

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

FACULTAD DE CIENCIAS AGRONOMICAS

DEPARTAMENTO DE PROTECCION VEGETAL

**BIOCONTROL DE Rhizoctonia solani EN CULTIVO DE FRIJOL, MEDIANTE
AISLAMIENTO DE Trichoderma spp. A NIVEL DE INVERNADERO**

POR:

BERTA ALICIA HERNANDEZ AMAYA

CECILIA DE LA PAZ SERRANO

REQUISITO PARA OPTAR AL TITULO DE:

INGENIERO AGRONOMO

SAN SALVADOR, MAYO DE 1996



UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR : DR. BENJAMIN LOPEZ GUILLEN

SECRETARIO GENERAL : LIC. ENNIO LUNA

FACULTAD DE CIENCIAS AGRONOMICAS

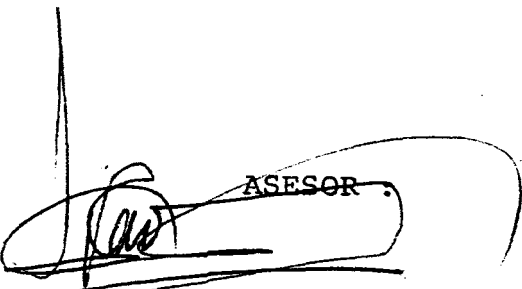
DECANO : ING. AGR. HORACIO GIL ZAMBRANA RIVERA

SECRETARIO : ING. AGR. LUIS HOMERO LOPEZ GUARDADO

JEFE DEL DEPARTAMENTO DE PROTECCION VEGETAL



ING. AGR. EDGARDO WIGBERTO LARA RODRIGUEZ




ASESOR .

ING. AGR. EDGARDO WIGBERTO LARA RODRIGUEZ

JURADO EXAMINADOR :



ING. AGR. BLANCA DAISY AVILA DE SOLANO



ING. AGR. FRANCISCO ELIAS ESCOBAR DURAN



ING. AGR. EDUARDO ENRIQUE RIVERA FAGUNDO

d/por Decretaria de la pte. Agosto/96

RESUMEN

El presente trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio e Invernadero del Departamento de Protección Vegetal, Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de El Salvador, en los meses de febrero a mayo de 1995. El propósito fue evaluar el Biocontrol de Rhizoctonia solani Kunh en el cultivo de frijol, mediante aislamientos de Trichoderma spp a nivel de invernadero para lo cual fue necesario desarrollar dos fases. Una a nivel de laboratorio, que consistió en la obtención de colonias puras de R. solani y Trichoderma spp. en P.D.A. así como la realización de cuatro pruebas previas al establecimiento del ensayo; en la primera, se comprobó la patogenicidad de R. solani, resultando que de 60 semillas de frijol colocadas en el sustrato inoculado, el 93.33% fueron atacadas por el patógeno y 6.66% emergió sin daños. Simultáneamente se comprobó que el período de incubación del hongo por espacio de 8, 12 y 14 días producía efectos semejantes. La segunda prueba demostró la agresividad de Trichoderma spp. frente a R. solani pues de 25 semillas cubiertas con conidios de Trichoderma spp. y colocadas en el sustrato inoculado con el hongo patógeno, el 92% emergió normalmente. La tercera prueba consistió en verificar la inocuidad de Trichoderma spp. en el cultivo de frijol, para lo cual se colocaron 50 grs. de cultivo puro del hongo antagonista en el sustrato de 4 macetas, posteriormente se colocaron 32 semillas, cuyo desarrollo

no fue inhibido por el hongo, obteniéndose un 100% de emergencia. En la cuarta prueba se observó la agresividad de Trichoderma spp. frente a R. solani in vitro. Se colocaron 4 cajas Petri, conteniendo 20 g. de P.D.A. más 1 cm² de cultivo puro de R. solani en un extremo y en el otro extremo, 1 cm² de Trichoderma spp; se monitoreó por espacio de 108 horas, comprobándose un claro control sobre el patógeno.

En la segunda fase, a nivel de invernadero tanto el hongo antagonista Trichoderma spp, como el hongo fitopatógeno R. solani fueron probados en cultivo de frijol y comparado el efecto biocontrolador con los resultados producidos por productos químicos (Tolclofosmetyl y Carboxin) en el combate -- del "mal del talluelo" producido por Rhizoctonia solani.

Se usó el diseño estadístico totalmente al azar, con 4 tratamientos y seis repeticiones, compuesto por 120 unidades experimentales, cada una de las cuales constaba de una bolsa de polietileno negro conteniendo 6.75 lbs. de suelo esterilizado más cuatro semillas de frijol, variedad DOR-482, así como los tratamientos respectivos.

De acuerdo a los resultados obtenidos se concluye que en los parámetros bajo estudio: porcentaje de germinación, plantas sanas, plantas sobrevivientes y vigorosas; el tratamiento Tolclofosmetyl (T₁) fue el mejor, en el orden de efectividad le siguieron: el tratamiento Trichoderma spp (T₃), el testigo (T₄) y el tratamiento Carboxin (T₂) al efectuar comparaciones con relación al testigo.

AGRADECIMIENTOS

- A la Universidad de El Salvador, en especial a la Facultad de Ciencias Agronómicas, por habernos formado como nuevos profesionales.
- Un reconocimiento especial a nuestro Asesor, Ing. Agr. Edgardo Wigberto Lara Rodríguez, por su valiosa colaboración en la asesoría de esta investigación.
- A los miembros del Jurado Examinador : Ing. Agr. Blanca - Daisy Avila de Solano, Ing. Agr. Francisco Elías Escobar Durán y el Ing. Agr. Eduardo Enrique Rivera Fagundo, por sus observaciones valiosas en mejoras del documento final.
- Al Ing. Agr. Mario Alfredo Péres Ascencio, por su apoyo y decidida colaboración durante el proceso de investigación.
- Al Ing. Agr. Leopoldo Serrano Cervantes y Sra., por la colaboración incondicional que nos brindaron en la ejecución del trabajo de investigación.
- A las señoras : Griselda Concepción Silva y Marina Rodríguez, por sus contribuciones y apoyo que nos brindaron.
- Al personal administrativo que labora en la Biblioteca de la Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de El Salvador.
- Al Br. Juan José Arévalo, por brindarnos su ayuda en el área de procesamiento y análisis de datos.
- A todas las personas que hicieron posible la realización de esta investigación.

DEDICATORIA

DEDICO ESTE TRABAJO A:

JEHOVA DIOS, NUESTRO PADRE CELESTIAL, por darme la vida, el entendimiento y por estar siempre en mi camino.

- A MIS QUERIDOS PADRES:

JOSE ELIAS Y MARIA EUGENIA, por darme su amor, sacrificios y apoyo día tras día durante mis estudios.

- A MIS HERMANOS:

CARMENCITA, JULIO CESAR, MARIO ENRIQUE, ANDRES Y BENJAMIN por su confianza y comprensión.

- A MIS SOBRINOS: CARMEN MARIA, ELIAS NOE, ROCIO, MELISSA, JULISSA, MARITO, ANDRES ALEXANDER, RICARDO Y SAMUEL, con todo cariño.

- A MIS PARIENTES Y AMIGOS, por el apoyo y ánimo brindados

- A MI COMPAÑERA DE TESIS:

CECILIA DE LA PAZ SERRANO, por su valiosa ayuda y colaboración.

- A MIS PROFESORES:

Que contribuyeron a mi formación profesional.

- A MIS COMPAÑEROS, que de una forma u otra contribuyeron a mi formación profesional.

BERTA ALICIA

DEDICATORIA

- A DIOS TODOPODEROSO :
Por haberme permitido alcanzar esta meta e iluminar mi ca
mino.
- A LA VIRGEN SANTISIMA :
Por su inmensa bondad y por ayudarme a llegar a ser una -
profesional.
- A MIS PADRES :
Que me brindaron su apoyo y su amor durante toda mi vida
y a quien debo los logros alcanzados.
- A MIS HERMANOS :
Por su cariño y apoyo brindado para alcanzar mi objetivo
trazado.
- A MIS TIAS :
Por sus consejos y todo su apoyo moral y espiritual.
- A MI COMPAÑERA DE TESIS :
Berta Alicia, por los árdusos momentos de trabajo.
- A MIS PROFESORES :
Que contribuyeron a mi formación profesional.
- A MIS COMPAÑEROS Y AMIGOS :
Por compartir gratos momentos a lo largo de mi carrera.

CECILIA

INDICE

	Página
RESUMEN	iv
AGRADECIMIENTOS	vi
DEDICATORIA	vii
INDICE DE CUADROS	xii
INDICE DE FIGURAS	xvi
1. INTRODUCCION	1
2. REVISION DE LITERATURA	3
2.1. Problemática por enfermedades en el cultivo de frijol.	3
2.2. El control biológico de las enfermedades de las plantas.	7
2.3. Definiciones	10
2.4. Biocontrol usando bacterias y hongos	11
2.4.1. Biocontrol usando bacterias	12
2.4.2. Biocontrol usando hongos	14
2.5. <u>Trichoderma</u> spp.	15
2.5.1. Descripción del hongo	15
2.5.2. Clasificación del hongo	17
2.5.3. Ecología de <u>Trichoderma</u> spp.	17
2.5.4. Mecanismo de acción	18
2.5.5. Metabolitos extracelulares	20
2.5.6. Uso de <u>Trichoderma</u> spp. contra hongos patógenos del suelo	21
2.6. <u>Rhizoctonia solani</u>	27
2.6.1. Descripción del hongo	27
2.6.2. Clasificación del hongo	28
2.6.3. Sintomatología patogénica	28

2.7.	Biocontrol de <u>Rhizoctonia solani</u> Kuhn mediante <u>Trichoderma</u> spp.	32
2.7.1.	En leguminosas	32
2.7.2.	En hortalizas	34
2.7.3.	Otras especies vegetales	35
2.8.	Fungicidas	37
2.8.1.	<u>Trichoderma</u> spp	38
2.8.2.	Tolclofosmetyl	39
2.8.3.	Carboxin	40
2.8.4.	Frijol DOR 482	40
3.	MATERIALES Y METODOS	44
3.1.	Metodología	44
3.1.1.	Características climáticas	44
3.1.2.	Fase a nivel de laboratorio	44
3.1.2.1.	Cultivos en P.D.A.	45
3.1.2.2.	Pruebas previas	46
3.1.3.	Fase de invernadero	46
3.1.3.1.	Incremento de inóculos	46
3.1.3.2.	Limpieza y desinfestación de invernadero	47
3.1.3.3.	Distribución del inóculo	48
3.1.3.4.	Descripción de tratamientos	48
3.1.3.4.1.	Tratamiento Tolclofosmetyl (T ₁) .	48
3.1.3.4.2.	Tratamiento Carboxin (T ₂)	48
3.1.3.4.3.	Tratamiento <u>Trichoderma</u> spp. (T ₃)	49
3.1.3.4.4.	Tratamiento testigo (T ₄)	49
3.1.3.5.	Diseño estadístico	51

	Página
3.1.4.6. Modelo estadístico	51
3.1.4.7. Parámetros evaluados	52
4. RESULTADOS Y DISCUSION	53
5. CONCLUSIONES	73
6. RECOMENDACIONES	75
7. BIBLIOGRAFIA	76
8. ANEXOS	87

INDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Descripción de los tratamientos	51
2	Porcentaje promedio de semillas germinadas en tratamientos de semillas y plántulas de frijol bajo la acción de los tratamientos Tolclofosmetyl (T ₁), Carboxin (T ₂), <u>Trichoderma</u> spp. (T ₃), y el testigo (T ₄), a nivel de invernadero. UES, 1995	55
3	Porcentaje promedio de plantas sanas en tratamientos de semillas y plántulas de frijol bajo la acción de los tratamientos de Tolclofosmetyl (T ₁), Carboxin (T ₂), <u>Trichoderma</u> spp. (T ₃), y el testigo (T ₄), a nivel de invernadero. UES, 1995	59
4	Porcentaje promedio de plantas sobrevivientes, en tratamientos de semillas y plántulas de frijol, bajo la acción de los tratamientos Tolclofosmetyl (T ₁), Carboxin (T ₂), <u>Trichoderma</u> spp. (T ₃), y el testigo (T ₄), a nivel de invernadero. UES, 1995	65
5	Porcentaje de plantas vigorosas en tratamientos de semillas y plántulas de frijol bajo la acción de los tratamientos Tolclofosmetyl (T ₁), Carboxin (T ₂), <u>Trichoderma</u> spp. (T ₃) y el testigo (T ₄), a nivel de invernadero. UES, 1995	71

Cuadro		Página
A- 6	Porcentaje promedio de semillas germinadas de frijol para la primera semana, bajo la acción de los tratamientos Tolclofosmetyl (T ₁), Carboxin (T ₂), <u>Trichoderma</u> spp. (T ₃), y el testigo (T ₄) a nivel de invernadero. UES, 1995	88
A- 7	Porcentaje promedio de semillas germinadas de frijol para la cuarta semana, bajo la acción de los tratamientos Tolclofosmetyl (T ₁), Carboxin (T ₂), <u>Trichoderma</u> spp. (T ₃), y el testigo (T ₄) a nivel de invernadero. UES, 1995	89
A- 8	Porcentaje promedio de semillas germinadas de frijol para la séptima semana, bajo la acción de los tratamientos Tolclofosmetyl (T ₁), Carboxin (T ₂), <u>Trichoderma</u> spp (T ₃), y el testigo (T ₄) a nivel de invernadero. UES, 1995	90
A- 9	Porcentaje promedio de plantas sanas de frijol para la primera semana, bajo la acción de los tratamientos Tolclofosmetyl (T ₁), Carboxin (T ₂), <u>Trichoderma</u> spp. (T ₃), y el testigo (T ₄), a nivel de invernadero. UES, 1995.	91
A-10	Porcentaje promedio de plantas sanas de frijol para la cuarta semana bajo la acción de los tratamientos Tolclofosmetyl (T ₁), Carboxin (T ₂), <u>Trichoderma</u> spp. (T ₃), y el testigo (T ₄), a nivel de invernadero. UES, 1995.	92

Cuadro	Página	
A-11	Porcentaje promedio de plantas sanas de frijol para la séptima semana, bajo la acción de los tratamientos Tolclofosmetyl (T ₁), -- Carboxin (T ₂), <u>Trichoderma</u> spp. (T ₃) y el testigo (T ₄), a nivel de invernadero. UES, 1995	93
A-12	Porcentaje promedio de plantas sobrevivientes de frijol para la primera semana, bajo la acción de los tratamientos Tolclofosmetyl (T ₁), Carboxin (T ₂), <u>Trichoderma</u> spp. (T ₃), y el testigo (T ₄), a nivel de invernadero. UES, 1995	94
A-13	Porcentaje promedio de plantas sobrevivientes de frijol para la cuarta semana, bajo la acción de los tratamientos Tolclofosmetyl (T ₁), Carboxin (T ₂), <u>Trichoderma</u> spp. (T ₃), y el testigo (T ₄) a nivel de invernadero. UES, 1995	95
A-14	Porcentaje promedio de plantas sobrevivientes de frijol para la séptima semana, bajo la acción de los tratamientos Tolclofosmetyl (T ₁), Carboxin (T ₂), <u>Trichoderma</u> spp. (T ₃), y el testigo (T ₄), a nivel de invernadero. UES, 1995	96
A-15	Porcentaje promedio de plantas vigorosas de frijol para la primera semana, bajo la acción de los tratamientos Tolclofosmetyl (T ₁), Carboxin (T ₂), <u>Trichoderma</u> spp. (T ₃), y el testigo (T ₄), a nivel de invernadero. UES, 1995	97

A-16	Porcentaje promedio de plantas vigorosas de frijol para la cuarta semana bajo la acción de los tratamientos Tolclofosmetyl (T_1), Carboxin (T_2), <u>Trichoderma</u> spp. (T_3), y el testigo (T_4), a nivel de invernadero. UES, -- 1995	98
A-17	Porcentaje promedio de plantas vigorosas de frijol para la séptima semana bajo la acción de los tratamientos Tolclofosmetyl (T_1) Carboxin (T_2), <u>Trichoderma</u> spp. (T_3), y el testigo (T_4), a nivel de invernadero. UES, 1995.	99
A-18	Costos de producción de frijol sistema "Rel ^o vo con Maíz". CENTA, 1993	100

INDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	<u>Trichoderma</u> spp	16
2	Micoparásitos necrótrofos	19
3	<u>Rhizoctonia solani</u>	29
4	Mecanismo de acción	30
5	Fórmula estructural de Tolclofosmetyl	39
6	Fórmula estructural de Carboxin	40
7	Porcentaje de semilla germinada para las 1a., 4a., y 7a. semanas, bajo la acción de los tra- tamientos Tolclofosmetyl (T ₁), Carboxin (T ₂), <u>Trichoderma</u> spp. (T ₃), y el testigo (T ₄), a - nivel de invernadero. UES, 1995	56
8	Porcentaje de plantas sanas, para las 1a., - 4a., y 7a. semanas, bajo la acción de los tra- tamientos Tolclofosmetyl (T ₁), Carboxin (T ₂), <u>Trichoderma</u> spp. (T ₃), y el testigo (T ₄) a ni- vel de invernadero. UES, 1995	60
9	Desarrollo del mal del talluelo causada por - <u>Rhizoctonia solani</u> , en plantas de frijol, ba- jo la acción de los tratamientos Tolclofosme- tetyl (T ₁), Carboxin (T ₂), <u>Trichoderma</u> spp (T ₃), y el testigo (T ₄), a nivel de invernadero. - UES, 1995	62

Figura		Página
10	Porcentaje de plantas sobrevivientes, para las 1a., 4a., y 7a. semanas, bajo la acción de Tolclofosmetyl (T ₁), Carboxin (T ₂), <u>Trichoderma</u> spp. (T ₃), y el testigo (T ₄), a nivel de invernadero. UES, 1995	66
11	Mortalidad de plantas causadas por <u>Rhizoc-tonia solani</u> , en plantas de frijol a nivel de invernadero, bajo los tratamientos con Tolclofosmetyl (T ₁), Carboxin (T ₂), <u>Tri-choderma</u> spp. (T ₃), y el testigo (T ₄), a nivel de invernadero. UES, 1995	68
12	Porcentaje de plantas vigorosas, para las 1a., 4a., y 7a. semanas, bajo la acción de los tratamientos Tolclofosmetyl (T ₁), Carboxin (T ₂), <u>Trichoderma</u> spp. (T ₃), y el testigo (T ₄). UES, 1995	72
OTROS		
A-19	Pruebas previas, metodología y resultados.	101

1. INTRODUCCION

Las enfermedades ocasionadas por hongos, constituyen uno de los factores que más limitan la producción de frijol, y son responsables de pérdidas en la producción que oscilan entre el 25 y 80%, pudiendo llegar en ocasiones hasta 100%, las cuales están relacionadas a la frecuencia en que se presenta la enfermedad y severidad con que ataca el cultivo (17).

Para controlar este problema los agricultores recurren al uso excesivo de productos químicos, lo cual hace que se eleven los costos, se contamina más el ambiente, - existiendo la posibilidad de que el uso excesivo de estos productos pueda causar una reacción de resistencia por parte de las especies de hongos tratados.

Ante esta situación, se hace necesaria la búsqueda de métodos alternativos para controlar las enfermedades ocasionadas por hongos.

Una de las principales enfermedades del cultivo de frijol es la pudrición de cuello y raíces ocasionada por Rhizoctonia solani, la cual puede atacar a nivel de pre-emergencia o post-emergencia en cuyos casos también se le conoce como mal del talluelo en el estado de plántulas. Esta enfermedad se manifiesta con la muerte de plántulas antes de emerger o después de emergida ocasionada por un estrangulamiento en el tallo a nivel de cuello, y necrosis general.

Un método alternativo de control lo constituye el uso de hongos antagonistas, el cual está en su inicio en nuestro medio, y que según la información que se tiene de otros países, es un método prometedor aunque de difícil manipulación, pues se trata de microorganismos vivos que deben tener un hábitat adecuado para su manejo.

El hongo Trichoderma spp., ha sido muy estudiado en el papel de controlador del hongo Rhizoctonia solani, y se presenta en forma natural en nuestro medio, habiéndose aislado y propagado en el Laboratorio de Investigación del Departamento de Protección Vegetal de la Facultad de Ciencias Agronómicas, de la Universidad de El Salvador, al igual que Rhizoctonia solani.

El objetivo del presente trabajo fué el de estudiar el comportamiento del hongo Trichoderma spp, en cuanto a su efecto controlador y protector en contra de Rhizoctonia solani, en el cultivo del frijol comparándolo con los tratamientos con los fungicidas Tolclofosmetyl (Rizolex), Carboxín (Vitavax), y con un testigo el cual no llevaba ninguna aplicación. Se utilizó el método estadístico completamente randomizado con cuatro tratamientos y seis repeticiones.

El experimento se llevó a cabo a nivel de invernadero en la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de El Salvador.

2. REVISION DE LITERATURA

2.1. Problemática por enfermedades en el cultivo de frijol

El frijol común (Phaseolus vulgaris L.) constituye para el pueblo salvadoreño la fuente principal de proteínas a bajo costo y de alta calidad, por lo que se sitúa en el segundo lugar de importancia, sólo superado por el maíz. El consumo de proteínas alcanza solamente 52.4 gr/persona por día. Este consumo de proteínas que proviene del frijol se estima en 4.2 gr/persona/día (FAO, 1989), o sea que el frijol suministra el 8% de la disponibilidad total de proteínas al día, constituyéndose en un componente esencial de la canasta básica familiar y en la dieta alimenticia, especialmente para esa gran parte de consumidores de bajos recursos.

Pese a la enorme importancia que tiene este cultivo, el rendimiento nacional promedio se halla muy por debajo de los rendimientos reportados para las variedades mejoradas que son de 25 a 30 qq/mz, pues en los últimos diez años el rendimiento ha oscilado de 6 qq/mz (1987/88) hasta 13.2 qq/mz (cosecha 1992/93), obligando a realizar importaciones hasta de 90,577 quintales del grano (1988/89), necesarias para cubrir las necesidades de consumo de la población, llegando a la fuga de divisas necesarias para la nación (18).

Se citan diferentes causas para esta problemática, tales como la no utilización de variedades mejoradas, ya que un buen porcentaje de agricultores utiliza variedades criollas susceptibles a la mayoría de plagas y enfermedades existentes en las zonas productoras de frijol; también se citan limitaciones económicas y técnicas, que son agravadas por condiciones adversas edáficas y de clima (5).

Sin embargo, entre los principales factores que limitan la obtención de altos rendimientos en este cultivo, está el ataque de plagas y enfermedades, y de manera especial nos referiremos a aquellos patógenos que son diseminados a través de la semilla o que pululan en el suelo infestado (47, 60), cuyas poblaciones crecen en la época lluviosa (25).

En frijol se ha venido investigando desde hace varios años las enfermedades radiculares producidas por patógenos del suelo entre los que se encuentran Pythium spp., Phytophthora y Rhizoctonia, que forman un complejo de patógenos que son causantes de daños de consideración en este cultivo.

Rodríguez y Ascencio (47), citan que Polanco encontró hongos transmitidos por semillas, tales como Macrophomina, Rhizoctonia solani, e Isariopsis griseola Sacc., y considera que la mayoría de organismos que han sido detectados sobre y aún dentro de ella son saprófitos, muchos de los cuales forman parte de la microflora normal de la semilla. También dice que en el caso de la infección producida por

R. solani Kuhn, se relaciona estrechamente a su presencia en el suelo y semillas provenientes de campos infestados, en los cuales causa incrustaciones superficiales. Cuando la humedad es alta, el micelio se introduce a los cotiledones y de allí prosigue el ciclo patogénico, el cual puede causar pérdidas hasta en un 60% en plántulas las cuales al ser atacadas por Rhizoctonia solani presentan podredumbre en el cuello (pie), pudrición radicular, chancro del tallo y pudrición de la vaina; pero las plántulas de frijol son más susceptibles antes de la emergencia (33).

Existen muchas estrategias para el control o manejo de las enfermedades del frijol que incluyen buenas prácticas culturales, rotación de cultivos, siembra de semilla limpia producida en ambientes o regiones libres del patógeno, uso de productos químicos, utilización de variedades resistentes y una combinación de estas estrategias. Sin embargo como en la mayoría de las regiones del trópico, el frijol es uno de esos cultivos en manos de agricultores que poseen pequeñas propiedades con ingresos limitados, además es un cultivo de riesgo. No se puede considerar para el control de las enfermedades de este cultivo, estrategias que impliquen altos costos para el agricultor. De tal manera que el agricultor debe defender su cultivo eligiendo el control que se adecúe a sus disponibilidades, tales como el control cultural que impliquen eliminación de residuos de cosecha infestados, rotación de cultivos no hospe

dantes (gramíneas), coincidir la maduración de las vainas con la época seca, uso de la labranza mínima, reduciendo el salpique que es un factor primario de la enfermedad, uso de cobertura reductoras de salpique e infestación en las plantas emergidas.

El agricultor también puede optar por utilizar el control químico, en el cual debe usar aplicaciones tempranas (preventivas y correctivas) de fungicidas tales como Benlate, Dithane M-45, Bavistín, o Cobre antracol (18).

En el mercado también existen productos muy eficaces como Rizolex (Tolclofosmetyl), Pencycuron (9), Vitavax (Carboxín), etc.; sin embargo, las mejores alternativas pueden significar incremento en los costos de producción.

La guía técnica del frijol (1993), permite observar que buena parte (62.63%) de la inversión se utiliza en la compra de insumos y protectores químicos del cultivo, reduciendo el margen de utilidades (Cuadro A-13) (18).

Otra alternativa que merece atención es el control biológico el cual incluye muchas estrategias, tales como el uso de semilla limpia de patógenos, uso de variedades resistentes o tolerantes a la enfermedad, uso de microorganismos antagónicos y muchas otras más.

Debido a la problemática que pende sobre este cultivo, muchos investigadores se han dado a la tarea de buscar dentro del contexto biológico alternativas viables para enfrentar el problema que presenta el mal del talluelo y de-

más síntomas que produce el patógeno R. solani en frijol.

Muchos han estado experimentando con microorganismos antagónicos que bajen la incidencia de esta enfermedad, que permitan un mejor rendimiento, mejor producción, que reduzcan los costos, que permitan cultivar sin causar mayor deterioro a los suelos y el ambiente, y que sean accesibles al pequeño agricultor.

El uso de microorganismos antagónicos a Rhizoctonia solani está siendo ampliamente explorada, resultando muy prometedor entre otros el uso del hongo Trichoderma spp. como agente biocontrolador eficaz no sólo contra este patógeno, ni sólo en este cultivo, sino ante muchos otros hongos fitopatógenos y favoreciendo cultivos de importancia.

La idea del control biológico no es nueva, es tan antigua como el hombre mismo, llegando a nuestros días con prometedoras esperanzas fortalecidas por la tecnología del Siglo XX, por lo que es importante conocer el impacto y desarrollo del control biológico así como las alternativas que puede brindar a este cultivo el uso del agente biocontrolador Trichoderma spp. (54).

2.2. El control biológico y las enfermedades de plantas.

Durante muchos años el control de enfermedades en las plantas se ha basado principalmente en el uso de fungicidas, a tal grado que muchos organismos fitopatógenos han

desarrollado resistencia a algunos productos químicos. - También se ha observado el daño que al ambiente ocasiona el uso excesivo de tales productos, razón por la cual la mayoría de investigadores coinciden en la necesidad de - incluir otros elementos en el manejo de patógenos. Entre muchas alternativas disponibles tenemos el control biológico (54).

El biocontrol ha merecido atención desde tiempos inmemoriales pues existe evidencia convincente de que las más tempranas civilizaciones ajustaron sus prácticas agrícolas para detener las enfermedades de las plantas y aunque estas sociedades antiguas han dejado pocos escritos, sus ajustes empíricos son encontrados en depósitos aluviales en los Ríos Tigris, Eufrates y Nilo, observándose "cortaduras e incendios" como muestra de la agricultura practicada por el viejo y nuevo mundo, evidenciándose que nuestros ancestros aprendieron a base de prueba y error que la productividad de la cosecha era mayor en suelos vírgenes no sólo porque evitaban serias enfermedades del suelo productivo, sino porque podían seleccionar suelos más fértiles.

En escritos desde el Renacimiento hasta el Siglo XVIII se muestra como la aplicación de mezclas de compuestos orgánicos servían para refrescar y prevenir infecciones en las heridas de los árboles frutales. En esos tempranos usos del control biológico, microbios activos en las preparaciones medicinales probablemente protegieron a los árbo-

les de la invasión de microorganismos patógenos,

En la era moderna y temprana en el Siglo XX, los descubrimientos científicos en microbiología y patología de las plantas presentaron nociones de cómo el control biológico podía ser aplicado. Para los años 1920's y 1930's la idea de control biológico mediante la antibiosis, o sea el uso de antagonismo intermicrobial fué muy atractiva. Luego de satisficentes resultados en control de enfermedades con agentes biológicos como Gliocladium, Trichoderma y algunas bacterias, el control biológico fué hechado de lado por el desarrollo muy efectivo de fungicidas comerciales y la tendencia hacia el desarrollo de la agricultura moderna. Disminuyendo así la investigación y aplicación del control biológico ante el éxito de los productos químicos (54).

Fray y Risbeth mencionaron que el biocontrol ha merecido mucha atención en particular desde el año 1963, cuando en un Simposio en Berkely, California, se trató ampliamente de la ecología de los patógenos del suelo, como un preludio para el control biológico especialmente cuando las pérdidas por enfermedades radicales aumentaron como consecuencia de la intensificación de la agricultura, demostrándose que aunque la acción del control biológico había disminuido, éste todavía podía ser efectivo para controlar la incidencia de las enfermedades, a pesar de ser menor su acción.

En 1968, Baker hizo una revisión de los mecanismos por

los cuales el control biológico opera en los patógenos y usó modelos matemáticos en un intento para predecir la clase de enfermedad que se debería controlar por este medio.

Para la década de los ochenta los proteccionistas de las plantas estaban dedicando sus mayores esfuerzos al desarrollar técnicas de biocontrol, ante la frustración derivada de la aplicación de otras tecnologías o debido a la creencia de que el biocontrol es menos problemático en dañar el ambiente, que los métodos físicos y químicos.

Actualmente en varias regiones del mundo investigadores trabajan acertadamente con el biocontrol manipulando varios factores en los que sobresalen bacterias y hongos conocidos como antagonistas (32).

2.3. Definiciones

Lara (32), cita a Fray quien dice que el control biológico consta de diversos métodos y acercamientos para suprimir una enfermedad de las plantas, ya sea agregando antagonistas a los patógenos en los agrosistemas o como lo plantea Garret: Control biológico consiste en reducir la enfermedad en las plantas a través de uno o más organismos vivos, que no sea el hombre mismo.

Un concepto moderno de control biológico no comprende únicamente la introducción de antagonistas dentro de los sistemas de cultivo, también incluye la manipulación del am

biente haciéndole favorable al desarrollo de los microorganismos benéficos con prácticas como rotación de cultivos, aplicación de compost (24) y el uso de variedades resistentes (13). Una definición más reciente se refiere al control biológico como control de enfermedades por el manejo de las actividades producidas naturalmente por los microbios o por microbios genéticamente modificados, seleccionados para reducir la cantidad de patógenos, proteger cultivos susceptibles de patógenos por sus actividades antagonistas o inducir la resistencia en las plantas cultivadas (54).

2.4. Biocontrol usando bacterias y hongos

Los suelos pueden mantener la existencia y aún el crecimiento de abundantes clases de diferentes microorganismos (53). La competencia que ocurre entre los organismos por obtener nutrimentos dan origen a casos de antagonismo e hiperparasitismo (49), aportando diferentes beneficios a la agricultura ya que permite la posibilidad de lograr el control biológico de plagas y enfermedades, entre los microorganismos antagónicos se pueden contar varias especies del género Bacillus sp (4) o diversas especies fúngicas de las cuales Garret menciona que son capaces de producir antibióticos que pueden afectar drásticamente el curso de la enfermedad causada por el patógeno (53).

2.4.1. Biocontrol usando bacterias

Patologías de importancia originan la necesidad de realizar estudios sobre medios biológicos efectivos como es el caso de determinar el efecto de Bacillus sp. sobre la germinación y desarrollo de semillas infestadas con Fusarium oxysporum vr. cubense, reportado como fitopatógeno en varias especies agrícolas.

Se aplicaron cinco tratamientos de los cuales el tratamiento que incorporó bacteria concentrada y el hongo fitopatógeno fue el que mostró un mayor biocontrol (11).

Bacterias del género Pseudomonas que manifestaron antagonismo al hongo fitopatógeno Phytophthora parasitica, fueron aislados del suelo y la filosfera de tomate, luego fueron seleccionadas en pruebas de laboratorio. Finalmente se llevaron a condiciones de semicampo con el propósito de investigar el grado de biocontrol sobre semillas y plantas para lo cual se diseñaron cinco tratamientos con momentos de aplicación diferentes, con concentraciones del 25, 50, 75 y 100% de suspensión bacteriana más una suspensión de 10^5 esporas por mililitro del hongo fitopatógeno, un control con sólo el patógeno y uno sin bacteria y sin hongo. Los resultados fueron satisfactorios, la bacteria ejerció control sobre la enfermedad y mantuvo efecto positivo frente a la germinación, crecimiento y mortalidad de las plantas (30).

En pruebas "in vitro" realizadas con Pseudomonas sp. y Bacillus subtilis aisladas de plátano y arroz respectiva-

mente, mostraron la capacidad de inhibir el crecimiento de hongos fitopatógenos del suelo tales como Fusarium oxysporum, Pythium ultimatun, Rhizoctonia solani, Sclerotium rolfsii, Phytophthora parasítica var. nicotianae, Fusarium moniliforme y Fusarium solani los cuales causan enfermedades en especies de importancia económica (48).

En el Laboratorio e Invernadero del Departamento de Protección Vegetal de la Universidad de El Salvador, se investigó el efecto inhibitorio de una cepa de la bacteria Bacillus subtilis contra dos hongos patógenos del suelo Rhizoctonia solani y Sclerotium sp. Los resultados en pruebas de laboratorio e invernadero fueron favorables a B. subtilis frente a Rhizoctonia solani pero no frente a Sclerotium sp (4).

En un diez por ciento fué reducida la enfermedad amarillamiento en frijol, causada por Fusarium oxysporum var. phaseoli, al aplicarse antagonistas bacterianos, especialmente Bacillus subtilis, el cual fue introducido en el suelo infestado, en condiciones de invernadero. El éxito de los antagonistas como agentes de control de enfermedades se determinó por los métodos aplicados, destacándose el que usó pequeñas cantidades de estiércol como portador del agente antagonista (36).

Lara (32) cita un informe presentado por Risbeth donde menciona que el tizón en plántulas de maíz ocasionado

por Fusarium roseum, puede ser controlado mezclando una suspensión de Bacillus subtilis o Chaetomium globosum con la semilla.

Después de pruebas de invernadero, este método fué probado en campo en donde los resultados fueron tan buenos como aquellos obtenidos con Thiram o Captan en temperaturas menores de 20° C. Este procedimiento parece ser prometedor para su desarrollo en contraste con aquellos que involucran la inoculación directa del suelo.

2.4.2. Biocontrol usando hongos

Mehrotra et al (37), cita que está siendo revisado el uso de hongos antagonistas en el control biológico de patógenos de plantas (en suelo, tratamientos de semillas, inóculos para podas frescas y heridas, como micoparásitos y protección cruzada), así como para controlar insectos y malas hierbas. Un ejemplo característico lo presentan los binucleados, los cuales son un grupo de hongos que por lo general poseen dos núcleos por célula (raramente tres), y cuyo estado perfecto corresponde a Ceratobasidium, los cuales en su mayoría no son patógenos mostrando un alto nivel de antagonismo hacia Rhizoctonia solani considerándose como alternativa de control biológico de este patógeno (50).

En esta área, Dubey y Dwivedi (22), detallan sobre antagonistas potenciales como Aspergillus flavus, A. niger, A. terreus, Cladosporium cladosporioides, Penicillium ci-

trinum, P. javanicum, y Trichoderma viride contra Macrophomina phaseolina en pruebas in vitro.

Sánchez (51), informa que en 1987 Cardoso y Echandi reportaron un experimento de laboratorio e invernadero, en donde investigaron la protección de plántulas de frijol -- contra la pudrición radical por Rhizoctonia por un hongo binucleado similar a Rhizoctonia (RBN).

Exudados de raíz de plántulas de frijol de 10 días de edad tratados con RBN inhibieron el crecimiento y la germinación de esclerocios de R. solani in vitro. El tratamiento de plántulas de frijol previo a la incubación con R. solani inhibió la formación de almohadas de infección por R. solani. La esterilización superficial con uno por ciento de hipoclorito de sodio o setenta por ciento de etanol durante 30 segundos, erradicó por completo el RNB de las raíces e hipocótilo del frijol. El principal mecanismo de protección en este sistema involucra la respuesta metabólica de las plantas de frijol inducida por RBN que controla a R. solani en el sitio de infección.

2.5. Trichoderma spp.

2.5.1. Descripción del hongo

Especies del género Trichoderma, han captado mucha atención como agente de biocontrol. Tan sólo en las Filipinas se reportan 13 especies diferentes (44), de las cuales algunas sobresalen por sus características antagónicas, micoparásitas, y saprófitas (6, 44, 49).

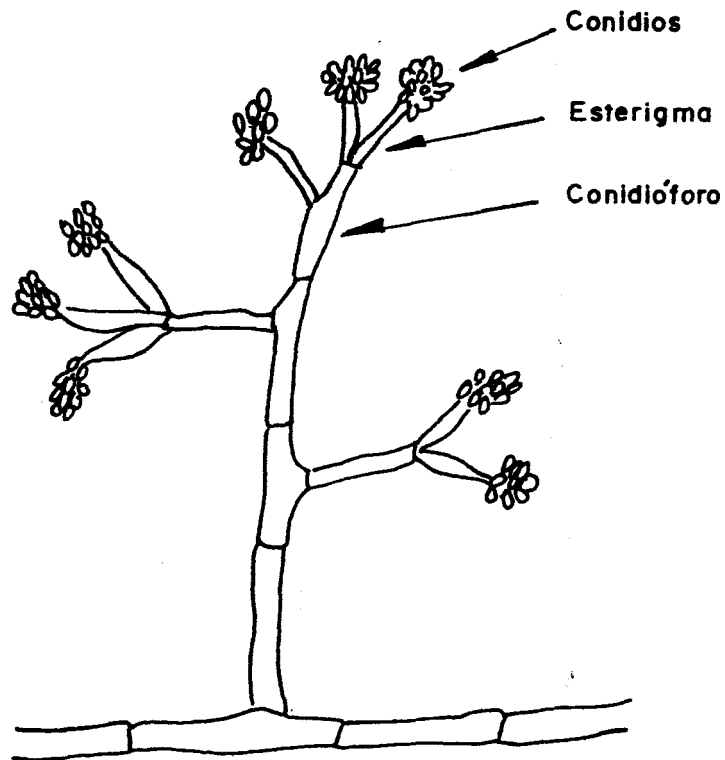


Fig. 1.- Trichoderma

Este hongo se caracteriza por poseer micelio septado, conidióforos septados, multiramificados, que terminan en un esterigma (célula ovoide terminal) que agrupa conidios verdes, brillantes, esféricos o ligeramente ovales, que forman bolas viscosas, pero que pueden desprenderse fácilmente. Al acabar su desarrollo forman parches verdes en forma de almohadilla a causa de las bolas de conidios verdes, que se forman al pegarse unos con otros y de los manojos de hifas estériles que adhieren por encima de los conidióforos (6, 26). (Fig. 1).

2.5.2. Clasificación del hongo.

Alexopoulos (2), reporta que el hongo Trichoderma spp. pertenece a :

Super Reino	:	Eukaryonta
Reino	:	Myceteae
División	:	Amastigomycota
Sub-división	:	Deuteromycotina
Clase	:	Deuteromicetes
Orden	:	Moniliales
Familia	:	Moniliaceae
Género	:	<u>Trichoderma</u>
Especie	:	sp

2.5.3. Ecología de Trichoderma spp.

La composición de la microflora del suelo puede ser hasta cierto punto determinante en el desarrollo de hongos patógenos introducidos dentro del suelo.

La competencia que se origina entre organismos por obtener material nutritivo, así como las relaciones entre diferentes organismos pueden ser dependientes o estimulantes propiciándose casos de antagonismo, estorbamiento, sinergismo, hiperparasitismo y saprofitismo. Muchas de estas actividades se ven en las diferentes cepas de Trichoderma spp.

Fray (27), reporta que T. harzianum presenta antagonismo a Rhizoctonia solani, suprimiendo de manera efectiva a R. solani y Sclerotium rolfsii en pruebas de campo.

También se reporta que en suelos donde se adiciona abundantes cantidades de materia orgánica, calcio, potasio y otros nutrientes minerales se estimula la actividad biológica en el suelo favoreciendo las actividades de los antagonistas conocidos como Trichoderma, Pseudomonas spp. y Fusarium spp, éstos a su vez suprimen patógenos como -- Pythium aphanidermatum, Pythium spp. y quizás otros patógenos de plantas de los suelos productivos (34). Esto demuestra que Trichoderma es efectivo en suelos con buen equilibrio biológico, sin embargo también sobrevive en condiciones estables y aún en suelos donde no existe cultivo debido a su alto poder de sobrevivencia, como saprófito en leña, madera o rastrojos (6).

2.5.4. Mecanismos de acción

La actividad parasítica a nivel celular de las cepas de Trichoderma, se presenta mediante una fuerte adherencia de las hifas del antagonista hacia las del patógeno, enrollamiento hifal y fragmentación de las hifas a nivel de septo y pocas cepas presentan la capacidad de introducirse internamente en el micelio (52). Sin embargo Deacon -- (20), menciona que Dennis y Webster (1971) ya habían concluido después de un detallado estudio; que es muy importante el enrollamiento de las hifas de Trichoderma alrededor de las de otros hongos debido a que asegura el contacto estrecho entre hifas de esta manera, los antibióticos -

producidos por Trichoderma podría tener un efecto notable (Fig. 2).

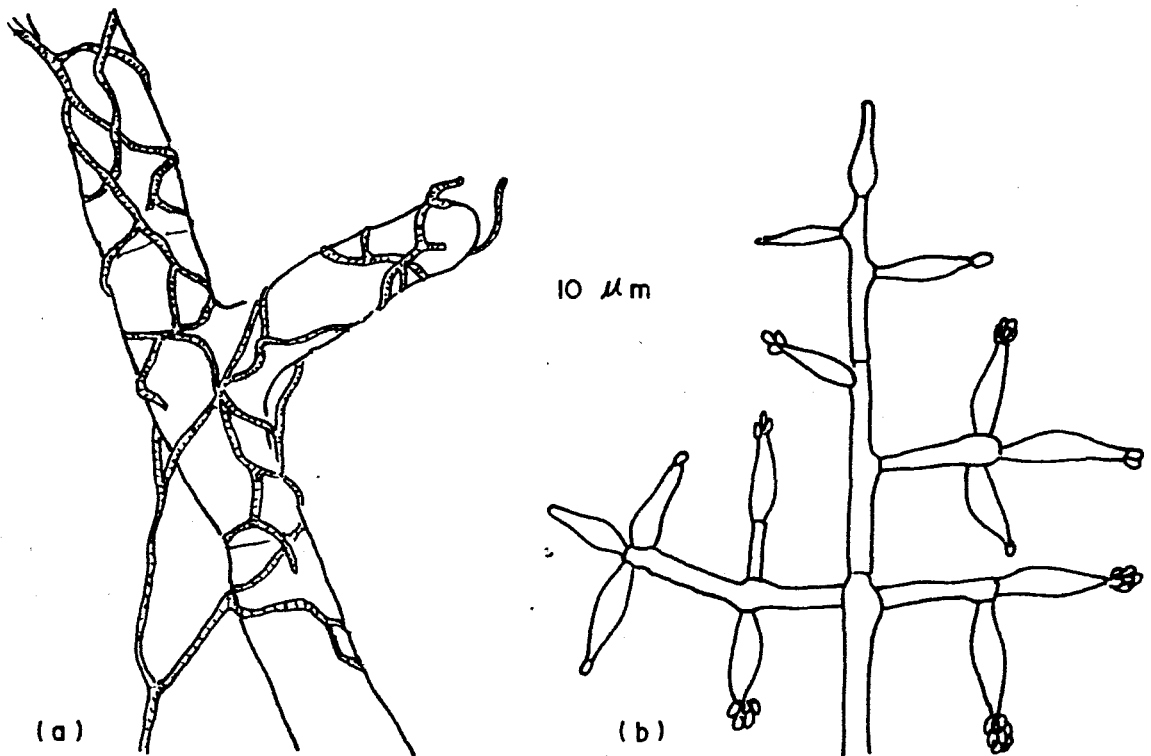


Fig. 2 - Micoparásitos necrótrofos. a) Enrollamiento de las hifas de *Trichoderma viride* alrededor de las hifas de *Rhizoctonia solani*. b) Estructura esporuladora de *T. viride*, que muestra la acumulación de conidios en los extremos de las filídes, las cuales se originan en un conidióforo multiramificado (20,26).

Mencionaron la probabilidad que utilicen los sustratos subyacentes de sus hospederos así como los nutrientes liberados por éstos, de tal manera que los hongos susceptibles son lisados, reduciéndose la competencia por el sustrato (20).

2.5.5. Metabolitos extracelulares

De Trichoderma viride se menciona la facilidad de su aislamiento en laboratorio y cuando se inoculan junto a otro hongo en agar, se enrollan alrededor de las hifas del otro hongo ocasionándoles lisis a veces muy rápidamente sin ningún signo obvio de ataque parasitario. Es posible que esta lisis resulte de las enzimas autolíticas liberadas en respuesta a la escasez de nutrientes o en respuesta a las toxinas o a los antibióticos producidos por estos micoparásitos en forma alternativa, puede ser un proceso heterolítico llevado a cabo por enzimas producidas por los micoparásitos muchos de los cuales producen enzimas necesarias para destruir la pared. En otros casos, los hongos hospederos no sucumben tan fácilmente y el parásito entonces se enrolla alrededor de las hifas y puede penetrarla; cuando menos una parte de esta penetración se realiza mientras las hifas del hospedero están vivas, como lo prueba el desarrollo de papilas (invaginaciones de la pared) por el hospedero, en los puntos donde se hace la penetración. Los problemas de interpretación son todavía mayores en los medios naturales, debido a las características que les confieren una gran capacidad saprófita competitiva, pues bien pueden crecer como saprófitos y no como micoparásitos. Se afirma de Trichoderma viride que puede presentar características tales como una tasa rápida de crecimiento, hasta 25 mm, 24 h⁻¹ en medio con agar a 25 °C; producción de antibióticos capaces de difundirse en el agua, como Tricho

dermin, Suzukacillin, Alamethicin y varios más de amplio espectro contra hongos y bacterias, producción de antibióticos volátiles (algunos de los cuales inducen homotalismo en Phytophthora spp.) así como actividad celulocítica elevada (20).

A este respecto Stefanova et. al. (57), mencionan - que los filtrados libres de células a partir de cultivos líquidos de los aislamientos de algunas cepas de Trichoderma, hidrolizaron la gelatina, caseína, leche, la carboximetilcelulosa y la quitina, todo lo cual indica la existencia de enzimas líticas de carácter proteolítico y celulolítico, además de la presencia de la enzima quitinasa. - Los filtrados difundidos o mezclados con el medio de cultivo limitaron el crecimiento de especies fúngicas debido a la presencia de metabolitos biológicamente activos. -- Hongos patógenos han mostrado deformaciones en el micelio, desplazamiento del contenido citoplasmático, afinamiento y lisis de la pared celular, como resultado de la acción de los metabolitos, aclarando el origen de los cambios estructurales microscópicos que ocurren al entrar en contacto el patógeno y las cepas de Trichoderma.

2.5.6. Uso de Trichoderma spp. contra hongos patógenos del suelo.

Abada, K.A. (1), menciona que logró aislar en remolacha azucarera los siguientes hongos causantes del "mal -

del talluelo" ó Damping-off : Alternaria spp; Mucor spp, Fusarium spp. F. conglutinans, F. solani, Phoma betae, - ~~Pythium~~ debaryanum, todos patógenos, con la excepción de Trichoderma harzianum, quien como agente de biocontrol logró una reducción de la infección y además incrementó el peso de la raíz de remolacha azucarera, tanto en experimentos de maceta como de campo. En Cuba se hicieron investigaciones "In vitro" con cepas del agente biocontrolador Trichoderma spp. para conocer la potencialidad frente al hongo Cryphonectria cubensis que produce gangrena en maderables (21). También el hongo Mycena citricolor -- (Berk y Curt Sacc), causante de la enfermedad ojo de gallo en café, es controlado por Trichoderma longibrachiatum ya que éste ha demostrado capacidad al establecerse en el tejido necrótico de las lesiones, inhibiendo la formación de cabecitas y destruyendo las que ya están formadas, redundando en una disminución del potencial de diseminación del patógeno y por consiguiente disminuyendo la incidencia de la enfermedad (41).

En el Centro Nacional de Café (CENICAFE) se logró obtener 16 aislamientos del hongo Trichoderma spp en suelos de Chinchina, Colombia de los cuales diez aislamientos fueron seleccionados por su capacidad antagónica contra Rosellinia bunodes agente causante de la llaga negra del café, en pruebas "In vitro" e invernadero.

En el Laboratorio, los antagonistas debido a la rápida

tasa de desarrollo, inhibieron el crecimiento de las colonias de R. bunodes, creciendo y esporulando sobre ella.

Bajo condiciones de invernadero se encontraron aislamientos con alta eficiencia en el control de la enfermedad.

Se reporta a Trichoderma harmatum y Zigorrhynchus moelleri en compost, reduciendo poblaciones de Fusarium, Penicillium y Mucor. Además se les presenta con las características de incrementar el crecimiento de las plantas de tomate, así como su persistencia en el suelo aún cuando no existe cultivo y de elevar significativamente las poblaciones microbiales durante el ciclo del cultivo donde se agregó el compost (55).

Ante la posibilidad de usar Trichoderma sp. como agente de biocontrol frente al hongo Sclerotium rolfsii, en frijol y el comportamiento de variedades comerciales y pre-comerciales de frijol, se realizaron experimentos de laboratorio y campo con resultados altamente significativos en cuanto a la resistencia de la variedad selección 11 al compararlo con el resto de las variedades.

En pruebas de laboratorio se observó antagonismo entre Trichoderma sp. y S. rolfsii, e igualmente cuando se inoculó y se sembró con una variedad susceptible. También hubo diferencias significativas entre las variantes Trichoderma sp., Trichoderma sp. más S. rolfsii; S. rolfsii y testigo sin inocular, confirmándose la acción antagónica de Tricho-

derma sp. frente a S. rolfsii (23).

Nelson y Powelson (38) evaluaron aislamientos de Trichoderma spp. de follaje de habichuelas por su capacidad para su primir moho gris de vainas de habichuela causado por Botritis cinerea. En una prueba de desprendimientos de flores y vainas, un aislamiento de Trichoderma hamatum redujo la pudrición de la vaina en 94% en comparación con el testigo no tratado, que fué comparable al obtenido con el fungicida Vinclozolin. Cuarenta y dos unidades formadoras de colonias (UFC) de T. hamatum/flor redujeron la pudrición de la vaina en 77% en comparación con el testigo no tratado. El control fué de 97% cuando se aplicaron 23 UFC/flor. El moho gris se redujo sólo cuando las esporas de T. hamatum se aplicaron a las flores antes o simultáneamente a la aplicación de conidios de B. cinerea. Los compuestos volátiles producidos por un aislamiento de T. hamatum, redujeron el crecimiento radial de B. cinera a 0.6 mm en PDA, mientras que el crecimiento en placas no tratadas un promedio de 23.6 mm. La producción de volátiles inhibitorios es un posible mecanismo de biocontrol.

Godfard, Nelson y Hansen (28), trabajaron en 70 aislamientos de Trichoderma spp, de los cuales 6 especies fueron probadas por crecimiento lineal.

Se probaron cinco temperaturas que variaron en un rango de 5-25 °C. La tasa de crecimiento varió sustancialmente dentro y entre las especies.

Los variados procedimientos fueron usados para distinguir

las especies basándose en las tasas de crecimiento. La habilidad de nueve especies para matar a Phellinus weirii, fueron probados "in vitro" en temperaturas de 10 y 20 °C, resultando que Trichoderma viride, Trichoderma polysporum y Trichoderma harzianum fueron los más antagónicos contra Phellinus weirii. vistas rápidamente a 20 °C, mientras que Trichoderma viride y Trichoderma polysporum acertaron más rápido a 10 °C.

Se concluye que las técnicas usadas para probar los antagonismos necesitan de más pruebas con más aislamientos, tanto in vitro como en el campo.

Bisiach, Minervini, Vercesi (10), probaron la actividad antagónica de 11 razas de Trichoderma spp. contra Pythium ultimum, en espinaca y frijol. Las razas más efectivas para controlar la grave infección en ambos hospedantes fueron una raza de T. viride, una de T. harzianum y una de Trichoderma spp. En frijol, el índice de protección obtenido por estas razas varió entre 75 y 90% no se modificaron ni la emergencia, ni el desarrollo de plántulas mediante la introducción de Trichoderma spp. al suelo. La efectividad de las razas probadas contra P. ultimum se debió principalmente a su actividad competitiva. Se discuten las ventajas de los tratamientos de semilla y el uso de una mezcla de razas antagónicas, proponiéndose un control integrado de P. ultimum basado en métodos biológicos y químicos.

Bharwaj, Gupta, Dohroo y Shyan (8), reportaron la podredumbre del rizoma causado por Pythium aphanidermatum y Fusa-

rium equiseti que estuvo controlado durante el amacenaje por tres diferentes variantes de Trichoderma spp. De los diferentes tratamientos probados, los rizomas mojados en una suspensión de esporas de T. viride o untado con T. hamatum, fué completamente efectivo contra P. aphanidermatum en semilla de gengibre. Buen control de F. equiseti fue dado por ambos rizomas en suspensión con T. viride.

Papavizas y Lewis (43), evaluaron suspensiones acuosas de conidios de 258 cepas tipo silvestre y mutantes de Gliocladium virens, Trichoderma hamatum, T. harzianum y T. viride para controlar Sclerotium rolfsii en invernadero, diez cepas de G. virens y cuatro de T. harzianum suprimieron la podredumbre del pie de la habichuela en 30-50% y el añublo en 37-74%.

Todas las cepas de T. hamatum y T. viride utilizados como conidios fueron ineficaces. En general, las cepas de G. virens inhibieron la enfermedad más efectivamente, que las mezclas dobles o triples de dichas cepas.

Bhardwaj y Gupta (7), reportan que Trichoderma viride, T. hamatum fueron probados en cuanto a la inhibición de -- Pythium aphanidermatum, Fusarium equiseti, F. solani, Cladosporium cladosporioides y Mucor hiemalis.

De igual manera Sundheim y Tronsmo (59), mencionan revisiones hechas sobre el hiperparasitismo por Trichoderma y -- Gliocladium sobre Oomycetes, Sclerotinia spp., Erysiphaceae y Puccinia spp.

En California se desarrolló un método de control integrado en cítricos, el cual consistió en que los troncos infes-

tados se retiraron mecánicamente y el suelo se trató -- con disulfuro de carbono, el hongo Trichoderma viride comúnmente presente en el suelo, recolonizó los fragmentos de raíces y del suelo fumigado, reemplazando o eliminando a Armillaria mellea (19).

Palazón, Palazón (42), reportaron que in vitro, Trichoderma viride fué fuertemente antagónico a Alternaria tenuis (A. alternata), Botrytis cinerea y especialmente Rhizopus nigricans (R. stolonifer) pero fué firmemente inhibido por Penicillium expansum el más importante patógeno en frutas en almacenaje en frío.

En inoculación de manzanas con T. viride, pudrición debida a A. alternata, B. cinerea y R. stolonifer, estuvo reducida en un 20-40% pero P. expansum, no fué controlado.

2.6. Rhizoctonia solani

2.6.1. Descripción del hongo

Rodríguez (47) cita que en 1858 Kuhn observó en túberculos de papa Rhizoctonia solani que en frijol representa uno de los hongos que producen mayores daños a la raíz y tallo, recibiendo una serie de nombres y su estado perfecto fué difundido como Thanatephorus cucumeris (Frank) Donk.

Rhizoctonia solani, presenta cuerpo fructífero asexual, compuesto de hifas hialinas y granulares de 6-8 μ de ancho que al madurar son septados y de color café. Los esclerocios inmaduros son pequeños de 0.2 - 5.0 mm de diámetro, - superficiales, sueltos y blancos, en la madurez se tornan

ásperos subglobosos y de coloración café o negro que se encuentra formado y conectado por el micelio, La hifa principal se fija sobre la raíz u otro órgano subterráneo de la planta (12) (Fig. 3).

El hongo crece rápidamente en PDA bajo luz continua, indirecta o intermitente y algunos aislamientos de 36-48 horas cubren la superficie de una placa Petri a una temperatura de 26 a 29 °C (12).

2.6.2. Clasificación del hongo

Según Alexopoulos (2), reporta que el hongo en su estado imperfecto Rhizoctonia solani pertenece a :

Super Reino	:	Eukaryonta
Reino	:	Mycetae
División	:	Amastigomycota
Sub-división	:	Deuteromycotina
Clase	:	Deuteromicetes
Orden	:	Mycelia esterilia
Género	:	<u>Rhizoctonia</u>
Especie	:	<u>solani</u>

2.6.3. Sintomatología patogénica

González (29), menciona que ciertos hongos del suelo tales como el género Rhizoctonia, penetran directamente en los tallos y raíces tiernas y aún en frutos en contacto con el suelo. El micelio de estos hongos forma una

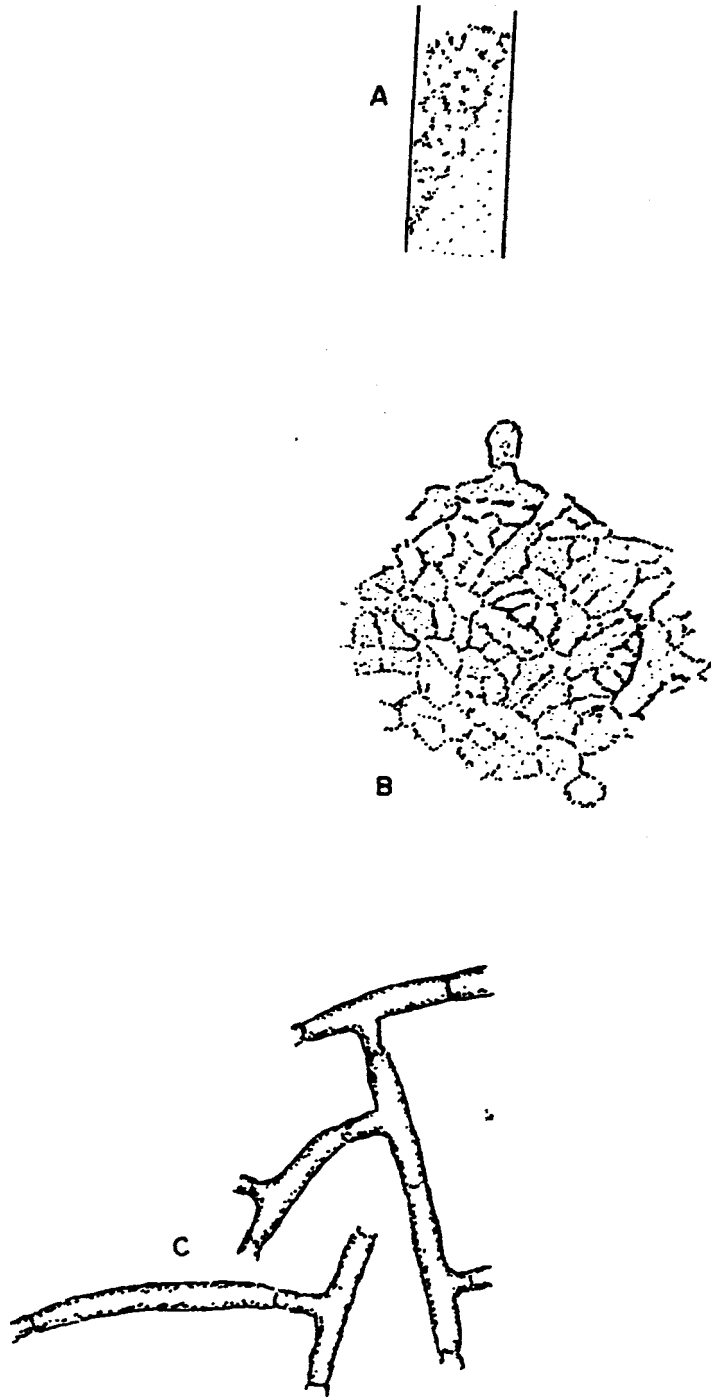


Fig. 3 - Rhizoctonia solani : A, forma original de micelio y esclerocios en tubo de ensayo; B, sección de esclerocio; C, células del micelio (6).

masa estromática conocida como "cojín" de infección que se adhiere a la epidermis, de este cojín salen varias hifas muy delgadas que perforan la cutícula y alcanzan las células epidermales (Fig. 4).

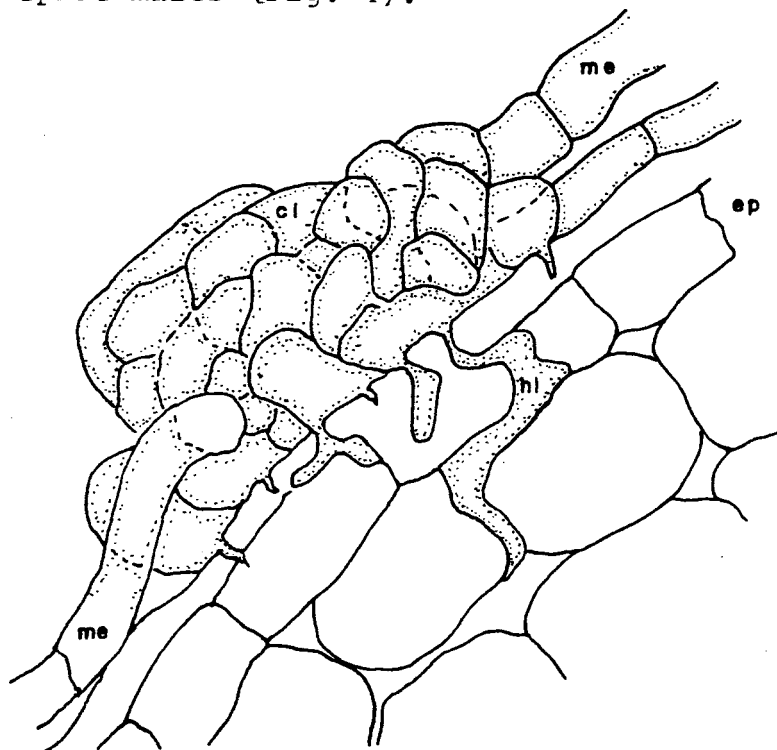


Fig. 4.- Penetración directa del micelio de un hongo.

(ep, epidermis; hi, hifa dentro del tejido; me, micelio externo de un hongo; ci, cojín de infección). (29).

El ataque de Rhizoctonia en el cultivo de frijol se ve incrementado por la humedad del suelo y temperaturas frescas (15-20 °C). El cultivo hospedante crece menos vigorosamente y en estas condiciones, es más susceptible al ataque del hongo (29).

R. solani es capaz de anular de forma considerable la germinación y emergencia de la planta, especialmente cuando

do la siembra es profunda o en suelos pesados que presentan costras sobre la superficie debido al mayor tiempo de exposición de la semilla en germinación al patógeno. Algunas veces las semillas infestadas al emerger producen plántulas con el ápice muerto y con visibles chancros en el hipocótilo y raíces, inicialmente son manchas oblongas, pero a veces son semirredondas de color rojo, tornándose posteriormente deprimidas y delimitadas por márgenes rojos, luego aumentan de tamaño, se profundizan y llegan a la médula, los bordes se vuelven ásperos y secos.

Las plantas con chancros son por lo general más pequeñas y menos vigorosas. Muchas veces se pueden encontrar esclerocios de color café y micelio sobre la superficie, y dentro de estos chancros; se encuentra la fuente de inoculo que comenzará una nueva infección y sobrevive en el suelo en los residuos de cosecha. Después de la emergencia los tallos por lo general son más resistentes al ataque.

El ataque de este hongo en vainas que están en contacto con el suelo infestado son inicialmente manchas grandes y acuosas que después lucen deprimidas de color café con bordes más oscuros y bien delimitados. La semilla infectada se decolora y puede transportar al patógeno. Esta enfermedad se desarrolla con temperaturas de moderadas a bajas y en humedad del suelo de moderadas a altas. Se reporta que la temperatura óptima para formación de chancros es

de 18 °C y el nivel del inóculo se incrementa considerablemente en el suelo después de siembras continuas de frijol causando considerables pérdidas (15, 33, 60).

2.7. Biocontrol de Rhizoctonia solani Kuhn con el uso del antagonista Trichoderma spp.

2.7.1. En leguminosas

Son muchos los trabajos de biocontrol realizados con el fin de proteger los cultivos del patógeno Rhizoctonia solani, por ejemplo, investigaciones realizadas sobre la eficiencia del biocontrol en la podredumbre del tallo en la habichuela, producida por Rhizoctonia solani, apoyan la premisa de que la reacción del suelo y la concentración -- del inóculo del patógeno son determinantes. Por lo que se procedió a acidificar el suelo desde un pH de 3.5 hasta un pH 5.6; se infestó con inóculo de R. solani de cero hasta diez gramos por kg. de suelo, las semillas se revistieron de conidios de Trichoderma harzianum y se sembraron en suelos ácidos infestados.

A medida que aumentaba la concentración del inóculo de R. solani mayor fué la incidencia de la enfermedad.

La incidencia de la enfermedad se redujo en 32% en pH de 3.5 comparado con suelo, pH 5.6.

Las semillas tratadas con conidios de T. harzianum mostraron reducción en la incidencia de la enfermedad hasta en 65% con relación a las no tratadas.

En suma los tratamientos de semilla de habichuela con T. harzianum reducen la incidencia de la podredumbre del tallo en suelos ácidos (35).

La excelente característica de sobrevivencia de una cepa de Trichoderma (T. harzianum) aún bajo la influencia de productos químicos quedó demostrada en el experimento presentado por Strashnow, Elad, Sivan y Chet (58). -- Ellos llevaron a cabo en el laboratorio el aislamiento del Th - 203 de Trichoderma harzianum, el cual toleró hasta 20,000 ppm de bromuro de metilo (vol/vol), en tanto que Rhizoctonia solani fué susceptible a menos de 9000 ppm. La exposición a una concentración sub-letal de BM no tuvo efecto en la capacidad antagónica in vivo de T. harzianum. La fumigación del suelo con BM con el equivalente de la dosis comercial de 500 kg/ha no redujo la población de Trichoderma en el suelo y permitió la colonización rápida del suelo por T. harzianum. En el invernadero, T. harzianum más una dosis reducida BM (equivalente a 200 kg/ha), controla totalmente la incidencia de la enfermedad causada por R. solani, en plántulas de frijol en comparación con testigos en suelos no tratados.

Se obtuvo un control similar de la enfermedad con la dosis recomendada de BM; T. harzianum también evitó la reinfestación por R. solani en suelos fumigados.

Cardoso y Echandi (16), desarrollaron un método para seleccionar agentes biológicos para el control de pudrición

radical de Rhizoctonia en frijol; a nivel de invernadero, Este método involucró el uso de cinco libras de suelo -- pasteurizado colocado en una bandeja de invernadero (35 x 25-cm). La infestación de suelo con R. solani, se efectuó al colocar (300 mg de granos de avena colonizada/libra de suelo) de cada uno, en forma individual, mezclados con suelo.

Se determinó el desarrollo de la pudrición radical en 10 días, después se seleccionaron 6 hongos de control biológico potenciales que redujeron la incidencia de la enfermedad (cuatro hongos binucleados similares a Rhizoctonia, uno de R. zeae y uno de Trichoderma hamatum).

2.7.2. En hortalizas

Reducciones en más del 50% de plantas de pimiento a causa del fitopatógeno Phytophthora capsici y pérdidas entre el 75 y 80%; así como múltiples resiembras fueron provocadas por Pythium aphanidermatum y Rhizoctonia solani en tomate. Por lo cual se utilizaron biopreparados de Trichoderma harzianum (Cepa A-34) probado in vitro como antagonico e hiperparasítico, controlando la marchitez del pimiento, en condiciones de producción, así como reduciendo el "damping-off" elevando el porcentaje de plantas germinadas con T. harzianum, con relación al testigo (51).

Gupta y Agarwala (31) trabajaron en 14 hongos aislados provenientes de la rizósfera de plantas de coliflor, -

inhibieron el crecimiento de S. sclerotiorum Max; antagonismo que fué exhibido por la Trichoderma viride acompañado por Aspergillus terreus, dentro del potencial de distribución con estos 4 hongos.

Fusarium solani y A. terreus fueron efectivos controlando podredumbre del tallo de coliflor, bajo condiciones de invernadero.

2.7.3. Otras especies vegetales

Un informe de Filipinas dice que, se aislaron 13 especies de Trichoderma de los campos de arroz filipinos, - se seleccionaron por sus índices adecuados de celulosis - (CAI), por el micoparasitismo y habilidad para controlar el "damping-off" de frijol mungo (Phaseolus aureus), causado por Rhizoctonia solani en invernadero.

T. glaucum, T. resei y T. viride permitieron un alto porcentaje de mungbean en suelos infestados mostrando alta actividad saprofítica, reduciendo la incidencia de la enfermedad también mostraron su habilidad de supervivencia en suelos naturales, y por efecto sobre el crecimiento de las plantas (44).

Sandoval et al (52), lograron 20 aislamientos de Trichoderma "In vitro" procedente de varias localidades de Cuba y los enfrentaron en cultivos duales contra Phytophthora nicotianae, P. parasítica, P. capsici, Rhizoctonia solani, Sclerotium rolfsii y Fusarium spp., aislados de -

diversos cultivos agrícolas, resultando en la mayoría de los casos que el crecimiento de Trichoderma fue superior al de los fitopatógenos o igual que ellos al hiperparasitar la totalidad de colonias de los hongos, en un 100%.

El combate biológico mediante organismos antagónicos presenta alternativas promisorias, por esta razón se realizó un trabajo de investigación en San Pedro Barva de Heredia sobre la enfermedad mal del talluelo, importante en los semilleros de café. El trabajo consistió en el uso del método de solarización y el uso del antagonista Trichoderma harzianum en afrecho de café, esterilizado.

En el tratamiento donde se usó el antagonista T. harzianum, se observó un crecimiento significativo en el porcentaje de las plántulas. Por otra parte el tratamiento de solarización por 21 días combatió eficientemente a Fusarium spp. y el de 28 días de cobertura obtuvo 100% de plantas libres de la enfermedad producida por Rhizoctonia solani. En cambio la interacción de ambos tratamientos no resultó significativo en el ensayo (14).

Fray (27), menciona como antagonistas con alto potencial para aplicaciones eventuales a Trichoderma harzianum y Laetisaria arvalis (Corticium sp). También menciona que se determinó que Trichoderma harzianum suprime efectivamente a Rhizoctonia solani y a Sclerotium rolfsii en pruebas de campo. Laetisaria arvalis suprime efectivamente el mal

del talluelo inducido por Pythium sp ó R. solani sobre va-
rios cultivos de campo. Al aplicar este último (L. arva-
lis) el biocontrol fué evidente ya fuera aplicado a la se-
milla o incorporado al suelo. Estos dos hongos son prome-
tedores puesto que son efectivos como antagonistas y están
bien adaptados para sobrevivir en la rizósfera.

Lara (32), reportó luego de realizar pruebas "In vi-
tro", que Trichoderma spp. creció sobre Rhizoctonia solani,
demostrando su antagonismo, al detener su crecimiento y cu-
briendo la superficie del medio (Agar nutritivo), aún so-
bre el patógeno. Ambos hongos fueron extraídos de plantas
de café.

2.8. Fungicidas

Los fungicidas agrícolas abarcan una gama muy amplia
de compuestos químicos. Cada año aparecen productos nue-
vos en el mercado, entre éstos existen algunos productos -
que se aplican al suelo y que son de acción exclusivamente
fungicida; la mayoría son sólidos no volátiles.

Son pocos los fungicidas específicos para hongos del -
suelo, tales como PNCB (brasicol), Dexon y Etazol, el res-
to son fungicidas del follaje que mantienen su actividad -
cuando se aplican al suelo, o que son absorbidos en las -
raíces y actúan de forma sistémica (29).

Entre los fungicidas más efectivos para el control de
Rhizoctonia solani está PNCB, Demosan (Cloroneb), Carboxín

(Vitavax), Benomil, Thiran, Zineb, y Captan. Generalmente se aplican a la semilla.

Otros fungicidas citados son Pencicurón (Monceren) y Tolclofosmethyl (Rizelex) (9).

2.8.1. Trichoderma spp.

En 1996 Bustamante (13), trató sobre el conocimiento y uso de microorganismos para el manejo de patógenos, que no es un campo ampliamente explorado y se necesita más investigaciones para poder llegar a un nivel que permita el uso amplio de esta táctica biológica.

En el momento se pueden utilizar en el suelo las poblaciones de Trichoderma spp. para el control de Rhizoctonia solani. Sin embargo el reciente éxito logrado en Cuba, mediante biopreparados a base de Trichoderma spp, hicieron posible el lanzamiento del producto Tricosav-34 como un fungicida para controlar enfermedades en la agricultura.

La composición de este fungicida es a base de Trichoderma harzianum Rifai, Cepa A-34, preservante y agua.

Este fungicida está recomendado para ser aplicado directamente al suelo o en tratamientos a la semilla. Es de comprobada eficacia para el control de hongos del suelo tales como Phytophthora capsici, Phytophthora parasitica, Rhizoctonia solani, Pythium aphanidermatum y Sclerotium rolfsii en cultivos de hortalizas y ornamentales (3).

Su empleo es una respuesta positiva y concreta a la -
campaña mundial de limpieza del planeta, particularmente
a la reducción de fungicidas y fumigantes (57).

La E.P.A. reconoció la importancia y las posibilida-
des que brinda este microorganismo como antagonista de sue-
lo al presentar a Thichoderma harzianum Rifai, en su lista
de pesticidas microbiales en 1989 (56).

2.8.2. Tolclofosmetyl (Rizolex)

El Tolclofosmetyl tiene una actividad fungicida fuer-
te contra Rhizoctonia solani Kuhn, Sclerotium rolfsii, Ty-
phyla shihariensis y T. incohata y contra "Mycelia" y Es-
clerotia su acción es fungitóxica.

Este fungicida no sólo es preventivo sino curativo y -
en dosis prácticas, no causa fitotoxicidad significativa -
para la mayoría de los cultivos; es usado incorporándolo -
al suelo, rociado o por inmersión de semilla (tubérculos)
o como protector en la semilla.

Este fungicida mantiene una persistencia razonable en
el suelo y no se acumula (9).

Su fórmula estructural es :

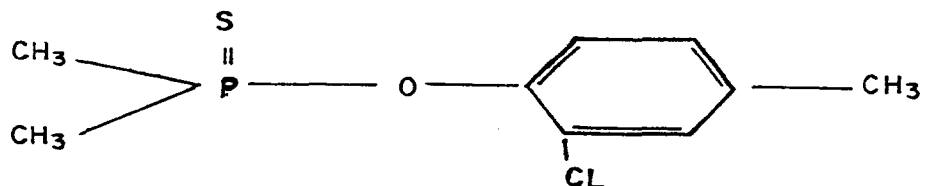


Fig. 5. Fórmula estructural de Tolclofosmethyl.
FUENTE : Manual Técnico de Tolclofosmethyl (9).

2.8.3. Carboxin (Vitavax)

Carboxin (5,6-dihidro-2 metil-1, 4-oxatiino-3-carboxanilida) es un fungicida sistémico que se usa como tratamiento de semilla. Tiene efecto tanto protector como terapéutico contra los carbones de los cereales y contra las enfermedades producidas por Rhizoctonia en varios cultivos. Carboxin es producido bajo el nombre comercial de Vitavax. También se formula en mezclas con Captan y Thiram.

Su fórmula estructural es :

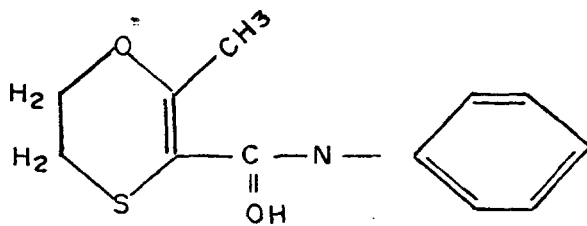


Fig. 6. Fórmula estructural de Carboxin (29).

2.8.4. Frijol DOR 482.

La semilla de frijol usada en esta investigación fué la nueva variedad DOR-482, seleccionada por su resistencia al BCMV, BGMV.

A pesar de que existen en El Salvador aproximadamente 4,331 variedades extranjeras y 320 variedades nacionales de frijol. La variedad conocida como "Frijol Rojo de Seda" y "Rojo 70", fueron introducidas de Honduras, a partir de selecciones realizadas en la variedad MEX 193.

La evolución de los precios, ha sido totalmente diferente del comportamiento típico que normalmente se desarro

lla a lo largo del año. Tradicionalmente, los precios de esta leguminosa son influenciados por la estacionalidad de la cosecha, cuyos mayores volúmenes son colectados en el último trimestre del año.

Como resultado de la primera cosecha obtenida en Agosto y la segunda recolectada en octubre-noviembre, se obtuvo una producción de 1,411 miles de quintales, equivalentes al 96.4% del total, reflejando un ligero decrecimiento ya que los rendimientos disminuyeron de 14.50 quintales por manzana, que era lo esperado a 12.07 quintales por manzana decremento causado por el exceso de lluvia en la etapa vegetativa y fase de floración y formación del fruto.

Actualmente el Programa de Frijol del CENTA realiza trabajos de investigación encaminados a la obtención de variedades con alto potencial de rendimiento, precoces y resistentes a los principales problemas patológicos y entomológicos.

Esta línea proviene del cruce DOR 367 X (DOR 364 X LM 30649) y fué introducida a El Salvador con el Código DOR 482. Actualmente se está validando en las cuatro regiones del país, con los sistemas de monocultivo y relevo con maíz, contra testigos locales manejados por los agricultores.

- Características agronómicas del frijol :

Hábito de crecimiento	:	Tipo IIB arbustivo
Días a floración	:	34 días

Días a madurez fisiológica	:	67 días
Días a cosecha	:	75 días
Color de la flor	:	Blanca
Color del grano	:	Rojo semioscuro
Forma del grano	:	Arriñonada
Peso en 100 semillas	:	20 gr
Número de vainas/planta	:	18
Número de semillas/vaina	:	6

- Zonificación y épocas de siembra

La línea de frijol DOR 482, tiene un rango de adaptación similar a las otras variedades y se han validado a alturas de 100 a 1,400 msnm, con el sistema de monocultivo, a la fecha se han observado buenos rendimientos en parcelas de validación en los Departamentos de Ahuachapán, Santa Ana, Cuscatlán, San Vicente y San Miguel.

- Rendimientos promedios obtenidos a la fecha de la línea de Frijol Rojo DOR 482 en las cuatro regiones del país.

<u>REGION</u>	<u>qq/Mz</u>	<u>EPOCA</u>	<u>SISTEMA</u>	<u>AÑO</u>
I	31.17	Mayo	Monocultivo	1992
II	22.15	Mayo	Monocultivo	1992
III	28.62	Mayo	Monocultivo	1992
IV	27.26	Mayo	Monocultivo	1992

- Sistema de siembra y distanciamiento.

Monocultivo : 0.5 m entre surco y 0.10-0.20 m, depo-

sitando 1-2 semillas respectivamente.

Relevo con maíz : Deberá sembrarse a ambos lados del surco de maíz, haciendo cada postura a 0.20 m; colocando de dos a tres semillas por postura.

- Reacción a enfermedades :

NOMBRE DE LA ENFERMEDAD	NOMBRE CIENTIFICO	<u>REACCION</u>
Virus del Mosaico común	BCMV	Resistente
Virus del Mosaico dorado	BGMV	Resistente
Mustia hilachosa	<u>Thanatephorus cucumeris</u>	Tolerante
Bacteriosis	<u>Xanthomonas campestri</u>	Susceptible
Roya	<u>Uromyces phaseoli</u>	Intermedio

- Manejo del cultivo :

La línea de frijol Rojo DOR 482, genéticamente tiene un alto potencial de rendimiento cuando se le proporciona un manejo adecuado. Análisis de suelo, época de siembra adecuada, tratamiento a la semilla, cantidad de fertilizantes recomendados de acuerdo al análisis del suelo, control químico o manual de malezas, control de plagas y enfermedades (25, 40).

3. MATERIALES Y METODOS

3.1. Metodología

El experimento se llevó a cabo en el Laboratorio e Invernadero ubicado en la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de El Salvador, localizándose geográficamente a 13°17'59" LN y 89°5'48" LW, a una altura de 700 metros sobre el nivel del mar.

3.1.1. Características climáticas

Las características climáticas del lugar, se detallan a continuación: Temperatura promedio anual 23 °C, humedad relativa promedio anual, 72%; precipitación pluvial anual media, 1,801 mm. Las temperaturas dentro del invernadero son las siguientes : Temperatura promedio, 32 °C; temperatura promedio máxima, 42 °C; temperatura - promedio mínima, 22 °C, tomadas en un lapso de cuatro meses (de febrero a mayo de 1995).

3.1.2. Fase de laboratorio

Para el ensayo fué necesario obtener colonias puras de Rhizoctonia solani y Trichoderma spp. procedentes de - plantas enfermas de frijol, para lo cual fué necesario ha - cer numerosos aislamientos en medio de cultivo.

3.1.2.1. Cultivos en P.D.A.

El aislamiento de *Trichoderma* spp. se realizó en medio de cultivo Papa-Dextrosa-Agar (P.D.A.).

Este hongo fué aislado de plantas de frijol senescentes y atacadas por otros hongos, se seleccionaron hojas, tallos y raíces, y fueron cortadas en trozos de 1 cm², - que fueron sumergidos en Clorox al 5% por espacio de un minuto, luego lavadas dos veces con agua destilada, después de escurridas, se colocaron en el medio de cultivo, el cual estaba contenido en cajas Petri estériles, a razón de 20 ml. de P.D.A., luego fueron incubados a temperatura ambiente.

A las 24 horas se observaron colonias presentando micelio color blanco, el cual se tornó amarillo suave y finalmente verde brillante, al cabo de ocho días de observación, cubrieron toda la superficie del medio.

El patógeno Rhizoctonia solani fue aislado de plantas de frijol con chancros en el cuello y las raíces, - luego de cortadas, se colocaron en clorox al 5%, lavadas y colocadas en 20 ml de P.D.A. contenido en cajas Petri. Al cabo de 24 horas se observaron colonias que presentaban micelio de color blanco en crecimiento radiales, ocho días después se observaron las cajas completamente llenas de micelio café y con esclerocios de color café oscuro.

Todo el proceso de obtención y aislamiento se realizó dentro de la cámara de flujo laminar; en la zona de seguridad de dos mecheros de Bunsen.

3.1.2.2. Pruebas previas

Previo al establecimiento del experimento surgió la necesidad de comprobar la acción ejercida en el cultivo de frijol de los hongos Rhizoctonia solani y Trichoderma spp.; por lo que se llevaron a cabo cuatro pruebas previas, cuya metodología y resultados se detallan en el Anexo -- A-14.

3.1.3. Fase de invernadero

3.1.3.1. Incremento de inóculos

Luego de efectuadas las pruebas se procedió con el ensayo principal, para lo cual fue necesario inocular 240 - cajas Petri conteniendo cada una 20 ml de P.D.A., luego se le colocó un centímetro cuadrado del medio P.D.A. con cultivo puro de Rhizoctonia solani en cada una, y se incubó por un período de ocho días. De igual manera, se procedió con Trichoderma spp. para lo cual fue necesario inocular con conidios, 75 cajas Petri, las cuales se mantuvieron por 15 días a temperatura ambiente.

Después se procedió a esterilizar el suelo sometiendo

lo a una temperatura de 250 °C en estufa, por espacio de tres horas, con el fin de destruir los patógenos existentes en el mismo, a razón de 6.75 libras de suelo, para cada una de las 120 macetas del ensayo.

3.1.3.2. Limpieza y desinfestación del invernadero.

También se realizaron tareas de limpieza y desinfestación en el invernadero. Posteriormente sobre la mesa se colocó una armazón de madera y sobre ella una cubierta de plástico transparente de un metro de alto (módulo 1), a fin de aislar las macetas conteniendo tierra esterilizada, que fueron colocadas sobre la mesa también cubierta de plástico.

Las macetas fueron colocadas sobre la mesa en filas de cuatro unidades experimentales.

De igual manera se prepararon dos módulos (2 y 3) con capacidad para 15 unidades experimentales que también fueron cubiertas con plástico.

Las macetas dentro de los módulos fueron cubiertas con papel periódico, para evitar la colonización de otros microorganismos ajenos al experimento, en el suelo estéril. Estas cubiertas fueron retiradas el día que se les colocó

ron los tratamientos.

3.1.3.3. Distribución del inóculo

Se procedió a colocar en cada una de las macetas, -- 40 ml. de medio conteniendo el hongo Rhizoctonia solani, completamente desarrollado a 2 cms de profundidad, seguido de un riego abundante que favoreció el establecimiento del hongo.

Se colocaron las cubiertas de papel periódico esperando tres días, al final de los cuales se procedió a colocar los respectivos tratamientos.

3.1.3.4. Descripción de tratamientos

3.1.3.4.1. Tratamiento Tolclofosmetyl (T₁).

Este tratamiento consistió en colocar en 30 unidades experimentales (macetas) seleccionadas al azar, una solución fungicida, a razón de 10 gramos de Tolclofosmetyl (Rizolex), por litro de agua (dosis comercial). Se humedeció con esta solución el sustrato de cada maceta, después se colocaron 4 semillas de frijol a 10 cms. de distancia en forma rectangular.

Se taparon y se colocaron alfileres de diferentes colores para marcar la posición de las semillas.

3.1.3.4.2. Tratamiento Carboxin (T₂)

En treinta unidades experimentales, seleccionadas al -

azar, se procedió a depositar una solución fungicida conteniendo 5 gramos de Carboxín (Vitavax) por litro de agua, dosis comercial, luego de humedecer el sustrato, se colocaron 4 semillas de frijol por maceta, luego de ser tapadas, se marcó su ubicación con alfileres de colores.

3.1.3.4.3. Tratamiento Trichoderma spp.
(T₃).

Para este tratamiento, fue necesario diluir 1.5 gramos de conidios de Trichoderma spp. (procedentes de las cajas - Petri con P.D.A.) en 1 ml de agua destilada-estéril, hasta formar una pasta. En una caja Petri estéril, conteniendo esta pasta fueron colocadas 120 semillas de frijol, las cuales después de agitarse quedaron cubiertas de una capa delgada de conidios sobre la testa. Cuando la humedad se redujo, se colocaron 4 semillas de frijol sobre el sustrato humedecido con una solución formada con un gramo de conidios de Trichoderma spp. disueltas en un litro de agua.

Luego de ser cubiertas las semillas, se ubicaron por medio de alfileres de colores.

3.1.3.4.4. Tratamiento testigo (T₄)

A este tratamiento también le correspondieron 30 macetas seleccionadas al azar, éstas no recibieron ningún tipo de control. Sobre el sustrato fueron colocadas 4 semillas de frijol, las cuales luego de ser cubiertas y rega-

das, se ubicaron mediante alfileres de colores.

Todos los días mientras duró la investigación se regaron las macetas y se ~~controlaron~~ las malezas manualmente.

Ocho días después de la siembra, se procedió a reforzar la acción de los tratamientos como a continuación se detalla :

En las macetas correspondientes al tratamiento uno, - se asperjó una solución de Tolclofosmetyl (Rizolex) a razón de 10 gramos por galón de agua. A las correspondientes en el tratamiento dos se les asperjó una solución de 5 gramos de Carboxin (Vitavax) por litro de agua.

Las macetas del tratamiento tres, recibieron, aspersiones de conidios de Trichoderma spp. a razón de 1 gramo/litro de agua. El tratamiento cuatro (testigo) continuó sin ningún tipo de control.

16 días después de la siembra, se repitió el procedimiento para cada tratamiento. Desde la emergencia hasta la producción de vainas se procedió a la toma de datos sobre cantidades de semillas germinadas, plantas sanas, enfermas (dañadas), muertas, sobrevivientes y vigorosas. - Además se tomaron datos sobre la temperatura dentro del invernadero (mínima-máxima).

A nivel de laboratorio se procedió a la identificación del patógeno Rhizoctonia solani, causante de daños en las plantas y semillas de frijol bajo estudio. También se -- identificó al hongo Trichoderma spp. presente en plantas y

semillas procedentes del tratamiento tres.

La identificación se realizó en base a literatura especializada (Alexopoulos y Barnett) (2, 6).

Cuadro 1. Descripción de tratamientos.

Nombre común	Nombre comercial	Dosis (gr/litro de agua)
T ₁ Tolclofosmetyl	Rizolex	10
T ₂ Carboxin	Vitavax	5
T ₃ <u>Trichoderma</u> spp	<u>Trichoderma</u> spp.	1
T ₄ Testigo	Sin tratamiento	0

3.1.4.5. Diseño estadístico

En este experimento se usó el diseño estadístico completamente al azar con 4 tratamientos y 6 repeticiones.

Cada repetición constó de cinco macetas, cada una con teniendo cuatro plantas.

3.1.4.6. Modelo estadístico

$$Y_{ij} = M + T_i + E_{ij}$$

Donde : Y_{ij} = Representa las características bajo estudio observados en las parcelas "j" donde se aplicó el tratamiento i.

M = Media experimental

T_i = Error del tratamiento

E_{ij} = Error experimental (i, j)

$i = 1, 2, \dots, a =$ número de tratamientos

$j = 1, 2, \dots, r$ = número de repeticiones de cada -
tratamiento (39).

3.1.4.7. Parámetros evaluados

Para la fase de invernadero, se realizaron tres lecturas semanales, determinándose el porcentaje de semillas germinadas, plantas sanas, enfermas, muertas, sobrevivientes, y vigorosas, durante un período de 7 semanas.

RESULTADOS Y DISCUSION

De los tratamientos realizados para el control de Rhizoc-tonia solani, se puede inferir que bajo condiciones de invernadero la variable semilla germinada, en la etapa de emergencia presentó diferencias altamente significativas. A este respecto la prueba de Duncan demostró que el tratamiento Tolclofosmetyl (T_1), fue el que produjo mayor porcentaje de semillas germinadas, lográndose un 98.33% en la primera semana, 100% en la cuarta y 100% en la séptima semana lo cual nos indica una completa protección sobre la semilla por parte del producto, Phillips (45), menciona después de realizadas las pruebas que este fungicida actúa como buen protector en la pre y post-emergencia.

En el orden de efectividad le siguió el tratamiento Trichoderma spp. el cual mostró 95.0% de semillas germinadas en la primera semana, 98.33% y 98.33% para la cuarta y séptima semana, ejerciendo buena protección debido a la capa delgada de conidios preparada para revestir la semilla. A este respecto Marshall (35) citó que la podredumbre del tallo de la habichuela fue reducida en un 65%, cuando las semillas se trabajaron con conidios de Trichoderma harzianum, en comparación con las semillas no tratadas. Así mismo, Bharwaj et al (7), reportaron resultados efectivos cuando mojaron semillas de gengibre (rizomas) en una suspensión de esporas de Trichoderma viride, o al untar con T. hamatum, lográndose controlar el hongo -

de almacenaje Phytium aphanidermatum en almacén, en ambos tratamientos la protección fue efectiva durante el proceso de germinación.

El tratamiento Testigo (T_4), presentó 82.50% de semillas germinadas en la primera semana, 93.33% en la cuarta y 93.33% en la séptima semana, este fue seguido del tratamiento Carboxin (T_2), con 38.33% de semillas germinadas en la primera semana, 60.83% para la cuarta semana y 60.83% en la séptima semana. Este tratamiento en el que se usó 5 gr/L de agua, resultó aún inferior al Testigo, como resultado del ataque de Rhizoctonia solani a la semilla; lo cual fué comprobado en pruebas de laboratorio y la concentración del producto (Carboxin) en el suelo fue contraproducente (se mostró posteriormente en la fisiología de las plantas), provocando inhibición en la germinación y predisposición al ataque del patógeno, presentando los más bajos resultados en la germinación (60.83% en la cuarta semana), al compararlo con el testigo el cual tuvo un máximo de 93.33% de germinación en el mismo período.

Cuadro 2. Porcentaje promedio de semillas germinadas en tratamientos de semillas y plántulas de frijol bajo la acción de los tratamientos Tolclofosmetyl (T₁), Carboxin (T₂), Trichoderma spp. (T₃), y el testigo (T₄) a nivel de invernadero. UES, 1995.

TRATAMIENTOS	Dosis (gr/L de agua)	SEMILLA GERMINADA		
		1a. Sem.	4a. Sem.	7a. Sem.
T ₁ Tolclofosmetyl	10	98.33 A	100.00 A	100.00 A
T ₂ Carboxin	5	38.33 C	60.83 C	60.83 C
T ₃ <u>Trichoderma</u> spp.	1	95.00 A	98.33 AB	98.33 AB
T ₄ Testigo	Sin tratamiento	82.50 B	93.33 B	93.33 B

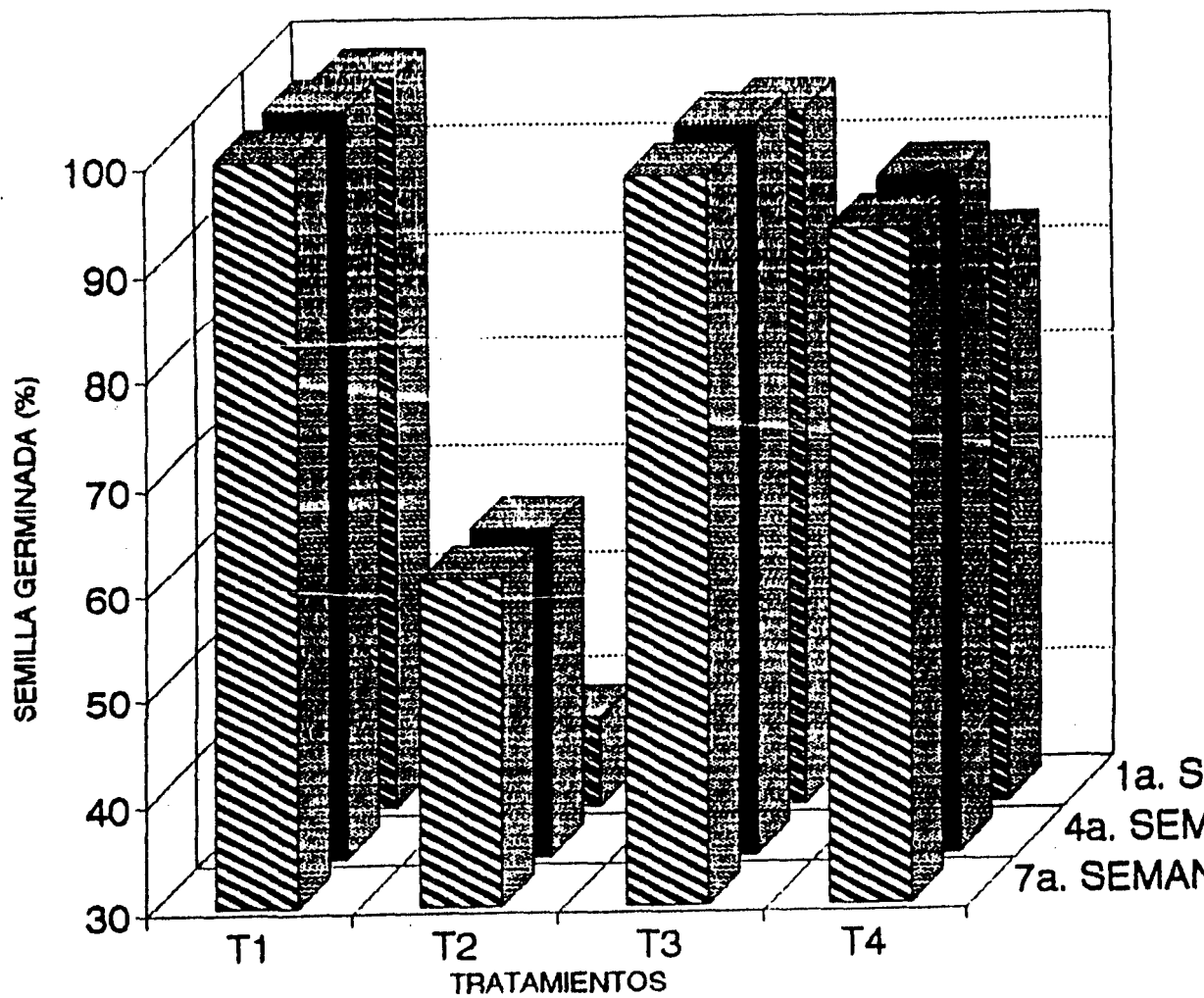


Fig. 7. Porcentaje de semilla germinada para las 1a., 4a., 7a., bajo la acción de los tratamientos Tolclofosmetyl (T₁), (T₂), *Trichoderma* spp. (T₃), y el Testigo (T₄), a nivel nadero. UES, 1995.

En lo que respecta a la variable plantas sanas, luego de hacer los recuentos respectivos, el análisis de varianza mostró alta significancia en la aplicación de los diferentes tratamientos; en consecuencia al realizar la respectiva prueba, se observó que el mejor tratamiento fué al que se le aplicó Tolclofosmetyl (T_1) con un 97.50% en la primera semana, con 73.33% en la cuarta semana y 73.33% de plantas sanas en la séptima semana.

Los resultados mostraron que el tratamiento Tolclofosmetyl (T_1) ejerció mayor protección a las plantas durante todo el experimento siendo notable el poder preventivo y curativo, acción reportada por Bautista (9) y Phillips (45), luego de realizar pruebas sobre fungicidas protectores de semillas. Phillips (45,46), menciona que Tolclofosmetyl ejerció mejor control en la post-emergencia, cuando Rhizoctonia solani Kunh, pudre el hipocotilo.

El tratamiento Trichoderma spp. (T_3) presentó un 84.17% de plantas sanas en la primera semana, 49.17% en la cuarta semana y 45.83% en la séptima semana.

Este tratamiento ejerció buena protección al principio, la cual declinó para la cuarta semana, período crítico en el cual se esperaba que el patógeno dañara el cultivo tal como López (33), Cardoso (16) y otros reportan, que la incidencia de la en

fermedad aumenta a nivel de plántula, dañando el ápice, cuello y raíces.

El comportamiento de los restantes tratamientos fue de la siguiente manera:

El tratamiento Testigo (T_4) presentó un 45% de plantas sanas en la primera semana, 28.33% en la cuarta y 25.33% en la séptima semana. El tratamiento Carboxin (T_2) presentó un 35.83% de plantas sanas en la primera semana, 18.33% en la cuarta semana y 15.83% en la séptima semana.

El tratamiento Carboxin (T_2) exhibió los más bajos porcentajes de plantas sanas al finalizar el ensayo (15.83%), los cuales fueron aún inferiores a los reportados por el testigo (25.33%) en el mismo período. Un alto porcentaje de las plantas del tratamiento Carboxin (T_2), mostraron una acentuada debilidad. En resumen ambos tratamientos presentaron los más bajos porcentajes de plantas sanas durante todo el experimento.

Cuadro 3. Porcentaje promedio de plantas sanas en tratamientos de semillas y plántulas de frijol bajo la acción de Tolclofosmetyl (T₁), Carboxin (T₂), Trichoderma spp. (T₃), y el testigo (T₄), a nivel de invernadero. UES. 1995.

TRATAMIENTOS	Dosis (gr/L de agua)	PLANTAS SANAS		
		1a. Sem.	4a. Sem.	7a. Sem.
T ₁ Tolclofosmetyl	10	97.50 A	73.33 A	73.33 A
T ₂ Carboxin	5	35.83 C	18.33 C	15.83 C
T ₃ <u>Trichoderma</u> spp.	1	84.17 B	49.17 B	45.83 B
T ₄ Testigo	Sin tratamiento	45.00 C	28.33 C	25.33 C

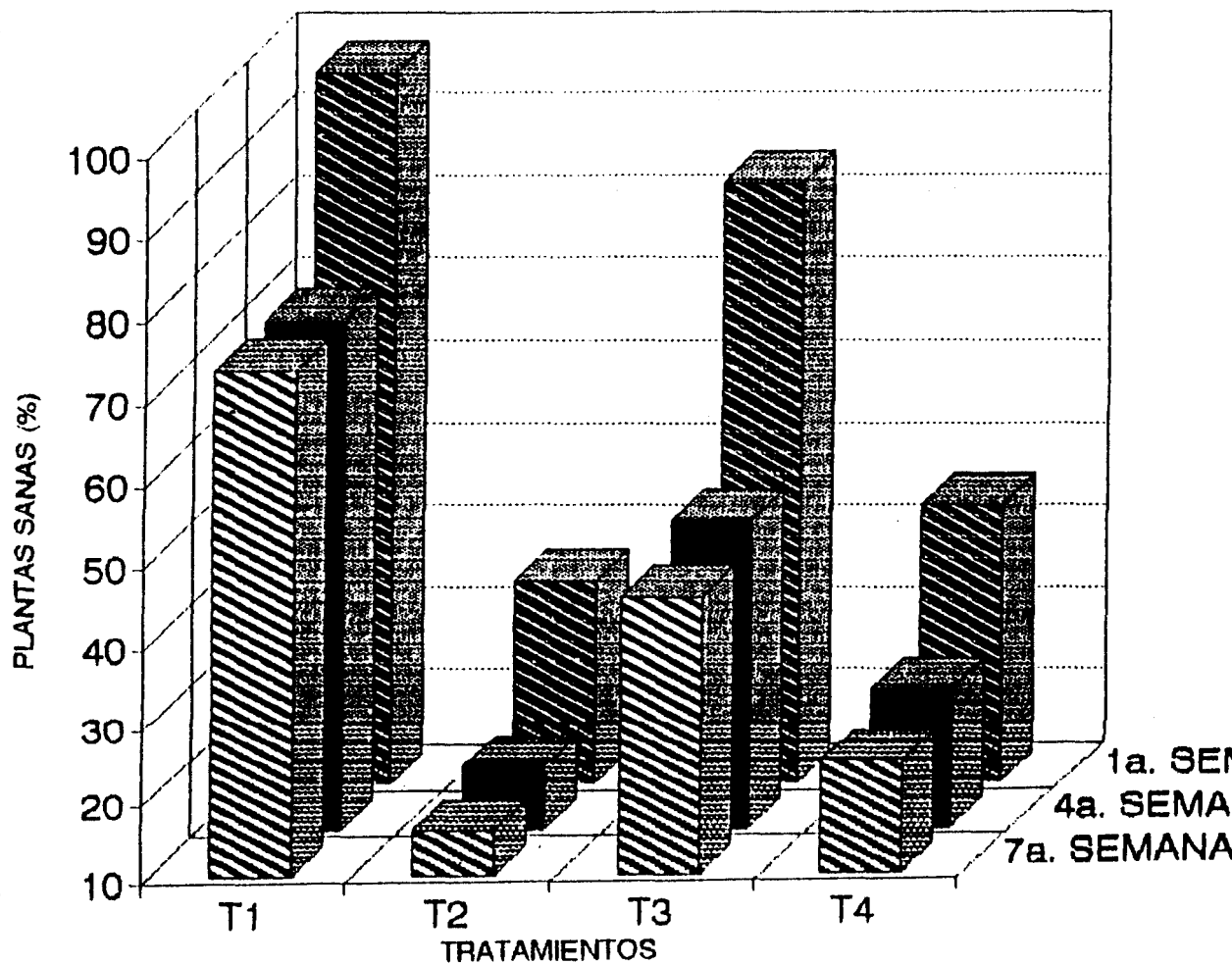


Fig. 8. Porcentaje de plantas sanas, para las 1a., 4a., 7a., semanas, bajo la acción de los tratamientos Tolclofosmetyl (T_1), Calcio (T_2), *Trichoderma* spp. (T_3), y el Testigo (T_4), a nivel veñadero. UES, 1995.

El análisis estadístico para plantas sanas permitió obtener por diferencia los siguientes datos sobre plantas dañadas o enfermas.

El máximo de plantas enfermas lo presentó el tratamiento Carboxin (T_2) en la primera semana con 64.17%; 81.67% en la cuarta semana y 84.17% para la séptima semana. Le siguió en el orden de efectividad el tratamiento Testigo (T_4) con 55% de plantas enfermas en la primera semana, 71.67% en la cuarta semana, y 74.67% en la séptima semana.

Se observó que los dos tratamientos mostraron los más altos índices de incidencia de la enfermedad, exhibiendo una amplia gama de daños tales como podredumbre en el cuello, raíces, chancros en los tallos, muerte en los ápices y daños en hipocótilos (33,60). Sin embargo el tratamiento Carboxin presentó mayores índices de daño que el testigo, mostrándose excesivamente susceptible al ataque del patógeno, presumiblemente porque además del inóculo (Rhizoctonia solani), colocado en el sustrato, la concentración de Carboxin en el suelo provocó debilidad, achaparramiento y clorosis. Phillips (45, - 46) reportó luego de realizar estudios sobre fungicidas, que Carboxin había provocado clorosis en las plantas tratadas.

Con relación a esta variable la prueba de Duncan mostró que el tratamiento Trichoderma spp. (T_3), exhibió 15.83% de plantas enfermas para la primera semana, 50.83% para la cuarta semana y 54.17% para la séptima semana. Aunque este trata

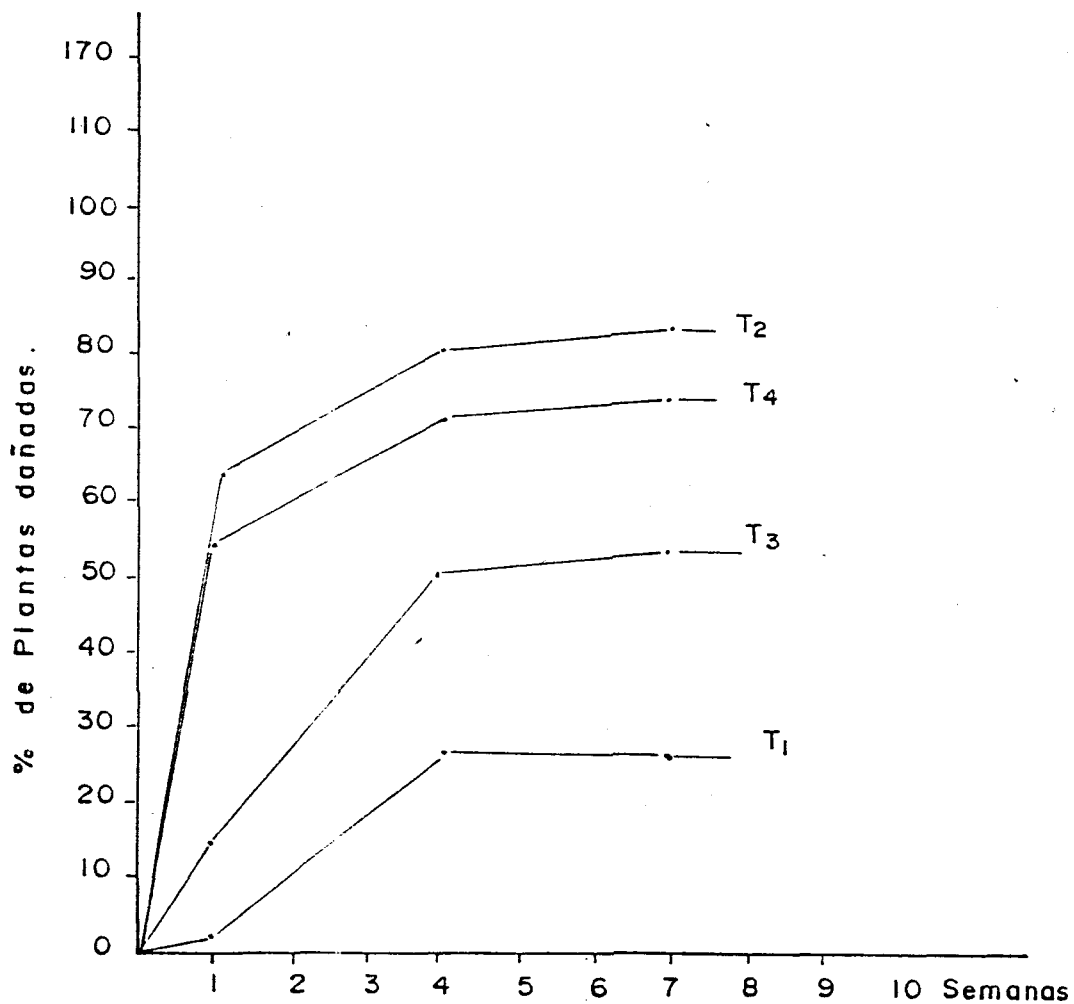


Fig. 9.- Desarrollo del mal del talluelo causada por Rhizoctonia solani, en plantas de frijol, bajo la acción de los tratamientos Tolclofosmetyl (T1), Carboxin (T2), Trichoderma Spp.(T3), y el Testigo (T4) a nivel de invernadero . UES . 1995.

miento presentó inicialmente un bajo porcentaje de plantas en fermas en la primera semana, se elevó considerablemente para la cuarta y séptima semana. Un factor que posiblemente influyó en estos resultados, fue la naturaleza de la emergencia -- del frijol, ya que la testa cubierta de conidios de Trichoderma spp. fue sacada de la superficie del suelo, dando poca oportunidad al hongo de establecerse según Sandoval et al (52), -- luego de realizar estudios, reportan que el hongo Trichoderma spp, es capaz de crecer hasta 7 cms. de profundidad en el suelo en un período de 10-20 días (tomate y chile), protegiendo -- el sistema radicular, lo cual sustenta lo mencionado anteriormente.

También es apropiado considerar que Paez (41), menciona -- que el conocimiento del período crítico y susceptibilidad del cultivo debe conocerse, lo mismo la frecuencia de aplicación y concentración del hongo. A este respecto y aunque se le -- aplicó al cultivo 1 gr de conidios/L. de agua, cada siete -- días en dos oportunidades, fue insuficiente y merece más estudio y consideración.

El mínimo de plantas enfermas o dañadas fue exhibido por el tratamiento Tolclofosmetyl (T_1), con 2.5% en la primera semana, 26.67% para la cuarta semana y 26.67% para la séptima -- semana.

Al efectuar comparaciones entre el tratamiento Tolclofos metyl (T_1) y el testigo (T_4), se observaron resultados satis

factorios en el combate de la enfermedad.

Dentro de la variable plantas sobrevivientes se obtuvo una alta significancia entre los tratamientos aplicados, lográndose establecer que al menos uno de los tratamientos produjo resultados satisfactorios dentro de la investigación. Al realizar la prueba respectiva se encontró que el mejor tratamiento fue al que se le aplicó Tolclofosmetyl (T_1), lográndose en la primera semana 98.33% plantas sobrevivientes, -- 91.67% para la cuarta semana, y 73.33% para la séptima semana.

Le siguió en el orden de efectividad el tratamiento Trichoderma spp (T_3) el cual mostró un 95% de plantas sobrevivientes en la primera semana, 72.52% en la cuarta semana y - 67.50% en la última semana, al conservar vivas las plantas de frijol hasta su fase productiva debido a la inhibición del crecimiento y desarrollo de Rhizoctonia solani, por parte de Trichoderma, posiblemente mediante la producción de antibióticos tóxicos como la Gliotoxina, viridina y otros metabolitos, resultando en una reducción en las poblaciones y severidad de la enfermedad producida por este patógeno (27, 46, - 53).

Para el resto de tratamientos el orden de efectividad fue para el tratamiento testigo (T_4), 68.33% plantas sobrevivien-

tes para la primera semana, 40% para la cuarta semana y 36.67% para la séptima semana. El tratamiento Carboxin (T₂), presentó un 38.33% de plantas vivas en la primera semana, 38.33% en la cuarta semana y 30% en la séptima semana.

Cuadro 4. Porcentaje promedio de plantas sobrevivientes en -- tratamientos de semillas y plántulas de frijol, bajo la acción de los tratamientos, Tolclofosmetyl -- (T₁), Carboxin (T₂), Trichoderma spp. (T₃) y el tes tigo (T₄) a nivel de invernadero. UES. 1995.

TRATAMIENTOS	Dosis (gr/L de agua)	PLANTAS SOBREVIVIENTES		
		1a. Sem.	4a. Sem.	7a. Sem.
T ₁ Tolclofosmetyl	10	98.33 A	91.67 A	73.33 A
T ₂ Carboxin	5	38.33 C	38.33 C	30.00 B
T ₃ <u>Trichoderma</u> spp.	1	95.00 A	72.52 B	67.50 A
T ₄ Testigo	Sin tratamiento	68.33 B	40.00 C	36.67 B

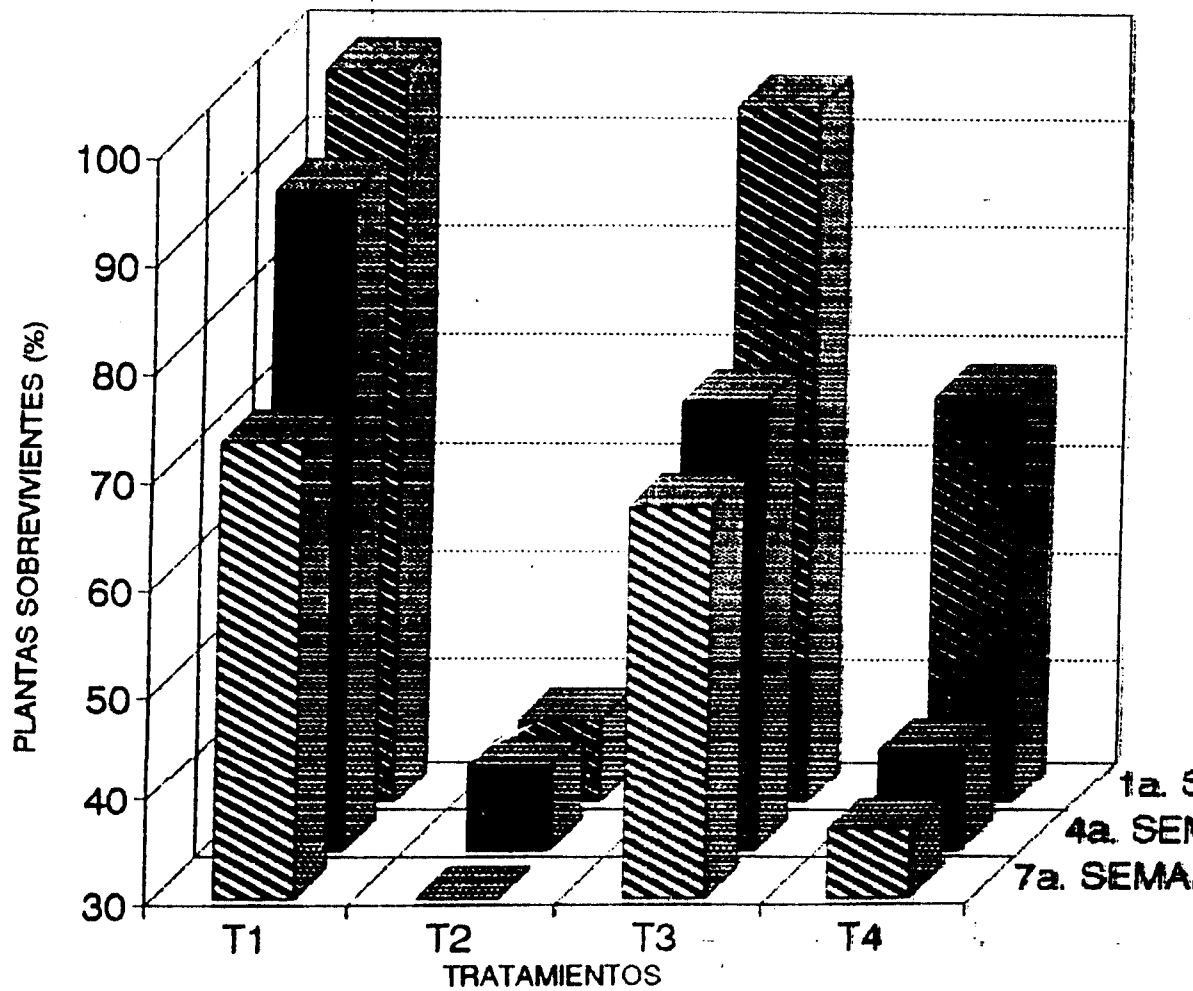


Fig. 10 - Porcentaje de plantas sobrevivientes, para las 1^a, 4^a, 7^a bajo la acción de Tolclofosmetyl (T1), Carboxin (T2), Trichoderm (T3), y el Testigo (T4), a nivel de invernadero. UES. 1995.

El análisis estadístico para plantas sobrevivientes, permitió obtener por diferencia, información sobre la variable - plantas muertas, en las que se observó que el mayor porcentaje fue exhibido por el tratamiento Carboxin (T_2), el cual presentó en la primera semana 61.67% y cuarta semana 61.67%, finalizando con 70% en la séptima semana. Le siguió el tratamiento testigo (T_4) el cual también presentó porcentajes altos de - plantas muertas, mostrando para la primera semana 31.67% de plantas muertas, 60% en la cuarta semana y 63.33% de plantas muertas.

Como era de esperarse ambos tratamientos mostraron que la cantidad de inóculo (40 gr.) fue suficiente para provocar toda una gama de síntomas propios del patógeno Rhizoctonia solani en el cultivo de frijol.

El tratamiento Trichoderma spp. (T_3) exhibió en la primera semana 5 % de plantas muertas, 27.48% en la cuarta semana y - 32.50% en la séptima semana.

Los porcentajes más bajos los presentó el tratamiento Tolclofosmetyl (T_1) mostrando en la primera semana, 1.67% de plantas muertas, 8.33% en la cuarta semana y 26.67% en la séptima semana.

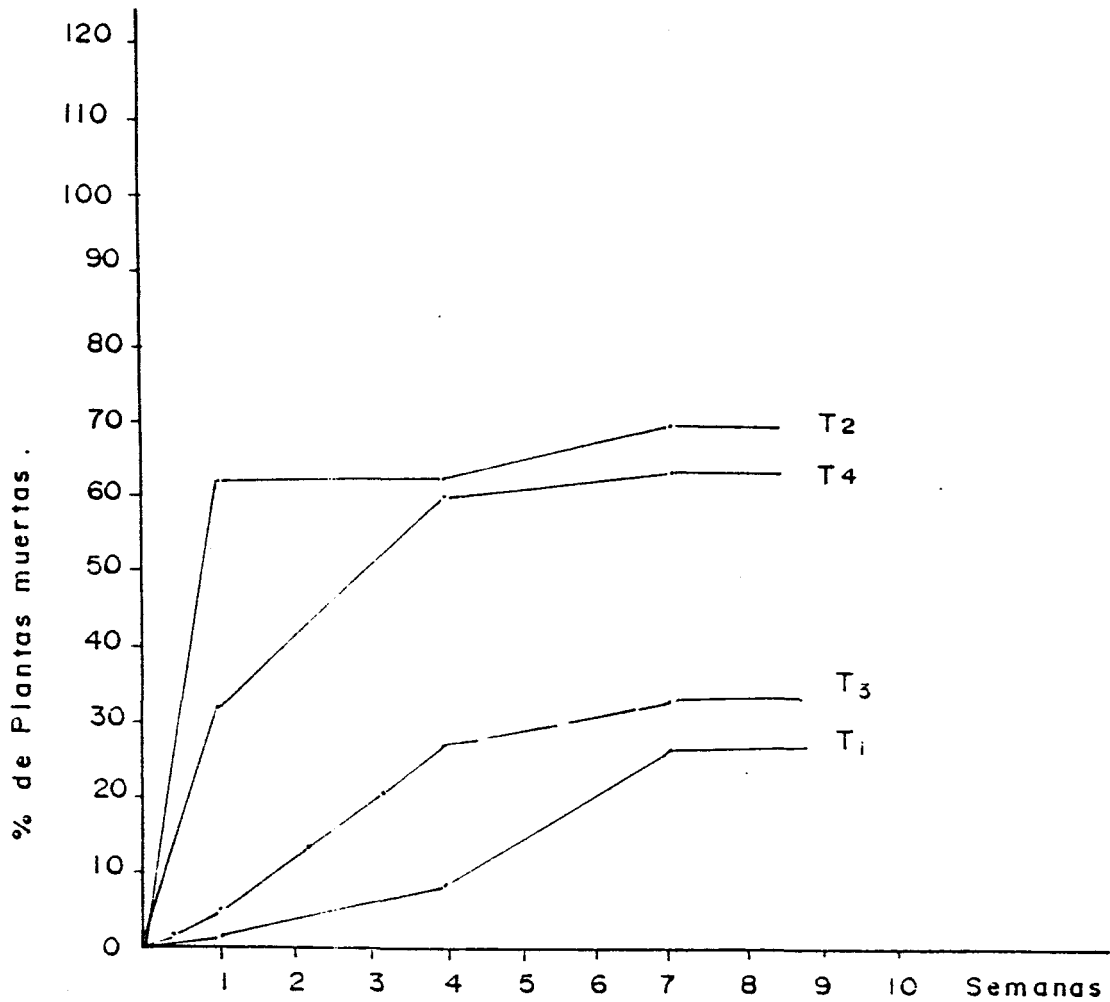


Fig. II - Mortalidad de plantas causadas por Rhizoctonia solani, en plantas de frijol, a nivel de invernadero, bajo los tratamientos con Tolclofosmetil (T1), Carboxin (T2), Trichoderma Spp. (T3), y el Testigo (T4) a nivel de invernadero. UES. 1995.

Al realizar el análisis estadístico y la respectiva prueba para la variable plantas vigorosas, se muestra alta significancia en los diferentes tratamientos aplicados; lográndose obtener el mayor porcentaje en la primera semana, destacándose el tratamiento Tolclofosmetyl (T_1), con 85.33%; para la cuarta semana se obtuvo un 72.50% y para la séptima semana 68.33% de plantas vigorosas.

Durante todo el período que duró la investigación, este tratamiento presentó los mayores porcentajes de plantas vigorosas, las cuales expresaron características propias de la variedad tales como hábito de crecimiento tipo II arbustivo, buen color y tamaño adecuado (40).

Para el tratamiento Trichoderma spp. (T_3) los resultados fueron: 65% plantas vigorosas en la primera semana, 44.17% para la cuarta semana y 39.17% para la séptima semana.

En este tratamiento también se encontraron plantas vigorosas, con buen aspecto, color y tamaño. A este respecto, Sandoval et al (52), reporta que en ensayos realizados en Cuba, en cultivos de tomate y chile, se observaron efectos benéficos producidos por Trichoderma harzianum (Cepa A-34), sobre la altura de las plantas, largo y ancho de las hojas y crecimiento radical, cuyas dimensiones fueron superiores a las plantas testigo. De igual manera Stefanova y Sandoval (57), reportan que Trichoderma spp. se comportó de manera si-

milar en el cultivo de tabaco, registrando mayores valores, - en peso de las plantas, altura y diámetro en las hojas, visualizándose mayor vigor en las plantas tratadas con el agente - biocontrolador Trichoderma spp.

Sin embargo para el presente estudio solamente se tomó en consideración, la altura, color, y aspecto general a criterio del tabulador de datos.

Con relación al tratamiento testigo (T_4), éste presentó - un 30.83% de plantas vigorosas en la primera semana, 33.33% en la cuarta semana y 32.50% en la séptima semana. De igual manera se comportó el tratamiento Carboxin (T_2) el cual presentó bajos porcentajes de plantas vigorosas, durante toda la investigación, presentando 30.83% en la primera semana, 24.17% en la cuarta semana y 20% en la séptima semana.

En ambos tratamientos, Carboxin y testigo (T_2 y T_4) y de manera general, las plantas presentaron debilidad, anomalía y bajos porcentajes de plantas vigorosas.

Cuadro 5. Porcentaje de plantas vigorosas en tratamientos de semillas y plántulas de frijol, bajo la acción de los tratamientos Tolclofosmetyl (T₁), Carboxin (T₂), Trichoderma spp. (T₃), y el testigo (T₄) a nivel de invernadero. UES, 1995.

TRATAMIENTOS	DOSIS (gr/L de agua)	PLANTAS VIGOROSAS (%)		
		1a. Sem.	4a. Sem.	7a. Sem.
T ₁ Tolclofosmetyl	10	85.33 A	72.50 A	68.33 A
T ₂ Carboxin	5	30.83 C	24.17 C	20.00 C
T ₃ <u>Trichoderma</u> spp.	1	65.00 B	44.17 B	39.17 B
T ₄ Testigo	Sin tratamiento	30.83 C	33.33 BC	32.50 B

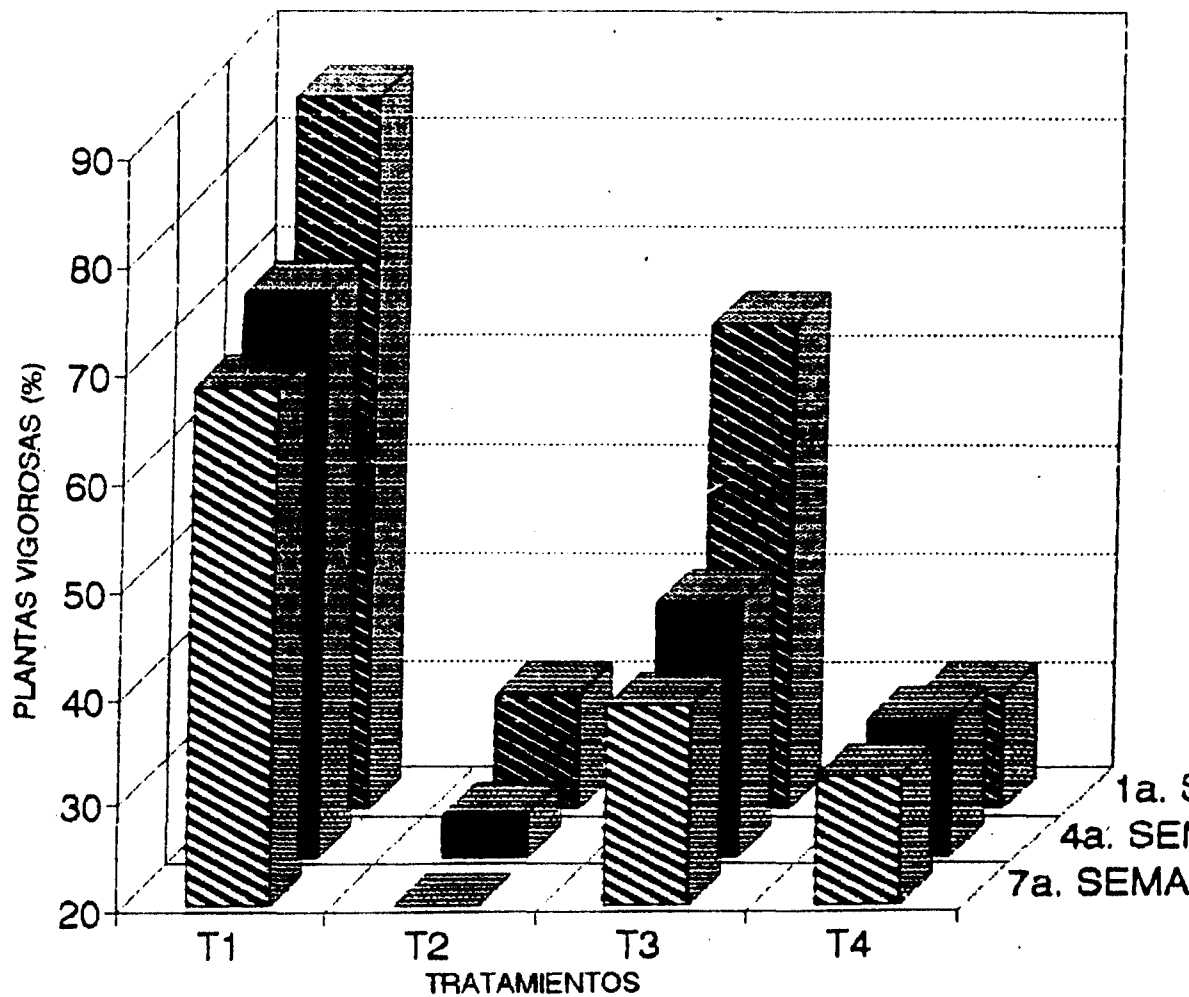


Fig. 12 - Porcentaje de plantas vigorosas, para las 1^a, 4^a, 7^a, semanas de acción de los Tratamientos Tolclofosmetyl (T1) Carboxin (T2), derma Spp. (T3), y el Testigo (T4), UES . 1995.

6. CONCLUSIONES

En vista de los resultados obtenidos y en las condiciones en que se desarrolló el experimento se concluye que:

1. En lo referente a la germinación, hubo diferencias significativas entre tratamientos, resultando ser mejor protector pre y post-emergente, el fungicida Tolclofosmetyl, seguido por el hongo Trichoderma spp.
2. Con relación al porcentaje de plantas sanas y sobrevivientes, se destacaron los tratamientos donde se usó Tolclofosmetyl y el hongo Trichoderma spp.
3. En lo relativo a plantas vigorosas, el mejor tratamiento fue donde se usó Tolclofosmetyl, logrando finalizar con 68.33% de plantas vigorosas.
4. Debido a los tratamientos aplicados, se manifestaron distintos grados de incidencia de la enfermedad, resultando en diferencias significativas entre los tratamientos; el orden de efectividad fue Tolclofosmetyl, Trichoderma spp., Testigo y Carboxin.

5. La clorosis ocasionada por el carboxin y la acción del patógeno (Rhizoctonia solani) dieron como resultado un alto porcentaje de plantas enfermas y muertas en el tratamiento (T₂).

6. Los diferentes resultados obtenidos en el tratamiento - testigo, muestran la necesidad de aplicar fungicidas protectores adecuados para controlar el chancro o pudrición radical ocasionado por Rhizoctonia solani Kuhn , pudiendo buscarse una alternancia entre fungicidas químicos con los biológicos.

7. RECOMENDACIONES

1. Continuar con la investigación del agente biocontrolador Trichoderma spp., con el propósito de encontrar una cepa que sea más agresiva y ejerza mejor control sobre el patógeno.
2. Probar con diferentes concentraciones y diversos períodos de aplicación, del hongo saprófito y micoparásito Trichoderma spp., a fin de proteger los cultivos en las etapas más críticas.
3. Lograr la elaboración de biopreparados a base del antagonista Trichoderma spp. con la finalidad de hacerlo accesible al pequeño agricultor, ya que éste está muy difundido y es de fácil reproducción.

8. BIBLIOGRAFIA

1. ABADA, K.A. 1994. Fungi causing damping-off and root-rot on sugar-beet and their Biological control with Trichoderma harzianum. Agr. Ecosyst Environ. Egypt. 51(3): 333-337.
2. ALEXOPOULOS, C.J. 1979. Introductory Micology. 3 ed. New York, John Wiley. P. 3, 6, 459, 463.
3. ANTAGONISTA MICROBIOLOGICO TRICOSAV-43. s.f. s.n.t.
4. AVILA DE SOLANO, B.D. 1991. Efecto antagónico de Bacillus subtilis contra hongos patógenos del suelo en tomate. Protección Vegetal. El Salvador. 1(1): 15-18.
5. AZCUNAGA, O.A. 1992. Manejo de la fertilización en el cultivo de frijol común (Phaseolus vulgaris L.) San Andrés, La Libertad, El Salvador. CENTA. Boletín Divulgativo No. 54. P. 5.
6. BARNETT, N.L.; HUNTER, B.B. 1972. Illustrated genera of imperfect Fungi. 3°ed. Minneapolis, Minesota, U.S.A. Burgess Publishing. P. 88-89, 208-209.
7. BHARDWAJ, S.A.; GUPTA, P.K. 1987. In vitro antagonism of Trichoderma species against fungal Pathogens associated with rhizome rot of ginger. - Indian, Journal of Plant Pathology. 5(1): 41-42. In Biocontrol news and information, June 1990, - 2(2) : 139.

8. BHARDWAJ, S.A.; GUPTA, P.K.; DOHROO, N.P.; SHYAM, K.R.
1988. Biological control of Rhizome rot of ginger in storage. Indian Journal of Plant Pathology. 6(1): 56-58. In Biocontrol News and information, June 1990, 2(2): 155.
9. BAUTISTA, M.J. 1991. Evaluación de los fungicidas - Tolclofosmetil y Pencycurón para prevenir, Rhizoctonia solani Kuhn en Phaseolus vulgaris L. Tesis para optar al título de Ing. Agr. San Salvador, Universidad de El Salvador, Facultad de Ciencias Agronómicas. 85 P.
10. BISIACH, M.; MINERVINI, G.; VERCESI, A. 1985. Investigación sobre la actividad de Trichoderma spp. contra Pythium ultimum. Cali, Colombia. CIAT. Boletín divulgativo No. 14.
11. BOADO, I.; QUITANA, E.; PELAYO, E.; ARANJO, T. 1995. Efecto de Bacillus sp. In. Plaguicidas Biológicos de origen Botánico; Primer Taller Internacional y Tercero Nacional. Bio Plag' 95. Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura - Tropical. EIDA. P. 11.
12. BRENE, B.M.; GALVEZ, G. 1986. La mustia hilachosa del frijol. In. Seminario Taller de Fitopatología (13, 1986, Panamá) Memorias Ed. Jorge Pinochet y Gabriel Val Linderman. Panamá. CATIE. P. 103-104.

13. BUSTAMENTE, E. 1986. El manejo integrado de enfermedades y la producción agrícola. In. Seminario Manejo Integrado de Plagas. (81., 1988, San José, - Costa Rica). Memoria San José, Costa Rica. CATIE. P. 173.
14. CASTRO MADRIZ, I. 1989. Combate integrado del mal del talluelo causado por Fusarium y Rhizoctonia - en semilleros de café, mediante calentamiento solar del suelo y el antagonista Trichoderma harzia-num. Ministerio de Agricultura e Industrias, Servicios Técnicos Interamericanos de Cooperación -- Agrícola. No. 4. P. 54-55.
15. CARDONA, C.; FLOR, C.A.; MORALES, F.J.; PASTOR, C.M. 1982. Problemas de campo en los cultivos de frijol en América Latina. 2 ed. Cali, Colombia. CIAT. P. 66-67; 100.
16. CARDOSO, J.E.; ECHANDI, E. 1990. Método de invernadero para seleccionar agentes biológicos para el control de la pudrición radical por Rhizoctonia en frijol. Resúmenes analíticos sobre frijol, CIAT. 16(2): 29.
17. CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL. 1982. Enfermedades del frijol causados por hongos y su control. 2 ed. Guía de estudio. Cali, Colombia. CIAT. P. 6-7.

18. CENTRO NACIONAL DE TECNOLOGIA AGROPECUARIA Y FORESTAL. 1993. Guía técnica del programa de frijol. San Andrés, La Libertad. El Salvador, C.A. -- CENTA. P. 1, 31-32.
19. COMMONWEALTH MYCOLOGICAL INSTITUTE. 1985. Manual para patólogos vegetales. 2 ed. Trad. por Bernardo A. La Torre, Santiago de Chile, FAO. P. 220-221.
20. DEACON, J.W. 1990. Introducción a la Mycología moderna. Micoparásitos. México, Limusa. P. 258-267.
21. DUARTE, A.; GUERRA, C.; CRUZ, H.; PEREZ, P.; TRIGUERO, N. 1995. Perspectivas de Trichoderma sección longibrachiatum como biocontrol de la gangrena de los Eucaliptos. In. Plaguicidas Biológicos de Origen Botánico; Primer Taller Internacional y Tercero Nacional Bio Plag'95. Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical-EIDA. P. 15.
22. DUBEY, R.C.; DWIVEDI, R.S. 1988. Antagonism between Macrophomina phaseolina and some Rhizosphere micro Fungi of Soybean. Journal of Tropical Plant Diseases. 6(1): 89-94. In. Biocontrol New and Information, June 1990. 2(2): 129.

23. ECHEVARRIA, E.; GONZALEZ, A.M.; MARRERO, H. 1983. -
Dos métodos de lucha contra el hongo causante del
tizón sureño en frijol. Resúmenes analíticos so-
bre frijol. CIAT. 12(6): 44.
24. ESQUIVEL R., V.H.; LEGUIZAMON C., J.E.; ARBELAEZ T.,
G. 1993. Búsqueda y evaluación de antagonistas
a Rosellinia bunodes agente causante de la llaga -
negra del cafeto. CENICAFE (Colombia). 42(2) :
31-32.
25. EL SALVADOR, DIRECCION GENERAL DE ECONOMIA AGROPECUA-
RIA. 1993. Economía Agropecuaria, Julio-Diciem-
bre de 1992. San Salvador, MAG. (Edición No. 18).
P. 25-79, 80.
26. FRAZIER, W.C. 1972. Microbiología de los alimentos.
Trad. por Victoria Medarde Agustín. 2 ed. Zara-
goza, España. Acribia. P. 30-31.
27. FRAY, W.E. 1982. Principles of plant disease manage-
ment, London Academic, Press. P. 175-193.
28. GOLDFARB, B.J.; NELSON, E.F.; HANSEN, E.M. 1989.
Trichoderma spp. growth rates and antagonism Phe-
llinus weii in vitro Mycologia (Oregon State).
81(3): 375-381. In. Biocontrol News and informa-
tion, June 1990, 2(2): 169.
29. GONZALEZ, L.C. 1985. Introducción a la fitopatología.
San José, Costa Rica. IICA. P. 33-35, 75-78, -
131-138.

30. GONZALEZ, N.; BOADO, I.; MARTIN, D.; QUINTANA, E.; PELAYO, E.; KAYAYA, M.; VENA, M. 1995. Efecto de una rizobacteria sobre Phytophthora parasítica -- Dastur en posturas de tomate. In. Plaguicidas -- Biológicos de Origen Botánico; Primer Taller Internacional y Tercero Nacional. Bio Plag'95. Instituto de Invetigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical-EIDA. P. 13.
31. GUPTA, S.K.; AGARWALA, R.K. 1988. Biological control of Sclerotinia stalk rot of cauliflower. Indian Journal of plan phathology. 6(1): 71-74.
Tomado de Biocontrol New and Information, June 1990. 2(2): 134.
32. LARA RODRIGUEZ, E.W. 1993. Biocontrol in vitro de Rhizoctonia sp. mediante aislamientos de Trichoderma sp. Protección Vegetal (El Salv.). 3(2): 5-18.
33. LOPEZ, M.; FERNANDEZ, F.; SCHOONHOVEN VAN, A. 1985. Frijol: Investigación y producción. Cali, Colombia. CIAT. P. 63-198, 199.
34. LUMSDEN, R.D.; GARCIA E, R.; LEWIS, J.A.; FRIAS T, G. A. 1990. Reduction of damping-off disease in soils from indigenous mexican agroecosystems. In. Basic Ecological concepts in agroecosystems. New York, U.S.A. Universidad de California, San Cruz. (V:78).

35. MARSHALL, D.S. 1982. Efecto del tratamiento de la se milla con Trichoderma harzianum y la concentración del inóculo de Rhizoctonia solani en la podredumbre del tallo de la habichuela en suelos ácidos. Resúmenes Analíticos sobre Frijol. CIAT. 66(9): 52-53.
36. MUTITU, E.W.; MUKUNYA, D.M.; KEYA, S.O. 1991. Control del amarillamiento por Fusarium en frijol mediante antagonistas bacterianos. Resúmenes Analíticos sobre Frijol. CIAT. 17(2): 11.
37. MEHROTRA, R.S.; ANEJA, K.R.; GUPTA, A.K.; ASHOK, A. 1988. Fungi-Agents of Biological control. -- In. Biocontrol of Plant diseases. Boca ratón, Florida, U.S.A. 1:37-52. In. Biocontrol News and information, June 1990. 2(2): 193.
38. NELSON, M.E.; POWELSON, M.L. 1988. Control biológico del moho gris de la habichuela por Trichoderma hamatum. Resúmenes analíticos sobre frijol. CIAT. 14(3): 48.
39. NUILA DE MEJIA, J.A. 1990. Manual de diseños experimentales con aplicación a la agricultura y ganadería. San Salvador, Universidad de El Salvador, - Facultad de Ciencias Agronómicas. P. 68-70.
40. OROZCO, J.D.; FIGUEROA, J.F. 1992. Dor 482 línea promisoría de frijol rojo. San Andrés, La Libertad, El Salvador. CENTA. (Hoja divulgativa No. 77).

41. PAEZ, C.A. 1976. Factores que afectan el hiperparasitismo de Trichoderma spp. en el control biológico del ojo de gallo en el café causado por Mycena citricolor. Tesis Ing. Agr. San José, Costa Rica, Facultad de Agronomía. 77 P.
42. PALAZON, I.J.; PALAZON, C.F. 1988. Estudio del antagonismo entre Trichoderma viride Tul. y las diferentes especies de hongos causante de podredumbres sobre frutas de pepita. Comunicaciones del II Congreso Nacional de Fitopatología. (1984, Puerto de la Cruz, Spain). P. 273-278. In. Biocontrol News and Information, June 1990, 2(2): 134.
43. PAPAIVIZAS, G.C.; LEWIS, J.A. 1989. Efecto de Gliocladium y Trichoderma en la podredumbre del pie y en el añublo de la habichuela causados por Sclerotium rolfsii en invernadero. Resúmenes analíticos sobre Frijol. CIAT. 15(3): 87.
44. PHILIPPINES. 1987. Management of rice pest. Plant Pathology, Agronomy Departments. 220 P.
45. PHILLIPS, A.J.L. 1990. Evaluation of tolclofosmethyl and some other fungicidal seed treatments against Rhizoctonia diseases of beans. Journal annals of Applied Biology. 116: 40-1.
46. PHILLIPS, A.J.L. 1992. A comparison of dust and Acetone - infusion applications of tolclofosmethyl to bean seeds for the control of Rhizoctonia solani. Journal of Plant Pathology. 41: 35-40.

47. RODRIGUEZ, V.M.; ASCENCIO, E.N. s.f. Identificación de patógenos en semillas criolla y mejorada y métodos de producción de semilla limpia en frijol común. San Andrés, La Libertad. El Salvador. CENTA. (Hojas divulgativas mimeografiada) 2 P.
48. RODRIGUEZ, N.; MORALES, N.; CUELLAR, I.; et al. -- 1995. Efecto antagonista de Pseudomonas sp. y Bacillus subtilis sobre hongos fitopatógenos del suelo. In. Plaguicidas Biológicos de Origen Botánico; Primer Taller Internacional y Tercero Nacional. Bic Plag'95. Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical-EIDA. P. 18.
49. SAN ANDRES, CENTRO NACIONAL DE TECNOLOGIA AGROPECUARIA Y FORESTAL. 1982. Hongos en semillas. La Libertad, El Salvador, MAG-CENTA. P. 25-26.
50. SANCHEZ GARITA, V. 1992. Control biológico de Rhizoctonia solani Kuhn. con binucleados semajantes a R. In. Memoria del IV Congreso Internacional de Manejo Integrado de Plagas 20-24 de abril de 1992, CEIBA. Ed. Abelino Pity. (Hond.) 33(1):321-327.
51. SANDOVAL, I.; STEFANOVA, M.; LOPEZ, M.O.; GARCIA, D. - 1995. Utilización de un biopreparado de Trichoderma para el control de enfermedades en tomate y pimiento. La Habana, Cuba. Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal 110 y 5ta. F. Miramar. II Encuentro Nacional de Agricultura Orgánica. Programa y Resúmenes del 17 al 19 de mayo de 1995. P. 67.

52. SANDOVAL, I.; LOPEZ, M.O.; GARCIA, D.; MENDOZA, I.
1994. Trichoderma harzianum (Cepa A-34): un bio
preparado de amplio espectro para Micopatologías
del tomate y pimiento. Resúmenes: IX Forum de -
Ciencia y Técnica. II Encuentro Nacional de Bio
plaguicidas. INISAV. P. 73-74.
53. SARASOLA, A.A.; ROCCA DE SARASOLA, M.A. 1975. Fito
patología. Pérdidas de los cultivos y su evalua
ción. Buenos Aires, Argentina. Editorial Hemis
ferio Sur. P. 179-195.
54. SCHOTH, M.N.; HANCOCK, J.G.; WEINHOLD, A.R. 1992.
Biological approaches to the control of plant
diseases. Beyond Pesticides (U.S.A.). P. 104,
111-118.
55. SIVAPALAN, A.; MORGAN, W.C.; FRANZ, P.R. 1994. -
Effect of inoculating Fungi into compost on growth
of tomato and compost microflora. Agriculture, -
Agronomy. (Australia). 34(4): 541-548.
56. STARNES, R.L.; LIU, CH. L.; MARRONE, P. 1993. Histo
ry, use and future of Microbial insecticides. Ame
rican Entomologist. P. 83-91.
57. STEFANOVA, N.M.; SANDOVAL, R.L. 1995. Efectividad
de biopreparados de Trichoderma spp. en el control
de hongos fitopatógenos de suelo. La Habana, Cuba.
Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal-
INISAV. (Boletín Técnico No. 2). 22 P.

58. STRASHNOW, Y.; ELAD, Y.; SIVAN, A.; CHET, I. 1985.
Control integrado de Rhizoctonia solani mediante
el uso de bromuro de metilo y Trichoderma harzia-
num. Cali, Colombia. CIAT. Boletín divulgativo
No. 14. P. 25.
59. SUNDHEIM, L.; TRONSMO, A. 1988. Hyperparasites in
Biological control. In. Biocontrol of Plant di-
seases. Boca ratón, Florida, U.S.A. 1:53-69.
60. TAPIA, B.H.; CAMACHO, N.A. 1988. Manejo integrado
de la producción de frijol, basado en la labranza.
Managua, Nicaragua. Ham, Marsjköld. P. 169.

9. **A N E X O S**

Cuadro A-6. Porcentaje promedio de semillas germinadas de frijol para 1 semana, bajo la acción de los tratamientos Tolclofosmetyl (T₁), Dinoclorfenoxin (T₂), Trichoderma spp. (T₃) y el Testigo (T₄) a nivel de parcela. UES, 1995.

TRATAMIENTOS	I	II	III	IV	V	VI	TOTAL
1	100	95	100	95	100	100	59
2	70	25	30	35	25	45	23
3	95	100	100	95	90	90	57
4	85	80	80	85	80	85	49
T O T A L	350	300	310	310	295	320	1,88

ANALISIS DE VARIANZA

F. de V.	G.L.	S.C.	C.M.	F. V.
Tratamientos	3	13769.792	4589.931	55.4
Error	20	1654.167	82.708	
T O T A L	23	15423.958		

Cuadro A-7. Porcentaje promedio de semillas germinadas de frijol para una semana, bajo la acción de los tratamientos Tolclofosmeto (T₁), Clorox (T₂), Trichoderma spp. (T₃), y el Testigo (T₄) a nivel de parcela. UES, 1995.

TRATAMIENTOS	I	II	III	IV	V	VI	TC
1	100	100	100	100	100	100	
2	75	60	50	55	60	65	
3	95	100	100	100	95	100	
4	90	90	100	100	90	90	
T O T A L	360	350	350	355	345	355	2,

ANALISIS DE VARIANZA

F. de V.	G.L.	S.C.	C.M.
Tratamientos	3	6103.125	2034.375
Error	20	537.500	26.875
T O T A L	23	6640.625	

Cuadro A-8. Porcentaje promedio de semillas germinadas de frijol para semana, bajo la acción de los tratamientos Tolclofosmetyl xín (T_2), Trichoderma spp. (T_3), y el Testigo (T_4) a nivel dero. UES, 1995.

TRATAMIENTOS	I	II	III	IV	V	VI	TOT
1	100	100	100	100	100	100	6
2	75	60	50	55	60	65	3
3	95	100	100	100	95	100	5
4	90	90	100	100	90	90	5
T O T A L	360	350	350	355	345	355	2,1

ANALISIS DE VARIANZA

F. de V.	G.L.	S.C.	C.M.
Tratamientos	3	6103.125	2034.375
Error	20	537.500	26.875
T O T A L	23	6640.625	

Cuadro A-9. Porcentaje promedio de plantas sanas de frijol para la primavera bajo la acción de los tratamientos Tolclofosmetyl (T_1), Carbofenoxim (T_2), Trichoderma spp. (T_3) y el Testigo (T_4), a nivel de invierno 1995.

TRATAMIENTOS	I	II	III	IV	V	VI	TOTAL
1	20	19	19	19	20	20	117
2	12	5	6	6	5	9	43
3	18	17	19	17	15	15	101
4	6	9	12	10	10	10	57
T O T A L	56	50	56	52	50	54	318

ANALISIS DE VARIANZA

F. de V.	G.L.	S.C.	C.M.	F.
Tratamientos	3	16036.458	5345.486	55
Error	20	1929.167	96.458	
T O T A L	23	17965.625		

Cuadro A-10. Porcentaje promedio de plantas sanas de frijol para la cuarta cosecha bajo la acción de los tratamientos Tolclofosmetyl (T_1), Carboxin (T_2), Trichoderma spp. (T_3) y el Testigo (T_4), a nivel de invierno 1995.

TRATAMIENTOS	I	II	III	IV	V	VI	TOTAL
1	15	17	8	15	18	15	88
2	6	1	1	3	5	6	22
3	11	11	11	10	9	7	59
4	2	7	6	6	8	5	34
T O T A L	34	36	76	34	40	33	103

ANALISIS DE VARIANZA

F. de V.	G.L.	S.C.	C.M.	F
Tratamientos	3	10678.125	3559.375	2
Error	20	3070.833	153.542	
T O T A L	23	13748.958		

Cuadro A-11. Porcentaje promedio de plantas sanas de frijol para la séptima cosecha bajo la acción de los tratamientos Tolclofosmetyl (T_1), Carbendazim (T_2), Trichoderma spp. (T_3) y el Testigo (T_4), a nivel de invernadero en el año 1995.

TRATAMIENTOS	I	II	III	IV	V	VI	TOTAL
1	15	17	8	15	18	15	88
2	6	1	0	2	4	6	19
3	11	11	9	9	8	7	55
4	2	6	3	6	8	5	30
T O T A L	34	35	20	32	38	33	192

ANALISIS DE VARIANZA

F. de V.	G.L.	S.C.	C.M.
Tratamientos	3	11725.000	3908.333
Error	20	3275.000	163.750
T O T A L	23	15000.000	

Cuadro A-12. Porcentaje promedio de plantas sobrevivientes de frijol para
 ra semana, bajo la acción de los tratamientos Tolclofosmetyl
 boxin (T₂), Trichoderma spp. (T₃) y el Testigo (T₄) a nivel
 dero. UES, 1995.

TRATAMIENTOS	I	II	III	IV	V	VI	TOTAL
1	100	95	100	95	100	100	590
2	70	25	30	35	25	45	230
3	95	100	100	95	90	90	570
4	75	70	35	70	85	75	410
T O T A L	340	290	265	295	300	310	1,800

ANALISIS DE VARIANZA

F. de V.	G.L.	S.C.	C.M.	F
Tratamientos	3	14000.000	4666.667	3
Error	20	3100.000	155.000	
T O T A L	23	17100.000		

Cuadro A-13. Porcentaje promedio de plantas sobrevivientes de frijol para ta semana, bajo la acción de los tratamientos Tolclofosmety boxin (T₂), Trichoderma spp. (T₃) y el Testigo (T₄) a nivel nadero. UES, 1995.

TRATAMIENTOS	I	II	III	IV	V	VI	TOTAL
1	95	95	75	90	100	95	550
2	50	30	25	30	45	50	230
3	70	80	75	75	70	65	435
4	30	45	40	35	50	40	240
T O T A L	245	250	215	230	265	250	1,455

ANALISIS DE VARIANZA

F. de Var.	G.L.	S.C.	C.M.	F.
Tratamientos	3	12161.458	4053.819	57
Error	20	1404.167	70.208	
T O T A L	23	13565.625		

Cuadro A-14. Porcentaje promedio de plantas sobrevivientes de frijol por semana, bajo la acción de los tratamientos Tolclofosmeto, Carboxin (T₂), Trichoderma spp. (T₃) y el Testigo (T₄) a nivel de sembrado. UES, 1995.

TRATAMIENTOS	I	II	III	IV	V	VI	TOTAL
1	75	85	40	75	90	75	440
2	45	10	25	25	35	40	180
3	70	65	65	75	65	65	405
4	30	35	35	35	45	40	220
T O T A L	220	195	165	210	235	220	1,245

ANALISIS DE VARIANZA

F. de Var.	G.L.	S.C.	C.M.
Tratamientos	3	8486.458	2828.819
Error	20	2554.167	127.708
T O T A L	23	11040.625	

Cuadro A-15. Porcentaje promedio de plantas vigorosas de frijol para la semana, bajo la acción de los tratamientos Tolclofosmetyl boxin (T₂), Trichoderma spp. (T₃) y el Testigo (T₄), a nivel vernadero. UES, 1995.

TRATAMIENTOS	I	II	III	IV	V	VI	TOTAL
1	95	80	75	85	90	90	515
2	50	25	30	20	25	35	185
3	80	65	60	55	75	55	390
4	25	30	40	25	35	30	185
T O T A L	250	200	205	185	225	210	1,275

ANALISIS DE VARIANZA

F. de Var.	G.L.	S.C.	C.M.
Tratamientos	3	13228.125	4409.375
Error	20	1562.500	78.125
T O T A L	23	14790.625	

Cuadro A-16. Porcentaje promedio de plantas vigorosas de frijol para la semana, bajo la acción de los tratamientos Tolclofosmetyl boxin (T₂), Trichoderma spp. (T₃) y el Testigo (T₄), a nivel vernadero. UES, 1995.

TRATAMIENTOS	I	II	III	IV	V	VI	TOTAL
1	70	85	60	55	85	80	435
2	30	30	5	10	30	40	145
3	60	45	25	55	40	40	265
4	20	40	35	25	45	35	200
T O T A L	180	200	125	145	200	195	1,045

ANALISIS DE VARIANZA

F. de Var.	G.L.	S.C.	C.M.
Tratamientos	3	7911.458	2637.153
Error	20	2962.500	148.125
T O T A L	23	10873.958	

Cuadro A-17. Porcentaje promedio de plantas vigorosas de frijol para la semana, bajo la acción de los tratamientos Tolclofosmetyl boxin (T₂), Trichoderma spp. (T₃) y el Testigo (T₄), a nivel vernadero. UES, 1995.

TRATAMIENTOS	I	II	III	IV	V	VI	TOTAL
1	60	65	60	70	80	75	410
2	35	5	15	20	20	25	120
3	45	45	30	45	35	35	235
4	25	35	40	25	40	30	195
T O T A L	165	150	145	160	175	165	960

ANALISIS DE VARIANZA

F. de Var.	G.L.	S.C.	C.M.	
Tratamientos	3	7558.333	2519.444	
Error	20	1291.667	64.583	
T O T A L	23	8850.000		

CUADRO A-18. COSTOS DE PRODUCCION DE FRIJOL SISTEMA "RELEVO CON MAIZ". CENTA 1993.

DESCRIPCION	CLASE	CANTIDAD	COSTO/UNID.	TOTAL
a] INSUMOS				
SEMILLA	MEJORADA	100 lbs	¢ 4.00	¢ 400.00
FERTILIZANTE	16-20-0	220 lbs	0.85	187.00
INSECTICIDAS	GAUCHO	367.2 gr.	1.32	487.70
	HERALD	666 cc.	325.00	216.45
	TAMARON 600	1 litro	69.00	69.00
	CARACOLICIDA	10 lbs	14.00	140.00
FUNGICIDAS	DITHANE M-45	2.20 lbs.	26.00	57.20
	COBRE ANTRAC.	1.5 Kg.	50.00	75.00
HERBICIDA	GRAMOXONE	2 LITROS	49.00	98.00
SUB- TOTAL				¢1.790.35

DESCRIPCION	JORNALES	COSTO/JORNAL	COSTO TOTAL
B] MANO DE OBRA			
Aplicacion	2	¢ 18.80	¢ 37.60
Siembra y tratamiento de semilla.	4	18.80	75.20
Fertilizante	2	18.80	37.60
Aplicacion pesticida[4]	8	18.80	150.40
Aplicacion caracolicida	1	18.80	18.80
Limpia	8	18.80	150.40
Arranque y secado	8	18.80	150.40
Aporreo, soplado y envasado	10	18.80	188.00
SUB-TOTAL			¢ 808.40

IMPREVISTOS 5%	¢ 129.94
COSTO TOTAL DE PRODUCCION	¢ 2,728.60
PRODUCCION 20/qq mz.	
VALOR DE LA PRODUCCION ¢200/qq	¢ 4,000.00
BENEFICIOS POR Mz.	¢ 1,271.31
RELACION BENEFICIO/COSTO	¢ 0.46

RENTABILIDAD 46.49 %

ANEXO A-19

PRUEBAS PREVIAS, METODOLOGIA Y RESULTADOS

PRUEBA 1.

PERIODO DE INCUBACION Y PATOGENICIDAD DE Rhizoctonia solani - Kuhn.

Previo al ensayo principal fué necesario determinar el período idóneo de incubación del patógeno R. solani, para lo cual se prepararon cultivos puros del patógeno en P.D.A. y se mantuvieron a temperatura ambiente por tiempo de 8, 12 y 14 días. - Posteriormente se prepararon 10 macetas conteniendo 14.5 lbs. de suelo autoclavado a 80 °C, se les colocó el inóculo preparado anteriormente a razón de 25 ml/maceta, a 3 cm. de profundidad, se cubrió y regó. A los cinco días se sembró en cada maceta 6 semillas de frijol y luego fueron llevados a condiciones de invernadero.

Los resultados mostraron que los períodos de incubación fueron similares para los tres casos (8, 12 y 14 días). En cuanto a la patogenicidad el 93.33% de semillas y plántulas fue dañado por el hongo R. solani y solamente el 6.66% emergió sin daños, comprobándose la capacidad de infección del patógeno.

PRUEBA 2.

AGRESIVIDAD DE Trichoderma spp. FRENTE A Rhizoctonia solani EN EL CULTIVO DE FRIJOL.

Para probar este aspecto se extrajo de cajas Petri conteniendo colonias puras del hongo Trichoderma spp. un gramo de -

esporas, éstas fueron colocadas en un frasco de vidrio, con capacidad de 400 ml (esterilizados); también se introdujeron 25 semillas de frijol, las cuales por agitación, fueron cubiertas de una capa finísima de conidios del hongo Trichoderma spp. Las semillas se colocaron en cuatro macetas conteniendo suelo autoclavado (80 °C), previamente inoculado con 25 gr de R. solani, el cual fué reproducido en laboratorio en arroz precocido estéril. A los diez días se evaluó la prueba y los resultados fueron: De 25 semillas de frijol, 23 germinaron normalmente (92%), sólo dos fueron atacadas a nivel de plántulas (8%).

PRUEBA 3.

INOCUIDAD DE Trichoderma spp. EN EL CULTIVO DE FRIJOL

A cuatro macetas conteniendo 14.5 lbs. de suelo autoclavado a 80 °C se les mezcló 50 ml de medio (PDA) con cultivo puro de Trichoderma spp. Después de cinco días se sembraron 8 semillas de frijol por maceta.

Se observaron las plantas hasta la etapa productiva (formación de las primeras vainas) comprobándose que el hongo no inhibía la germinación ni el desarrollo del cultivo. En su totalidad las plantas fueron sanas y vigorosas.

PRUEBA 4.

AGRESIVIDAD DE Trichoderma spp. FRENTE A Rhizoctonia solani in vitro.

En esta prueba se trató de medir el comportamiento de los hongos, por lo que en cajas Petri conteniendo 20 ml de PDA se colocó un trozo de 1 cm^2 de cultivo puro de Rhizoctonia solani y en el otro extremo 1 cm^2 de Trichoderma spp, realizándose cuatro repeticiones, las cuales fueron colocadas en un sitio fresco a temperatura ambiente. Este proceso se llevó a cabo dentro de la cámara de flujo laminar en la zona de seguridad.

Los resultados a las 48 horas fueron: Rhizoctonia solani colonizó la mitad del área de la caja Petri (90 mm. x 20 mm.) presentando un crecimiento radial de 5 cm. de diámetro, de color café claro. Trichoderma spp. presentó colonias radiales de 3.5 cm de diámetro, de aspecto algodonoso y de color blanco. A las 96 horas se observó que Trichoderma spp presentaba aspecto granulado de color verde intenso y áreas amarillas, ocupando un tercio del área y desplazándose aún sobre R. solani. A las 108 horas Trichoderma spp. presentaba un claro dominio sobre Rhizoctonia solani, invadiendo más de dos tercios del espacio, causándole destrucción a las colonias de Rhizoctonia solani, comprobándose el efecto controlador del hongo.