acuoso, completamente podrido, color gris o café y por lo general se manifiestan los signos del patógeno, con micelio blanco en la superficie del suelo y tallo (Figura 2). En algunos casos se ven los esclerocios blancos o de color crema si están jóvenes, y de color café si están maduros (CIAT 1981).



Figura 2. Síntomas de amarillamiento, marchitez y masa blanca con estructuras redondas en plantas de frijol (CIAT 1981).

Las plantas completamente desarrolladas pueden presentar marchitamiento. Los ataques en este estado son muy graves debido a que las plantas que sobreviven no logran compensar las pérdidas en la producción causadas por la disminución de la población. Las plantas pueden presentar lesiones en la parte del hipocótilo ubicada por debajo del nivel del suelo. Estas lesiones se pueden confundir con las de *Rhizoctonia solani*, ya que ambas presentan un color ladrillo sin embargo, las lesiones de *Sclerotium rolfsii* L. se pueden reconocer por el desarrollo de fibras, visibles alrededor de la lesión. Estas lesiones generalmente tienen poco efecto en el rendimiento (CIAT 1981).

2.6.4.2 Condiciones adecuadas para el desarrollo de la enfermedad

La enfermedad del Añublo Sureño se da con mayor severidad en regiones calientes con temperaturas que oscilan entre los 25 y 35°C, o en lugares extremadamente secos con lluvias esporádicas; los suelos arenosos, bien drenados o ácidos, favorecen la infección del hongo hacia la planta, la cual es atacada durante todo su ciclo de vida, mayormente en las etapas tempranas. El hongo sobrevive en residuos de siembras anteriores de frijol u otras plantas y en el suelo por lo menos un año (Red SICTA-IICA 2008).

El pH es muy importante en la inducción de la formación de esclerocios por lo que *S. rolfsii* L. es capaz de sobrevivir dentro de un amplio rango de condiciones ambientales, principalmente el micelio puede crecer a pH de 3 a 5 y la germinación esclerocial ocurre entre 2 a 5. La germinación es inhibida a pH por encima de 7 y el máximo crecimiento micelial ocurre entre 25 y 35°C y se requiere una humedad alta para el crecimiento del hongo (SINAVIMO, s.f.).

2.6.4.3 Epidemiología

Los esclerocios son las estructuras principales de supervivencia del patógeno y las condiciones de humedad y temperatura del suelo de moderadas a altas favorecen el desarrollo de *S. rolfsii* L.; por lo que el inóculo está compuesto de esclerocios, micelio y basidiosporas, y la dispersión del hongo puede ocurrir mediante el agua de riego contaminada, partículas de suelo adheridas a los accesorios agrícolas y a los animales o a través de la semilla (Cardona *et al.* 1982).

Un papel fundamental en el proceso de patogénesis lo constituye la germinación de los esclerocios (Figura 3), que puede ser de dos tipos, hifal o eruptiva, y que es determinada por el tipo de sustrato, la humedad, temperatura, presencia de compuestos volátiles, aireación o actividad de los microorganismos del suelo (González, E. 2011).

La germinación hifal se caracteriza por el crecimiento individual de las hifas desde las células de la médula del esclerocio, dependiendo el desarrollo y crecimiento de las mismas, así como la capacidad de infectar tejidos susceptibles, de la disponibilidad de una fuente externa de nutrientes. Cuando las condiciones no son favorables, las hifas pueden detener su crecimiento y formar esclerocios secundarios de menor tamaño.

Por el contrario, en la germinación eruptiva se produce la salida violenta de agregados hifales a través de la corteza del esclerocio que van a consumir los materiales almacenados en el interior para su desarrollo. Este micelio, a diferencia del originado por la germinación hifal, posee la capacidad de infectar los órganos de las plantas susceptibles sin requerimientos nutritivos externos (González, E. 2011).

Los períodos de fluctuación de humedad y temperatura pueden incrementar significativamente la incidencia de las enfermedades causadas por *S. rolfsii* L. ya que

ciclos sucesivos de desecación y humectación estimulan la germinación de los esclerocios (Punja & Grogan, 1981; Smith, 1972 citado por González, E. 2011).

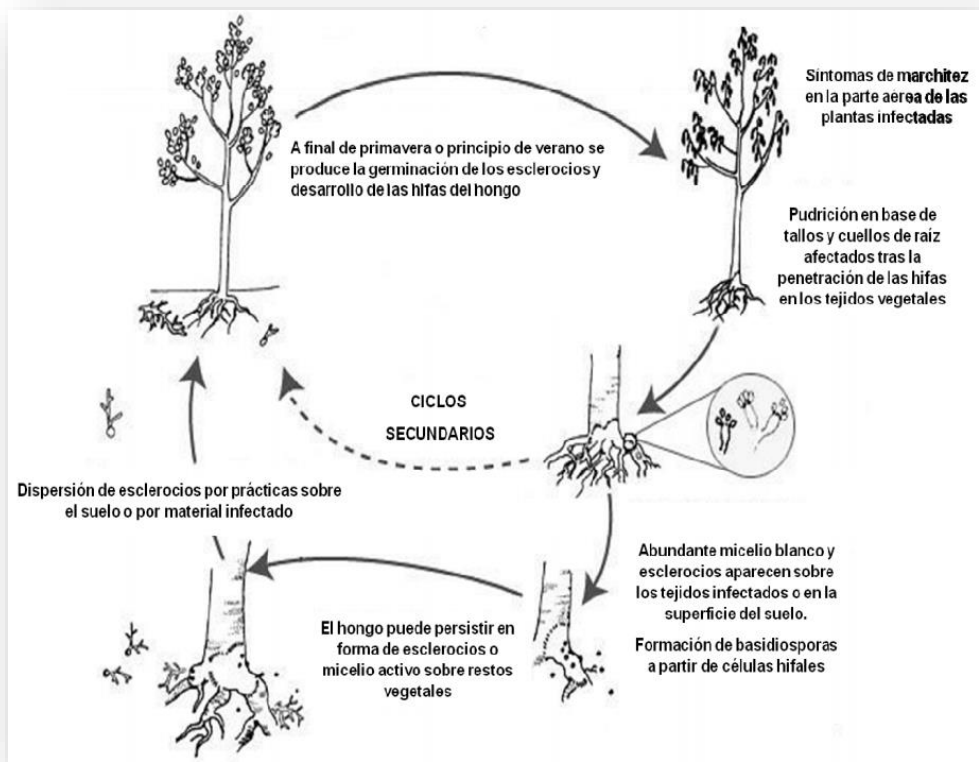


Figura 3. Ciclo vital de *Sclerotium rolfsii* L. en manzano.

2.7 Control

Es importante pensar en el control de enfermedades no sólo desde un punto de vista curativo, cuando el daño ya ha sido causado en nuestro cultivo, sino que también desde un punto de vista preventivo, antes de que podamos detectar la presencia del patógeno en las plantas (Sandoval, B. C. 2004).

El control de enfermedades no debe estar basado únicamente en la aplicación de productos químicos, sino que estos deben ser un complemento de otras medidas posibles de utilizar. Esto es lo que se denomina manejo integrado de enfermedades, que considera el empleo de otros métodos de control como inspecciones reguladoras, control biológico, control físico y control cultural (Lehmann-Danzinger, 2004; Agrios, citado por Sandoval, B. C. 2004).

2.7.1 Control cultural

Eliminar los restos de siembras anteriores de dos a seis semanas antes de la siembra de frijol y en suelos muy contaminados, que no tengan problema de erosión, arar a 20 cm de profundidad (Red SICTA-IICA 2008).

Las poblaciones de *S. rolfsii* L. pueden reducirse destruyendo los residuos de cultivos susceptibles y eliminando las malezas hospedantes. Para disminuir los niveles del inóculo se debe asegurar suelos con buen drenaje, baja acidez, así como la siembra en bajas densidades, la aplicación de cal y la rotación con cultivos como el maíz y el sorgo (Cardona *et al.* 1982).

La solarización del suelo se ha mostrado como un método efectivo para reducir tanto la viabilidad de los esclerocios como el desarrollo de la enfermedad causada por *S. rolfsii* L., aunque solo resulta viable desde un punto de vista técnico y económico en pequeños rodales. Esta medida puede reducir la viabilidad de los esclerocios hasta en un 90% (González, E. 2011).

Otra práctica de importancia la constituye el monitoreo o revisión periódica del cultivo, labor que es un elemento clave a tener presente dentro de un programa de control integrado de enfermedades y plagas (Sandoval, B. C. 2004).

2.7.2 Empleo de genotipos resistentes o tolerantes

El uso de cultivares o variedades resistentes o tolerantes constituye un método de control importante. Este se basa en el empleo de genotipos comerciales a los que se les ha incorporado genes de resistencia a algún patógeno, ya sea a través de fitomejoramiento tradicional o bien por utilización de técnicas de ingeniería genética. Así, la elección de la variedad a utilizar debería considerar como primer factor a tener presente, sus características de resistencia o tolerancia a enfermedades de importancia en el área de cultivo (Sandoval, B. C. 2004).

2.7.3 Control químico

Si bien en el mercado existen una serie de productos químicos para el control de distintas enfermedades, es importante tener claro el organismo y enfermedad que está afectando nuestro cultivo, antes de decidir qué tipo de producto vamos a aplicar, ya que la mayoría de ellos presenta una acción específica sólo hacia ciertos patógenos (Sandoval, B. C. 2004).

Red SICTA, & IICA (2008) recomiendan tratar la semilla de frijol con productos químicos que contengan carboxin, captan o PCNB.

El Carboxin es un fungicida sistémico que controla patógenos que atacan a la semilla durante la germinación y en estado de plántula, a partir de la inhibición de la división celular del patógeno. El Captan actúa de forma preventiva, es absorbido por vía radicular y foliar, éste inactiva diversas enzimas y afecta la membrana celular del hongo, dificultando el crecimiento y desarrollo del micelio del hongo y finalmente, el PCNB, que afecta la membrana celular, procesos nucleares y la pared celular del hongo, se emplea para tratar el suelo y tiene efecto residual (Rivera 2007).

Para efectos de la Investigación, se aplicó el producto Hidróxido de Cobre (Kocide WG ®), la aplicación de este producto fue recomendada debido a que es el fungicida aplicado en EEP (Estación Experimental y de Prácticas) para combatir el daño por el patógeno *S. rolfsii* L. y otros patógenos que afectan al frijol. Hidróxido de Cobre (Kocide WG ®) es un fungicida cúprico que actúa como protector contra enfermedades. El cobre forma complejos con algunos grupos químicos que componen la célula afectando la producción de energía. Los cobres tienen un amplio espectro de acción, incluyendo acción bactericida y son muy persistentes en el suelo, ya que el Ion Cu no se degrada como sucede con los productos orgánicos (Duwest, s.f.).

2.7.4 Control biológico

Existen muchos microorganismos que han sido considerados como antagonistas de algunos patógenos, constituyendo una alternativa a los productos químicos. La lucha ejercida por ellos puede ser por el contacto físico directo de éste con el agente causal de la enfermedad o bien por la liberación por parte del biocontrolador de sustancias que tienen un efecto negativo sobre el patógeno. Otra forma de actuar es a través de la competencia por espacio y nutrientes (Jarvis, 2001; Vega, 1999 citado por Sandoval, B. C. 2004).

También se pueden utilizar productos alternativos como los biopreparados, también llamados medios biológicos; que son sustancias y mezclas de origen vegetal, animal o mineral presentes en la naturaleza que tienen propiedades nutritivas para las plantas o repelentes y atrayentes de insectos para la prevención y control de plagas y/o enfermedades. También se utilizan para corregir los desequilibrios que se manifiestan en ataques de plagas y enfermedades, la agricultura sostenible utiliza productos elaborados a partir de materiales simples, sustancias o elementos presentes en la naturaleza (aunque en algunos casos pueden incorporar productos sintéticos) que protegen y/o mejoran los sistemas productivos en los que se aplican (IPES *et al.* 2010).

2.7.4.1 Mecanismos de Acción de los medios biológicos en el suelo

Los mecanismos a través de los cuales los medios biológicos actúan en la supresión de patógenos en el suelo se describen a partir de las siguientes teorías:

2.7.4.1.1 Teoría de Supresión del Suelo a Enfermedades

La teoría se refiere al efecto de los medios biológicos sobre la supresión de enfermedades de plantas, que incluyen los siguientes tres mecanismos de supresión de enfermedades en suelos:

- 1) El agente patógeno no puede establecerse.
- 2) El agente patógeno está presente pero no puede causar la enfermedad y
- 3) El agente patógeno causa la enfermedad, pero disminuye con el policultivo.

La supresión de los patógenos de las plantas y la incidencia de la enfermedad depende de las condiciones del suelo, de la planta, y de las prácticas o combinación de las prácticas que se aplican.

Nico, A. L. *et al.* 2005 estudió la correlación entre parámetros poblacionales (u.f.c./gr de suelo e índice de diversidad) de la micoflora del suelo y el índice de supresividad sobre tres enmiendas y ocho sustratos provenientes de la prueba de patogenicidad de *R. solani* resultando significancia para ambos parámetros en $p > 0.05$ donde, la incorporación de enmiendas orgánicas provocó, un descenso brusco en los índices de diversidad específica verificados en las poblaciones fúngicas aisladas del suelo.

Los microorganismos eficientes (EM) pueden inducir a un suelo la supresión natural de enfermedades, los EM son cultivos mixtos de microorganismos benéficos, de ocurrencia natural en suelos no alterados, que pueden ser aplicados como inoculantes para incrementar la biodiversidad microbial de los suelos y plantas (Acosta Almánzar 2012).

2.7.4.1.2 Teoría de la Energía Orgánica

Esta teoría dice que los materiales orgánicos agregados al suelo son sometidos a una descomposición por microorganismos, la cual libera una gran parte de los nutrientes requeridos por las plantas. En la teoría de la energía orgánica, enmiendas orgánicas son fermentadas por diferentes especies de *Lactobacillus* y otros microorganismos productores de ácido láctico, el cual funciona como agente altamente esterilizador, suprime microorganismos patógenos, incrementa y acelera la transformación de la materia orgánica (Acosta Almánzar 2012).

2.7.4.1.3 Teoría del Equilibrio de la Población de Microorganismos en el Suelo

Esta teoría relaciona la incidencia y severidad de enfermedades de plantas que dependen de las condiciones químicas, físicas y microbiológicas del suelo, en función de la labranza, fertilización y aplicación de pesticidas, los cultivos, y su rotación, el monocultivo o policultivo, así como de la susceptibilidad y resistencia de los cultivos a enfermedades. Estos factores pueden influir mucho en la población microbiana del suelo y su complejidad y diversidad. (Acosta Almánzar 2012).

Los medios biológicos más conocidos y de fácil acceso son:

2.7.4.2 Microorganismos de Montaña

Estos microorganismos son llamados comúnmente “Microorganismos de Montaña” o MM. Son microorganismos que viven naturalmente en nuestros bosques. Muchos de estos MM cumplen roles benéficos en los procesos biológicos de los suelos y agro ecosistemas, y pueden ser encontrados en la capa superficial y orgánica de todo suelo de un ecosistema natural donde no haya habido intervención depredadora del hombre (Higa, T. 2013. Citado por Rodriguez, N.Y. Tafur, Z.K. S.f.)

El uso de Microorganismos de Montaña aplicados en semilleros puede generar los siguientes efectos:

-Aumento de la velocidad y porcentaje de germinación de las semillas, por su efecto hormonal, similar al del ácido giberélico.

-Aumento del vigor y crecimiento del tallo y raíces, desde la germinación hasta la emergencia de plántulas, por su efecto similar a las rizobacterias las cuales son promotoras del crecimiento vegetal.

-Incremento de las probabilidades de supervivencia de las plántulas, por la inoculación del sustrato con microorganismos antagónicos a enfermedades y hongos patógenos (Acosta Almánzar 2012).

2.7.4.3 Lombriabono

Las lombrices de tierra son consumidores voraces de residuos orgánicos y aun cuando sólo utilizan una pequeña porción para la síntesis de sus cuerpos, ellas excretan una gran parte de los residuos consumidos en una forma medio digerida. Puesto que los intestinos de las lombrices contienen una amplia gama de microorganismos, enzimas, hormonas, etc. éstos materiales medio digeridos se descomponen rápidamente y son transformados a una forma de lombriabono en un período de tiempo corto (Reséndez 2002).

Existen diversas evidencias de que las lombrices de tierra provocan diferentes efectos benéficos, físicos, químicos y biológicos, sobre los suelos y diversos investigadores han demostrado que estos efectos pueden incrementar el crecimiento de la planta y el rendimiento de los cultivos tanto en ecosistemas naturales como en los ecosistemas manejados. Estos efectos se han atribuido al mejoramiento de las propiedades y la estructura del suelo, a una mayor disponibilidad de los elementos nutritivos para las plantas, y a una creciente población microbiana y metabolitos biológicamente activos, como los reguladores de crecimiento de la planta. Su acción antibiótica aumenta la resistencia de las plantas en contra de plagas, enfermedades y organismos patógenos. Los ácidos húmicos y fúlvicos que contiene regeneran las características químicas del suelo y, al igual que cierto tipo de hormonas de crecimiento, favorecen el desarrollo de las especies vegetales (Reséndez 2002).

Los efectos de las sustancias húmicas sobre las plantas reportados en la literatura son muy diversos y podrían resumirse en:

- Los ácidos húmicos estimulan el desarrollo de raíces y tallos.

- El tratamiento de semillas y sustratos con ácidos húmicos promueve el desarrollo de la radícula.
- Mejora la absorción de micronutrientes como Fe, Cu y Zn, en Maíz y en Trigo (Fernández Zabala 2003).

2.7.4.4 Bocashi

El Bocashi es un abono orgánico fermentado que, puede elaborarse con materiales locales en un proceso de semidescomposición aeróbica de residuos orgánicos por medio de poblaciones de microorganismos que existen en los propios residuos, en condiciones controladas, que producen un material parcialmente estable de lenta descomposición. Su uso activa y aumenta la cantidad de microorganismos en el suelo, así como mejora sus características físicas y suple a las plantas con nutrimentos. El bocashi aporta una gran cantidad de microorganismos: hongos, bacterias, actinomicetos, que brindan al suelo mejores condiciones de sanidad; entre las ventajas más importantes de este abono es que los microorganismos presentes en la composta compiten por micro espacios y energía con los microorganismos patógenos que hay en la zona radicular de la planta (Ramos Agüero, D; Terry Alfonso, E. 2014).

2.7.4.5 *Trichoderma harzianum* R.

2.7.4.5.1 Descripción

Las especies pertenecientes al género *Trichoderma* se caracterizan por ser hongos saprófitos, es decir, se alimentan de materia orgánica muerta o en descomposición; y son los antagonistas más utilizados para el control de enfermedades de plantas producidas por hongos, debido a su facilidad para ser aisladas y cultivadas, a su crecimiento rápido en un gran número de sustratos y a que no atacan a plantas superiores. Pueden expresar su acción con más de un mecanismo, sobreviven en suelo con diferentes cantidades de materia orgánica, los cuales son capaces de descomponerla y en determinadas condiciones pueden ser anaerobios facultativos, desarrollándose tanto en presencia como en ausencia de oxígeno, lo que les permite mostrar una mayor resistencia ecológica y a su vez soportar mayores variaciones de los factores cambiantes. Las especies de *Trichoderma* se encuentran presentes en todas las latitudes, desde las zonas polares hasta la ecuatorial (Rey *et al.* 2000).

Trichoderma como un controlador biológico y antagonista natural de fitopatógenos, muestra una amplia gama de hospedantes y dentro de ellos están los hongos fitopatógenos de importancia, tales como: *Fusarium oxysporum*, *Fusarium roseum*, *Botrytis cinérea* Pers, *Rhizoctonia solani* Kuhn, *Sclerotium rolfsii* L *Sclerotinia* spp., *Pythium* spp. *Phytophthora* spp., *Alternaria* spp., entre otros (Rey et al. 2000).

2.7.4.5.2 Clasificación

Basándose en la clasificación taxonómica de Alexopoulos y Mims (1979) y Subramanian (1983), el género *Trichoderma* se ubicaría de la siguiente manera: Reino, Mycetae (Fungi); División, Eumycota; Subdivisión, Deuteromycotina; Clase, Hyphomycetes; Orden, Hyphales (Moniliales) y Familia, Moniliaceae; Género, *Trichoderma* (Michel Aceves 2001).

2.7.4.5.3 Mecanismos de Acción

Los mecanismos por los que las cepas del género *Trichoderma* desplazan al fitopatógeno son fundamentalmente de tres tipos: competición directa por el espacio o por los nutrientes, producción de metabolitos antibióticos, ya sean de naturaleza volátil o no volátil y parasitismo directo de determinadas especies de *Trichoderma* sobre el hongo fitopatógeno (Cook y Baker 1989 citados por Lisboa Minguzzi 2003). Durante el micoparasitismo, el antagonista localiza al patógeno y se enrolla alrededor de las hifas de éste, provocando su muerte. Estos tres mecanismos no son excluyentes, sino que actúan sinérgicamente en el control de los patógenos. La importancia relativa de cada uno de ellos depende de cada pareja de antagonista-patógeno y de las condiciones ambientales (Cook y Baker 1989 citados por Lisboa Minguzzi 2003).

El mecanismo por el cual controla fitopatógenos es principalmente a través de competencia y predación. Se ha observado que las hifas susceptibles son penetradas, colapsando y finalmente desintegradas. Posterior a esto el micoparásito se alimenta de este sustrato. También se sabe que algunas razas de *Trichoderma* son capaces de producir antibióticos, especialmente a pH bajo. Las enzimas quitinasa y (beta) (1-3)-gluconasa se ha observado actuando sobre *Rhizoctonia solani* y *Sclerotium rolfsii*, produciendo una degradación de sus hifas (Cook y Baker 1989 citados por Lisboa Minguzzi 2003).

No obstante, un análisis de los mecanismos de acción descritos anteriormente revela que en todos ellos participan enzimas hidrolíticas de la pared celular. Así, la capacidad saprofítica de un microorganismo está mediada por la cantidad de enzimas degradadoras de polímeros tales como la quitina o los glucanos. Por otra parte, está bien establecido que las enzimas hidrolíticas de pared celular tienen un efecto sinérgico con los antibióticos, siendo la acción antifúngica de ambos compuestos muy superior a la de cualquiera de ellos por separado. En cuanto al micoparasitismo, una de las etapas claves del mismo consiste en la degradación de la pared celular de los fitopatógenos mediada por la acción de las enzimas hidrolíticas producidas por el antagonista (Rey *et al.* 2000).

2.7.4.6 Métodos de aplicación del control biológico

El empleo de nuevos métodos biológicos en la agricultura sostenibles es de vital importancia para inhibir el desarrollo de los hongos fitopatógenos del suelo reduciendo la contaminación ambiental (Cancio, Y. F. 2014).

2.7.4.6.1 Recubrimiento o peletizado a la semilla

El éxito de las siembras depende de muchos factores externos como son: la capacidad germinativa de las especies, el vigor de las semillas, el tipo de suelo, las condiciones climáticas, la época de siembra, la presencia de predadores etc. Con el recubrimiento se pretende proteger a la semilla de muchos de estos factores externos que impiden su germinación y lograr las condiciones más favorables para la siembra (Universidad de Andalucía, *s.f.*)

La peletización se realiza cuando se aplican materiales sólidos que forman gránulos de forma esférica o elíptica con una o más semillas por unidad (Universidad de Andalucía, *s.f.*)

2.7.4.6.2 Enmiendas al suelo

Muchos autores señalan que el fenómeno de supresión de patógenos de suelo por la adición de enmiendas orgánicas está asociado fundamentalmente al antagonismo ejercido por estimulación de la actividad microbiana y que, como tal, debiera ser considerado como un fenómeno de control biológico (Baker y Cook, 1974 citado por Nico, A. L. 2005).

Baker, 1991 citado por Nico, A. L. 2005 expresa que “El incremento en la biomasa total que tiene lugar a continuación del agregado de sustancias orgánicas al suelo ha sido mencionado como uno de los factores que conducen a la supresión de los patógenos.”

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Descripción del Estudio

La investigación se desarrolló durante los meses de septiembre de 2016 a mayo de 2017 en el Laboratorio de Investigación y Diagnóstico e Invernadero del Departamento de Protección Vegetal en la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de El Salvador.

3.2 Metodología de Laboratorio

Se inició con la recolección de suelo en muestreo realizado en tres lotes, Panga 1, 4 y Lote El Mango de la Estación Experimental y de Prácticas (EEP) de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de El Salvador, para lo cual se siguió la metodología de muestreo de suelos para análisis microbiológico desarrollada por Castellanos *et al.* s.f. basado en el historial de incidencia de la enfermedad en el cultivo de frijol, según información obtenida por parte de los trabajadores de la EEP.

3.2.1 Muestreo de suelo para obtener *Sclerotium rolfsii* L.

El tipo de muestreo más adecuado y sencillo es en forma de zig-zag. Siguiendo la metodología propuesta por (Castellanos *et al.* s.f.). Se tomaron diez submuestras a lo largo y ancho del terreno que luego se mezclaron en un recipiente (Figura 4).

- Se removió la vegetación superficial y luego se tomaron las muestras con pala, se abrió un agujero de aproximadamente 25 x 25 cm de lado y 20 cm de profundidad, se retiraron los primeros 2 cm del suelo y se extrajo la muestra.
- Se mezcló en un balde las submuestras hasta obtener una muestra compuesta homogénea. Luego se tomó una muestra general de aproximadamente 5 lb.
- Se rotularon e identificaron las muestras inmediatamente luego de la toma. Se anotó la fecha de recolección, el lugar, la temperatura, especies y variedades de planta y el nombre del recolector.
- De manera similar al muestreo de suelos, se muestrearon plantas silvestres o de cultivo encontradas en campo que mostraron la sintomatología típica del micelio producido por *Sclerotium rolfsii* L. en el cuello de la raíz, siguiendo la metodología propuesta por (Rivas 2016).



Figura 4. Muestreo de Suelo en la Estación Experimental y de Prácticas.

3.2.2 Obtención de plantas enfermas

Para aislar el hongo *Sclerotium rolfsii* L. se obtuvo material vegetal enfermo en muestreo realizado, de una planta de frijol que presentaba síntomas específicos de la enfermedad. Para esto se utilizaron nueve recipientes de polietileno de 32 onz, en los cuales se sembraron seis semillas de frijol CENTA Costeño 2 en cada uno y se colocaron en el invernadero del Departamento de Protección Vegetal, con una temperatura de 30° C (Figura 5). Se observaron diariamente para verificar el desarrollo de la planta y de la enfermedad, identificándose micelio y esclerocios del patógeno en el cuello de la raíz y alrededor de la parte basal del tallo de la planta.



Figura 5. Obtención de Material vegetativo enfermo.

3.2.3 Aislamiento del patógeno

Para aislar el patógeno se siguió la metodología de Manejo del Hongo *Sclerotium rolfsii* en Laboratorio, propuesta por (Castellanos *et al. s.f.*). Se preparó medio de cultivo PDA (Figura 6) y se vertió en cajas Petri de 9 cm de diámetro, éste se acidificó con diez gotas de ácido láctico por cada medio litro de PDA, para evitar crecimiento bacteriano y la contaminación del mismo.



Figura 6. Preparación de Medio de Cultivo PDA.

- ✓ **Siembra:** se extrajeron esclerocios maduros del material enfermo y se desinfectaron un minuto en agua destilada y un minuto en alcohol etílico 70%, luego se colocaron en cajas Petri con medio de cultivo PDA (Figura 7). Las cajas se incubaron a 24° C durante diez días, tiempo en que el hongo produjo micelio blanco, del cual se reprodujeron esclerocios, que fueron vistos como puntos negros.
- ✓ **Identificación:** basada en la observación de las características morfológicas del hongo, (micelio blanco, forma plumosa de las colonias, septación y ramificación de las hifas, esclerocios blancos o café oscuro) según la descripción de (Barnett y Hunter, 1998; Romero, 1988, citados por Michel Aceves 2001), así como las principales características taxonómicas que permitieron la identificación del patógeno *Sclerotium rolfsii* L.



Figura 7. Preparación de Cajas Petri y Aislamiento del hongo.

3.3 Metodología de invernadero

El sustrato utilizado en la investigación se preparó siguiendo la metodología recomendada por (Rivas 2016), consistió de una mezcla de suelo y arena en proporciones 2:1 obteniendo un total de 363.63 kg de sustrato, el cual se esterilizó con una dilución de ½ galón de lejía disuelto en ocho galones de agua y, ésta se aplicó por cada 100 lb de sustrato (Figura 8), se mezcló cada tres días durante dos semanas. Posteriormente se llenaron 55 cajas de madera con medidas de 60x20x35 cm con 6.6 kg de sustrato cada una.



Figura 8. Preparación y Esterilización de Sustrato.

Paralelamente a la desinfección del sustrato, se preparó el inóculo para adicionarse a las cajas de siembra (Figura 9). Para esto se siguió la metodología propuesta por (Castellanos *et al.* s.f.). Se llenaron 5 bandejas de aluminio con medidas de 27x20 cm con 2.184 kg de sustrato en cada una y se les adicionó 21.84 gr de harina de frijol previamente esterilizada por cada bandeja, estas se cubrieron con papel de empaque y se colocaron en doble bolsa para hornear, luego se colocaron en autoclave a una presión de 20 lb y una temperatura de 121° C en el laboratorio de Investigación y Diagnóstico.



Figura 9. Preparación de Inóculo inicial de *Sclerotium rolfsii* L.

Una vez esterilizado el suelo se procedió a inocular con 0.436 gr. esclerocios estériles/ bandeja, se mantuvieron cubiertas para evitar contaminación. Las relaciones para la preparación del inóculo según metodología, fueron de 0.20 gr de esclerocios/kg de sustrato (200 mg/kg). Después de 17 días, el hongo inoculado en suelo desarrolló micelio y esclerocios, y se adicionaron 198 grs de éste inoculo en cada caja de siembra para ensayo en invernadero (Figura 10), después de 24 horas se realizó la siembra del frijol, previamente se prepararon los tratamientos a ser aplicados (Figura 11 y 12).



Figura 10. Inoculación del Hongo *Sclerotium rolfsii* L en Suelo para siembra de frijol.



Figura 11. Preparación de Tratamientos con Biopreparados para Ensayo en Invernadero.



Figura 12. Montaje de Ensayo, siembra y aplicación de tratamientos.

3.4 Métodos de aplicación del ensayo

Los Métodos evaluados en la investigación fueron Tratamiento de semilla (Peletizado) y Enmienda al suelo (Cuadro 1).

Cuadro 1. Tratamientos y dosis de ensayo en Invernadero.

Tratamiento	Dosis				Ingrediente activo
	Tratamiento de semilla	Código	Enmienda al suelo (dosis)	Código	
Microorganismos de montaña	1/4 litro por 2 libras de semilla	TS-MM	50 ml por postura	ES-MM	-----
Lombriabono	2 lb/1 lb de semilla de frijol	TS-LA	4 onz por postura	ES-LA	-----
Bocashi	2 lb/1 lb de semilla de frijol	TS-BO	4 onz por postura	ES-BO	-----

Excalibur Gold FS®	30 gr de producto/ 100 lb de semilla	TS-TH	1 gr de producto/Litro de agua	ES-TH	<i>Trichoderma harzianum</i>
Testigo químico (Kocide WG ®)	900 gr/80 lbs de semilla	TS-KO	-----	ES-KO	Hidróxido de Cobre
Testigo absoluto (blanco)	-----	TS-TX	-----	ES-TX	-----

Fuente. Elaboración propia.

3.4.1 Productos para tratamiento a las semillas

En el testigo absoluto o blanco únicamente se sembró el frijol y se realizó el manejo agronómico convencional para la etapa de desarrollo del cultivo.

En el testigo químico se utilizó el producto comercial Hidróxido de Cobre (Kocide WG ®), como fungicida, aplicándolo a la semilla previa siembra con su dosis recomendada de 900 gr/80 lbs (Cuadro 1).

Para el tratamiento con microorganismos de montaña se utilizó solución en fase líquida, a razón de 1/4 litro por dos libras de semilla, éstas se sumergieron en la solución y luego se pusieron a secar y se “empanizaron” con harina de almidón para evitar que la solución se desprendiera.

Para el experimento con lombriabono y bocashi, se elaboró una pasta con 2 lb de cada producto por 1 lb de semilla de frijol y, asimismo, se recubrieron con 1 lb de almidón por 1 lb de semilla.

Para el tratamiento con *Trichoderma harzianum* R. se utilizó el producto Excalibur Gold FS®, las semillas de frijol se recubrieron con este producto previo a la siembra, en una proporción de 30 gr de producto por 100 lb de semilla.

3.4.2 Productos para Enmienda al suelo

Para el tratamiento testigo únicamente se sembró el frijol y se realizó el manejo agronómico convencional para el desarrollo del cultivo. Para enmienda al suelo no se aplicó control químico.

Para el tratamiento con microorganismos de montaña se utilizó una solución en fase líquida, con una dosis de 50 ml por postura.

Para el ensayo con lombriabono y bocashi el producto se utilizó en sólido, para lo cual se aplicaron 4 onzas por postura.

Para el tratamiento con *Trichoderma harzianum* R. se utilizó el producto Excalibur Gold FS®, en una dosis de 1 gr de producto por litro de agua.

3.4 Metodología Estadística

El ensayo en invernadero se distribuyó (Figura 13) utilizando un Diseño de Bloques Completamente al Azar con arreglo factorial, con 11 tratamientos (4 fuentes de control y dos testigos), dos métodos de aplicación (tratamiento de semillas y enmiendas al suelo) y 5 repeticiones por cada tratamiento; además se realizaron dos réplicas, con dos semanas de diferencia entre una y otra. La primera réplica se realizó de marzo a abril 2017 y la segunda de abril a mayo de 2017. La unidad experimental fue constituida por una caja de madera, en cada una se sembraron veinte semillas de frijol que se consideraron como unidades de muestreo. El análisis estadístico se hizo con el programa *R studio* y los tratamientos que resultaron significativos se analizaron bajo la prueba de Tukey.

3.4.1 Análisis de variables

3.4.1.1 Determinación de emergencia de la semilla

Se determinó el porcentaje de emergencia de la semilla a los 3 y 5 después de la siembra, esto se evaluó a través de la observación de las hojas primarias en la superficie del suelo.

3.4.1.2 Infección en semilla

Se identificó a través del porcentaje de semillas que no emergieron y que fueron infectadas por el patógeno.

3.4.1.3 Infección en planta

Se evaluó el porcentaje de plantas infectadas de cada tratamiento a través de la observación de micelio en la base del tallo o de plantas caídas a raíz de la enfermedad. Se tomaron datos cada 3 días hasta la semana cuatro del cultivo por la rapidez de infección de *Sclerotium rolfsii* L.

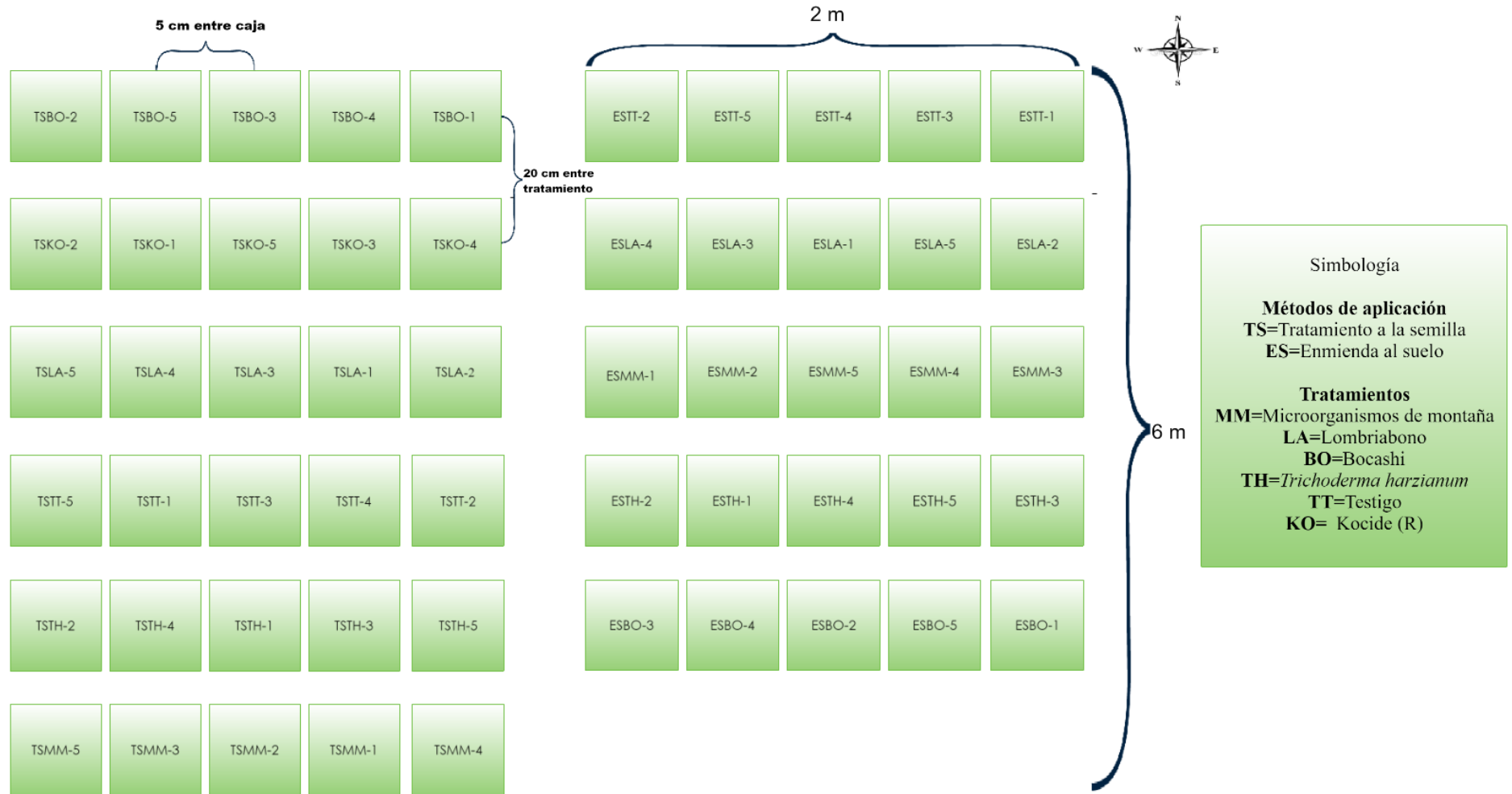


Figura 13. Distribución en invernadero de tratamientos del ensayo en frijol para el control de *Sclerotium rolfsii* L.

3.4.2 Análisis de datos

3.4.2.1 Por método de aplicación

Se evaluaron las variables anteriores solamente analizando el efecto de los métodos de aplicación.

3.4.2.2 Por producto biopreparado

Se evaluaron las variables para los 5 productos, lombriabono, bocashi, microorganismos de montaña, *Trichoderma harzianum*, Kocide WG ® como testigo relativo y el testigo absoluto, para identificar el efecto de éstos en el desarrollo del cultivo y del patógeno.

Además, se evaluó la interacción entre los productos aplicados y la peletización a la semilla únicamente, para identificar cual producto, incidía en el control del patógeno.

3.4.2.3 Interacción método

Se evaluaron las variables para la interacción entre cuatro productos (excluyendo Kocide WG ®) y el testigo absoluto; y los dos métodos de aplicación para evaluar la correlación de éstos que pueden incidir en el desarrollo del patógeno.

3.5 Metodología Socioeconómica

Para la Evaluación Económica de la Investigación se utilizó el análisis de Índices de Costo-Efectividad, el cual permitió evaluar la efectividad de cada tratamiento analizado, tanto en fuentes de control como en formas de aplicación (Cuadro 2).

Cuadro 2. Evaluación Económica de los Tratamientos para mil plantas.

Tratamientos a la Semilla Fórmulas	Dosis para mil plantas	Número de Plantas Sanas	Costo variable (\$)	Índice costo/efectividad
		Porcentaje de Plantas Sanas	Costo de la dosis utilizada para mil plantas	*Costo variable / % de efectividad
ENM Testigo				
SEM Testigo				
ENM Lombriabono				
Tratamientos a la Semilla	Dosis para	Número de	Costo variable (\$)	Índice

Fórmulas	mil plantas	Plantas Sanas		costo/efectividad
		Porcentaje de Plantas Sanas	Costo de la dosis utilizada para mil plantas	*Costo variable / % de efectividad
SEM Lombriabono				
ENM Bocashi				
SEM Bocashi				
ENM Microorganismos de Montaña				
ENM Excalibur Gold FS®				
SEM Excalibur Gold FS®				
SEM (Kocide WG®)				

Fuente. Elaboración Propia

Fórmulas a Utilizar

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Efecto del método de aplicación

Se evaluaron las variables emergencia, infección en semilla e infección en planta para el método de aplicación. Para los cuales se observó diferencias significativas en el comportamiento de los métodos enmienda al suelo y tratamiento a la semilla (Cuadro 3).

Cuadro 3. Análisis de devianza para el efecto del método de aplicación.

VARIABLES	Df	chisq	pr(>Chisq)	
Emergencia		$\chi^2=65.56$	5.63×10^{-16}	
Infección en semilla		$\chi^2=93.96$	2.2×10^{-16}	
Infección en planta	1	$\chi^2=24.52$	$>7.342 \times 10^{-5}$	***

Fuente. Elaboración propia.

Partiendo de los resultados obtenidos, se identificaron las etapas donde *Sclerotium rolfsii* L. tuvo mayor porcentaje de incidencia. El método de aplicación de tratamiento a la semilla tuvo menor emergencia (54.52%), el porcentaje de infección fue mayor tanto en semilla (12.80%) como en planta (12.40%). A diferencia del tratamiento de enmienda al suelo, en el que hubo mayor porcentaje de semilla emergida (72.34%) y el porcentaje de infección en semilla fue menor (2.50%) lo que resultó en menos plantas infectadas al final del ensayo (5.20%) (Figura 14).

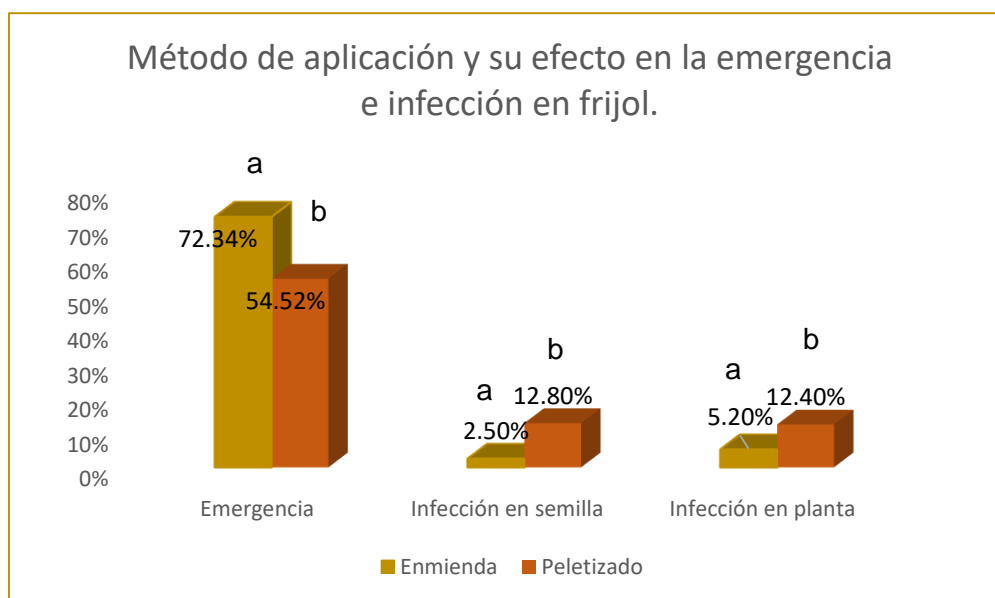


Figura 14. Efecto del método de aplicación en emergencia, infección en emergencia e infección en planta.

*Medias con letras similares no son estadísticamente diferentes (Comparaciones ajustadas de Tukey).

El comportamiento de los métodos de aplicación, evidencia que obtener mayores porcentajes de infección tanto en emergencia como en semilla, tal es el caso del peletizado a la semilla, genera un mayor porcentaje de infección en planta, puede deberse a que este método de aplicación genera retardo en la germinación y la emergencia, esto permite mayor tiempo de contacto del patógeno con la fuente nutricional necesaria para su desarrollo dándole una ventaja competitiva.

Las enmiendas al suelo presentaron menor infección en semilla y planta con respecto a la peletización de la semilla, lo cual refleja que adicionar biopreparados en forma de enmienda al suelo, reduce los efectos patogénicos de *Sclerotium rolfsii* L.

La investigación concuerda con Nico, A. L. *et al.* 2005, demostrando que el agregado de enmiendas orgánicas si genera una modificación en el comportamiento poblacional del suelo, que se ve reflejado en la diferencia en la que actúan los métodos de aplicación sobre la infección por el patógeno, dando como resultado, una menor infección por parte de las enmiendas; a su vez, la aplicación de tratamientos a la semilla no logró evitar la incidencia de la enfermedad. Éste análisis se vuelve importante para seleccionar el método de aplicación de los productos que sea adecuado para bajar la incidencia de ésta enfermedad en el cultivo de frijol.

4.1.1. Aplicación de enmiendas sólidas vs enmiendas líquidas.

Se compararon las enmiendas líquidas (Microorganismos de montaña y *Trichoderma harzianum* L.) contra las sólidas (Bocashi y lombriabono), demostrando diferencias en la infección en semilla (2.95%) y planta (6.17%); demostrando que las enmiendas líquidas tienen mayor probabilidad de infectarse que las sólidas (Cuadro 4.)

Cuadro 4. Probabilidad de ocurrencia para enmiendas líquidas y sólidas.

	Valor estimado	EE	% de ocurrencia	Pr (> z)	Significancia
Emergencia	-0.2917	0.2520	-1.158	0.61265	-----
Infección en semilla	3.3478	1.1314	2.959	<0.0137	*
Infección en planta	3.8664	0.6259	6.177	<0.001	***

Fuente. Elaboración propia.

Como menciona Punja & Grogan, 1981; Smith, 1972 citado por González, E. 2011, este comportamiento podría deberse a que los patrones de humedad alterados permiten una mayor germinación de los esclerocios generando así mayor infección de las semillas, mayor carga infectiva del hongo en el suelo y mayor porcentaje de plantas infectadas al final del cultivo.

4.2. Efecto de producto en la incidencia de la enfermedad

4.2.1. Productos

A partir de los resultados del análisis de infección en semilla, se encontró diferencia en la efectividad de los productos evaluados, donde *Trichoderma harzianum*, Microorganismos de Montaña, Lombriabono y Bocashi mostraron un mejor control de *Sclerotium rolfsii* L. Sin embargo, no se registró efecto de los productos para la emergencia de semilla ni para la infección en etapa de planta (Cuadro 5). Esta diferencia sugiere que el efecto de los productos no tuvo el mismo comportamiento en el patrón de infección, sin embargo, se puede decir que los biopreparados sí tienen influencia en el control de la infección por el hongo *Sclerotium rolfsii* L. ya que por la actividad microbiana existente pueden inhibir o potenciar el desarrollo de infecciones.

Cuadro 5. Análisis de devianza para el efecto de productos en incidencia de la enfermedad.

Variables	Df	Chisq	pr(>Chisq)	Significancia
Emergencia	5	2.44	>0.655	-----
Infección en semilla	5	62.52	<8.55x10 ⁻¹³	***
Infección en planta	4	3.12	>0.53	-----

Fuente. Elaboración propia.

Estos resultados podrían deberse al rol de la materia orgánica en el suelo que, según Lampkin, 1999 citado por Valdés 2010 describe que el uso de productos biopreparados está asociado con el incremento de la actividad microbiana en el mismo, la cual además

de contribuir a la reducción de la agresividad e infección de los patógenos, incrementa la resistencia viral y reduce la toxicidad en el suelo. Además, mejora el vigor de las plantas, como resultado de un desarrollo físico y químico del suelo, lo cual permite incrementar la resistencia de las plantas debido a la toma de fenoles, compuestos fenólicos y otros compuestos como el ácido salicílico, el cual tiene un efecto antibiótico sobre los patógenos, y podría ser la razón por la cual se redujo el efecto de *Sclerotium rolfsii* L. en el ensayo evaluado.

Valdés 2010 obtuvo en estudio similar que los tratamientos biológicos (Compost, *Rhizobium* y Micorriza) mostraron las menores afectaciones de *Sclerotium rolfsii* L. en la incidencia de la enfermedad causada por este patógeno en frijol, sugiriendo que la aplicación de productos provee protección a la planta contra el patógeno. En contraste con los resultados obtenidos en la investigación, en los que el efecto de productos fue no significativo para infección en emergencia y en planta, la no obtención de resultados significativos podría deberse a algún factor desencadenante de *Sclerotium rolfsii* L. González, 2011, describe que un papel fundamental en el proceso de patogénesis lo constituye la germinación de los esclerocios, y que es determinada por el tipo de sustrato, la humedad, temperatura, presencia de compuestos volátiles, aireación o actividad de los microorganismos del suelo, por lo que al no tenerse las condiciones adecuadas, la infección no podría desarrollarse.

4.2.2. Interacción de productos vs tratamiento a la semilla (peletizado)

Los productos que se aplicaron a la semilla presentaron diferencias para emergencia e infección por el hongo (Cuadro 6), donde *Trichoderma harzianum* presentó la menor infección en semilla y microorganismos de montaña (MM) la mayor. Del mismo modo fue *Trichoderma harzianum* el que obtuvo mayor proporción de semillas emergidas en comparación con bocashi.

Cuadro 6. Análisis de desviación para el efecto de productos x peletizado.

VARIABLES	Df	Chisq	pr(>Chisq)	Significancia
Emergencia	5	30.99	9.41x10 ⁻⁰⁶	***
Infección en semilla	5	60.87	8.025x10 ⁻¹²	***

Fuente. Elaboración propia.

Se evaluó la aplicación de productos como peletizado en semilla para la variable emergencia e infección a la semilla, obteniéndose tres grupos estadísticos para probabilidad de infección en emergencia de plántula y cuatro grupos estadísticos para probabilidad de infección en semilla (Cuadro 7).

Cuadro 7. Mejores tratamientos según prueba de Tukey en infección en emergencia y semilla.

Variable	Tratamiento	% de Infección	SE	Nivel Inferior	Nivel Superior	Grupo
Emergencia	Trichoderma	4.5	0.03209	0.00673	0.25016	a
	Testigo	5.8	0.04206	0.00827	0.31661	ab
	Kocide	10	0.06016	0.01888	0.39186	ab
	Lombriabono	16	0.08742	0.03362	0.51310	b
	Bocashi	19	0.10490	0.04124	0.58405	b
	MM	38	0.14923	0.10498	0.76541	c
Infección en Semilla	Bocashi	43	0.15457	0.12795	0.80080	a
	MM	45	0.15581	0.13627	0.81204	a
	Kocide	54	0.15581	0.18799	0.86375	ab
	Testigo	57	0.15406	0.20310	0.87474	ab
	Lombriabono	61	0.14938	0.23193	0.89237	b
	Trichoderma	68	0.13562	0.29459	0.92028	b

Fuente. Elaboración propia.

Los tratamientos pertenecientes al mismo grupo estadístico representados en el cuadro 3, muestran que no existe diferencia estadística entre ellos. Como puede observarse en la figura 15, el producto Hidróxido de Cobre (Kocide WG®), aplicado como tratamiento únicamente en forma peletizada, se encuentra dentro del mismo grupo estadístico junto con el tratamiento testigo, esto sugiere que la aplicación de Kocide es similar estadísticamente a no aplicar producto de control contra el patógeno, por lo que la aplicación de Kocide solo incrementa el costo al productor, pero no controla el patógeno. El análisis de interacción de productos por peletizado sugiere que, retrasar el proceso de emergencia por recubrimiento de la semilla, la expone más tiempo a condiciones favorables para el desarrollo del hongo, causando mayor porcentaje de infección.

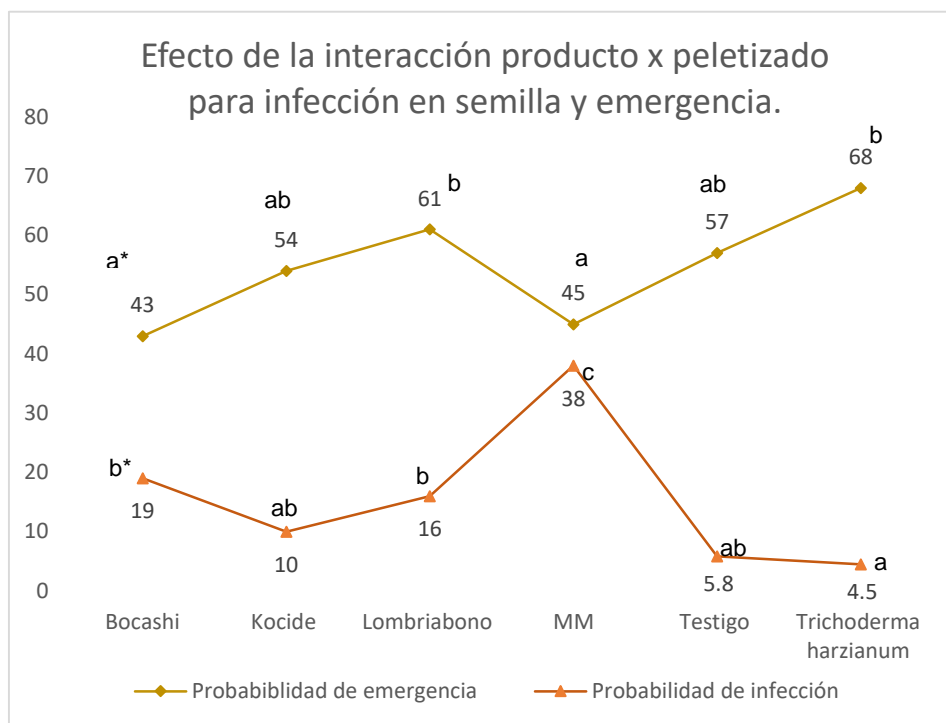


Figura 15. Efecto de la interacción producto por peletizado para infección en semilla y emergencia.

*Medias con letras similares no son estadísticamente diferentes (Comparaciones ajustadas de Tukey).

Cancio *et al.*, 2014 evaluó la efectividad de productos naturales y biológicos como alternativas para reducir las afectaciones provocadas por *Sclerotium rolfsii* L., para lo cual empleó la técnica de peletizado de semillas y obtuvo como resultado que todos los tratamientos estudiados disminuyeron la incidencia de *S. rolfsii* L. con diferencias estadísticas en comparación con el testigo absoluto, destacándose el TMTD 80% PH (Fungicida Tiram) y *Trichoderma viride* con los valores más bajos de infestación, similar a los resultados obtenidos en nuestra investigación, las especies antagonistas del género *Trichoderma*, resultan efectivas en recubrimiento a la semilla para favorecer la emergencia de plántulas y reducir la incidencia de la enfermedad ocasionada por *Sclerotium rolfsii* L. Además, Valdés 2010 evaluó cepas nativas de *Trichoderma* spp. que fueron aisladas del suelo como alternativa para el manejo de *Sclerotium* spp. en el cultivo de *Stevia* (*Stevia rebaudiana*) demostrando que éste antagonista reduce el desarrollo de hifas e inhibe en un 97% la formación de esclerocios del patógeno.

Michereff 2017 señala que, existen muchos hongos fitopatógenos que sobreviven no solo en estado inactivo, y para que las interacciones patógeno-raíz inicien, los propágulos durmientes de fitopatógenos deben ser activados por moléculas presentes en exudados de semillas y raíces. Se conoce que el microorganismo *Sclerotium rolfsii* L. responde generando esclerocios ante compuestos volátiles desconocidos de semillas de guisantes cuando estas se encuentran en etapa de germinación. Al analizar esta información y compararla con los resultados obtenidos es posible sugerir que, al crear una barrera en la semilla con la peletización, se pudieron haber concentrado los exudados de esta en el proceso de germinación y emergencia, lo cual contribuiría a la activación de los propágulos del hongo favoreciendo su desarrollo e infección.

4.2.3. Interacción producto por enmienda al suelo

Los productos que se aplicaron como enmienda al suelo presentaron diferencias (Cuadro 8) en el porcentaje de emergencia, en infección a la semilla y en infección en planta (Figura 16). Todos los tratamientos difieren del testigo, esto podría indicar que al aplicar biopreparados como enmiendas al suelo se modificarían las poblaciones de microorganismos, y sugiere que al no aplicar productos al suelo se elevaría el porcentaje de infección por *Sclerotium rolfsii* L. y bajarían los niveles de germinación.

Cuadro 8. Análisis de desviación para el efecto de productos por enmienda.

Variables	Df	Chisq	pr(>Chisq)	Significancia
Emergencia	1	4.25	0.0038	
Infección en semilla	5	13.75	>0.05	***
Infección en planta	1	3.78	<0.001	

Fuente. Elaboración propia.

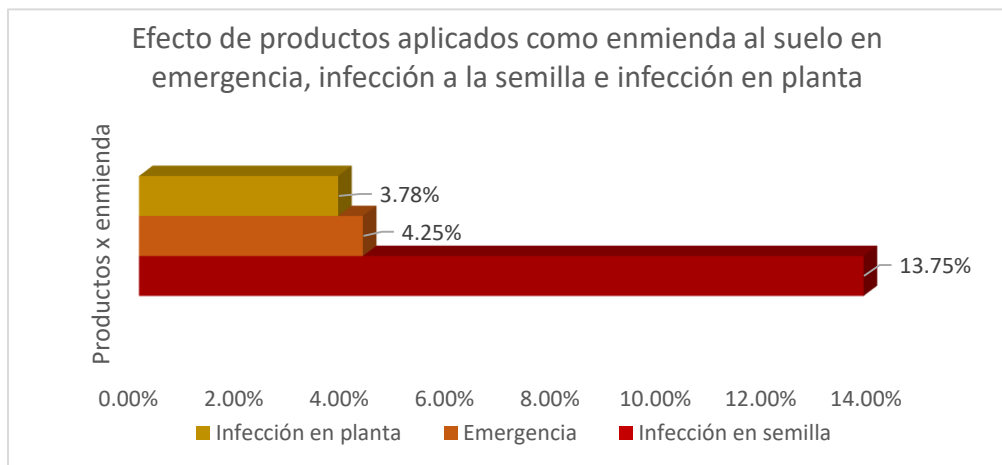


Figura 16. Efecto de productos aplicados como enmienda al suelo en emergencia, infección a la semilla e infección en planta.

Los resultados muestran efectos significativos de aplicación de productos en forma de enmienda para infección en emergencia, infección en semilla e infección en planta; efectos similares obtuvo González, 2011, quien empleó enmiendas orgánicas e inorgánicas principalmente con compuestos nitrogenados (nitrato cálcico, cianamida, urea y sulfato de amonio sobre el suelo), estos consiguieron reducir la incidencia de la enfermedad causada por *Sclerotium rolfsii* L. en remolacha azucarera, a través de la estimulación de microorganismos antagonistas del suelo que redujeron el crecimiento del hongo, además de provocar tanto la inhibición en la germinación de los esclerocios como un aumento en los niveles de resistencia del huésped. Así también Gómez, D *et al.* 2007 evaluó el tratamiento del suelo con productos biológicos, los cuales redujeron la enfermedad causada por *Sclerotium rolfsii* L. en Soya y promovieron la germinación y supervivencia de las plantas en niveles, con variaciones entre 32 y 100%.

La efectividad de control de los productos aplicados como enmienda podría deberse a modificaciones de las actividades microbianas en el suelo con la producción de antibióticos, la competencia por los nutrientes y el parasitismo de antagonistas contra patógenos. De acuerdo con Whipps, 1992 citado por Valdés, 2010, en el caso específico de *Sclerotium rolfsii* L. el control se produce por inacción o lisis de los esclerocios o hifas, a partir de la aplicación de enmiendas biológicas, directamente o seguido de un corto período de estimulación del crecimiento.

4.3. Interacción: Forma de Aplicación x Producto

Se observaron fuertes efectos de interacción entre el método de aplicación y los productos aplicados para emergencia, Infección a la semilla e infección en planta (Cuadro 9). Se observó una fuerte relación entre peletizar la semilla con la infección al inicio y final del cultivo. Las interacciones demuestran tener un gran porcentaje de influencia sobre el comportamiento del patógeno en frijol.

Cuadro 9. Análisis de desviación para interacción entre método de aplicación y producto.

VARIABLES	Df	chisq	pr(>Chisq)	
Emergencia	4	$X_4=48.921$	$>6.066 \times 10^{-10}$	***
Infección en semilla	4	$X_4=32.894$	$>1.256 \times 10^6$	***
Infección en planta	1	$X_4=15.6784$	>0.003483	**

Fuente. Elaboración propia.

La figura 17 muestra la interacción entre producto y forma de aplicación para emergencia e infección en semilla; la interacción con mayor probabilidad de infección es microorganismos de montaña (MM) en semilla con 41% y el porcentaje más bajo para emergencia con 46% y es diferente estadísticamente a todos los demás tratamientos en estudio. Además, El tratamiento con mejor control de *Sclerotium rolfsii* L. fue lombriabono aplicado como enmienda al suelo con 0.7% de probabilidad de infección de la semilla, sin embargo, todos los productos aplicados como enmienda al suelo pertenecen al mismo grupo estadístico, junto con *Trichoderma harzianum* L. como peletizado a la semilla (*) y presentaron menor porcentaje de infección con respecto a los testigos. Letras iguales sugieren grupos estadísticamente similares para infección.

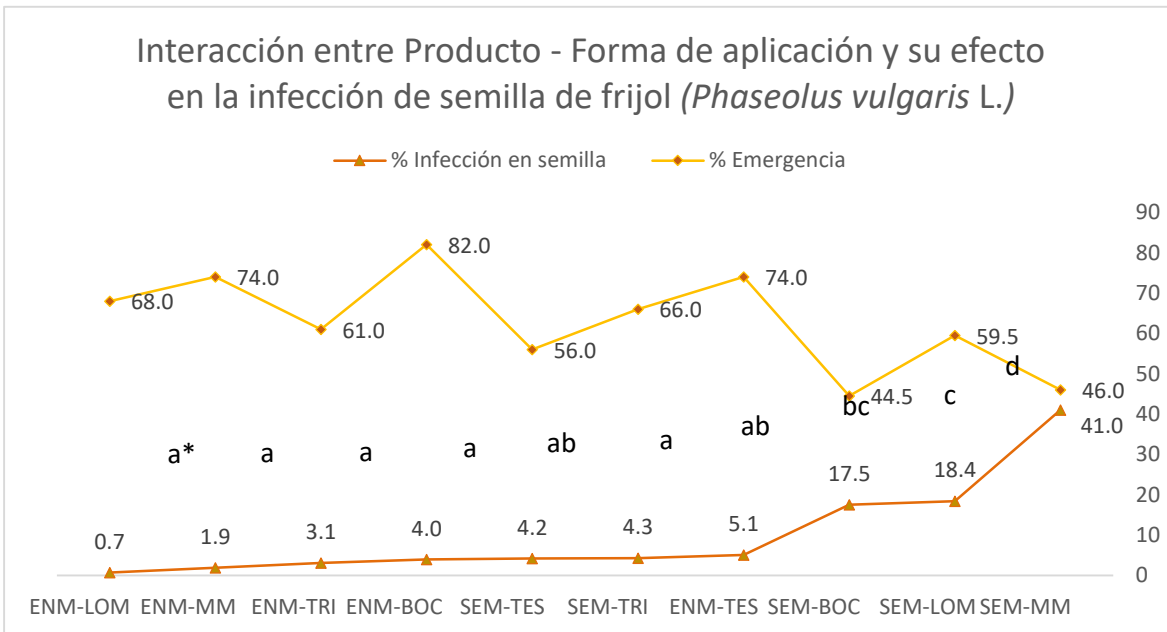


Figura 17. Interacción entre productos y formas de aplicación y su efecto en el Porcentaje de emergencia e infección por *Sclerotium rolfsii* L.

*Medias con letras similares no son estadísticamente diferentes (Comparaciones ajustadas de Tukey).

La interacción entre productos más forma de aplicación pueden intervenir en el control del agente patógeno de manera sinérgica. Se observa que mezclar una forma de aplicación más un biopreparado puede generar doble efecto de control contra el patógeno *Sclerotium rolfsii* L. siendo todos los productos aplicados como enmiendas potenciales métodos de control, ya que los productos biológicos tienen una amplia gama de beneficios al suelo, debido a sus aportes en la regulación de las poblaciones microbianas y posiblemente químicas que generan en el suelo. Además, podría deberse a que el aumento de la biomasa total que tiene lugar a continuación de la aplicación de enmiendas al suelo, baja la carga infectiva de la misma y reduce el área de contacto del patógeno con la fuente nutricional necesaria para activar los esclerocios del hongo y generar la infección.

También se observa que los tratamientos testigos obtuvieron menos infección que los tratamientos de pelletizado a la semilla, esto podría deberse a la naturaleza del patógeno, que, según Gonzáles, 2011 clasifica los tipos de germinación de los esclerocios en dos,

hifal y eruptiva, los cuales se determinan por el tipo de fuente nutricional presente en el suelo, pH, por lo tanto, los productos aplicados como peletizado a la semilla pudieron haber proporcionado estos factores al hongo y generar mayor infección, a través de la acumulación de los compuestos de los productos.

En investigaciones realizadas por Flores, Y. *et al* 2013 referente al porcentaje de incidencia de *Sclerotium rolfsii* L. y *Fusarium sp.* en cultivo de pimentón, demostró que la combinación de 1000 kg/ha y 1500 kg/ha de Compost + Microorganismos eficientes (EM) + *Trichoderma sp.*, tuvieron menor incidencia de los patógenos en 5 y 6% respectivamente, en contraste con el testigo y el tratamiento químico (600 kg/ha de fórmula 12-24-42) con medias mayores al 20% de infección. Estos resultados sugieren que la combinación de varios productos en el control del patógeno *Sclerotium rolfsii* L. es más efectivo que la aplicación de un solo producto o un solo método de control; esto podría determinar porque la combinación entre lombriabono y enmienda al suelo tiene baja probabilidad de infección.

Además, *Trichoderma harzianum* L. como peletizado a la semilla se comporta igual que los tratamientos de enmiendas al suelo, esto podría sugerir que la cepa comercial utilizada es altamente invasiva y tiene control directo en el crecimiento de las hifas del patógeno, que no permiten su reproducción, evitando así la infección de la semilla.

4.4. Análisis de Costo/Efectividad

Para la Evaluación Económica de la Investigación se utilizó el análisis de Índices de Costo-Efectividad, para evaluar la efectividad de cada tratamiento analizado, tanto en fuentes de control como en formas de aplicación (Cuadro 10).

Cuadro 10. Evaluación económica de los Tratamientos para mil plantas.

Fórmulas Tratamientos a la Semilla	Dosis para mil plantas	Número de Plantas Sanas	Costo variable (\$)	Índice costo/efectividad
		Porcentaje de Plantas Sanas	Costo de la dosis utilizada para mil plantas	*Costo variable / % de efectividad

Enmienda Testigo	—	91%*	\$0.00	0%
Semilla Testigo	—	88%	\$0.00	0%
Enmienda Lombriabono	250 libras	98%	\$83.33	0.85%
Semilla Lombriabono	4.5 libras	67%	\$1.50	0.022%
Enmienda Bocashi	250 libras	89%	\$66.67	0.749%
Semilla Bocashi	4.5 libras	58%	\$1.07	0.018%
Enmienda MM	50 litros	54%	\$16.67	0.308%
Semilla MM	0.11 litros	64%	\$0.04	0.000625%
Enmienda Excalibur Gold FS®	0.196 g	79%	\$0.06	0.00075%
Semilla Excalibur Gold FS®	0.138 g	92%*	\$0.044	0.00047%
Semilla (Kocide WG ®)	5.2 gr	31%	\$0.075	0.0024%

*Menor costo efectividad

Los resultados de la evaluación económica muestran entre los tratamientos más efectivos a Lombriabono (98%), aplicado como enmienda al suelo, sin embargo, este representa el mayor índice de costo/efectividad (0.85%). González, R. 2011 señala que el uso de enmiendas orgánicas e inorgánicas sobre el suelo son efectivas para reducir la incidencia de la enfermedad causada por *Sclerotium rolfsii* L. sin embargo, su uso es aplicable solamente en sistemas agrícolas a pequeña escala, debido al alto coste que conlleva. Asimismo, se obtuvo un segundo tratamiento efectivo, el peletizado de semilla con *Trichoderma harzianum* (Excalibur Gold FS®), el cual se presentaría como alternativa efectiva comparada con lombriabono y con menor índice costo/efectividad (0.00047%).

En El Salvador, no se registran datos oficiales sobre la enfermedad de añublo sureño ocasionada por *Sclerotium rolfsii* L. pese a encontrarse presente en los suelos agrícolas, por lo que no es considerada de mayor importancia en el cultivo de frijol, debido a esto no se encuentran recomendaciones sobre alternativas para su manejo y control, sin embargo, según datos obtenidos del Laboratorio de Parasitología Vegetal de CENTA

(Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal), se ha encontrado *Sclerotium bataticola*, un hongo que al igual que *Sclerotium rolfsii* L. se reproduce por esclerocios presente en semillas de frijol, para el cual la recomendación técnica es la utilización de producto cúprico (Kocide WG ®), con un costo de \$13.00/mz, en contraste con la recomendación de Red SICTA & IICA 2008, de tratar la semilla con productos químicos carboxin (Vitavax), con un costo de \$1.08 por manzana o productos a base del hongo antagonista *Trichoderma* (Excalibur Gold FS®) con un costo de \$7.72 por manzana, que presentan costos más bajos.

Al hacer una comparación de los productos recomendados para el control de *Sclerotium rolfsii* L. vrs el tratamiento Lombriabono como enmienda (Cuadro 11), se observa que éste no es económicamente viable para recomendar su uso en grandes extensiones, sin embargo, es un producto que puede elaborarse y estar disponible en la finca de productores/as y contribuye al reciclaje de desechos orgánicos.

Cuadro 11. Comparación de costo de Productos recomendados para el control de *Sclerotium rolfsii* L. en frijol vrs tratamiento más efectivo lombriabono.

Ingrediente activo	Nombre comercial	Presentación	Precio público \$	Dosis por mz	Costo por mz \$
Hidróxido de Cobre	Kocide WG ®	900 gr	\$13.00	900 gr	\$13.00
Carboxin + Captam	Vitavax 300	500 gr	\$7.50	72 gr	\$1.08
<i>Trichoderma harzianum</i>	Excalibur Gold FS®	30 gr	\$9.65	24 gr	\$7.72
Lombrihumus	Lombriabono	15 lbs	\$5.00	17,500 lb	\$5,833.33

Fuente. Elaboración propia.

El producto Carboxim+Captam (Vitavax) presenta el costo de aplicación por mz más bajo con \$1.08, además de estar recomendado para patógenos del Género *Sclerotium sp* sin embargo, es dañino para la vida acuática, el medio ambiente y es altamente tóxico, por lo cual debe usarse de forma que cumpla las condiciones de seguridad exigidas por el fabricante. Por otra parte, el Hidróxido de Cobre (Kocide WG ®), recomendado en el control de patógenos que afectan la semilla de frijol, incluido una especie de *Sclerotium* registrada en análisis de semillas, resultó ser más caro en comparación con el resto con un costo de \$13 por mz, además de ser tóxico para organismos acuáticos. Finalmente, el producto a base del hongo *Trichoderma harzianum* (Excalibur Gold FS®), con un costo de \$7.72 por mz se presenta como alternativa de uso, ya que aún en los resultados

obtenidos en la investigación presentó una efectividad de 92% después de Lombriabono con 98%. Es importante recalcar que además de proteger el cultivo contra patógenos, produce otro tipo de beneficios tales como, estimulación de raíces e inducción de resistencia sistémica adquirida (DISAGRO, s.f.).

5. CONCLUSIONES

Bajo las condiciones de ésta investigación, se concluye que:

El método de aplicación de enmienda al suelo fue mejor que aplicación a la semilla, por tanto, favoreció la emergencia y controló la infección de plantas por *Sclerotium rolfsii* L.

Mayor presencia de humedad por la aplicación de enmiendas líquidas, propicia un medio adecuado para la infección y el desarrollo del patógeno.

La aplicación de productos como enmienda mostró diferencia únicamente para la variable infección a la semilla, demostrando que la evaluación de productos de forma aislada no favorece el control del patógeno.

La interacción entre productos y aplicación a la semilla demostró diferencias en las variables emergencia, infección en semilla e infección en planta.

Las interacciones entre productos y formas de aplicación presentaron diferencias en el control del patógeno, no obstante, la aplicación lombriabono como enmienda, mostro menor probabilidad de infección en semilla con 0.7% en comparación con todos los tratamientos.

Los tratamientos con productos biológicos sí tienen influencia en el comportamiento y desarrollo del patógeno, ya que por la actividad microbiana existente pueden inhibir o potenciar el desarrollo de infecciones.

El lombriabono como enmienda al suelo tiene un alto costo (0.85%) por tanto no es económicamente viable.

El peletizado de semilla con *Trichoderma harzianum* (Excalibur Gold FS) se presenta como una alternativa efectiva comparada con lombriabono y con menor índice costo/efectividad (0.00047%).

6. RECOMENDACIONES

Llevar el ensayo a campo, y evaluar las interacciones que ejercieron mejor control del patógeno *Sclerotium rolfsii* L.

Utilizar lombriabono como enmienda en pequeñas extensiones, ya que éste contribuye con la reproducción de organismos benéficos y la microfauna del suelo, enriqueciéndolo y mejorando los cultivos, además de reciclar los desechos.

Peletizar la semilla con *Trichoderma harzianum* (Excalibur Gold FS), ya que además de controlar la infección presentó menor índice costo/efectividad (0.00047%).

Evitar que la capa de producto en la peletización de semillas sea demasiado gruesa, ya que se retrasa la emergencia y se expone a la semilla a infección por patógenos.

No aplicar enmiendas líquidas en suelos compactos y con poca aireación, ya que la humedad es un factor desencadenante de infección por patógenos.

Realizar combinaciones de métodos y productos para asegurar de mejor forma el control del patógeno.

Tratar la semilla y monitorear las fases tempranas del cultivo, ya que son etapas susceptibles de infección por el patógeno *Sclerotium rolfsii* L.

Fortalecer las investigaciones para determinar los niveles de afectación de *Sclerotium rolfsii* L. en frijol y otros cultivos, ya que éste no se registra como causante directo de pudriciones de raíz a pesar de estar presente en los suelos agrícolas.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Acosta Almánzar, H. A. (2012). *Microorganismos eficientes de montaña: evaluación de su potencial bajo manejo agroecológico de tomate en Costa Rica*. CENTRO AGRONÓMICO TROPICAL DE INVESTIGACIÓN Y ENSEÑANZA.
- Cabrera, C. A., & Castillo, C. H. R. (2008). Características agronómicas de las últimas variedades mejoradas del frijol liberadas por el CENTA. In M. Mejía, J. Orellana, & B. Menjívar (Eds.), *Guía técnica para el manejo de variedades de frijol* (p. 23p). La Libertad, El Salvador.
- Cancio, Y. F., Castellano, M. D., González, M. T. G., Valdivia, W., Castro, M. L., Rodríguez, M., & Calero, A. (2014). ORGANISMOS ANTAGONISTAS y CHITOPLANT® (QUITOSANA) EN EL TRATAMIENTO DE LAS SEMILLAS DE PHASEOLUS VULGARIS L. CONTRA SCLEROTIUM ROLFSII SACC. *Agrotecnia de Cuba*, 38(1), 67–75. Retrieved from http://www.ausc.co.cu/images/pdf/38_2014/1/6.pdf
- Cardona, C., Flor, C. A., Morales, F. J., & PAstor Corrales, M. (1982). *Problemas de campo en los cultivos de frijol en América Latina* (2ª. ed.). Cali, Colombia: CIAT.
- Castellanos, G., Jara, C., & Mosquera, G. (n.d.). Guía Práctica 8, Sclerotium rolfsii. Enfermedad: Añublo sureño. *Manejo Del Hongo En El Laboratorio*, 15p.
- Castellanos Gonzáles, L., Gonzáles Rodríguez, M., Pérez Gonzáles, G., & Ramos Fernández, M. (2005). EFECTIVIDAD DE TRICHODERMA SPP. PARA EL CONTROL DE HONGOS PATÓGENOS DE LA SEMILLA Y EL SUELO EN EL CULTIVO DEL FRIJOL. *Fitosanidad, Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal*, 9(1), 37p.
- CIAT. (1981). *Pudriciones radicales del frijol y su control*. (M. L. C. de Posada, Ed.). Cali, Colombia: CIAT.
- CIAT. (1984). Morfología de la Planta de Frijol Común (*Phaseolus vulgaris* L.); guía de estudio para se usada como complemento de la Unidad Audiotutorial sobre el mismo tema. *CIAT*, 6–7p.
- CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical). (1994). *Problemas de Producción del frijol en los Trópicos*. (M. Pastor Corrales & H. F. Schwartz, Eds.), *Problemas de producción del frijol en los trópicos* (2a edición). Cali, Colombia. Retrieved from

<http://www.sidalc.net/cgi-bin/wxis.exe/?IsisScript=EARTH.xis&method=post&formato=2&cantidad=1&expresion=mfn=008437>

DISAGRO. (n.d.). EXCALIBUR GOLD 5 FS.

Duwest. (n.d.). Kocide 35 DFU.pdf.

Fernández Zabala, M. (2003). *Evaluación Agronómica de Sustancias Húmicas Derivadas de Humus de Lombriz*. Pontificia Universidad Católica de Chile.

Flores, Y. L. F. V. J. (2013). Efecto De Los Microorganismos Eficaces (Em) Y Trichoderma Sp Sobre La Incidencia De Fusarium Y Sclerotium Rolfsii En Una Siembra Experimental De Pimentón. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9), 1689–1699. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>

Gomes, D., Ávila, Z. R., Mello, M., Corrêa, S., & Minaré Braúna, Leonardo. Pádua, R. R. (2007). CEPAS DE TRICHODERMA SPP. PARA EL CONTROL BIOLÓGICO DE SCLEROTIUM ROLFSII SACC. *Fitosanidad, Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal*, 11(2007), 9p.

González, E. R. (2011). *Diversidad genética y patogénica de Sclerotium rolfsii Sacc. como factor determinante de epidemias de Podredumbres de raíces*. Universidad de Córdoba. Retrieved from “Diversidad genética y patogénica de Sclerotium rolfsii Sacc. como factor determinante de epidemias de Podredumbres de raíces”

IPES, RAUF, & FAO. (2010). *Biopreparados para el manejo sostenible de plagas y enfermedades en la agricultura urbana y periurbana. Guía ¿Cómo hacerlo?* (J. L. Price Masalias, G. Merztha, H. de Zeuw, & M. Dubbeling, Eds.). Lima, Perú: IPES/FAO.

Lisboa Minguzzi, M. A. (2003). *EFFECTIVIDAD DE Bacillus subtilis Y DE UNA CEPA NATIVA DE Trichoderma harzianum SOBRE LA INCIDENCIA Y SEVERIDAD DE PUDRICIÓN GRIS (Botrytis cinerea) EN Vid*. Universidad de Talca.

MAG. (2015). Anuario de Estadísticas Agropecuarias (DEA) Encuesta Nacional Agropecuaria de Propósitos Precios de Mercado. Santa Tecla, SV.: Dirección General de Economía Agropecuaria.

Michel Aceves, A. C. (2001). *CEPAS NATIVAS DE Trichoderma spp EUASCOMYCETES:*

HYPOCREALES), *SU ANTIBIOSIS Y MICOPARASITISMO SOBRE Fusarium subglutinans Y F. oxysporum (HYPHOMYCETES:HYPHALES)*. Univerisidad de Colima.

Michereff, S. *et. al.* (2017). *Ecología e Manejo de Patógenos Radiculares em Solos Tropicais*. Brazil: UFRPE, Impresa Universitaria. Retrieved from <https://www.researchgate.net/publication/236982178>

Nico, A. L.; Mónaco, C.I.; Dal Bello, G.; Alippi, H. (2005, April). Efecto de la adición de enmiendas orgánicas al suelo sobre la capacidad patogénica de *Rhizoctonia solani*: ii. Micoflora asociada y antagonismo in vitro de los aislados más frecuentes. *RIA. Revista de Investigaciones Agropecuarias [En Linea]*, 34, 44. <https://doi.org/1669-2314>

Ramos Aguero, D., & Terry Alfonso, E. (2014). Revisión bibliográfica: Generalidades de los abonos orgánicos : importancia del bocashi como alternativa nutricional para suelos y plantaS. *INCA*, 35(4), 52–59p. <https://doi.org/1819-4087>

Red SICTA, & IICA. (2008). *Guía de identificación y manejo integrado de enfermedades del frijol en América Central*. (A. Dr. Ferrufino, Ed.) (Primera ed). Managua, Nicaragua.

Reséndez, A. M. (2002). *Origen , importancia y aplicación de vermicomposta para el desarrollo de especies hortícolas y ornamentales*. Universidad Agraria Antonio Narro.

Rey, M., Delgado-Jarana, J., Rincón, A. M., Limón, M. C., & Benítez, T. (2000). Mejora de cepas de Trichoderma para su empleo como biofungicidas. *Iberoamericana de Micología*, 17, 31–36p. <https://doi.org/S31-S36>

RIFA. (2015). Panorama Agroalimentario. *Programa Agroalimenraio*, 31p.

Rivas, A. W. (2016). Metodología de Muestreo. San Salvador, SV: Entrevista.

Rivera Coto, G. 2007. Conceptos introductorios a la Fitopatología. / 1. reimp. de la 1. ed. San José, C.R. : EUNED, 2007. 346 p.; Universidad Estatal a Distancia. Retrieved from: https://books.google.com/sv/books?id=xpTHXEWG_t8C&pg=PA228&dq=Pentacloronitrobenceno&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwiW3P-G7efZAhWS2FMKHQMEC98Q6AEIUdAJ#v=onepage&q=Pentacloronitrobenceno&f=false

- Rodriguez, N.Y. Tafur. Z.K. S.f. Producción de Microorganismos de Montaña para el desarrollo de la agricultura orgánica. Universidad Peruana Union. 2p.
- Sandoval, B. C. 2004. Manual técnico de Manejo Integrado de enfermedades en cultivos hidropónicos. Universidad de Talca. FAO.
- SENA, SAC, & FENALCE. (2010). El cultivo del frijol, historia e importancia. *El Cerealista*, 30–31p.
- SINAVIMO, (Sistema Nacional Argentino de Vigilancia y Monitoreo de Plagas). (n.d.). *Athelia rolfsii*. *SINAVIMO*, 3–4p.
- Universidad de Andalucía, s.f. Cubrición de la semilla. Experiencia de aplicación de semillado directo para la restauración forestal. La cubrición de la semilla. Retrieved from: https://www.juntadeandalucia.es/medioambiente/consolidado/publicacionesdigitales/80381_Experiencias_de_aplicacion_de_semillado_directo_para_la_restauracion_forestal/80381/6_la_cubricion_de_las_semillas.
- Valdés, E. A. (2010). *Empleo de abonos orgánicos y biofertilizantes en la reducción de las afectaciones por hongos patógenos del suelo, y su repercusión en el rendimiento del frijol común*. Universidad Central “Marta Abreu” De Las Villas. Retrieved from file:///G:/tesis Frijol/Bibliografia/Abonos organicos y reduccion de hongos patògenos en frijol.pdf