

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL
CUSCO**

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS TROPICALES

AGRONOMÍA TROPICAL



“TESIS FINANCIADA POR LA UNSAAC”

=====
**“EFECTO DE TRES CEPAS DE *Trichoderma spp.* y SEIS
FUNGICIDAS EN EL CONTROL DE LA PUDRICION SECA DEL
FRIJOL (*Sclerotium sp.*) EN LA CONVENCION”**
=====

Tesis presentada por el Bachiller:

Edwin Paúcar Venero

Para optar al Título Profesional de:

Ingeniero Agrónomo Tropical

ASESORA:

M.Sc Fanny Rosario Márquez Romero

**QUILLABAMBA – CUSCO - PERU
2015**

DEDICATORIA

A mi Madre por su apoyo incondicional para terminar esta investigación. Por su infinito amor, a quien debo todo lo que soy con todo mi Cariño y gratitud

A mi tío Dionísio (Q.E.P.D.), dedico este trabajo con todo mi amor, por ser mi Fortaleza en todo momento. Aunque no está físicamente pero sí en mi corazón, por los buenos consejos que nunca me faltaron, por ser mi amigo incondicional. Yo sé que desde el cielo te sientes orgulloso al verme finalizando mi carrera, por eso este documento hecho con mucho sacrificio y dedicación va dirigido a tu memoria.

A María. A. Ferro Ayquipa y a su familia por confiar en mí, alentarme siempre y por su apoyo incondicional para concluir mi carrera.

AGRADECIMIENTOS

Expreso mi profunda gratitud y mi sincero reconocimiento a:

- La Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, mi alma mater.
- A la Facultad de Ciencias Agrarias Tropicales Sede Quillabamba, en particular a mis Docentes por sus valiosas enseñanzas que contribuyeron en mi formación profesional.
- A la M. Sc. Fanny Rosario Márquez Romero, asesora de la presente tesis por su orientación constante e invaluable apoyo en la ejecución y culminación del presente trabajo.
- A todas aquellas personas que de una u otra manera colaboraron con el desarrollo de la tesis, expresar mi gratitud por haber hecho posible la culminación del presente trabajo de investigación.

ÍNDICE

	RESUMEN	
I.	INTRODUCCIÓN	1
1.1	Planteamiento del problema	4
1.2	Objetivos	6
1.2	Justificación	6
1.3	Hipótesis	7
II.	MARCO TEÓRICO	8
2.1	Antecedentes	8
2.2.	<i>Phaseolus vulgaris</i> "Frijol"	9
2.2.1.	Origen	9
2.2.2.	Taxonomía del frijol	11
2.3.	Morfología del Frijol	11
2.3.1.	Raíz	11
2.3.2.	Tallo	12
2.3.3.	Ramas y Complejos axilares	13
2.3.4.	Hojas	14
2.3.5.	Inflorescencia	15
2.3.6.	Flor	16
2.3.7.	Fruto	16
2.3.8.	Semilla	17
2.4.	Importancia del Frijol	18
2.4.1.	Producción a nivel mundial	18
2.4.2.	Producción a nivel nacional	18
2.4.3.	Producción a nivel regional	19
2.4.4.	Producción a nivel local	20
2.5.	Pudrición seca del frijol <i>Sclerotium sp</i>	21
2.5.1.	Descripción	21
2.5.2.	Antecedentes y distribución de <i>Sclerotium sp</i>	22
2.5.3.	Sintomatología	23
2.5.4.	Ciclo de la enfermedad	24
2.5.5.	Taxonomía de <i>Sclerotium sp</i>	26

2.5.6	Mecanismos de acción	26
2.5.7.	Síntomas	28
2.5.8	Signos	29
2.5.9.	Daños	31
2.5.10.	Control Químico	33
2.5.11.	Control Biológico: Hongos antagonistas	40
III.	MATERIALES Y MÉTODOS	52
3.1.	Ubicación del Experimento	52
3.1.1	Ubicación Geográfica y Climática	52
3.2.	Materiales	53
3.2.1.	Fase de Laboratorio	53
3.2.2.	Fase de Invernadero	54
3.3.	Métodos	55
3.3.1.	Fase de Laboratorio	55
3.3.1.1.	Aislamiento, purificación y mantenimiento de <i>Sclerotium sp</i>	55
3.3.1.2.	Prueba in vitro de fungicidas para el control de <i>Sclerotium sp</i>	58
3.3.1.3.	Determinación del porcentaje de antagonismo de los biocontroladores (<i>T. harzianum</i> , <i>T. viride</i> y <i>T. lignorum</i>) frente a <i>Sclerotium sp.</i> en la prueba de enfrentamiento a nivel in vitro	62
3.3.2.	Fase de Invernadero	66
3.3.2.1	Determinación del porcentaje de control de los biocontroladores (<i>T. harzianum</i> , <i>T. viride</i> y <i>T. lignorum</i>) y fungicidas sobre el agente causal (<i>Sclerotium sp.</i>) en condiciones de invernadero	66
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIONES	70
V.	CONCLUSIONES	85
VI.	RECOMENDACIONES	86
	BIBLIOGRAFIA	87
	ANEXOS	91

ÍNDICE DE CUADROS

N°		PAG.
1	Superficie de frijol grano seco (ha); campaña 2012-2013	20
2	Superficie de frijol grano seco (ha) - campaña 2014	20
3	Características de los Fungicidas de Contacto	34
4	Características de los Fungicidas Sistémicos	35
5	Prueba in vitro de fungicidas para el control de <i>Sclerotium sp.</i>	61
6	Distribución física de los tratamientos de fungicidas a nivel in vitro usados para el control de <i>Sclerotium sp.</i>	61
7	Tratamientos in vitro utilizados para determinar la capacidad antagónica de los biocontroladores sobre el agente causal.	64
8	Distribución física de los tratamientos a nivel in vitro utilizados para determinar la capacidad antagónica de los biocontroladores sobre el agente causal.	65
9	Tratamientos de los biocontroladores (<i>T. harzianum</i> , <i>T. viride</i> y <i>T. lignorum</i>) y fungicidas sobre <i>Sclerotium sp</i> en condiciones de invernadero.	68
10	Distribución física para determinar el porcentaje de control de los biocontroladores (<i>T. harzianum</i> , <i>T. viride</i> y <i>T. lignorum</i>) y fungicidas sobre el agente causal (<i>Sclerotium sp.</i>) en condiciones de invernadero.	69
11	Cuadro ordenado de resultados del desarrollo micelial de <i>Sclerotium sp.</i> con diferentes fungicidas a nivel in vitro	72
12	Análisis de variancia del desarrollo micelial promedio de <i>Sclerotium sp.</i> con diferentes fungicidas a nivel in vitro.	72
13	Prueba de Tukey (0.05) para el desarrollo micelial promedio de <i>Sclerotium sp.</i> con diferentes fungicidas.	73

14	Prueba de Tukey (0.05) para el desarrollo micelial promedio de <i>Sclerotium sp.</i> en tratamientos con diferentes dosis.	74
15	Análisis de variancia del desarrollo micelial promedio por efectos de la interacción (fungicidas x dosis) a nivel in vitro	75
16	Crecimiento del desarrollo micelial de <i>Sclerotium sp.</i> en presencia de los biocontroladores (<i>T. viride</i> , <i>T. lignorum</i> y <i>T. harzianum</i>) a nivel in vitro.	76
17	Porcentaje de crecimiento del desarrollo micelial de <i>Sclerotium sp.</i> en presencia de <i>T. harzianum</i> , <i>T. viride</i> y <i>T. lignorum</i> a nivel in vitro.	76
18	Análisis de variancia de la inhibición del desarrollo micelial de <i>Sclerotium sp.</i> en presencia de los biocontroladores <i>T. viride</i> , <i>T. lignorum</i> y <i>T. harzianum</i> .	77
19	Prueba Tukey de la inhibición del desarrollo micelial de <i>Sclerotium sp.</i> en presencia de los biocontroladores <i>T. viride</i> , <i>T. lignorum</i> y <i>T. harzianum</i> .	78
20	Número de plantas de frijol sanas por maceta transformadas a \sqrt{x} en el control de <i>Sclerotium sp.</i> por medio de los biocontroladores <i>T. viride</i> , <i>T. harzianum</i> , <i>T. lignorum</i> y los fungicidas Difenconazole, Tebuconazole y Procloraz a nivel de invernadero.	80
21	Análisis de variancia para el número de plantas de frijol sanas por macetas, previa transformación a \sqrt{x} .	81
22	Prueba Tukey para el número de plantas de frijol sanas por macetas, en el control de <i>Sclerotium sp.</i> por medio de los biocontroladores y los fungicidas a nivel de invernadero.	81

ÍNDICE DE FIGURAS

N°		PAG.
1	(A) Micelio blanco y los esclerocios en formación. (B) Semilla que ha germinado y es atacada por el hongo	22
2	Ciclo del <i>Sclerotium sp</i>	25
3	Placa petri luego de ser marcada para su evaluación de fungicidas a nivel in vitro	59
4	Placa petri luego de ser marcada para su evaluación invitro en la determinación del porcentaje de antagonismo.	63
5	Desarrollo micelial promedio de <i>Sclerotium sp.</i> (mm) en los diferentes fungicidas	73
6	Inhibición del desarrollo micelial promedio (mm) de <i>Sclerotium sp.</i> en presencia de <i>T. viride</i> , <i>T. lignorum</i> y <i>T. harzianum</i> .	78
7	Porcentaje de plantas vivas por macetas.	82

RESUMEN

El presente trabajo de investigación se realizó en las instalaciones de la Facultad de Ciencias Agrarias Tropicales (UNSAAC – sede Quillabamba), localizado en la provincia de La Convención (Cusco), entre enero y marzo del 2014, se estudió el efecto de tres cepas de *Trichoderma harzianum*, *T. viride*, *T. lignorum* y seis fungicidas (Mancozeb, Tebuconazole, Difenoconazol, Prochloraz, Propineb, Propóleo) en el control de la pudrición seca de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en condiciones in vitro e invernadero.

Se evaluaron fungicidas de contacto (Prochloraz 450 g/l CE, Mancozeb 80% WP y Propineb 70% WP) y sistémicos (Difenoconazole 250 g/l CE y Tebuconazole 250 g/l EW), a fin de determinar la eficacia de cada uno de ellos en el control de *Sclerotium sp.* aislado de plántulas de frijol. Para este experimento se utilizó la Técnica del Medio de Cultivo Envenenado (French y Herbert, 1980), empleándose diferentes dosis baja (0.5), media (2.5) y alta (4.5) (%).

El aislamiento del agente causal de las plantas enfermas de frijol y de los esclerotes encontrados en el suelo, sembradas en medio PDA en condiciones in vitro a 28°C. Cuyos resultados son: Al cumplirse los cuatro principios del postulado de Koch, el agente causal es *Sclerotium sp.*

A nivel in vitro, los mejores fungicidas que inhibieron completamente el crecimiento de *Sclerotium sp.* fueron tres: Tebuconazole, Difenoconazole y Prochloraz controlan en sus 3 dosis baja (0.5), media (2.5), alta (4.5) y se recomienda usar la dosis baja por ahorro de ingrediente activo y el mejor biocontrolador es *T. viride* ya que presenta un 18% de la inhibición del crecimiento.

A nivel de invernadero, el porcentaje de control de los biocontroladores y fungicidas sobre *Sclerotium sp.* fueron para: *T. viride* y *T. lignorum* de 98% de plantas vivas por maceta y el mejor fungicida fue el Difenoconazole obtuvo 98% de las plantas vivas por maceta.

I. INTRODUCCIÓN

El presente trabajo de investigación se realizó en el control de pudrición seca de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) donde se comparó la incidencia del agente causal con 3 tipos de *trichodermas spp.* y 6 fungicidas dando como resultado en las pruebas in vitro, el porcentaje de antagonismo de los biocontroladores.

Este trabajo de investigación se realizó Facultad de Ciencias Agrarias Tropicales – UNSAAC.se trabajó con el método de Koch, en la fase de invernadero con el método inoculación y evaluación incidencia. Mostraron para *T. viride* 18% de la inhibición del crecimiento seguido de *T. lignorum* con 13.7% y *T. harzianum* con 6.1% respecto a *Sclerotium sp.*

El aislamiento del agente causal de la pudrición seca del frijol, fue obtenido a partir de plantas afectadas de frijol y de suelo infestado provenientes del campo experimental de la Facultad de Ciencias Agrarias Tropicales – UNSAAC. Para obtener y saber cual es agente causal, después de obtener el agente causal se realizó pruebas a nivel in vitro e invernadero.

Primeramente se realizó la Prueba in vitro de fungicidas para el control de *Sclerotium sp.* para saber cuál de los fungicidas controlo mejor al agente causal donde se evaluaron fungicidas de contacto (Procloraz 450 g/l CE, Mancozeb 80% WP y Propineb 70% WP) y sistémicos (Difenoconazole 250 g/l CE y Tebuconazole 250 g/l EW), a fin de determinar la eficacia de cada uno de ellos en el control de *Sclerotium sp.* aislado de plántulas de frijol. Para este experimento se utilizó la Técnica del Medio de Cultivo Envenenado (French y Herbert, 1980), empleándose diferentes dosis baja (0.5), media (2.5) y alta (4.5) (%) según lo recomendado por la casa comercial.

Otra de las pruebas que se realizo fue determinación del porcentaje de antagonismo de los biocontroladores (*T. harzianum*, *T. viride* y *T. lignorum*) frente a *Sclerotium sp.* en la prueba de enfrentamiento a nivel in vitro para

saber cuál de los 3 *Tprichodermas* controlan más al *Sclerotium sp.* para lo cual se realizó.

Evaluar la actividad antagónica de las cepas de los biocontroladores se realizó la técnica del enfrentamiento en placas petri con medio PDAO. También se realizó la determinación del porcentaje de control de los biocontroladores (*T. harzianum*, *T. viride* y *T. lignorum*) y fungicidas sobre *Sclerotium sp.* en condiciones de invernadero.

En esta fase de invernadero se probaron los biocontroladores (*T. harzianum*, *T. viride* y *T. lignorum*) y fungicidas (Difeconazole, Tebuconazole y Prochloraz). Bayer (2009), indica seleccionar la dosis baja porque las dosis media y alta presentaron el mismo efecto de control que la dosis baja

El frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) es el de mayor importancia debido a su adaptabilidad a los diferentes climas y suelos de nuestro país. Constituye una fuente proteica de alta digestibilidad, constituida por varios aminoácidos esenciales para el metabolismo humano entre ellos isoleucina, leucina, fenilalanina, metionina, triptófano y varía entre 20 y 30%. Además, puede considerarse también como alimento de alto valor energético, ya que contiene de 45 a 70% de carbohidratos totales por aportar cantidades importantes de minerales. En las distintas variedades no existen diferencias notables de estos contenidos.

A su vez este cultivo es importante en la provincia de convención debido es un cultivo de pan llevar, con un alto contenido de proteínas ayudando a mejorar la nutrición de la población, así mismo genera recursos económicos al agricultor ya que es un cultivo económicamente rentable y adaptable a diferentes zonas del país.

Su producción agrícola al mes de abril del 2013 se incrementó en 11.2 % principalmente en los cultivos de papa, maíz choclo y frijol grano seco. La producción acumulada de frijol grano seco se incrementó en 191.1 % en comparación o similar al período del año anterior, principalmente en los distritos de: Mollepata se incrementó en 172.5 % (690 t), en Echarate se incrementó en 73 % (292 t), en Chinchaypujio se incrementó en 560 % (168 t) y en Limatambo se incrementó en 196.3 % (106 t).

Los problemas fitosanitarios que presenta este cultivo son a nivel pre y post emergente ya que la convención favorece con su clima calido y alta humedad dentro de las enfermedades que presenta este cultivar son los hongos como *sclerotium sp.* es considerada como enfermedad importante en Brasil, Chile, Colombia, México, Perú, Uruguay y Venezuela. En Chile, durante 1987 *S. rolfsii* estuvo afectando 150 ha de cultivo de frijol provocando daños de alta magnitud, anteriormente había sido detectada en otros cultivos. Así mismo menciona que en 1892 Rolfs observo al hongo causando el tizón de tomate en Florida. En el Perú se continúa registrando su presencia en cultivos de cebada, frijol, arroz, papa, etc. Durante 1987 en los meses de mayo a junio, afectó hasta un 30 % de plantas de cebada al estado de macollamiento y encañado en la zona de Carhuaz (Huaraz).

1.1 Planteamiento del problema objeto de investigación.

a. Identificación del problema

En la actualidad se dispone de suficiente información sobre los factores climáticos, edáficos y biológicos involucrados en la producción del frijol, pero existe una agobiante falta de información sobre los métodos de control Biológico y con fungicidas de la pudrición seca del frijol *Sclerotium sp.* En la Provincia de La Convención.

b. Descripción del problema.

Según la Estadística Agraria del Perú del Ministerio de Agricultura del Perú; para el 2013 llegó a ocupar una extensión de 84 mil hectáreas de frijol común grano seco, contó con una producción de 98 mil toneladas y el promedio nacional fue 1116 kilogramos por hectárea.

La mayor superficie se encuentra concentrada en departamento de Cajamarca, seguido de Amazonas, Arequipa, Ancash, Cusco y Apurímac son principales departamentos productores. En el Cusco se siembra 1700 ha en las provincias de La Convención, Acomayo, Paruro Paucartambo, Urubamba y Quispicanchis no se tiene reportes de los niveles de producción, pero se viene trabajando de forma sostenida.

Sclerotium sp. causa la pudrición seca del frijol, pudiendo también atacar las hojas y vainas, atacando especialmente en plántulas adultas y en proceso de crecimiento.

La presencia del hongo *Sclerotium sp.*, se ve reflejada en la disminución considerable de los niveles de producción, causando grandes pérdidas económicas al agricultor; es debido a esto que nos planteamos comparar biocontroladores y fungicidas a nivel de laboratorio e invernadero con la finalidad de recomendar el uso más adecuado para el control del agente causal

de la pudrición seca del frejol y así solucionar este problema que agobia a la agricultura de La Convención que en % de incidencia es el 25 %. (CIAT, 1988)

La alta incidencia reduce la producción, el beneficio económico y por lo tanto el interés del agricultor por el cultivo.

c. Formulación del problema.

¿Cuál será el efecto del uso de tres cepas de *Trichoderma spp.* y seis fungicidas en el control de la pudrición seca del frijol (*Sclerotium sp.*)?

1.2. OBJETIVOS

1.2.1. Objetivo General

Evaluar el efecto de tres cepas de *Trichoderma spp.* y seis fungicidas sobre el agente causal de la pudrición seca del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.).

1.2.2. Objetivos Específicos

- Realizar el aislamiento, purificación y mantenimiento del agente causal de la pudrición seca del frijol.
- Determinación del porcentaje de antagonismo de los biocontroladores (*T. harzianum*, *T. viride* y *T. lignorum*) frente a *Sclerotium sp.* en pruebas in vitro.
- Evaluar el comportamiento de *Sclerotium sp* frente a seis fungicidas.
- Determinación del porcentaje de control de los biocontroladores (*T. harzianum*, *T. viride* y *T. lignorum*) y fungicidas sobre *Sclerotium sp.* a nivel de invernadero.

1.3. Justificación

El presente trabajo de investigación aportará con la generación de información que contribuirá a la reducción de la incidencia de *Sclerotium sp.* en el cultivo del frijol que se ve afectado en una disminución de la producción y calidad que genera pérdidas hasta del 50 % de los costos de producción. CIAT 1988. Incidencia es la proporción o porcentaje de unidades enfermas, es una medida cualitativa. Y severidad se refiere al nivel promedio de enfermedad de una unidad se expresa como el área o volumen de tejido vegetal que está enfermo.

En el marco de la agricultura orgánica es necesario demostrar la eficiencia de los biocontroladores frente al uso de los fungicidas o establecer el uso combinado de estos con fines de reducir el uso indiscriminado de productos químicos en bienestar del ambiente y la mejora de las utilidades generadas por la actividad agrícola dedicada a la producción del frijol.

Además el control biológico se presenta como una alternativa eficaz, esperanzadora y libre de riesgo frente a los numerosos y crecientes problemas derivados del uso de los productos químicos biocidas. El control biológico por definición, consiste en la aplicación de técnicas compatibles con la conservación del medio ambiente mediante el uso de los enemigos naturales, que actuando de un modo natural, controlan el nivel poblacional de las distintas enfermedades y plagas sin ocasionar problemas de contaminación ni de residuos químicos.

1.4. HIPÓTESIS

Ho.- Las tres cepas de *Trichoderma* y seis fungicidas tienen efecto controladores sobre *Sclerotium sp.* a nivel in vitro e invernadero.

Ha.- Las tres cepas de *Trichoderma* y seis fungicidas no tienen efecto controladores sobre *Sclerotium sp.* a nivel in vitro e invernadero.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes.

Paricoto. (2008), evaluó el efecto del control biológico de 3 especies de *Trichoderma spp.* sobre el patógeno *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib) de Bary en el cultivo de Frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). Busco además conocer el efecto de aplicación de los biocontroladores (*T. harzianum*, *T. viride* y *T. lignorum*) sobre el rendimiento del frijol y concluye que *T. harzianum* tuvo un desarrollo micelial superior a *Sclerotinia sclerotiorum* a nivel in vitro, por tanto copara la rizosfera por competencia antes que *Sclerotinia sclerotiorum*; La cepa de *T. viride* demostró un alto nivel de antagonismo hacia *Sclerotinia sclerotiorum* (in vitro), con un 12,05 % de inhibición, seguido del efecto observado de *T. harzianum* con un 10,86 %. Además que *T. viride* y *T. lignorum*, brindaron un número de plantas sanas de 94 % y 92 %. *T. viride* mostró ser un mejor biocontrolador para *Sclerotinia sclerotiorum* en condiciones de invernadero.

Carhuavilca. (2011), evaluó el efecto de especies de *Trichoderma spp* en el control del Ojo de Pollo (*Mycena citricolor* (Berk. & Curtis) Sacc) del café. Busco determinar el porcentaje de incidencia de ojo de pollo *Mycena citricolor* (Berk. & Curtis) Sacc y su comportamiento frente a las especies de *Trichoderma spp*. Además determinar la especie de *Trichoderma spp* más eficaz sobre el patógeno y concluyo que *Trichoderma viride* presentó el mejor resultado con el menor incremento de la incidencia o inóculo de *Mycena citricolor* igual a 5.88%. Además que las especies más eficaces para el control del ojo de pollo *Mycena citricolor* (Berk. & Curtis) Sacc, está dada por una combinación de *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma viride*.

Olivos (1989), menciona que la en la evaluación en el cultivo de cebolla logrando determinar que esta especie afecta a aliáceas, además evaluó el control biológico del *Sclerotium cepivorum* en cebolla amarilla logrando como resultado que los *Trichoderma* controlan significativamente dicho agente causal.

Matos y Higaona (1993), mencionan que *Sclerotium rolfsii* ataca al género aliáceas (cebollas) lechuga y leguminosas 40% de incidencia a nivel de cultivos agro exportación en la Costa. En la región Cusco los horticultores son afectados en un 50 % por la enfermedad conocido como la pudrición blanca (*Sclerotinia sclerotiorum*) afectando al tomate, lechuga, frijoles.

2.2. *Phaseolus vulgaris* “FRIJOL”

2.2.1. Origen

Bolkam (1980), menciona que las poblaciones silvestres de *Phaseolus vulgaris* se encuentran desde el centro de México hasta el norte de Argentina, particularmente en regiones de niveles meso térmicos, vegetación baja y estaciones alternas. En cuanto al área y origen o domesticación la evidencia arqueológica no es muy clara; frijoles cultivados han sido encontrados en México y la sierra de Perú de hace 7000 años y frijoles silvestre en Oaxaca, México, de 9000 años.

Valladolid (1993), menciona que las leguminosas se cultivaron desde tiempos prehistóricos, aproximadamente 10 000 años a.C., actualmente se encuentran un número de especies que están distribuidas en los diferentes países del mundo.

Bolkam (1980), señala que las investigaciones arqueológicas han permitido ubicar restos en diversos sitios de EEUU, México y Perú. En la región suroeste de los EEUU, se han encontrado restos cuya antigüedad se remonta a unos 2300, 1500 y 1000 años a.c.

En México los restos arqueológicos de frijol se encuentran en el Rio Zape y Durango, tienen la misma antigüedad de 1300 años a.C.; los de la Región Ocampo y Tamaulipas fluctúan entre los 6000 y 4300 a.C; mientras los de la Cueva de Coexcatlan que se sitúan en el Valle de Tehuacán, Puebla 7000 años a.C. En el Perú se ha encontrado restos con antigüedad de 2000 años a.C. en la Huaca Prieta, de 2500 años a.C. en el Valle de Nazca y ejemplo de frijoles completamente domesticados en la Cueva de Guitarrero, en el Callejón de Huaylas-Ancash, a los cuales según la prueba del Carbono 14 se les atribuye una antigüedad de 768+/-280 a 1000+/-300 a.C. Los frijoles encontrados en el Callejón de Huaylas, aproximadamente 30 especímenes, corresponden a granos rojo, marrón oscuro y rojo oscuro, también había granos moteados, algunos de forma redonda, otros planos y otros alargados o arriñonados.

El Centro Internacional de Agricultura Tropical – CIAT (1984), para explicar el proceso de domesticación y variabilidad existente en el frijol cultivado y aquella que se quedó en estado silvestre, empleando la electroforésis de faseolina (proteína principal de la semilla de frijol) con apoyo de la Universidad de Wisconsin en un estudio sistemático de las formas silvestres y cultivadas de *Phaseolus vulgaris* L. en Meso-América y los Andes, pudo establecer poblaciones silvestres de orígenes distintos por su faseolina. En el Norte de los Andes y América Central se encontró faseolina tipo T y en México del tipo S que es más frecuente; en 1989 se hallaron 7 tipos de faseolina en 25 genotipos silvestres de Perú y Bolivia. Estos resultados aclaran el papel de los Andes del Sur como uno de los centros de domesticación.

2.2.2. Taxonomía del frijol

Camarena *et al.*, (2009) señalan la siguiente clasificación taxonómica:
Propuesta por Cronquist.

Reino	: Vegetal
División	: Magnoliophyta
Clase	: Magnoliopsida
Subclase	: Rosidae
Orden	: Fabales
Familia	: Fabaceae
Subfamilia	: Faboides
Género	: <i>Phaseolus</i>
Especie	: <i>Phaseolus vulgaris</i> L.
N.V	: Frijol

2.3.- MORFOLOGÍA

2.3.1. Raíz

Singh (1999), menciona que la raíz pivotante se ramifica en distinto grado, desde unas pocas raíces hasta un sistema fibroso muy complejo. Su profundidad varía desde pocos centímetros hasta un metro. La nodulación se concentra en las raíces superiores, los nódulos, esféricos o poliédricos, miden hasta 5 mm de ancho. El desarrollo de la planta de *Phaseolus vulgaris* se inicia con la germinación epigea, en la que el hipocótilo emite raíz primaria y varias secundarias y termina en los cotiledones, que al desprenderse dejan cicatrices permanentes.

Valladolid (1993), menciona que la etapa inicial está formada por la radícula del embrión que luego se transforma en raíz principal. De ella salen las raíces secundarias y de estas la terciario y así sucesivamente. El mayor volumen del sistema radical se concentra en los primeros 20 cm de profundidad del suelo.

Las raíces con frecuencia presentan nódulos de forma poliédrica, de 2 a 5 mm de diámetro, colonizados por bacterias del género *Rhizobium*.

Camarena *et al.* (2009), mencionan que la raíz es profunda y pivotante (hasta 1.95 m.), tiene abundantes ramificaciones laterales, pudiendo alcanzar una longitud de 1.40 m., por lo que las plantas pueden absorber mayor cantidad de agua y nutrientes en comparación a los frijoles comunes. En sus raíces crecen los nódulos, que son protuberancias donde viven las bacterias del género *Rhizobium* que son las encargadas de fijar el nitrógeno del aire y que la planta utiliza para su nutrición.

2.3.2. Tallo

Singh (1999), indica que la planta de frijol se ramifica a partir del eje central en ramas primarias, secundarias y hasta terciarias; la forma de ramificación es característica hereditaria del cultivar. Tanto el tallo como las ramas se forman de entrenudos cilindros o aristados que se engruesan en la parte superior para constituir el nudo; en este el tallo cambia de dirección de crecimiento y por eso la planta de frijol parece estar formada por tallos y ramas en zig-zag.

En cada nudo hay una estipula aguda caediza, en la axila formada por la inserción de la hoja y el tallo, hay tres yemas que se desarrollan en ejes florales o vegetativos.

Valladolid (1993), menciona que la primera parte del tallo comprendida entre la inserción de las raíces y el primer nudo se denomina hipocótilo. El primer nudo es el punto de inserción de los cotiledones. Entre el nudo cotiledonal y el segundo donde van insertadas las hojas primarias es el epicótilo. El tallo puede ser erecto, semi postrado y postrado. Ello depende del hábito de crecimiento de la variedad.

CIAT (1988), sostiene que el hábito de crecimiento del tallo es un carácter morfo agronómico, está relacionado al manejo del cultivo y el potencial de rendimiento de la variedad. Se consideran 4 tipos de hábito de crecimiento:

Tipo I: Hábito de crecimiento arbustivo determinado

Tipo II: Hábito de crecimiento arbustivo indeterminado

Tipo III: Hábito de crecimiento postrado indeterminado

Tipo IV: Hábito de crecimiento indeterminado trepador

Camarena *et al.* (2009), mencionan que el tipo I, tipo II, tipo III, tipos de hábito de crecimiento son comunes en la Costa. En tanto que el tipo IV lo es más en la sierra y en la selva, por la predominancia de los sistemas de cultivos asociados, principalmente con maíz.

2.3.3. Ramas y Complejos axilares

Valladolid (1993), indica que las ramas se desarrollan a partir del complejo de tres yemas ubicadas en las axilas. Los complejos axilares están constituidos por tres yemas denominadas triadas. El desarrollo de las triadas puede ser de 3 tipos: completamente vegetativo, floral y vegetativo, completamente floral.

1.- Desarrollo completamente vegetativo.- En este caso la yema central se desarrolla primero y produce una rama. De las dos yemas laterales, solo una tiende a desarrollarse. Este tipo de desarrollo de las yemas sucede en el tercio inferior de la planta.

2.- Desarrollo floral y vegetativo.- En este caso la yema central produce una inflorescencia y las laterales al menos una rama.

3.- Desarrollo completamente floral.- En este caso, solo las yemas laterales se desarrollan convirtiéndose en botones florales. La yema central permanece en estado latente. Este tipo de desarrollo se presenta en el último nudo de las plantas de hábito I.

Camarena *et al.* (2009), menciona que el número de entrenudos y guías o ramas laterales es variado y en los tipos indeterminados al crecer las ramas laterales tienden a enrollarse y entrelazarse. La ramificación se origina en la parte basal del tallo y comienza a los 15 o 20 días después de la emergencia. La planta presenta diferentes hábitos de crecimiento: erecto, semierecto, postrado y semipostrado. El tamaño de las planta varía entre 25 cm. (tipos erectos) y 80 cm. (tipos semierectos). En los postrados, no se registra altura de planta.

2.3.4 Hojas

Singh (1999), menciona que las hojas del primer par que aparecen arriba de los cotiledones son opuestas, simples y acorazonadas. Las superiores alternas se forman de tres folíolos: el central obovado y simétrico, los laterales asimétricos. El peciolo tiene una base engrosada, el pulvinulo, debajo del cual hay una estipula, el tamaño y forma de los peciolos varían considerablemente según el cultivar y los factores ambientales. Debajo de la inserción de los folíolos laterales hay un par de estipelas; el peciolo se continúa en el raquis a cuyo final es otro par de estipelas y la inserción del folíolo están articulados al raquis por peciolulos diminutos.

Valladolid (1993), menciona que las hojas primarias o embrionarias son unifoliadas y crecen de manera opuesta y las hojas verdaderas son trifoliadas. La forma de los folíolos puede ser lineal, lanceolada u ovalada. La orientación de las hojas es de tipo plano en las variedades cultivadas y erectas en las variedades silvestres. El área foliar se incrementa con la edad de la planta. El número de hojas producido por cada planta es alto, de ahí que el frijol caupí pueda usarse como forraje o abono verde. En la etapa de fructificación las hojas caen, este proceso se acentúa cuando existe déficit de agua.

Camarena *et al.*, (2009) mencionan que la planta tiene dos tipos de hojas: simples y compuestas. Las hojas simples opuestas, son las hojas primarias insertadas en el segundo nudo y caen antes que alcance su máximo desarrollo.

Las hojas compuestas, son trifoliadas. El foliolo central es simétrico, en tanto que los dos laterales son asimétricos.

2.3.5 Inflorescencia

Singh (1999), menciona que la inflorescencia es un racimo axilar con pedúnculo cilíndrico o aplanado hasta de 10 cm de largo; el raquis, donde emergen las flores, de 1 - 8 cm, esta generalmente cubierto de pubescencia fina. En los nudos del raquis, encima de un bráctea, aparecen tres primordios florales; los dos laterales se desarrollan en flores y el central permanece latente; por esto las flores del frijol surgen en pares que se abren simultáneamente o, como es más corriente, con un día de diferencia; en algunos casos la yema central puede dar origen a un eje floral secundario o una flor terminal. La flor del frijol es típicamente de simetría bilateral, o sea que solo se puede dividir en dos partes iguales si se corta por un plano vertical o a lo largo de la flor.

Valladolid (1993), indica que las inflorescencias pueden ser terminales o axilares. En la inflorescencia puede distinguirse tres componentes: el eje de la inflorescencia que se compone de pedúnculo y raquis, las bractéolas primarias y los botones florales. Antes de abrirse las primeras flores, el pedúnculo se alarga rápidamente. El raquis es una sucesión de nudos. Los nudos se distinguen por que en ellos se localizan las brácteas primarias. Así mismo, la axila formada entre la bráctea y el raquis existe un complejo de tres yemas (triada floral). De cada triada floral, generalmente las dos yemas laterales se transforman en flores.

Camarena *et al.* (2009), mencionan que el primer tallo floral se origina en la axila, entre las hojas y el tallo, se desarrolla en la parte media de las plantas; a partir de esta, la floración progresa hacia arriba y hacia abajo. Las flores se dan en pequeños racimos y dependiendo de la variedad, son: blancas, blancas con manchas moradas, moradas o amarillas. Presentan 5 pétalos que reciben nombres específicos, un estandarte, dos alas y dos pétalos soldados que forman

la quilla. Las flores son hermafroditas, por lo que son preferentemente autogamas.

2.3.6 Flor

Camarena *et al.* (2009), sostienen que la flor es una típica papilionácea. La flor consta de 4 partes: cáliz, corola, androceo y gineceo. El cáliz, es de forma acampanulada, con 5 dientes triangulares dispuestos en dos grupos: 2 completamente soldados y 3 visibles en la parte baja. En la base del cáliz hay 2 bractéolas ovoides, de tamaño casi dos veces mayor al del cáliz.

La corola, como en la mayoría de las papilionáceas, se forma de cinco pétalos diferentes y libres, el superior "estandarte" de los pétalos libres, el más sobresaliente se denomina estandarte; los dos restantes corresponden a las alas. Los dos pétalos soldados corresponden a la quilla que envuelve al androceo y al gineceo. La corola puede ser de color blanco, rosado o purpura. El androceo, está formado por 9 estambres soldados por su base y uno libre frente al estandarte. El gineceo, incluye el ovario comprimido, el estilo encorvado y el estigma lateral terminal con agrupaciones de pelos en forma de brochas.

2.3.7 Fruto

Singh (1999), menciona que la legumbre del frijol común es falcada o curva, aplanada y con ápice encorvado o recto. Un gen dominante determina el color verde de la vaina tierna, que puede ser modificado por una serie de alelos dando la coloración rojiza a morada, uniforme en manchas. Los tipos comerciales de vainas incoloras.

Valladolid (1993), indica que es una vaina con dos valvas provenientes del ovario comprimido, las valvas unidas conforman dos suturas. La sutura placentar o dorsal a la que están unidas las semillas y la sutura ventral. La presencia de fibra en las suturas y en la parte interna de las valvas determina la dehiscencia, carácter morfo agronómico importante que sirve para clasificar las

variedades. Vainas con mucha fibra en las suturas y en las valvas tienden a abrirse a la madurez de cosecha.

Camarena *et al.* (2009), mencionan que es una típica flor papilionácea en él pueden distinguirse 2 procesos botón floral y flor completamente abierta, el botón floral, bien sea que se origine en las inserciones del racimo o en desarrollo completamente floral de las yemas de axilas, en su estado inicial está envuelto por las bractéolas que tienen forma ovalada o redonda en su estado final, la corola que aún está cerrada sobresale y las bractéolas cubren solo el cáliz.

2.3.8 Semilla

Singh (1999), los óvulos en dos líneas, según sus conexiones vasculares, están unidos a la placenta por un funículo grueso que al madurar la semilla forma una superficie de separación generalmente hundida, en la semilla de las leguminosas provistas de una testa impermeable, la función del hilo es equilibrar la humedad de la semilla con el ambiente, expandiéndose si el aire está seco o cerrándose si está húmedo, la semilla propiamente dicha está constituida principalmente por cotiledones formados de parénquima con alto contenido en almidón y proteínas.

Valladolid (1993), menciona que se origina del ovulo fecundado. Puede tener varios colores y formas: ovoides, esféricos, arriñonados, etc. Internamente la semilla está constituida solamente por el embrión, el cual está formado por la plúmula, las dos hojas primarias, el hipocótilo, los dos cotiledones que concentran las reservas nutritivas y la radícula.

Camarena *et al.* (2009), mencionan que la semilla del frijol es una exalbuminosa es decir que posee un albumen, por tanto las reservas nutritivas se contraen en los cotiledones se origina de un ovulo campilotropo pueden tener varias formas: cilíndrica, de riñón, esférica u otras formas.

2.4 IMPORTANCIA DEL FRIJOL

Singh (1999), indica que el frijol común *Phaseolus vulgaris* es una de las legumbres más importantes en el mundo que por sus características nutricionales y agronómicas es una fuente importante de proteínas, fibra dietética, minerales y vitaminas (tiamina, riboflavina, niacina, calcio, hierro y magnesio) para millones de personas a nivel mundial.

Valladolid (1993), menciona que el género *Phaseolus* comprende 50 especies, de las cuales cuatro son de importancia económica: *Phaseolus vulgaris*, *Phaseolus lunatus*, *Phaseolus coccineus* y *Phaseolus acutifolius*; siendo el frijol *Phaseolus vulgaris* L. el de mayor interés económico por ser cultivado en regiones templadas y tropicales.

2.4.1 Producción a nivel mundial

FAO (2012), menciona según cifras estimadas que la producción a nivel mundial ha venido en aumento, tanto en América Latina y el resto del mundo. La producción mundial de frijol grano seco el año 2012 alcanzo 21.6 millones de toneladas con una superficie cosechada que varía de 28.5 a 30.2 millones de hectáreas, destacando como principales productores Brasil con 3.4 millones de toneladas, India con 3.2 millones de toneladas, China con 2.0 millones de toneladas y los países que destacan con las mayores superficies cosechadas son India y Brasil cuyos registros observados muestran que el primer país tiene incrementos de superficie que van de 5.8 millones de hectáreas en el año 2009 y el año 2011 con 8.0 millones de hectáreas.

2.4.2 Producción a nivel nacional

El Ministerio de Agricultura y Riego - MINAGRI (2014), indica que la superficie cosechada de menestras ha ido incrementándose sostenidamente en nuestro país; siendo el frijol castilla, el caupí, el frijol de palo, el pallar, el haba y la arveja los cultivos con mayor crecimiento; ubicándose el frijol común grano

seco dentro de los diez principales cultivos. El Perú en 2013 ocupó una extensión de 84 mil hectáreas de frijol común grano seco, con una producción de 98 mil toneladas y el rendimiento promedio nacional fue 1116 kilogramos por hectárea. Así mismo la mayor superficie se encuentra concentrada en el departamento de Cajamarca, con 17 839 hectáreas seguido de Amazonas con 7 553 hectáreas y Arequipa con 6 583 hectáreas. Cajamarca destaca en la superficie cosechada y representa el 24 % del total nacional, siendo las provincias andinas con mayores áreas sembradas, Cajamarca, Celendín, San Marcos y Amazonas que ocupa el segundo lugar y representa el 10 % en superficie cosechada sembradas en Ceja de Selva. En Arequipa, se cosechan menores áreas que Amazonas pero la producción es mayor por el alto rendimiento promedio (0.9 t/ha), esto debido al uso de semillas certificadas y al manejo adecuado del cultivo.

Camarena *et al.* (2009), mencionan que en el Perú el cultivo de frijol, está ampliamente difundido con cultivares que se adaptan a las diferentes regiones del país y la producción proviene en su gran mayoría de pequeños productores. El frijol se siembra mayormente en la región de la sierra, como un cultivo secundario, en lotes pequeños en asociación con otros cultivos o después de un cultivo principal, se le considera como un cultivo de subsistencia para autoconsumo y su venta se realiza mayormente en las ferias que son muy usuales en la mayoría del territorio. Sin embargo, hay agricultores que han introducido las variedades arbustivas y precoces de frijol que alcanzan mayores volúmenes de producción y tienen acceso al mercado nacional e internacional.

2.4.3 Producción a nivel regional

La Dirección Regional de Agricultura Cusco - DRAC (2013), indica que la producción agrícola al mes de abril del 2013 se incrementó en 11.2 % principalmente en los cultivos de papa, maíz choclo y frijol grano seco. La producción acumulada de frijol grano seco se incrementó en 191.1 % en comparación o similar al período del año anterior, principalmente en los distritos de: Mollepata se incrementó en 172.5 % (690 t), en Echarate se incrementó en

73 % (292 t), en Chinchaypujio se incrementó en 560 % (168 t) y en Limatambo se incrementó en 196.3 % (106 t).

2.4.4 Producción a nivel local

La producción a nivel local en la provincia La Convención es la que se muestra en el siguiente cuadro:

Cuadro N° 01. Superficie de frijol grano seco (ha); campaña 2012-2013

DISTRITO	SUPERFICIE SEMBRADA (ha)	S.COSECHADA GRANO SECO (ha)	PRODUCCION ANUAL (ENE-DIC) (tm)	RENDIMIENTO (Kg/ ha)	PRECIO (S/. KG)
ECHARATE	195	195	292	1483	2.6
HUAYOPATA	12	12	12	1000	2.45
MARANURA	4	4	4	1000	2.35
OCOBAMBA	6	6	8.6	1500	2.35
QUELLOUNO	65	65	97	1495	2.3
SANTA ANA	9	9	10	1250	2.23
SANTA TERESA	5	5	5	1000	2.3
VILCABAMBA	35	35	35	1000	2.28

Fuente: Informes Anuales DRAC -2013

La producción de frijol según DRAC-2013 en la Provincia de la Convención a nivel local el distrito con la mayor producción es el distrito de Echarate 292 tm seguido por el distrito de Quellouno con 97 tm, luego está el distrito de Vilcabamba con una producción de 35 tm, en Huayopata con 12 tm, en Santa Ana con 10 tm seguido por Ocobamba, Santa Teresa y Maranura.

2.5. PUDRICIÓN SECA DEL FRIJOL *Sclerotium rolfsii*

2.5.1. Descripción

Aycock (1966), indica que *S. sp.* se caracteriza por presentar micelio blanco y sedoso con abundante micelio aéreo, crece sobre substratos conteniendo azúcares simples. Las colonias crecen radialmente y el micelio se presenta denso y disperso en manojos concéntricos. El micelio en algunos aislamientos se presenta como cordones rizomórficos. Las hifas son hialinas, de pared delgada cuando jóvenes septadas y con dos clampas de conexión en los bordes, a veces desarrollan ramas. Además, los esclerotes constituyen un conjunto de hifas que se unen en forma paralela en número de tres a doce, luego toman la forma esférica. Estas estructuras pueden desarrollarse en cuatro días, pero los esclerotes se forman solo cuando el micelio está completamente cubierto por el hongo o cuando el desarrollo se encuentra limitado.

Reyes *et. al.* (2002), mencionan que *Sclerotium rolfsii.* es un hongo fitopatógeno que infecta plantas cultivadas y silvestres, incluyendo en su rango de hospedantes especies cultivadas como el tomate, pimiento, maní, zanahoria y otros cultivos de importancia económica. Este hongo causa la pudrición de las pasturas (damping-off) en semilleros y de las plantas jóvenes en siembras directas; está distribuido en regiones tropicales y subtropicales.

Reyes *et. al.* (2002), mencionan que *Sclerotium rolfsii* es el hongo causante de la enfermedad conocida como pudrición seca. Este hongo patógeno habita en el suelo y hace su aparición, principalmente en las épocas lluviosas del año cuando la temperatura es alta.

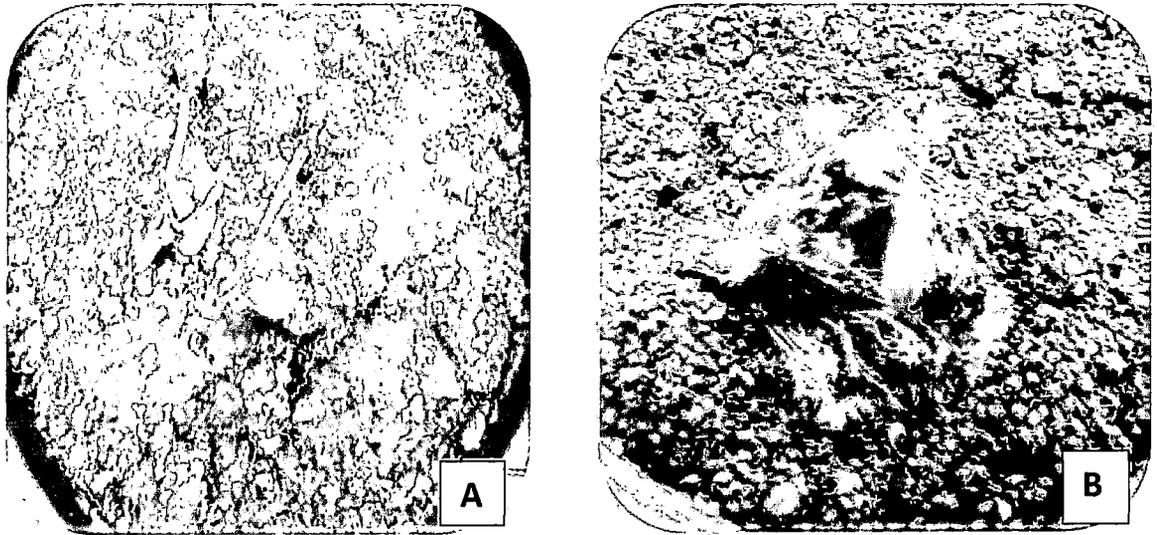


Figura N° 01. (A) Micelio blanco y los esclerocios en formación. (B) Semilla que ha germinado y es atacada por el hongo

2.5.2 Antecedentes y distribución de *Sclerotium rolfsii*

Aycock (1966), afirma que este patógeno es común en el sur de los Estados Unidos, América Central, la región del Caribe, América del Sur, África, Asia, Filipinas y varios países Europeos.

Olivos (1989), indica que en América Latina es considerada como enfermedad importante en Brasil, Chile, Colombia, México, Perú, Uruguay y Venezuela. En Chile, durante 1987 *S. rolfsii* estuvo afectando 150 ha de cultivo de frijol provocando daños de alta magnitud, anteriormente había sido detectada en otros cultivos. Así mismo menciona que en 1892 Rolfs observo al hongo causando el tizón de tomate en Florida.

Vallejos (1988), comenta que en el Perú, en 1929 Abbott, lo reportó como uno de los causantes de pudriciones radiculares de frijol. Olivos (1989) menciona que en 1933, García Rada lo reporta afectando *Capsicum frutescens* L.

Olivos y Mont (1993), mencionan que *S. rolfsii* fue observado en plantaciones de cebada en las localidades de Piura, Ayacucho y La Molina

durante las campañas 1971-72 y 1977-78, con una incidencia del 50 al 60 %. Así mismo en Lambayeque a partir de 1974 ha sido observado en el cultivo de frijol. Vallejos (1988), en 1980 indica que la presencia de la pudrición del cuello se ha hecho más notoria debido a que se ha ido incrementando el área sembrada, convirtiéndose en una amenaza potencial para el cultivo.

Olivos (1989), dice en el Perú se continúa registrando su presencia en cultivos de cebada, frijol, arroz, papa, etc. Durante 1987 en los meses de mayo a junio, afectó hasta un 30 % de plantas de cebada al estado de macollamiento y encañado en la zona de Carhuaz (Huaraz).

2.5.3. Sintomatología

Reyes *et. al.* (2002), dicen los síntomas que ocasiona este patógeno en los tejidos afectados son: Los síntomas característicos de la enfermedad se observan en el cuello de la raíz de la plántula de frijol; luego la enfermedad se extiende por el tallo. Cuando el ataque del hongo es muy fuerte, en el cuello de la raíz se ve su micelio blanco y los esclerocios en formación, lo que indica la muerte próxima de la plántula.

Amarillamiento en las hojas inferiores, lesiones en las bases de los hipocotilos de las plantas, caracterizada por hundimientos, ablandamientos y decoloraciones de la corteza, justamente debajo de la línea del suelo. A medida que la enfermedad avanza, las hojas de las ramas superiores pueden marchitarse y al final toda la planta cae y se quiebra por la base del tallo. Los esclerocios del hongo generalmente aparecen en grandes cantidades, adheridos a la base de los tallos de las plantas afectadas junto con masas de micelio de color blanco, característico de esta especie. Cuando ataca a las plántulas, el hongo invade todas sus partes hasta que ocasione su muerte, la cual ocurre con gran rapidez.

Cuando ataca a las plántulas que ya hayan formado algún tejido leñoso, el hongo no las invade totalmente, pero se desarrollan en la corteza y rápida o lentamente cubre a las plantas, las cuales finalmente mueren.

Agrios (1996), menciona que por lo común, la infección empieza como una lesión café oscura que aparece sobre el tallo succulento justo por debajo de la superficie del suelo. Los primeros síntomas observables se manifiestan en un amarillamiento o marchitez de las hojas inferiores o bien en muerte descendente de las hojas desde su punta hasta su pecíolo. Dichos síntomas avanzan posteriormente hasta las hojas de la parte superior de la planta. Al mismo tiempo, el hongo avanza hacia la parte superior de la planta y finalmente destruye el sistema radicular. Su micelio blanco aparece siempre en los tejidos que ha infectado y desde ahí avanza sobre el suelo hasta las plantas vecinas, produciendo nuevas infecciones. El hongo *Sclerotium spp*, produce un micelio abundante de color blanco, veloso y ramificado y forma numerosos esclerocios pero estériles, es decir, no produce esporas. Su fase perfecta es *Athelia (Pellicularia) rolfsii*. Al parecer el hongo inverna principalmente en forma de esclerocios, pero también en forma de micelios en los tejidos infectados o en los restos de las plantas.

2.5.4. Ciclo de la enfermedad

Agrios (1996), menciona que muchas de las pudriciones de raíz, marchitamientos vasculares y otras enfermedades ocasionadas por patógenos de origen en el suelo también producen un solo ciclo de infección por ciclo de cultivo. El inóculo generalmente es algún tipo de estructura de supervivencia resistente al desecamiento o congelación, tales como esclerocios, clamidosporas, u oosporas en el suelo o el micelio en residuos del cultivo. Este inóculo se dispersa en el suelo al arar y cultivar la tierra e incorporar los residuos del cultivo. Cuando las raíces del nuevo cultivo crecen por el suelo, encuentran los propágulos del patógeno implantados en la matriz de suelo y se infectan. La epidemia progresa con nuevas infecciones, pero debido a que el nuevo inóculo se dispersará hasta que el suelo sea cultivado nuevamente, habrá un solo ciclo

completo de infección por ciclo del cultivo. Por supuesto, no todos los patógenos de origen de suelo producen epidemias monocíclicas y se debe tener mucho cuidado a comprender el ciclo de vida de cada patógeno antes de sacar conclusiones sobre su epidemiología.

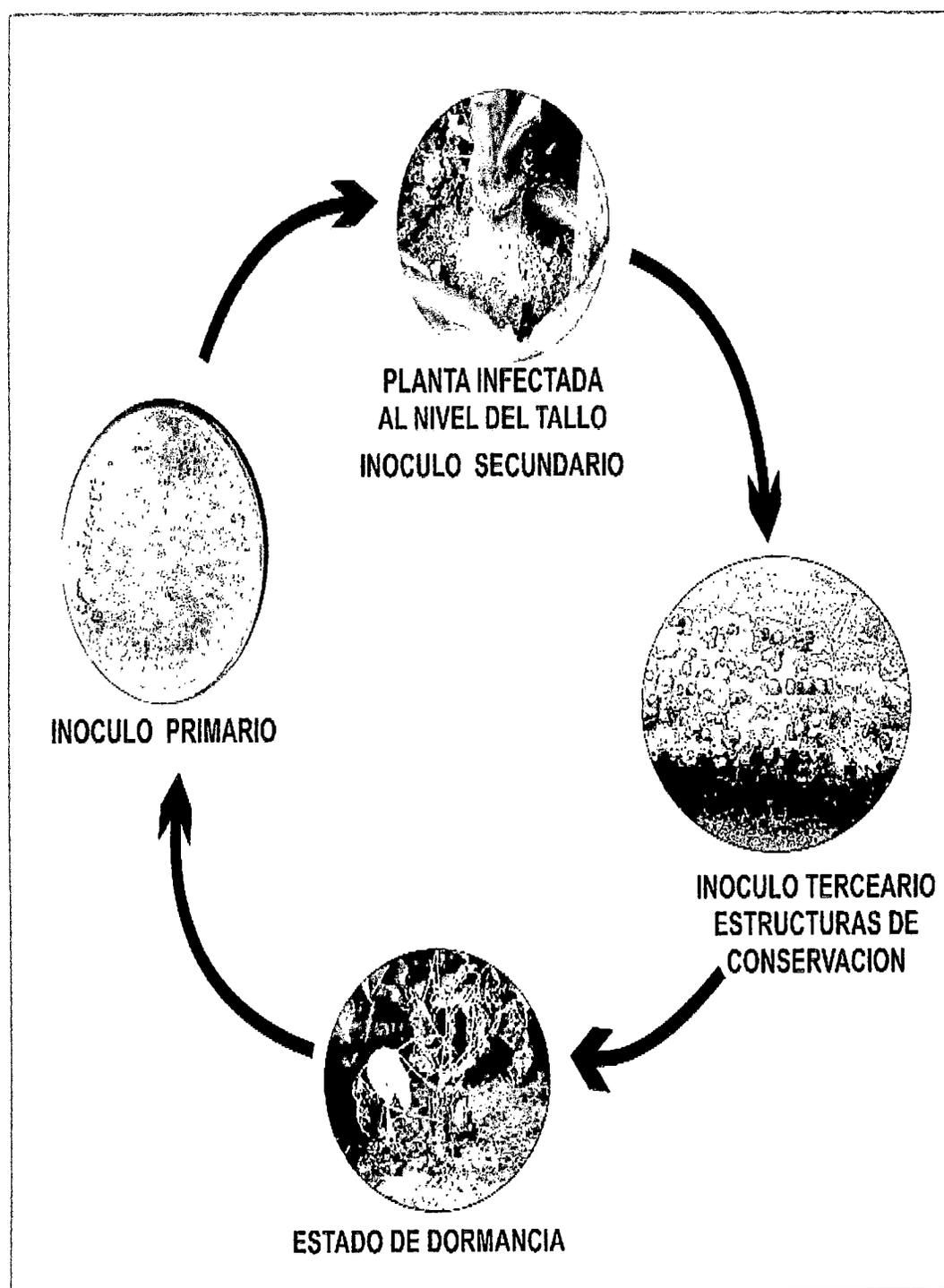


Figura N° 02. Ciclo del *Sclerotium rolfsii*

2.5.5. Taxonomía de *Sclerotium rolfsii*

Según Agrios (1996):

Reino	: Fungi
División	: Basidiomycota
Clase	: Basidiomycetes
Subclase	: Agaricomycetidae
Orden	: Polyporales
Familia	: Corticiaceae
Género	: <i>Sclerotium</i>
Especie	: <i>Sclerotium sp.</i>
N.V	: Pudrición seca

2.5.6. Mecanismo de acción

Agrios (1996), dice el proceso de descomposición del hospedante desarrollado por el hongo es complejo y responde a interpretaciones fisicoquímicas y bioquímicas. El hongo al establecerse en el hospedante desarrolla hifas de 1 a 2 (μm).de diámetro, colonizando rápidamente las paredes y lúmenes celulares, produciendo una transformación bioquímica con proyección física.

Es posible establecer una secuencia en el mecanismo de acción: la pudrición empieza cuando la hifa o el hongo penetran al hospedante, inicia la colonización, y libera las enzimas. En esta fase de colonización el daño es limitado y aun no hay evidencias visibles. Esta etapa es llamada incipiente.

A medida que se desarrolla el proceso de pudrición aparecen pequeños cambios en el color, en la textura del hospedante, y pueden parecer fibras quebradizas; estos cambios constituyen la fase temprana, cuando la pudrición es detectable, pero no obvia.

A medida que el proceso de pudrición continúa la fase intermedia, hay evidentes cambios de color y textura del hospedante, pero el grosor de la estructura permanece aún intacto.

La fase tardía es cuando hay rompimiento total de la estructura. El hospedante consiste principalmente de tres componentes, lignina, celulosa y hemicelulosa. La celulosa es un polímero de anhídrido glucosa. La hemicelulosa consiste de polímeros similares de glucosa con otras uniones o polímeros de monosacáridos diferentes a la glucosa. La lignina es un polímero complejo de unidades fenólicas.

Los hongos de pudrición seca tienen un sistema de enzimas celulosa y lignasa que le permiten degradar todos los componentes de las paredes celulares del hospedante. Algunos, sin embargo remueve lignina más rápido. Los hongos de pudrición seca producen fenol-oxidasas extracelulares y generalmente dan positivo en los ensayos de oxidasas sobre medios con ácido tánico o gálico y con goma de guayaco. Los hongos de pudrición seca eventualmente pudren al hospedante completamente y los residuos de la pudrición seca no son componentes muy estables de los suelos

La pudrición seca ataca tanto a la lignina como a la celulosa, en la misma proporción sus enzimas remueven los extremos de las cadenas de los carbohidratos con lo que el grado de polimerización se reduce lentamente. Al mirar la fibra atacada al microscopio, el ataque de esta pudrición se caracteriza por un progresivo adelgazamiento del espesor de la pared de la fibra atacada, desde el lumen hacia afuera.

2.5.7 Síntomas

Agrios (1996), menciona que por lo común, la infección empieza como una lesión café oscura que aparece sobre el tallo succulento justo por debajo de la superficie del suelo. Los primeros síntomas observables se manifiestan en un amarillamiento o marchitez de las hojas inferiores o bien en muerte descendente de las hojas desde su punta hasta su pecíolo. Dichos síntomas avanzan posteriormente hasta las hojas de la parte superior de la planta. Al mismo tiempo, el hongo avanza hacia la parte superior de la planta y finalmente destruye el sistema radicular. Su micelio blanco aparece siempre en los tejidos que ha infectado y desde ahí avanza sobre el suelo hasta las plantas vecinas, produciendo nuevas infecciones. El hongo *Sclerotium spp*, produce un micelio abundante de color blanco, veloso y ramificado y forma numerosos esclerocios pero estériles, es decir, no produce esporas. Su fase perfecta es *Athelia (Pellicularia) rolfsii*. Al parecer el hongo inverna principalmente en forma de esclerocios, pero también en forma de micelios en los tejidos infectados o en los restos de las plantas.

Agrios (1996), menciona que los síntomas que ocasiona este patógeno en los tejidos afectados son: amarillamiento en las hojas inferiores, lesiones en las bases de los hipocótilos de las plantas, caracterizadas por hundimientos, ablandamientos y decoloraciones de la corteza, justamente debajo de la línea del suelo. A medida que la enfermedad avanza, las hojas de las ramas superiores pueden marchitarse y al final toda la planta cae y se quiebra por la base del tallo. Así mismo, cuando ataca a las plántulas, el hongo invade todas sus partes hasta que ocasiona su muerte, la cual ocurre con gran rapidez. Cuando ataca a las plántulas que ya han formado algún tejido leñoso, el hongo no las invade totalmente, pero se desarrolla en la corteza y rápida o lentamente cubre a las plantas, las cuales finalmente mueren. Por lo común, la infección empieza como una lesión café oscura que aparece sobre el tallo succulento y justo por debajo de la superficie del suelo. Los primeros síntomas observables se manifiestan en un amarillamiento o marchitez de las hojas inferiores o bien en muerte descendente de las hojas desde su punta hasta el pecíolo. Dichos

síntomas avanzan posteriormente hasta las hojas de la parte superior de la planta. Al mismo tiempo, el hongo avanza hacia la parte superior de la planta y finalmente destruye el sistema radicular. Su micelio blanco aparece siempre en los tejidos que ha infectado y desde ahí avanza sobre el suelo hasta las plantas vecinas, produciendo nuevas infecciones. Además, *S. rolfsii* produce los síntomas que se describieron anteriormente en la mayoría de los hospedantes, en ocasiones produce basidiosporas en los bordes de las lesiones cuando el clima es húmedo, es decir su fase perfecta es *Athelia rolfsii*.

Bolkam (1980), sostienen que el hongo produce diversos síntomas, incluyendo el damping-off de pre y post emergencia, la podredumbre de la base del tallo y manchas foliares. En las plántulas y en el tallo, el hongo produce un crecimiento micelial blanco y algodonoso, sobre la superficie del tallo. Las plántulas infectadas mueren, en general, prematuramente.

2.5.8 Signos

Reyes *et al.* (2002), mencionan inmediatamente se produce un micelio abundante de color blanco vellosos y ramificados, se presenta la formación de esclerotes que aparecen en grandes cantidades, adheridos a la base de los tallos de las plantas afectadas, los cuales son esféricos y pequeños, blancos a cremas y posteriormente se tornan pardos de 1 a 2 mm de diámetro, los cuales finalmente se vuelven de color café cuando maduran, y es característico de esta especie.

El hongo produce abundantes esclerocios redondeados, de color canela a marrón-rojizo o marrón oscuro, de un tamaño semejante al de las semillas de mostaza. Los esclerocios están unidos al micelio en la superficie de la planta. La infección de la hoja es poco común. Las manchas foliares son circulares y de color marrón a pajizo, y generalmente concéntricas con un borde angosto y oscuro. Así mismo cuando el patógeno penetra el tejido, produce una masa considerable de micelio en la superficie de la planta. Es un habitante típico del suelo, ejerce su máxima agresividad a temperaturas próximas a los 30 °C. Su

ataque es favorecido por acumulación superficial de residuos orgánicos en el suelo. Coloniza la materia orgánica y si ésta está cerca de las plantas susceptibles, le servirá de puente para iniciar la acción patógena. Los esclerocios son importantes para la persistencia del patógeno en el suelo, en la ausencia de plantas susceptibles o en condiciones desfavorables puede sobrevivir como micelio en los tejidos infectados o en desechos de plantas. Los esclerocios se diseminan por prácticas culturales (suelos infestados o herramientas contaminadas), plántulas infestadas, agua de irrigación, vientos y posiblemente semillas.

2.5.8.1 Epidemiología

Agrios (1996), el inóculo de *S. rolfsii* está compuesto de esclerocios, micelio y basidiosporas. Los esclerocios son las estructuras principales de supervivencia. Para el crecimiento óptimo del hongo se requieren temperatura y humedad alta; el fitopatógeno no se adapta muy bien a las condiciones de baja temperatura. Así mismo, la germinación de los esclerotes disminuye al ser mayor la profundidad del suelo a la que se encuentren, debido a la reducción de la aireación.

Aycock (1966); Krups y Domínguez (1978); y Punja (1985), mencionan que la enfermedad se disemina en el campo por medio de micelio, esclerotes, basidiosporas, dispersión de rastrojos con estructuras del hongo, por suelo infestado, por el agua de riego, partículas de suelo adheridas a los implementos agrícolas y animales, a través de la semilla o por efecto del drenaje superficial provocado por las lluvias.

Montealegre (1990), refiere que el desarrollo de *S. rolfsii* se ve favorecido por temperaturas entre 28-35°C, creciendo entre los 8 y los 40°C, del mismo modo crece en un rango de pH entre 1.4 - 8.6 siendo su óptimo de 3.0 - 6.5 y una humedad relativa superior a 80 %. Este microorganismo se encuentra como parásito facultativo, pudiendo desarrollarse saprofiticamente en el suelo.

Aycock (19669, menciona si no se presentan condiciones de temperatura, aireación y humedad favorables. La sobrevivencia de *S. rolfsii* se da en forma de esclerotes, los cuales están por largos periodos en los residuos de cultivos enfermos o en el suelo.

2.5.8.2 Distribución de la enfermedad

Aycock (1966), menciona que este patógeno es común en el sur de los Estados Unidos, América Central, la Región del Caribe, América del Sur, África, Asia, Filipinas y varios países Europeos.

2.5.9 Daños

Olivos (1989), indica que en América Latina es considerada como enfermedad importante en Brasil, Chile, Colombia, México, Perú, Uruguay y Venezuela. En Chile, durante 1987 *S. rolfsii* estuvo afectando 150 ha de cultivo de frijol provocando daños de alta magnitud, anteriormente había sido detectada en otros cultivos. Además ese mismo año en Perú lo reportan afectando a *Capsicum frutescens* L., y se continúa registrando su presencia en cultivos de cebada, frijol, arroz, papa, etc. Así mismo, en el año 1987 se reportó que en los meses de mayo a junio, afectó hasta un 30% de plantas de cebada al estado de macollamiento y encañado en la zona de Carhuaz.

2.5.9.1 Método de Koch

a). Primer postulado.- El aislamiento del agente causal de la pudrición seca del frijol, fue obtenido a partir de plantas afectadas de frijol y de suelo infestado provenientes del campo experimental de la Facultad de Ciencias Agrarias Tropicales – UNSAAC. Los esclerotes del suelo fueron extraídos por el método de flotamiento y se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 1% por 5 minutos para luego ser sembrados en medio PDAO.

b). Segundo postulado: En placas conteniendo PDAO, se colocó un esclerote por placa. Las placas sembradas se mantuvieron en incubación a 28°C durante 7 días, luego del crecimiento de la colonia estas se repicaron, purificaron y entubaron para ser conservados.

c). Tercer postulado: Una vez obtenido el micelio de *Sclerotium sp.* fue cultivado en 2 placas petri conteniendo PDAO e incubados a 28°C por 7 días más. De estas placas se procedió la extracción de rodajas de agar de 0,5 cm de diámetro conteniendo micelio y esporas del hongo, las que fueron colocadas en trigo pre cocido y estéril que estaban dentro de bolsas de polipropileno (7x10 cm) previamente.

Las bolsas sembradas con *Sclerotium sp.* Se incubo a temperatura del medio ambiente (28°C) bajo luz artificial (fluorescente de 40 watts) durante 7 días para que llene la bolsa de trigo con *Sclerotium sp.*, quedando así listo para inocular al sustrato de la maceta donde se sembraron las semillas de frijol.

La inoculación se realizó por el método mezcla y pullado, donde se incorporó 5g. de *Sclerotium sp.* y se mezcló homogéneamente con el suelo conteniendo en la maceta cuatro semillas de frijol que fueron colocadas en forma equidistante y a 1 cm de profundidad. Las macetas sembradas fueron cubiertas con una bolsa polipropileno para originar humedad y a los 10 días se empezó a observar los mismos síntomas y signos de la enfermedad generado por *Sclerotium sp.* que presento la planta de donde se aisló inicialmente.

d). Cuarto postulado: *Sclerotium sp.* se aisló por segunda vez de la nueva planta enferma y se comparó sus caracteres (síntomas y signo) con aquel que fue aislado anteriormente por primera vez y se estableció que son cepas de *Sclerotium sp.* por la observación del signo.

2.5.10 CONTROL QUÍMICO

2.5.10.1 Fungicidas

Latorre (1988), indica que los fungicidas son sustancias químicas que, aplicados a las plantas, las protegen de la penetración y/o posterior desarrollo de hongos patógenos en sus tejidos es decir, es un compuesto que mata o inhibe el crecimiento del hongo dependiendo de su modo de acción y al grupo químico que pertenecen.

2.5.10.1.1 Fungicidas protectores

Latorre (1988), indica que los fungicidas protectores o también llamados de contacto, se aplican antes de que lleguen las esporas de los hongos. Actúan solamente en la superficie de la planta donde el fungicida ha sido depositado y evitan que los esporangios germinen y penetren las células. Por ello se recomienda cubrir la mayor parte de la planta con este tipo de productos. Aquí tenemos a los fungicidas: Propineb 70 % WP, Mancozeb 80 % WP y Procloraz 450 g/l CE.

Latorre (1988), indica que los fungicidas de protección no controlan los patógenos que están dentro de las semillas, solo protegen la parte externa de la semilla y las plántulas contra una amplia variedad de enfermedades causadas por hongos presentes dentro de la semilla y provenientes del suelo tales como: *Fusarium sp.*, *Rhizoctonia sp.*, *Aspergillus sp.*, *Rhizopus sp.* y *Penicillium sp.*

Cuadro 03. Características de los Fungicidas de Contacto

MODO DE ACCION	SITO DE ACCION	NOMBRE DEL GRUPO	GRUPO QUIMICO	NOMBRE COMUN
Biosíntesis de membrana	C14- demetilizacion en biosíntesis de esteroides: Clase I	Fungicidas inhibidores de la biosíntesis de esteroides	Imidazoles	Procloraz
Acción contacto Multi-sitio	Acción de contacto multi-sitio	En estudio	Ditiocarbamatos	Mancozeb Propineb

Fuente: Latorre (1988)

2.5.10.1.2 Mecanismo de acción de los fungicidas

a.- Fungicidas de contacto

Latorre (1988) Este tipo de fungicidas no penetran el tejido vegetal son de múltiple sitio de acción tienen menor grado residual a su vez se clasifican en:

- Inorgánicos, compuesto por azufres, cúpricos.
- Orgánicos, compuesto de ditiocarbamatos, ftalimidias, nitrobenzenos, dicarboximida.

Olivos y Mont (1993), mencionan los fungicidas de contacto que tienen otro mecanismo de acción llamado multi-sitio que actúan solo en la superficie de la planta evitando que los esporangios penetren a las células y al pasar los días pierden su capacidad de residualidad. Y el biofungicida Propóleo (T7) tuvo mayor desarrollo de *Sclerotium sp.*, Perú no tiene reportes con este biofungicida pero Cortes (2008) menciona su actividad fúngica para *Alternaria solani* que es un hongo de suelo y dio buenos resultados a nivel in vitro. Por último el Testigo (T1) tuvo un desarrollo total del patógeno.

b.- Fungicidas sistémicos

Latorre (1988), indica que los fungicidas erradicadores o también llamados sistémicos, se aplican para el tratamiento de la planta ya enferma por hongos. Son absorbidos a través del follaje o de las raíces y se movilizan por toda la planta. Otros productos sistémicos, conocidos como fungicidas translaminares tienen la capacidad de moverse del lado superior de la hoja al inferior, pero no de hoja a hoja. Los fungicidas sistémicos afectan varias etapas de la vida del hongo, inhibiendo su desarrollo. Aquí tenemos los fungicidas: Tebuconazole 250 g/l EW, Difenoconazole 250g/l CE. Indica que tratamientos con fungicidas sistémicos como el benomil, carboxina, dicloran, folicur, carbendazima, propiconazol y otros inhibidores de la biosíntesis de esteroides, aplicados después del transplante y dirigidos a la base de las plantas pueden reducir la incidencia de esta enfermedad inhibiendo el desarrollo del patógeno.

Aycock (1966), señala que al trabajar con fungicidas como Campogram, Calixin 75, Captafol y Benodamil, en diferentes dosis dan protección efectiva a semillas de trigo y frijol; es así que recomiendan trabajar con dosis bajas porque se obtienen el mismo resultado.

Cuadro 04. Características de los Fungicidas Sistémicos

MODO DE ACCION	SITO DE ACCION	NOMBRE DEL GRUPO	GRUPO QUIMICO	NOMBRE COMUN
Biosíntesis de membrana	C14- demetilización en biosíntesis de esteroides: Clase I	Fungicidas inhibidores de la biosíntesis de esteroides	Triazoles	Difenoconazole, Tebuconazole

Fuente: Latorre (1988)

Latorre (1998), menciona que el fungicida sistémico es un fungicida a base de propamocarb, que actúa de forma preventiva y curativa contra un amplio espectro de hongos causantes de podredumbres en raíces y cuellos de las plantas, así como en otras partes aéreas de los cultivos.

Se caracteriza también por tener un efecto estimulador del desarrollo de las plantas en semillero y por estimular el sistema radicular y desarrollo aéreo. Aplicado al suelo es absorbido por las raíces y distribuido por toda la planta. Estos fungicidas tienen un movimiento apoplastico, simplastico se clasifican en: benzimidazoles, phenilamidas, inhibidores de síntesis de ergosterol, dicarboximidias, anilinyrimidinas, antibióticos órgano fosforado anilidas, otros.

Bayer (2011), mencionan que los fungicidas sistémicos tienen el mismo modo de acción en la biosíntesis de las membranas, atacando el C14-demetilación en la biosíntesis de esteroides y de la misma manera pertenecen al grupo de los inhibidores de la biosíntesis de esteroides, por más que sean de grupos químicos diferentes cumplen el mismo propósito.

2.5.10.2 Modo de acción de los fungicidas

Bayer (2011), indica el Propineb es un fungicida que pertenece al grupo de los ditiocarbamatos, es preventivo y curativo de amplio espectro, actúa dando muerte a las conidias cuando entran en contacto porque su mecanismo de acción es de actividad multi-sitio. Controla eficazmente *Alternaria sp.*, *Phytophthora sp.*, *Royas*, *Cercospora sp.* y *Botritis sp.* en hortalizas, frutales, manzano, algodón, ají, paprika, vid, cítricos. En cítricos controla el ácaro del tostado y en arroz se utiliza como desinfectante de semillas. Contiene zinc que es tomado fácilmente por la planta. Se recomienda de 1.5 a 2.5 kg/ha. Clasificación Toxicológica: IV (no tóxico) y Banda Toxicológica: verde, Toxicidad aguda: oral DL 50.

Bayer (2011), indica el Mancozeb es un fungicida que pertenece al grupo de los ditiocarbamatos, es preventivo y de contacto. Se caracteriza por tener una gran micronización, lo que le permite aumentar su acción de cobertura sobre el área foliar. Puede ser utilizado en diversas condiciones climáticas. Debido a su buena adherencia, aún después de llover, continúa controlando las enfermedades eficazmente. Clasificación Toxicológica: IV (no tóxico) y Banda Toxicológica: verde, Toxicidad aguda: oral DL 50.

Bayer (2009), indica el Procloraz es un fungicida de amplio espectro perteneciente al grupo de los Imidazoles, tiene efecto preventivo, curativo y erradicativo. Actúa inhibiendo la biosíntesis del ergosterol. Se recomienda para desinfección de semillas, coronas, bulbos, tubérculos, esquejes y otros órganos de propagación. Controla eficientemente *Fusarium* en espárrago y claveles, *Alternaria* en tomate y papa. Se recomienda su uso para el tratamiento post cosecha en mango. Para frijol se recomienda dosis de 70 a 150 ml/cilindro. Clasificación Toxicológica: III y Banda Toxicológica: azul (poco tóxico), Toxicidad aguda: oral DL 50.

Barahona (2001), menciona Difenoconazole es un fungicida sistémico, pertenece al grupo de los Triazoles, recomendado para el control de *venturia*, oidio y otras enfermedades en pomáceas (manzana, pera, membrillo), oidio y acción complementaria en *Botrytis* en vides y berries (arándano, frutilla, frambuesa, mora), oidio y tizón temprano en papa y Tizón temprano, *Alternariosis*, *Oidios* y *Fulvia* en tomate y enfermedades en tomate de invernadero, pimiento, ajo, cebolla, melón, pepino, sandía, zapallo, zapallo italiano, alcachofa, apio, espárrago, repollo, brócoli, coliflor, lechuga, zanahoria y otras hortalizas. Clasificación Toxicológica: II (moderadamente tóxico) y Banda Toxicológica: amarillo, Toxicidad aguda: oral DL 50.

Bayer (2011), mencionan que Tebuconazole pertenece al grupo de los Triazoles, con acción preventiva, curativa y erradicativa. El ingrediente activo es transportado en dirección acropétala (de abajo hacia arriba por el xilema), interfiriendo en el metabolismo de los hongos, inhibiendo la síntesis de ergosterol en más de un punto. La eficacia del fungicida a base de Tebuconazole, está ampliamente comprobada por la gran cantidad de especies fungosas controladas. Es muy eficiente para el control de *Oidium*, *Roya*, *Cercospora*, *Botritis*, *Alternaria*, *Monilia*, *Piricularia*, *Helminthosporium* en espárrago, manzano, vid, leguminosas, cucurbitáceas, ajo, cebolla, tomate, arroz y cebada. Se recomienda 0.75% a 1L/ha. Clasificación Toxicológica: IV (no tóxico) y Banda Toxicológica: verde, Toxicidad aguda: oral DL 50.

2.5.10.3 Características de los fungicidas

a.- Procloraz

Modo de Acción: Sportak EC es un fungicida que actúa en forma preventiva o en forma curativa, también tiene acción translamina.

Mecanismo de Acción: Sportak EC actúa inhibiendo la biosíntesis del ergosterol.

Procloraz: N-propil-N-[2-(2, 4,6-triclorofenoxi) etil] imidazol-1-carboxamida

Identidad:

Nombre técnico.-Spotak

Nombre común.-Procloraz.

Grupo químico.- Imidazoles.

Modo de acción.- Actúa en la planta por contacto y translaminarmente.

Toxicidad.- IV Normalmente no ofrece peligro.

b.- Propinet

Fungicida foliar de acción preventiva, que se debe aplicar antes que aparezcan los síntomas y signos de las enfermedades. Tiene una actividad de contacto multi sitio, acción que minimiza la aparición de cepas resistentes. Especialmente recomendado para el control de enfermedades en hortalizas y papas.

Identidad:

Nombre técnico.- Antracol.

Nombre común.- Propinet.

Grupo químico.- Alquilenbis (ditiocarbamatos)

Modo de acción.- Fungicida de contacto que actúa de forma preventiva.

Toxicidad.- IV Normalmente no ofrece peligro.

c.- Mancozeb

Fungicida preventivo de amplio espectro, con acción de contacto para el control de enfermedades fungosas en hortalizas, frutales, vid, cucurbitáceas y tratamiento de semillas.

Identidad:

Nombre técnico.- Dithane.

Nombre común.- Mancozeb.

Grupo químico.- Diticarbamato.

Modo de acción.- Contacto.

Toxicidad.- IV.

d.- Tebuconazole

Es un fungicida sistémico con propiedades preventivas y curativas. Es rápidamente absorbido a las partes vegetativas de la planta con translocación acropetala. Inhibe la síntesis del ergosterol del hongo parásito, impidiendo la multiplicación de los hongos.

Identidad:

Nombre técnico.- Folicur

Nombre común.- Tebuconazole.

Grupo químico.- Triazoles.

Modo de acción.- Sistémico.

Toxicidad.- IV Producto que normalmente no ofrece peligro.

e.- Difeconazole

Tiene un efecto preventivo y curativo sobre un amplio rango de enfermedades fungosas. Inhibe la biosíntesis del ergosterol mediante la inhibición de la enzima esterol-1,4-a-dimetilasa. Difeconazole interfiere en la biosíntesis del ergosterol de las membranas celulares, deteniendo el desarrollo

de los patógenos. Penetra a la planta principalmente por órganos verde se trasloca acropetalamente. Inhibe la demetilización de los esteroides (DMI).

Identidad:

Nombre técnico.- Score.

Nombre común.- Difeconazole.

Grupo químico.- Triazoles.

Toxicidad.- II Moderadamente tóxico.

Modo de acción.- Presenta acción sistémica, penetra a las hojas de las plantas, donde se trasloca en forma acropetala. Su acción preventiva y curativa, controla los hongos patógenos evitando que estos penetren en las plantas.

2.5.11 CONTROL BIOLÓGICO: HONGOS ANTAGONISTAS

2.5.11.1. *Trichoderma spp.*

Punja (1985), indica que el género *Trichoderma* tiene diversas ventajas como agente de control biológico, pues posee un rápido crecimiento y desarrollo, también produce una gran cantidad de enzimas, inducibles con la presencia de hongos fitopatógenos. Puede desarrollarse en una amplia gama de sustratos, lo cual facilita su producción masiva para uso en la agricultura. Su gran tolerancia a condiciones ambientales extremas y hábitat, donde los hongos son causantes de diversas enfermedades, se desarrollan de mejor manera a temperaturas de 25 a 30 °C y una humedad relativa de 70 a 80 % que le permiten ser eficiente agente de control; de igual forma pueden sobrevivir en medios con contenidos significativos de pesticidas y otros químicos. Además su gran variabilidad se constituye en un reservorio de posibilidades de control biológico bajo diferentes sistemas de producción y cultivos. Así mismo reporto como un antibiótico reciente a la trichodermina, causante de la lisis de las paredes celulares de los hongos de suelo (*Rizoctonia sp* y *Sclerotium sp.*) que parasita *Trichoderma spp.*

Olivos (1989), sostiene que *Trichoderma*, toma nutrientes de los hongos (a los cuales degrada) y de materiales orgánicos ayudando a su descomposición, por lo cual las incorporaciones de materia orgánica y compostaje lo favorecen; también requiere de humedad para poder germinar, la velocidad de crecimiento de este organismo es bastante alta, por esto es capaz de establecerse en el suelo y controlar enfermedades. Además *Trichoderma* probablemente sea el hongo beneficioso, más versátil y polifacético que abunda en los suelos. No se conoce hasta el momento que dicho microorganismo sea patógeno de ninguna planta; sin embargo, es capaz de parasitar, controlar y destruir muchos hongos, nemátodos y otros fitopatógenos, que atacan y destruyen muchos cultivos; debido a ello, muchos investigadores le llaman el hongo hiperparásito. Ello convierte al *Trichoderma* en un microorganismo de imprescindible presencia en los suelos y cultivos, y de un incalculable valor agrícola.

Elad *et al.*, (1982), mencionan que el género *Trichoderma* posee buenas cualidades para el control de enfermedades en plantas causadas por patógenos fúngicos del suelo, principalmente de los géneros *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, *Sclerotium*, *Pythium* y *Fusarium* entre otros. Las especies de *Trichoderma* actúan como hiperparásitos competitivos que producen metabolitos antifúngicos y enzimas hidrolíticas a los que se les atribuyen los cambios estructurales a nivel celular, tales como vacuolización, granulación, desintegración del citoplasma y lisis celular, encontrados en los organismos con los que interactúa.

Cejas (1998), mencionan que las especies del género *Trichoderma* son los antagonistas más utilizados para el control de enfermedades de plantas producidos por hongos, debido a su ubicuidad, a su facilidad para ser aisladas y cultivadas, a su crecimiento rápido en un gran número de sustratos y a que no atacan a plantas superiores. Así mismo, los mecanismos por los que las cepas del género *Trichoderma* desplazan al fitopatógeno son fundamentalmente de tres tipos: Competición directa por el espacio o los nutrientes, producción de metabolitos y/o antibióticos, ya sea de naturaleza volátil o no volátil y parasitismo

directo de determinadas especies de *Trichoderma* sobre los hongos fitopatógenos.

Fernandez (2001), indica que se determinaron los hongos más frecuentes causantes de enfermedades en frutos de post cosecha de *Carica papaya* L. "papaya amarilla", procedentes de las zonas de distribución del distrito de Trujillo, utilizando 220 frutos enfermos atacados por hongos, en el periodo comprendido entre enero a noviembre. se investigo el efecto antagónico de *Trichoderma harzianum* Rifai sobre los hongos patógenos de frutos de postcosecha de papaya los hongos fitopatógenos determinados fueron: *Rhizopus nigricans* Ehr., *Colletotrichum gloeosporioides*, *Trichoderma harzianum*, demostró realizar en efectivo control biológico sobre los hongos patógenos de frutos de post cosecha de *Carica papaya* "papaya".

Beebe (1983), evaluó el efecto de inductores químicos y biológicos de resistencia para el control de *Phytophthora infestans* (Mont) De Bary, en papa cultivar Yungay. El experimento fue instalado en Choten, Cajamarca los tratamientos comprendieron aplicaciones de *Trichoderma harzianum* sobre los tubérculos al momento de siembra y dos aplicaciones foliares con fosfitos de Ca, K y Mg que se iniciaron 49 días después de la siembra y con una frecuencia de 10 días.

Olivo y Mont (1993), indican que *T. viride* ejerció mayor biocontrol sobre *S. rolfsii*, caracterizándose por su fácil cultivo "in vitro", alta densidad reproductiva, por parasitar internamente micelio y esclerotes mediante estaquillas o clavijas que matan al patógeno.

Beebe (1983), menciona que el género *Trichoderma* es un tipo de hongo anaerobio facultativo que se encuentra de manera natural en un número importante de suelos agrícolas y otros tipos de medios. De este microorganismo existen más de 30 especies, todas con efectos benéficos para la agricultura y otras ramas.

Beebe (1983), menciona que este género *Trichoderma* se encuentra ampliamente distribuido en el mundo y se presenta en diferentes zonas y hábitat, especialmente en aquellos que contienen materia orgánica o desechos vegetales en descomposición, así mismo en residuos de cultivos, especialmente en aquellos que son atacados por otros hongos. Su desarrollo se ve favorecido por la presencia de altas densidades de raíces, las cuales son colonizadas rápidamente por estos microorganismos. Esta capacidad de adaptación a diversas condiciones medioambientales y sustratos confiere a *Trichoderma viride* la posibilidad de ser utilizado en diferentes suelos, cultivos, climas y procesos tecnológicos. Estudios realizados en La Molina - Lima indican, que el mejor tratamiento en invernadero fue con *T. viride* aplicado al suelo, porque impidió la germinación de los esclerotes y el desarrollo micelial de *S. rolfsii*, asimismo la aplicación de *T. viride* sólo y en forma simultánea con fungicidas, permite disminuir significativamente el ataque de *S. rolfsii*. Y el fungicida solo que mejor controló la enfermedad de *S. rolfsii* fue Moncut.

Vallejos (1988), indica que estudios realizados en Lambayeque, el *T. viride* controla eficientemente varias especies de *Pythium sp.*, *R. solani* y *S. rolfsii*; este biocontrolador puede ser usado para ejercer un efecto antagónico sobre *Armillaria mellea* que afecta las raíces de los cítricos.

Beebe (1983), en estudios realizados en Colombia, menciona que *T. viride*, parasita micelio de *S. rolfsii* actuando por medio de clavijas alrededor de la hifa de su hospedero y luego penetra por lisis enzimática de la pared celular, parasitando internamente las células hifales o invadiendo la capa melanica y el tejido pseudo- parenquimático del esclerote por medio de la B-(1-3) gluconasa y quitinasa o por aglutininas presentes en *S. rolfsii* y que se consideran como posibles sustancias para el reconocimiento de la interacción del fenómeno del micoparasitismo entre *Trichoderma* y *S. rolfsii*.

Sañudo *et al.* (1976), mencionan que en estudios realizados en el departamento de Nariño – Colombia, se utilizó cepas de *T. viride* y *B. subtilis* donde encontró que *T. viride* ejerció antagonismo hacia *S. rolfsii*. En trabajos

realizados en invernadero en cultivos de frijol comprueban que *Trichoderma* tiene mayor efectividad y permite un alto porcentaje de germinación y mayor número de plantas vivas.

Matos y Higaona (1993), indican al realizar estudios en La Molina – Lima, indica que *T. viride* controló a *P. capsici* en condiciones de laboratorio, así mismo para estas condiciones los fungicidas que se usaron fueron: Propiconazole, Thiabendazelo, Propineb-Cymoxanil, Clorolatonil, Metalaxil, Triadimenol a dosis de 1/ 1000 donde no permitió el desarrollo de *P. capsici* y a nivel de invernadero el fungicida Metalaxil a dosis 1/1000 fue efectivo contra *P. capsici*.

Olivos y Mont (1993), mencionan que especies de *Trichodermas spp* están siendo estudiados recientemente por tener dentro de sus mecanismos de supresión la producción de enzimas quitinolíticas, actualmente se ha reportado la purificación y caracterización de quitinasas y beta 1,3 glucanasas jugando un rol importante en el control de *S. rolfsii*, *R. solani* y *Fusarium sp*. Así mismo en La Molina – Lima reporto que el producto comercial Custom GP a base de *Trichoderma sp*. bajo condiciones in vitro e invernadero tuvo un efecto inhibitor sobre el desarrollo de *L. Theobromae*. Así mismo probó diferentes dosis (0.05%, 0.1% y 0.15%) del producto comercial Custom GP donde se observó que estimulo el crecimiento de las plantas y los mejores crecimientos fueron a dosis de 0.1% y 0.15%.

Paricoto (2008), reporto en un estudio realizado en el distrito de Santa Ana que la Cepa de *T. viride* mostró un alto nivel de antagonismo hacia *S. sclerotiorum* con un 12.05 % de inhibición, seguido de *T. harzianum* con un 10.86 % a nivel in vitro. Así mismo la cepa de *T. viride* mostró ser mejor biocontrolador para *S. sclerotiorum* seguido de la cepa de *T. lignorum* en condiciones de invernadero y a nivel de campo fue *T. viride* quien produjo plantas de mayor altura y con mayor cantidad de vainas y granos en comparación a *T. lignorum*, *T. harzianum* y al testigo.

Carhuavilca (2011), al realizar estudios en la provincia de la Convención indica que con *T. viride* y *T. harzianum* solos o en combinación; el mejor resultado lo obtuvo con la combinación de *T. viride* + *T. harzianum*; por lo tanto recomienda aplicar con una frecuencia de 7 días, debido a que esta nos ayudara a romper el ciclo biológico de *Mycena citricolor* (Berk. & Curtis) Sacc. que es de 8 días.

2.5.11.1.1 Taxonomía de los biocontroladores.

Según Barrón (1972):

Reino	: Fungi
División	: Ascomycota
Subdivisión	: Deuteromycetes
Clase	: Hypomycetes
Orden	: Hypocreales
Familia	: Hypocreaceae
Género	: <i>Trichoderma</i>
Especies	: <i>T. harzianum</i> , <i>T. viride</i> , <i>T. lignorum</i>

2.5.11.1.2 Especies de *Trichodermas* spp.

a. *Trichoderma harzianum* Rifai.

Olivos y Mont (1993), mencionan que a *Trichoderma harzianum* Rifai, se le puede encontrar en diferentes materiales orgánicos y suelos, están adaptados a diferentes condiciones ambientales lo que facilita su amplia distribución. Algunas especies prefieren localidades secas, templadas y otras frías. Estos hongos son ampliamente conocidos por su producción de toxinas y antibióticos. Se encuentran diferentes especies y cepas de *T. harzianum* (Rifai). Así mismo, en estadios tempranos *T. harzianum* (Rifai), tiene micelio de color blanco y eventualmente desarrolla un color verde oscuro después de la esporulación. Las

colonias de *T. harzianum* (Rifai), crecen y maduran rápidamente a los cinco días de incubación en medio de cultivo agar de dextrosa y papa (PDA) a 25°C.

Posee conidióforos que sostienen en la parte apical a las células conidiógenas tipo fiálides. Estas van a dar origen a las colonias o fialosporas; las cuales son verdes, subglobosas a obovoides, de 2.4 – 3.2 μm de longitud x 2.2 – 2.8 μm de diámetro.

b. *Trichoderma viride* Pers.

Montealegre (1990), mencionan que *T. viride* Pers. es la especie tipo de este género. Tiene amplia diseminación en el suelo; por ello las conidias de *T. viride* Pers. al entrar en contacto con el suelo y detectar la presencia del hongo fitopatógeno, genera hifas o hilos que crecen paralelamente a la hifa del hongo dañino, después de reconocerlo se adhieren y lo penetran enrollándolo hasta estrangularlo, consumiéndolo (parasitismo) y compitiendo con él por el espacio, energía y luz. La producción de antibióticos por parte de *T. viride* hace que el área donde se desarrolla este hongo esté libre de otros hongos dañinos al cultivo.

Además, las colonias son de rápido desarrollo en el medio de cultivo malta agar o agar dextrosa (PDA), las cuales cubren las placas petri en 5 días a 30°C. Y se caracteriza por presentar: colonias algodonosas al inicio y luego se compactan y esporulan tomando color verde- amarillento de textura granular formando parches concéntricos. Presenta hifas hialinas septadas, conidióforos, fiálides y conidios. Los conidióforos son hialinos, ramificados y pueden ocasionalmente disponerse en forma piramidal. Las fiálides son en forma de botella unidas a los conidióforos en ángulo recto. Las fiálides pueden encontrarse solitarias o en dispuestas en grupo. Las conidias miden 3 μm de diámetro aproximadamente de forma redonda u ovalada.

c. *Trichoderma lignorum*.

Montealegre (1990), mencionan a *Trichoderma lignorum* como una especie anaeróbica facultativa cosmopolita. Es un habitante natural de suelos agrícolas y otros medios, especialmente aquéllos que contienen materia orgánica, desechos vegetales en descomposición o residuos de cultivos. Su desarrollo es favorecido en presencia de altas densidades de raíces, a las cuales coloniza para establecer relaciones simbióticas con varias especies de plantas. Además, esta especie parasita, controla y destruye hongos, nematodos y otros fitopatógenos. No produce daños en las plantas; por el contrario, produce sustancias que estimulan el desarrollo vegetal. Su mecanismo de acción se basa en la producción de toxinas (antibióticos) y de enzimas líticas que destruyen la pared celular de los esclerocios (estructuras de resistencia) de varios hongos fitopatógenos. Asimismo, *T. lignorum* compete por los nutrientes y la dormancia de la rizósfera con dichos fitopatógenos.

Smith (1960), menciona las especies de *T. lignorum* y *T. viride*, se diferencian por el color y tamaño de las colonias, conidias; por ello, cuando se examinaron un gran número de aislamientos las diferencias eran mínimas considerándose a *T. viride* como la especie tipo.

2.5.11.2 Mecanismos de control biológico

Montealegre (1990), menciona numerosos aislamientos de este género conocidos como "competidores de la rizósfera", son capaces de degradar hidrocarburos, compuestos clorofenólicos, polisacáridos y pesticidas xenobióticos usados en la agricultura. Los principales mecanismos de biocontrol que utiliza el género *Trichoderma* en confrontaciones directas con patógenos fúngales son el micoparasitismo, antibiosis y competencia.

➤ **Antibiosis**

Olivos y Mont (1993), mencionan el género *Trichoderma* produce una abundancia de metabolitos secundarios con actividad biológica. El termino metabolito secundario incluye un grupo heterogéneo de compuestos naturales y químicamente diferentes que posiblemente están relacionados a funciones de supervivencia para el organismo productor como: la competencia contra otros micro y macro organismos, simbiosis, transportadores de metales, diferenciación, etc. Dentro de este grupo los antibióticos son productos naturales capaces de inhibir el crecimiento microbial.

Olivos y Mont (1993), mencionan que la producción de antibióticos esta frecuentemente correlacionada con la habilidad de biocontrol; la aplicación de antibióticos purificados muestra efectos sobre el patógeno hospedante similares a los obtenidos cuando se usó el correspondiente microorganismo que los produce. La producción de metabolitos secundarios por las especies de *Trichoderma spp.* depende del aislamiento. Se incluyen sustancias antifúngicas pertenecientes a una gran variedad de compuestos químicos clasificados en tres categorías: i. Antibióticos volátiles, ii. Compuestos solubles al agua, y iii. Peptaibols. La estructura química de los antibióticos de *Trichoderma* puede sugerir dos diferentes mecanismos de acción. La producción de compuestos de bajo peso molecular, no polares y volátiles, que conllevan a una alta concentración de antibióticos en el medioambiente del suelo, tiene un efecto de larga duración sobre la comunidad microbial. Mientras que, se puede dar un efecto de corta duración por los antibióticos polares y peptaibols debido a los que actúan en cercana proximidad a la hifa que los produce.

➤ **Competencia**

Fernández (2001), indica que la competencia por el carbono, nitrógeno y otros factores de crecimiento, junto con la competencia por el espacio o sitios de infección específico, pueden ser también usados por los agentes de biocontrol para reducir la actividad de patógenos de plantas. Se ha demostrado que la

competencia por nutrientes es el principal mecanismo usado por las especies de *Trichoderma spp.* porque tienen una gran capacidad para movilizar y absorber (capturar) nutrientes del suelo. Esto lo hace más eficiente y competitivo que muchos otros organismos del suelo. Los componentes bióticos del medioambiente del suelo tienen efectos relevantes en la actividad de biocontrol de *Trichoderma* como patógenos de planta. Este efecto puede ser asociado con un fenómeno conocido como fungistasis del suelo, el cual es grandemente dependiente de la composición de la comunidad microbiana del suelo.

➤ **Micoparasitismo**

Fernández (2001), indica el micoparasitismo es un proceso complejo que consiste de varios eventos como: reconocimiento, penetración y muerte del hospedante. Así mismo Howell (2003) menciona que durante este proceso *Trichoderma* secreta enzimas que hidrolizan la pared celular del hongo hospedante (patógeno), de donde se liberan oligómeros. Se cree que *Trichoderma* secreta enzimas hidrolíticas a un nivel constitutivo y detecta la presencia de otro hongo, percibiendo las moléculas liberadas del hospedante por la degradación enzimática.

➤ **Propóleo**

Bankova *et al.* (2000), mencionan que el propóleo es un biofungicida compuesto por un conjunto de sustancias resinosas, gomosas y balsámicas de consistencia viscosa que es recolectado por las abejas de más de 15 días, con sus mandíbulas, toman las partículas resinosas que hay sobre las yemas de diferentes plantas, árboles y arbustos, principalmente: álamo, sauce, abedul, aliso, castaño silvestre, pino, encina, y algunas plantas herbáceas. Estas resinas poseen diversidad de metabolitos secundarios tóxicos que algunas plantas pueden producir para proteger las partes más activas de crecimiento, y que antagonizan, así con posibles patógenos bióticos y plagas. Pruebas de laboratorio han demostrado su efectividad contrastando sus

propiedades bacteriostáticas, bactericidas y fungicidas, aparte de las propiedades anestésicas, antiinflamatorias y cicatrizantes. Además el producto no presenta ninguna fitotoxicidad como tal. Es biológico, siendo un fungicida natural que controla microorganismos patógenos en una acción obstaculizante que evita que se reproduzcan al tiempo que induce a la planta al aumento de sus defensas naturales.

Fernández (2001), indica que el extracto etanólico de própolis (EEP) obtenido a partir de una maceración alcohólica de própolis bruto, aplicado a una concentración de 50ml (EPP) por cada 1L de agua, ha presentado actividad fungicida frente a *Alternaria solani*, tanto en condiciones de campo sobre el cultivo de tomate, como en condiciones in vitro. Propiedad antibacteriana, ha sido probablemente la más estudiada, habiéndose comprobado su doble versión, bactericida y bacteriostática. Avalan esta importante propiedad el análisis de algunos de sus componentes como el ácido benzoico así como de sus derivados activos oxi y metoxibenzóicos. Mencionaremos también su contenido de ácidos p-cumarínico, cafeico y ferúlico, todos ellos de reconocida acción antibacteriana.

Chumbiauca y Munive (1993), mencionan que presentan acción antibiótica los sexquiterpenos, especialmente el bisabolol. A otro de sus componentes, la galangina, se le atribuye una gran actividad antibacteriana estas sustancias son más asimilables que los antibióticos convencionales y además su mecanismo de acción no solo está dado por sus propiedades antibacterianas sino también por mejorar la reacción inmunológica del organismo.

En cuanto a su actividad antiviral, está demostrada en la práctica por su acción sobre varios virus patógenos dada por una serie de componentes de naturaleza flavonoide, como acacetinas y pectolanarigenos. Diversos estudios, han comprobado cantidad de compuestos oxidados presentes en las células afectadas por virosis, reacción que parece fundamental para su metabolismo.

Las propiedades antioxidantes de los propóleos, pueden estar relacionadas con la inhibición del desarrollo de los virus. La propiedad antimicótica estaría determinada por la presencia de sacranetina, perostibeno y estalibdenos que son probados agentes anti fúngicos, actividad que también presenta el ácido benzoico. Su actividad como antiolesterolémica, antihipertensiva y preventiva de accidentes cardio-circulatorios, está relacionada y determinada por la presencia de ácidos grasos no saturados, en su composición, que inhiben la oxidación del colesterol. También puede influir en esta actividad terapéutica, las micro concentraciones de zinc.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en dos fases, la primera fase fue realizada en el Laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Ciencias Agrarias Tropicales y la segunda fase fue ejecutada en el vivero de la misma facultad.

3.1. Ubicación del Experimento

El trabajo experimental se llevó a cabo en el campo experimental de la Facultad de Ciencias Agrarias Tropicales de la carrera profesional de Agronomía Tropical – UNSAAC, cuya ubicación es la siguiente:

Región	:	Cusco
Departamento	:	Cusco
Provincia	:	La Convención
Distrito	:	Santa Ana
Lugar	:	Facultad de Ciencias Agrarias Tropicales – Q.UNSAAC (El Arenal-Quillabamba)
Laboratorio	:	Fitopatología

3.1.1 Ubicación geográfica y climática

Altitud	:	990 msnm
Coordenadas UTM	:	0758657 8581528
Latitud	:	12° 51' 21"
Longitud	:	72° 41' 30"
Zona de vida	:	Bosque seco sub tropical (Bs-St)
Temperatura	:	23°C
Humedad Relativa	:	89%

3.2. Materiales

3.2.1 Fase de Laboratorio

a. Insumos

- Cepas de biocontroladores, procedentes de la Clínica de Diagnóstico de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM)
 - ✓ *Trichoderma viride*.
 - ✓ *Trichoderma lignorum*
 - ✓ *Trichoderma harzianum*
- Biofungicidas
 - ✓ Propóleo
- Fungicidas:
 - ✓ Mancozeb,
 - ✓ Difenconazole,
 - ✓ Propineb,
 - ✓ Prochloraz,
 - ✓ Tebuconazol.

b. Materiales

- Bolsas de polipropileno
- Plumones indelebles
- Dextrosa
- Regla
- Agar – agar
- Algodón
- Papa
- Sacabocado
- Alcohol 96°
- Probeta graduada 100 ml.
- Agua destilada
- Placas petri descartables
- Espátulas

- Ligas
- Parafilm
- Tubos de ensayo
- Trigo
- Vaso de precipitación
- Botellas

c. Equipo de Laboratorio

- Microvoid
- Esterilizador
- Microscopio
- Estereoscopio
- Horno microondas
- Estufa

3.2.2 Fase de Invernadero

- Suelo estéril
- Semillas de frijol
- Botellas
- Placas petri con biocontroladores
- Sacabocado
- Maceteros
- Agua estéril

3.3. Métodos

La fase de laboratorio se trabajó con el método de Koch, en la fase de invernadero con el método inoculación y evaluación incidencia, dicho trabajo se realizó en la Facultad de Ciencias Agrarias Tropicales – UNSAAC.

3.3.1 Fase de laboratorio

Método de postulado de Koch.

3.3.1.1 Aislamiento, purificación y mantenimiento de *Sclerotium sp.*

a.- El aislamiento.- El agente causal de la pudrición seca del frijol, fue obtenido a partir de plantas afectadas de frijol y de suelo infestado provenientes del campo experimental de la Facultad de Ciencias Agrarias Tropicales – UNSAAC. El procedimiento seguido se describe a continuación:

1.- En las plantas de frijol y en el suelo se encontraron esclerotes los cuales fueron extraídos, los esclerotes se lavaron con abundante agua potable, luego se sumergieron a una solución de hipoclorito de sodio al 1% por 5 minutos y posteriormente se lavaron con agua destilada estéril.

2.- Los esclerotes desinfectados se dejaron secar dentro del microboit, los cuales fueron sembrados en placas petri conteniendo el medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA).

3.- La siembra se realizó, poniendo un esclerote al medio de la placa.

4.- Las placas petri se incubaron a 28°C por cinco días para permitir el crecimiento del hongo.

5.- Una vez desarrollado el hongo, se efectuaron repiques hasta obtener el cultivo puro, el cual fue sembrado en seis tubos de ensayo con PDA, para posteriormente almacenarlo en refrigeración y otros para enviarlo a la Clínica de Diagnóstico de la Universidad Nacional Agraria la Molina.

6.- A partir de este cultivo se efectuaron los repiques necesarios para las diversas pruebas que se realizaron en el estudio.

La identificación se ha realizado a cabo en la Clínica de Diagnóstico (UNALM) para esto se ha enviado cultivos puros en placas petri, del agente causal.

b.- La prueba de patogenicidad.- Se realizó de acuerdo a los postulados de Koch, para verificar si el agente causal aislado reproducía la sintomatología de la pudrición seca. Se realizó en plántulas de frijol sanas. Se procedió de la siguiente manera:

1.- El hongo aislado anteriormente se multiplicó en placas petri conteniendo PDA.

2.- De estas placas con ayuda del sacabocado se procedió a la extracción de rodajas de agar de 0,5 cm de diámetro conteniendo micelio y esporas del hongo.

3.- Estas rodajas sembradas en trigo precocido y estéril dentro de bolsas de polipropileno (7x10 cm) previamente.

4.- Se incubó a temperatura del medio ambiente (28°C) bajo luz artificial se dejó 7 días para que llene la bolsa de trigo con el agente causal, quedando así listo para inocular al sustrato de la maceta donde se sembrarán las semillas de frijol.

5.- Inoculación del agente causal, al sustrato de macetas realizó por el método del pullado, donde se incorporó 5 g. del agente causal y se mezcló homogéneamente con el suelo para luego sembrar las cuatro semillas de frijol que fueron colocadas en forma equidistante y a 1 cm de profundidad.

6.- Las macetas sembradas fueron cubiertas con una bolsa polipropileno para originar humedad. A los 7 días se empezó a observar los síntomas y signos (esclerotes y micelio) de la enfermedad generada por el agente causal.

7.- Finalmente, se procedió a realizar el reaislamiento y la reidentificación del agente causal, a partir de estas plantas inoculadas las cuales fueron comparadas con el primer aislamiento.

Siembra proliferación de *Trichoderma spp.*

Los aislamientos de las cepas de *T. viride*, *T. lignorum* y *T. harzianum* fue obtenido de la Clínica de Diagnóstico de Fitopatología de la UNALM. La propagación de estos biocontroladores fue realizado en placas petri conteniendo medio PDAO (papa-dextrosa-agar-oxitetraciclina) e incubadas a 28 °C. French and Herbert (1980) y CIMMYT (2005) indican el medio PDAO permite el crecimiento y desarrollo de los *Trichodermas spp.* por ser un medio sólido y oxitetraciclina evita el crecimiento de otros patógenos secundarios. De esta manera se asegura un cultivo puro.

Esta etapa de siembra comprendió la formulación del medio de cultivo y la inoculación de la cepa.

Medio de cultivo: PDA (Papa Dextrosa Agar)

Para 1 litro de PDA, se utilizó la siguiente formulación:

- 250 g de papa en un litro de agua
- 18 g de glucosa (dextrosa)
- 18 g de agar

Preparación: Para obtener un litro de PDA se utilizó 250 g de papa, se hacen hervir en 500 ml de agua destilada por 15 minutos, se filtra el caldo de papa utilizando un colador, luego en un vaso precipitado, se derrite 18g de Agar en 500 ml de agua destilada, utilizando horno microondas. Se mezcla las dos

preparaciones, luego se agrega y disuelve 18 g de glucosa (dextrosa), completando todo el preparado a un litro adicionando agua destilada.

Esterilización: Se distribuye el litro de PDA en frascos de vidrio de 250 ml que luego se envuelve con papel crac y se sujeta con hilo pabilo para ser esterilizados utilizando autoclave durante 15 minutos a 15 lb de presión y una temperatura de 121 °C.

Plaqueo: Los frascos contenidos con PDA se derriten en horno microondas se le agrega un gramo oxitetraciclina (antibiótico) para evitar el crecimiento de bacterias, luego se agita el medio hasta conseguir la dilución completa del antibiótico. Posteriormente se vierte el PDA de los envases de vidrio a las placas petri un espesor de 2-4 mm, se deja durante 1 hora para que enfríe y se solidifique el medio de cultivo PDA.

Inoculación: La inoculación se llevó a cabo por el método de escisión micelial, proveniente de la UNALM; el micelio del hongo fue repicado en las placas petri conteniendo medio PDA con la ayuda de un sacabocado, pinza, previamente desinfectados en alcohol y flameado en mechero.

3.3.1.2 Prueba in vitro de fungicidas para el control de *Sclerotium sp.*

Evaluación.- Se evaluaron fungicidas de contacto (Procloraz 450 g/l CE, Mancozeb 80% WP y Propineb 70% WP) y sistémicos (Difenoconazole 250 g/l CE y Tebuconazole 250 g/l EW), a fin de determinar la eficacia de cada uno de ellos en el control de *Sclerotium sp.* aislado de plántulas de frijol. Para este experimento se utilizó la Técnica del Medio de Cultivo Envenenado (French y Herbert, 1980), empleándose diferentes dosis baja (0.5), media (2.5) y alta (4.5) (%) según lo recomendado por la casa comercial. El procedimiento fue el siguiente:

1.- Se preparó el medio de cultivo envenenado: para lo cual, previo al plaqueo, se pesó (Propineb 70% WP, Mancozeb 80% WP y Difenoconazole 250 g/l CE) y se

estimó el volumen (Tebuconazole 250 g/l EW, Prochloraz 450 g/l CE) de cada uno de los cinco fungicidas y también se estimó el volumen para el biofungicida Propóleo, en dosis diferentes recomendada por la casa comercial.

2.- Se preparó erlenmeyers conteniendo 100 ml de medio PDA para cada fungicida respectivamente, luego se esterilizó antes fue mezclado y homogenizado con cada uno de los fungicidas.

3.- Se procedió al plaqueo y se esperó que se solidifique y enfrié para la siembra del hongo.

4.- A las placas petri que contiene medio de cultivo envenenado se colocó una rodaja con crecimiento micelial del hongo (*Sclerotium sp.*) al centro de la placa extraída con un sacabocado de 0.5 cm de diámetro. La rodaja se colocó al centro de la placa.

5.- Encima de la placa petri, se marcaron dos rayas perpendiculares entre sí, siendo estas AB y CD, siendo dos diámetros que dividieron a la placa en cuatro cuadrantes iguales (Figura 03).

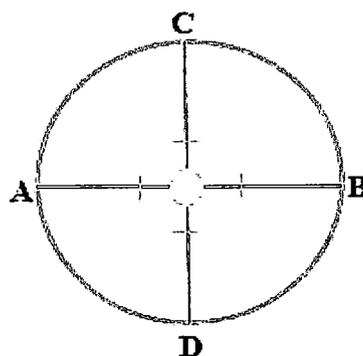


Figura N° 03. Placa petri luego de ser marcada para su evaluación de fungicidas a nivel in vitro

6.- El testigo fue sembrado de la misma forma, pero en placas petri con medio PDA sin fungicida.

7.- Las placas petri fueron incubadas a 28°C.

8.- Todos los días se procedió a medir el crecimiento micelial del hongo en los diámetros AB y CD de las placas petri, para lo cual se utilizó una regla milimétrica. La evaluación terminó cuando el hongo sembrado en la placa petri sin fungicida (testigo) cubrió completamente el medio de cultivo.

9.- Los mejores fungicidas y dosis serán seleccionados para la prueba en invernadero.

La eficacia de los fungicidas evaluados fue determinado por cálculo del porcentaje de inhibición en el crecimiento radial de colonia usando la siguiente formula (Cruz *et al.* 2000):

$$PI = \frac{C - T}{C} \times 100$$

Dónde:

PI = Porcentaje de inhibición %

C = Crecimiento radial en el testigo (mm o cm)

T = Crecimiento radial en cada tratamiento (mm o cm)

a. Diseño estadístico

El diseño estadístico utilizado en el ensayo experimental a nivel in vitro es el Diseño Completamente al Azar (DCA) y la Prueba de Tukey para la comparación de medias, con 7 tratamientos y 5 repeticiones cada uno a un nivel de significación de 0.05.

Cuadro N° 05. Prueba in vitro de fungicidas para el control de *Sclerotium sp.*

Tratamientos	Descripcion	Dosis		
		Baja	Media	Alta
T1	<i>Sclerotium sp.</i> (testigo)	0.0	0.0	0.0
T2	Propineb	0.5 g	2.5 g	4.5 g
T3	Mancozeb	0.5 g	2.5 g	4.5 g
T4	Tebuconazole	0.5 ml	2.5 ml	4.5 ml
T5	Difenoconazole	0.5 g	2.5 g	4.5 g
T6	Prochloraz	0.5 ml	2.5 ml	4.5 ml
T7	Propoleo	4 ml	8ml	12 ml

Cuadro N° 06. Distribución física de los tratamientos de fungicidas a nivel in vitro usados para el control de *Sclerotium sp.*

Tratamientos	T3			T4			T7			T1			T2			T6			T5		
Dosis	DB	DM	DA																		
Repetición 5	○	○	○	●	●	●				○	○	○				○	○	○			
Repetición 3	○	○	○	●	●	●				○	○	○				○	○	○			
Repetición 1	○	○	○	●	●	●				○	○	○				○	○	○			
Repetición 4	○	○	○	●	●	●				○	○	○				○	○	○			
Repetición 2	○	○	○	●	●	●				○	○	○				○	○	○			

Donde:

T1: PDA + *Sclerotium sp.* (testigo)

T2: Propineb + *Sclerotium sp.*

T3: Mancozeb + *Sclerotium sp.*

T4: Tebuconazole + *Sclerotium sp.*

T5: Difenconazole + *Sclerotium sp.*

T6: Procloraz + *Sclerotium sp.*

T7: Propóleo + *Sclerotium sp.*

D.B: Dosis baja

D.M: Dosis media

D.A: Dosis alta

3.3.1.3 Determinación del porcentaje de antagonismo de los biocontroladores (*T. harzianum*, *T. viride* y *T. lignorum*) frente a *Sclerotium sp.* en la prueba de enfrentamiento a nivel in vitro

a. Evaluación.

A fin de evaluar la actividad antagónica de las cepas de los biocontroladores se realizó la técnica del enfrentamiento en placas petri con medio PDAO. El procedimiento se describe a continuación:

1.- Se preparó el medio PDA y se plaqueó.

2.- Se tomaron placas petri con el aislamiento del agente causal y biocontroladores, los cuales se colocaron dentro de un Microvoid, para su respectiva siembra.

3.- La siembra consistió en poner rodajas de 0.5 cm de diámetro de manera equidistante y en forma opuesta al patógeno-patógeno, biocontrolador-biocontrolador (testigos) y patógeno- biocontrolador.

4.- Las placas se sellaron con parafilm y se incubaron a 28 °C para su crecimiento.

5.- Encima de la placa petri, se marcó una línea horizontal para su respectiva evaluación de testigos (patógeno-patógeno/biocontrolador- biocontrolador) y biocontrolador-patógeno (Figura 04).

Trichoderma harzianum – *Trichoderma harzianum*

Trichoderma viride – *Trichoderma viride*

Trichoderma lignorum - *Trichoderma lignorum*

Trichoderma harzianum – patógeno

Trichoderma viride - patógeno

Trichoderma lignorum - patógeno

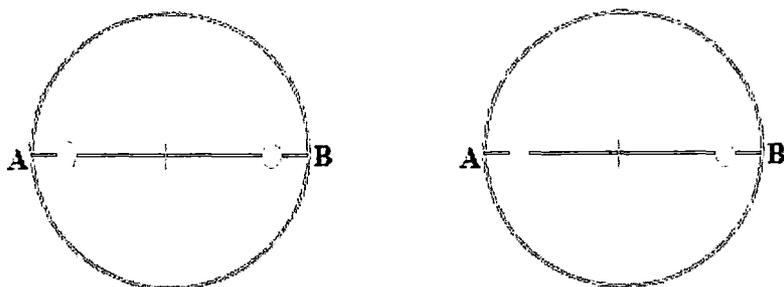


Figura N° 04. Placa petri luego de ser marcada para su evaluación in vitro en la determinación del porcentaje de antagonismo.

6.- Todos los días se procedió a medir el crecimiento de los hongos en la línea horizontal de la placa petri, para lo cual se utilizó una regla milimétrica. La evaluación terminó cuando los testigos (biocontrolador - biocontrolador y patógeno-patógeno) sembrados equidistantes y opuestos llegaron a la mitad de la placa petri, esto para obtener el porcentaje de inhibición con respecto a los biocontroladores-patógeno.

Con los resultados obtenidos, se determinó el porcentaje de inhibición de crecimiento radial (ICR) mediante la fórmula de Cruz.*et.al* (2000):

$$\text{ICR (\%)} = (R1-R2) 100/R1$$

Dónde:

R1: es la distancia más lejana recorrida por el patógeno.

R2: es la distancia recorrida por el patógeno hacia el antagonista.

b. Diseño estadístico

El diseño estadístico utilizado en el ensayo experimental en la prueba de enfrentamiento biocontroladores y agente causal fue un Diseño Completamente al Azar (DCA) y la Prueba de Tukey para la comparación de medias, con 7 tratamientos y 5 repeticiones cada uno a un nivel de significación de 0.05.

Cuadro N° 07. Tratamientos in vitro utilizados para determinar la capacidad antagónica de los biocontroladores sobre el agente causal.

Tratamientos	Biocontroladores frente a <i>Sclerotium sp.</i> En la prueba de enfrentamiento a nivel in vitro	Características	Clave	N° de repeticiones
T1	<i>Trichoderma harzianum</i> vs <i>Sclerotium sp.</i>	Biocontrolador-patógeno	T.h x S.sp.	5
T2	<i>Trichoderma viride</i> vs <i>Sclerotium sp.</i>	Biocontrolador-patógeno	T.v x S.sp.	5
T3	<i>Trichoderma lignorum</i> vs <i>Sclerotium sp.</i>	Biocontrolador-patógeno	T.l x S.sp.	5
T4	<i>Trichoderma harzianum</i> vs <i>Trichoderma harzianum</i> (Testigo)	Biocontrolador-biocontrolador	T.h x T.h	5
T5	<i>Trichoderma viride</i> vs <i>Trichoderma viride</i> (Testigo)	Biocontrolador-biocontrolador	T.v x T.v	5
T6	<i>Trichoderma lignorum</i> vs <i>Trichoderma lignorum</i> (Testigo)	Biocontrolador-biocontrolador	T.l x T.l	5
T7	<i>Sclerotium sp.</i> vs <i>Sclerotium sp.</i> (Testigo)	Patógeno-patógeno	S.sp. x S.sp.	5

Cuadro N° 08. Distribución física de los tratamientos a nivel in vitro utilizados para determinar la capacidad antagonista de los biocontroladores sobre el agente causal.

Tratamientos	T3	T4	T7	T1	T2	T6	T5
Repetición 5							
Repetición 3							
Repetición 1							
Repetición 4							
Repetición 2							

Dónde:

T1: *Trichoderma harzianum* vs *Sclerotium* sp.

T2: *Trichoderma viride* vs *Sclerotium* sp.

T3: *Trichoderma lignorum* vs *Sclerotium* sp.

T4: *Trichoderma harzianum* vs *Trichoderma harzianum* (testigo)

T5: *Trichoderma viride* vs *Trichoderma viride* (testigo)

T6: *Trichoderma lignorum* vs *Trichoderma lignorum* (testigo)

T7: *Sclerotium* sp. vs *Sclerotium* sp. (testigo)

3.3.2. Fase de Invernadero

En esta fase se probaron los fungicidas y dosis seleccionados en la fase in vitro con la finalidad de evaluar su efecto de control del agente causal pudrición seca del frijol.

3.3.2.1 Determinación del porcentaje de control de los biocontroladores (*T. harzianum*, *T. viride* y *T. lignorum*) y fungicidas sobre *Sclerotium sp.* en condiciones de invernadero.

a. Evaluación.

En esta fase de invernadero se probaron los biocontroladores (*T. harzianum*, *T. viride* y *T. lignorum*) y fungicidas (Difeconazole, Tebuconazole y Prochloraz). Bayer (2009), indica seleccionar la dosis baja porque las dosis media y alta presentaron el mismo efecto de control que la dosis baja. El procedimiento se describe a continuación:

1.-Propagación en placas petri de biocontroladores (*T. harzianum*, *T. viride*, *T. lignorum*) y agente causal (*Sclerotium sp.*), fueron propagados en 30 placas petri estériles conteniendo medio PDA e incubados a 28°C por siete días para que llenen el total de la placas y de esta manera obtener el mayor número de rodajas para la siembra en cada una de las macetas según los tratamientos dispuestos.

2.-La siembra de cada uno de los biocontroladores, del agente causal y del testigo se realizó en macetas de acuerdo a los tratamientos conteniendo suelo estéril (se desinfecto al vapor durante 2 horas).

3.- Las macetas de 1 kilo de capacidad luego de ser de desinfectadas en una solución de hipoclorito de sodio al 2% fueron llenadas con el suelo estéril; posteriormente y de acuerdo a los tratamientos se colocaron en forma homogénea

y con ayuda de una pinza estéril las 15 rodajas de agar con micelio y esporas de cada biocontrolador y del patógeno según los tratamientos.

4.- Una vez que se incorporó cada uno de los biocontroladores y el patógeno se mezcló homogéneamente el contenido del suelo estéril en la maceta y se procedió a sembrar 4 semillas de frijol tratadas con los fungicidas y fueron colocados en forma equidistante y a 1cm de profundidad. Por cada tratamiento se dispuso un total de 10 macetas.

5.- Se utilizó 50 semillas de frijol para cada fungicida (Difenoconazole, Tebuconazole y Procloraz), los cuales se remojaron en una concentración de 0.1% para ser sembradas y posteriormente los tratamientos solo con estos fungicidas fueron regados.

6.- Una vez tratadas las semillas incluyendo las del testigo, se sembraron en las macetas ubicadas en invernadero, las macetas sembradas fueron regadas diariamente. La primera observación se realizó a los 15 días de la siembra, anotando el porcentaje de plantas muertas y si había plantas afectadas por *S. rolfsii*.

7.- Finalmente porciones de tejido afectadas por *S. rolfsii* fueron sembrados en medio PDAO con la finalidad de reaislar al patógeno y comparar su presencia en dichos tejidos con las muestras y la identificación que se realizó en la Clínica de Diagnosis de la UNALM.

b. Diseño estadístico

El diseño estadístico utilizado en el ensayo experimental es un Diseño Completamente al Azar (DCA) y la Prueba de Tukey para la comparación de medias, con 14 tratamientos y 10 repeticiones cada uno a un nivel de significación de 0.05. Para esta fase se registró un número de plantas vivas que fueron transformados por la formula \sqrt{x} para su análisis estadístico.

Cuadro N° 09. Tratamientos de los biocontroladores (*T. harzianum*, *T. viride* y *T. lignorum*) y fungicidas sobre *Sclerotium sp* en condiciones de invernadero.

Tratamiento	Clave	Prueba de control de fungicidas y biocontroladores	N° repeticiones
T1	S s.p	<i>Sclerotium s.p</i> (testigo)	10
T2	T A	Testigo absoluto	10
T3	T h	<i>Trichoderma harzianum</i> (testigo)	10
T4	Tv	<i>Trichoderma viride</i> (testigo)	10
T5	TI	<i>Trichoderma lignorum</i> (testigo)	10
T6	Di	Difenoconazole (testigo)	10
T7	Te	Tebuconazole (testigo)	10
T8	Pro	Prochloraz (testigo)	10
T9	Pro+S.sp	Prochloraz + <i>Sclerotium sp.</i>	10
T10	Te+S.sp.	Tebuconazole + <i>Sclerotium sp.</i>	10
T11	Di+S.sp.	Difenoconazole + <i>Sclerotium sp.</i>	10
T12	Th+S.sp.	<i>Trichoderma harzianum</i> + <i>Sclerotium sp.</i>	10
T13	Tv+S.s.p	<i>Trichoderma viride</i> + <i>Sclerotium sp.</i>	10
T14	TI+S.sp.	<i>Trichoderma lignorum</i> + <i>Sclerotium sp.</i>	10

Cuadro N° 10. Distribución física de los biocontroladores (*T. harzianum*, *T. viride* y *T. lignorum*) y fungicidas sobre *Sclerotium sp.* en condiciones de invernadero.

Tratamientos													
M	B	G	C	F	I	J	L	E	D	H	LL	A	K
x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x

x: plantas a evaluar por maceta

Dónde:

A = Te x Sr= semillas de frijol remojadas con tebuconazole + *Sclerotium sp.*

B = T.h= semillas de frijol + micelio de *T. harzianum*

C = T.l= semillas de frijol + micelio de *T. lignorum*

D = Te= semillas de frijol remojadas con fungicida tebuconazole

E = Di= semillas de frijol remojadas con fungicida difenoconazole.

F = Th x Sr= semillas de frijol+ micelio de *T. harzianum* + micelio de *Sclerotium sp.*

G = T.v= semillas de frijol + micelio de *T. viride*

H = Pro= semillas de frijol remojadas con fungicida procloraz.

I = Tv x S.sp.= semillas de frijol+ micelio de *T. viride* + micelio de *Sclerotium sp.*

J = TI x S.sp.= semillas de frijol+ micelio de *T. lignorum* + micelio de *Sclerotium sp.*

K = Pro x S.sp.= semillas de frijol remojadas con fungicida procloraz + *Sclerotium*

L = S.sp.= semillas de frijol + micelio de *Sclerotium sp.*

LL = Di x S.sp.= semilla de frijol remojada con difenoconazole + *Sclerotium sp.*

M = T.A= semillas de frijol

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Resultados

4.1.1. Aislamiento, purificación y mantenimiento del agente causal de la pudrición seca del frijol.

➤ Aislamiento

Los aislamientos de *Sclerotium sp.* obtenidos de las plantas enfermas de frijol y de suelo infestado presentaron características similares.

Los esclerotes se caracterizaron por su forma redonda, color pardo a café y con un tamaño de 1 a 2 mm. Los esclerotes cultivados en medio PDA estéril e incubados a 28°C iniciaron la germinación a las 24 horas, el micelio desarrolló radialmente sobre el medio de cultivo y al quinto día cubrió toda la superficie de la placa y comenzaron a formarse los primeros esclerotes de tamaño muy pequeños de color blanco y a partir del noveno día se observó los esclerotes maduros de mayor tamaño y de color marrón oscuro. Se comprobó que la temperatura óptima de *Sclerotium sp.* fue de 28°C por el rápido desarrollo que tuvo.

➤ Identificación

Los resultados de identificación fueron obtenidos en la Clínica de Diagnóstico de Fitopatología y Nematología de la Universidad Agraria la Molina dan como resultado la presencia del hongo *Sclerotium sp.* Anexo N° 01.

➤ Prueba de patogenicidad

La prueba de patogenicidad confirmó que al inocular *Sclerotium sp.* obtenidas de las plantas enfermas y de los esclerotes a las plantas sanas de frijol se produjo la misma sintomatología, observándose hundimientos en la base de los hipocótilos de las plantas, marchitamiento y crecimiento de micelio y al pasar unos días se observó los esclerotes, lo que confirma que se trata de *Sclerotium sp.*

La propagación de cada uno de los biocontroladores en medio PDA a 28°C presentó un rápido crecimiento radial del micelio, las colonias hialinas se iban tornando de verde claro a uno más intenso para el caso de *T. harzianum* y *T. lignorum* en formas concéntricas bien definidas; y para el caso de *T. viride* las colonias hialinas se iban tornando verde-amarillento con formas concéntricas. Los biocontroladores llenaron la placa petri totalmente a los 4 días de la siembra, fueron fácilmente cultivados.

4.1.2. Prueba in vitro de fungicidas para el control de *Sclerotium sp.*

Los resultados del análisis de variancia (Cuadro 12) indican diferencias estadísticamente significativas entre los promedios de los tratamientos, fungicidas, dosis e interacción a un nivel de confianza de 0.05. Se tuvo un coeficiente de variabilidad es de 8.29 %, debido a que se trabajó bajo condiciones controladas (asepsia) y un promedio de 21.73.

Las placas de los diferentes tratamientos con fungicidas se mantuvieron por dos semanas más, a fin de observar si se producía desarrollo micelial de *Sclerotium sp.* para verificar el periodo de residualidad del fungicida.

Los fungicidas Propineb, Mancozeb y el biofungicida Propóleo, por su poca efectividad para la inhibición del desarrollo de *Sclerotium sp.* a nivel in vitro, será descartado para las pruebas posteriores.

Cuadro N° 11. Cuadro ordenado de resultados del desarrollo micelial de *Sclerotium sp.* con diferentes fungicidas a nivel in vitro

Tratam. Repet.	Folicur (F1)			Score (F2)			Testigo (F3)			Sportak (F4)			Antracol (F5)			Dithane (F6)			Propoleo (F7)		
	D1	D2	D3	D1	D2	D3	D1	D2	D3	D1	D2	D3	D1	D2	D3	D1	D2	D3	D1	D2	D3
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
I	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	85.00	85.00	85.00	0.00	0.00	0.00	6.00	7.00	6.00	11.50	6.00	5.00	59.00	59.00	58.00
II	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	85.00	85.00	85.00	0.00	0.00	0.00	8.50	6.00	5.00	9.00	6.00	5.00	55.00	56.00	53.00
III	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	85.00	85.00	85.00	0.00	0.00	0.00	6.00	6.00	5.50	12.25	5.00	5.00	56.00	50.00	48.50
IV	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	85.00	85.00	85.00	0.00	0.00	0.00	7.25	6.50	5.50	10.00	6.00	6.00	59.50	58.00	46.00
V	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	85.00	85.00	85.00	0.00	0.00	0.00	5.50	6.00	0.00	11.00	7.00	4.00	60.00	50.50	43.00
Promedio	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	85.00	85.00	85.00	0.00	0.00	0.00	6.65	6.30	4.40	10.75	6.00	5.00	57.90	54.70	49.70

Cuadro N° 12. Análisis de variancia del desarrollo micelial promedio de *Sclerotium sp.* con diferentes fungicidas a nivel in vitro.

Fuente de variación	G.L.	S.C.	C.M.	F calculado	F teórico 5%	Sig.
Tratamiento	20	104251.6583	5212.5829	1605.34	1.7	*
Fungicidas	6	103971.825	17328.638	5336.78	2.21	*
Dosis	2	93.7476	46.8738	14.44	3.11	*
Fungicidas*dosis	12	186.0857	15.5071	4.78	1.87	*
Error	84	272.75	3.247			
Total	104	104524.4083				
CV (%)				8.29		
Promedio				21.73		

En el Cuadro 13 y Figura 05, se observan los resultados de la prueba de Tukey de la prueba del alimento envenenado donde los fungicidas utilizados como: Tebuconazole (triazoles) (T4), Difenoconazole (triazoles) (T5) y Procloraz (imidazoles) (T6) inhibieron completamente el desarrollo micelial de *Sclerotium sp.* Pero los fungicidas: Propineb (T2) y Mancozeb (T3) no inhibieron el crecimiento de *Sclerotium sp.* (no son recomendable para estos patógenos) porque al tercer día

empezó a crecer el micelio. El biofungicida Propóleo tampoco inhibió el crecimiento, este creció desde el segundo día de realizada la siembra de *Sclerotium sp.* Se observó un rápido desarrollo radial del tratamiento Testigo (T1), al sexto día el micelio había cubierto toda la superficie de la placa a diferencia de los otros tratamientos.

Cuadro N° 13. Prueba de Tukey (0.05) para el desarrollo micelial de *Sclerotium sp.* en medio envenenado con diferentes fungicidas.

Tratamiento	Ingrediente activo	Fungicida	Desarrollo micelial promedio (mm)	Significación
T4	TEBUCONAZOLE	FOLICUR	0	a
T5	DIFENOCONAZOLE	SCORE	0	a
T6	PROCHLORAZ	SPORTAK	0	a
T2	PROPINEB	ANTRACOL	5.78	b
T3	MANCOZEB	DITHANE	7.25	b
T7	PROPOLEO	PROPOLEO	54.1	c
T1	TESTIGO		85	d

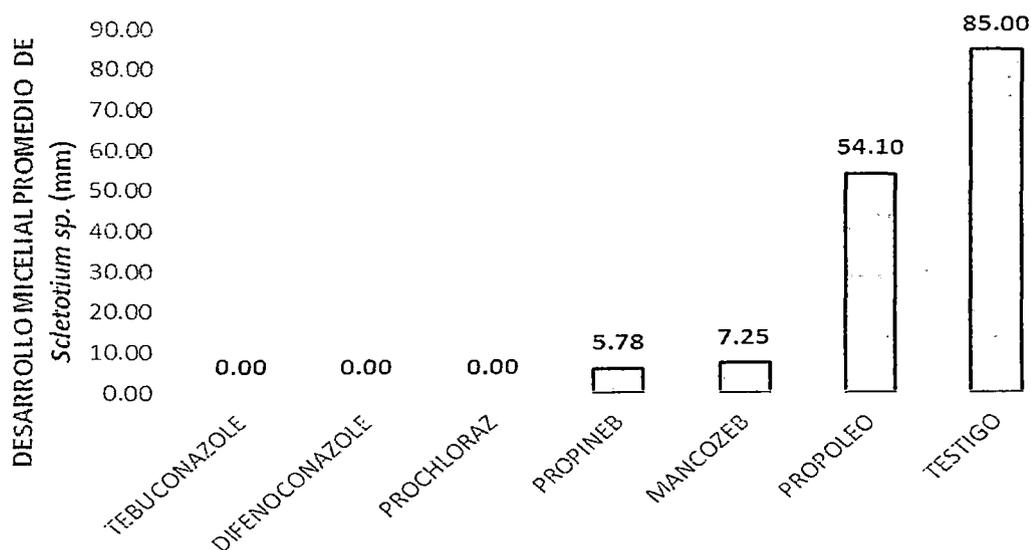


Figura N° 05. Desarrollo micelial promedio de *Sclerotium sp.* (mm) en los diferentes fungicidas

En el Cuadro 14 se observa la prueba de comparación Tukey para el desarrollo micelial promedio de *Sclerotium sp.* para los tratamientos con diferentes dosis; donde la mejor dosis que logró inhibir completamente el desarrollo de *Sclerotium sp.*, es la dosis alta (D3), seguido de las dosis media (D2) y dosis baja (D1). Es una interacción de dosis de fungicidas.

Cuadro N° 14. Prueba de Tukey (0.05) para el desarrollo micelial promedio de *Sclerotium sp.* en tratamientos con diferentes dosis.

Tratamientos	Dosis	Desarrollo micelial promedio (mm)	Significación
D3	Alta(4,5 g)	20.58	a
D2	Media (2,5 g)	21.71	b
D1	Baja (0.5 g)	22.90	c

En el Cuadro 12, se observó la interacción entre fungicidas y dosis la cual fue significativa, esto indica que se debe realizar un ANVA de efectos simples. Por tanto en el Cuadro 15, se observa que los fungicidas Mancozeb (T3), Propineb (T2) y el biofungicida Propóleo (T7) estadísticamente son “significativos”, esto nos indica que a una dosis baja, media y alta la inhibición del desarrollo de *Sclerotium sp.* es diferente; es decir tuvo diferente desarrollo micelial tanto a dosis alta, media y baja. Mientras los fungicidas Tebuconazole (T4), Difenoconazole (T5) y Prochloraz (T6) estadísticamente son “no significativos”; quiere decir que el desarrollo de *Sclerotium sp.* es inhibido completamente por estos fungicidas, tanto a dosis baja, media y alta.

Por lo tanto las diferentes dosis de estos fungicidas en estudio inhibieron completamente el desarrollo de *Sclerotium sp.* Por ello de acuerdo a estos resultados se seleccionaron para las pruebas posteriores los tratamientos con dosis bajas de los fungicidas Tebuconazole (T4), Difenoconazole (T5) y Prochloraz (T6) porque al igual que las dosis altas controlan a *Sclerotium sp.*

Cuadro N° 15. Análisis de variancia del desarrollo micelial promedio por efectos de la interacción (fungicidas x dosis) a nivel in vitro

FUENTE DE VARIACION	G.L.	S.C.	C.M.	F. CALCULADO	F. TEORICO	Sig 5%
Tebuconazole en dosis	2	0.0000	0.0000	0.0000	3.11	n.s.
Mancozeb en dosis	2	94.375	47.1875	14.53	3.11	*
Difenoconazole en dosis	2	0.0000	0.0000	0.0000	3.11	n.s.
Testigo en dosis	2	0.0000	0.0000	0.0000	3.11	n.s.
Propineb en dosis	2	14.658333	7.329167	12.26	3.11	*
Propoleo en dosis	2	0.0000	0.0000	0.0000	3.11	*
Procloraz en dosis	2	0.0000	0.0000	0.0000	3.11	n.s.
Dosis baja en fungicidas	6	35332	5888.6	1813.54	2.21	*
Dosis media en fungicida	6	34961	5826.84048	1794.52	2.21	*
Dosis alta en fungicidas	6	33865	5644.20714	1738.27	2.21	*
Error	84	272.75	3.247			

4.1.3. Determinación del porcentaje de antagonismo de los biocontroladores (*T. harzianum*, *T. viride* y *T. lignorum*) frente a *Sclerotium sp.* a nivel in Vitro.

Los resultados correspondientes a esta prueba se observan en el Cuadro 16 donde a los 12 días de la incubación de los enfrentamientos, los biocontroladores *T. viride* (T2), *T. lignorum* (T3) y *T. harzianum* (T1) alcanzaron un 18, 13.7 y 6.1 % de control sobre *Sclerotium sp.* El análisis de variancia (Cuadro 17), indica diferencias significativas entre promedios para la inhibición micelial a un nivel de confianza de 0.05 con un coeficiente de variación de 2.8; es por ello que se realizará la prueba de Tukey (Cuadro 19).

Cuadro 16. Crecimiento del desarrollo micelial de *Sclerotium sp.* en presencia de los biocontroladores (*T. viride*, *T. lignorum* y *T. harzianum*) a nivel in vitro.

Crecimiento del desarrollo micelial de <i>Sclerotium sp.</i> en presencia de los biocontroladores <i>T.viride</i> , <i>T lignorum</i> y <i>T. harzianum</i>							
REP	Testigos (mm)				crecimiento micelial (mm)		
	T.h x Th.	T.v x T.v	T.l x T.l	S.r x S.r	S.s.p		
					T.h	T.v	T.l
	T4	T5	T6	T7	T1	T2	T3
1	43	42	41	42	39.98	35.99	38.01
2	44	42	43	43	39.00	34.01	35.99
3	42	44	43	43	40.98	35.99	35.00
4	40	42	41	41	38.99	33.01	36.00
5	43	43	43	42	39.02	34.02	37.00
PROM.	42.4	42.6	42.2	42.2	39.60	34.60	36.40

Cuadro N° 17. Porcentaje de crecimiento del desarrollo micelial de *Sclerotium sp.* en presencia de *T. harzianum*, *T. viride* y *T. lignorum* a nivel in vitro.

Porcentaje de crecimiento del desarrollo de <i>Sclerotium sp.</i> en presencia de los biocontroladores (<i>T. harzianum</i> , <i>T. viride</i> y <i>T. lignorum</i>)							
REP	Testigos (mm)				% de crecimiento micelial		
	T.h x Th.	T.v x T.v	T.l x T.l	S.r x S.r	S.r		
					T.h	T.v	T.l
	T4	T5	T6	T7	T1	T2	T3
1	43	42	41	42	4.8	14.3	9.5
2	44	42	43	43	9.3	20.9	16.3
3	42	44	43	43	4.7	16.3	18.6
4	40	42	41	41	4.9	19.5	12.2
5	43	43	43	42	7.1	19	11.9
PROM.	42.4	42.6	42.2	42.2	6.1	18	13.7

Así mismo en el Cuadro 17 se observa, la inhibición de *Sclerotium sp.* enfrentados a los biocontroladores: *T. viride*, *T. lignorum* y *T. harzianum* lograron una inhibición de 34.6, 36.4 y 39.6 mm con respecto al Testigo (T7) con 42.2 mm de desarrollo micelial alcanzado por *Sclerotium sp.* Esto demuestra la capacidad antagonista de los diferentes biocontroladores sobre *Sclerotium sp.*, porque afectó el desarrollo micelial y la formación de esclerotes en forma significativa aunque no lo impidió totalmente, pero tampoco lo dejó avanzar, lo rodeó y al pasar los días los biocontroladores: *T. viride* y *T. lignorum* invadieron y crecieron encima de *Sclerotium sp.* y posteriormente colonizaron toda la superficie de la placa, mientras *T. harzianum* fue lento al invadir y crecer sobre *Sclerotium sp.*

La mayoría de las especie de *Trichoderma* presentaron zona de intersección visible con las hifas del patógeno *Sclerotium sp.* y entre mayor es el área de contacto y/o sobrecrecimiento, mayor es la agresividad por parte del hongo antagónico.

Cuadro N° 18. Análisis de variancia de la inhibición del desarrollo micelial de *Sclerotium sp.* en presencia de los biocontroladores *T. viride*, *T. lignorum* y *T. harzianum*.

FUENTE DE VARIACION	G.L.	S.C.	C.M.	F CALCULADO	F TEORICO	Sig. 5%
Tratamiento	6	322.4	53.733	42.26	2.45	*
Error	28	35.6	1.271			
Total	34	358				
CV (%)	2.81					
Promedio	40					

Realizando la prueba de comparación de Tukey en el parámetro inhibición del desarrollo micelial, se observa el Cuadro 19 y Figura 06, que *T. viride* y *T. lignorum* presentaron mayor porcentaje de antagonismo frente a *Sclerotium sp.* Por lo tanto se recomienda usar una de estas dos cepas.

Cuadro 19. Prueba Tukey del desarrollo micelial de *Sclerotium sp.* en presencia de los biocontroladores *T. viride*, *T. lignorum* y *T. harzianum*.

Tratamientos	Desarrollo micelial promedio (mm)	Significación
Tv x S. sp.	34.60	a
Th x S. sp.	36.40	a
TI x S. sp.	39.60	b
S. sp. x S. sp.	42.20	c
Th x Th	42.40	c
TI x TI	42.20	c
Tv x Tv	42.60	c

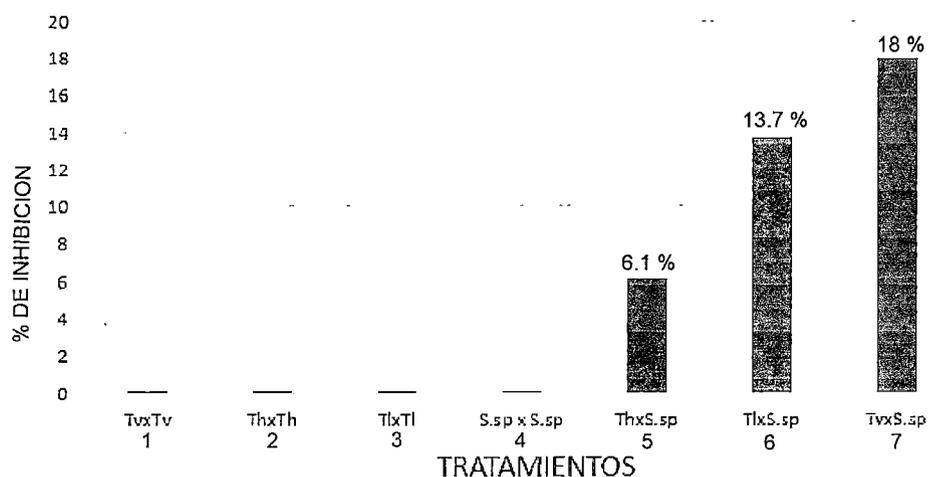


Figura N° 06. Inhibición del desarrollo micelial promedio (mm) de *Sclerotium sp.* en presencia de *T. viride*, *T. lignorum* y *T. harzianum*.

4.1.4. Determinación del porcentaje de control de los biocontroladores (*T. harzianum*, *T. viride* y *T. lignorum*) y fungicidas sobre el agente causal de la pudrición seca del frijol en condiciones de invernadero

En el Cuadro 20 se observan los resultados de los tratamientos llevados a la transformación \sqrt{x} para hallar el porcentaje de control de los biocontroladores: *T. harzianum*, *T. viride* y *T. lignorum* y fungicidas sobre *Sclerotium rolfsii*. El análisis de variancia (Cuadro 18) indica diferencias significativas entre los tratamientos, es por ello que se realizará la prueba de comparación Tukey a un nivel de significancia de 0.05.

En el Cuadro 20 y Figura 07, se observa que a los 15 días de la evaluación el tratamiento con fungicida Difenoconazole (T6) y los biocontroladores *T. viride* (T4), *T. lignorum* (T5) son estadísticamente iguales con un 98% de plantas sanas por maceta. Seguido del testigo absoluto (T2), el biocontrolador *T. harzianum* (T3), y los fungicidas Tebuconazole (T7), Procloraz (T8) que son estadísticamente iguales con 95% de plantas sanas, para estos tratamientos se observó que las semillas que no germinaron fueron porque estaban podridas. A todos estos tratamientos se les considero testigos.

El tratamiento del biocontrolador *T. viride* + *Sclerotium sp.* (T13) con 63% de plantas sanas y el tratamiento con fungicida Difenoconazole + *Sclerotium sp.* (T11) con 61% de plantas sanas, fueron diferentes a los demás tratamientos y los mejores en cuanto a la inhibición del desarrollo micelial de *Sclerotium sp.*

Así mismo los tratamientos con fungicidas Tebuconazole + *Sclerotium sp.* (T10) y Procloraz + *Sclerotium sp.* (T9) son significativamente iguales con 58 y 53% de plantas sanas por maceta. Y los tratamientos con biocontroladores *T. lignorum* + *Sclerotium sp.* (T14) y *T. harzianum* + *Sclerotium sp.* (T12) son estadísticamente iguales, pero en algunas macetas con *T. harzianum* se observó un poco desarrollo micelial en las plantas con síntomas de marchitamiento con tan solo 51 y 48% de las plantas sanas, respecto a los testigos solos sea de los

biocontroladores o fungicidas que obtuvieron un 98 y 95% de las plantas sanas. Esto confirma que las diferentes especies de *Trichodermas spp.* no matan a las plantas y son hongos antagonistas de este patógeno. Así mismo, el tratamiento Testigo (T1) al cuarto día se observó mayor desarrollo de micelio, necrosis en las semillas y la aparición de esclerotes en la parte superficial.

Cuadro N° 20. Número de plantas de frijol sanas por maceta transformadas a \sqrt{x} en el control de *Sclerotium sp.* por medio de los biocontroladores *T. viride*, *T. harzianum*, *T. lignorum* y los fungicidas Difenoconazole, Tebuconazole y Procloraz a nivel de invernadero.

N° DE PLANTAS GERMINADAS POR MACETA														
	T2	T3	T4	T5	T13	T14	T12	T1	T6	T7	T8	T11	T10	T9
Repetición	T.A	T. h.	T.v.	T.l.	T.v x Sr	T.l x Sr	T.hX Sr	S.r	Di	Te	Pro	Di x S.r	Te. x Sr	Pro x Sr
1	2	2	2	2	2	1.7	1.7	1	2	2	1.7	1.7	1.7	1.4
2	2	2	2	1.7	1.7	1.6	1.4	0	2	1.7	2	1.4	1.4	1.4
3	2	2	2	2	1.4	1.7	1.7	1.2	1.7	2	2	1.6	1.4	1
4	1.7	1.7	2	2	1.7	1.4	1.4	0	2	2	2	1	1.7	1.4
5	1.7	2	1.7	2	1.7	1.7	1	1	2	2	2	1.4	1.7	1.7
6	2	2	2	2	1.7	1.4	1.7	0	2	2	2	1.4	1.4	1.4
7	2	2	2	2	1.4	1.7	1	1	2	2	2	1.4	0	1.4
8	2	2	2	2	1.4	1	1.7	1	2	1.7	2	1.7	1.4	1.7
9	2	2	2	2	1.4	1.7	1.4	1.4	2	2	2	1	1.4	0
10	2	1.7	2	2	1	1.4	1.7	1	2	2	1.7	1.4	1.4	1.4
Promedio	1.9	1.9	2	2	1.6	1.5	1.5	0.8	2	1.9	1.9	1.4	1.4	1.3

Para inocular los *Trichoderma* tengo que incrementar el inóculo lo hago a través de trigo pre cocido previamente lavado pre cocido luego seorea se embolsa se cierra con algodón y una liga luego se autoclava a 121 C como tengo placas Petri con *Trichoderma* saco en rodajitas y lo siembro en el trigo entonces empieza a desarrollar el hongo a cada maceta voy a echarle 5 gr de *Trichoderma* o patógeno y en caso de los fungicidas desinfectar la semilla con los tratamientos antes de la siembra.

Cuadro N° 21. Análisis de variancia para el número de plantas de frijol sanas por macetas, previa transformación a \sqrt{x} .

Fuente de variación	G.L.	S.C.	C.M.	F Calculado	F Teórico	Sig. 5%
Tratamiento	13	14.9554286	1.8429011	24.46	1.81	*
Error	126	10.09000000	0.07534921			
Total	139	25.0454286				
CV (%)	17.09					
Promedio	1.65					

Cuadro N° 22. Prueba Tukey para el número de plantas de frijol sanas por macetas, en el control de *Sclerotium sp.* por medio de los biocontroladores *T. viride*, *T. harzianum*, *T. lignorum* y los fungicidas Difenconazole, Tebuconazole y Procloraz a nivel de invernadero.

Tratamientos	N° plantas sanas por maceta	% de plantas por maceta	Significación
Di	1.97	98	a
Tv	1.97	98	a
Tl	1.97	98	a
Ta	1.94	95	a b
Te	1.94	95	a b
Th	1.94	95	a b
Pro	1.94	95	a b
Tv x S.sp.	1.54	63	a b c
Di x S.sp.	1.53	61	b c
Te x S.sp.	1.47	58	c
Pro x S.sp.	1.40	53	c
Tl x S.sp.	1.35	51	c d
Th x S.sp.	1.28	48	c d
S.sp.	0.84	21	d

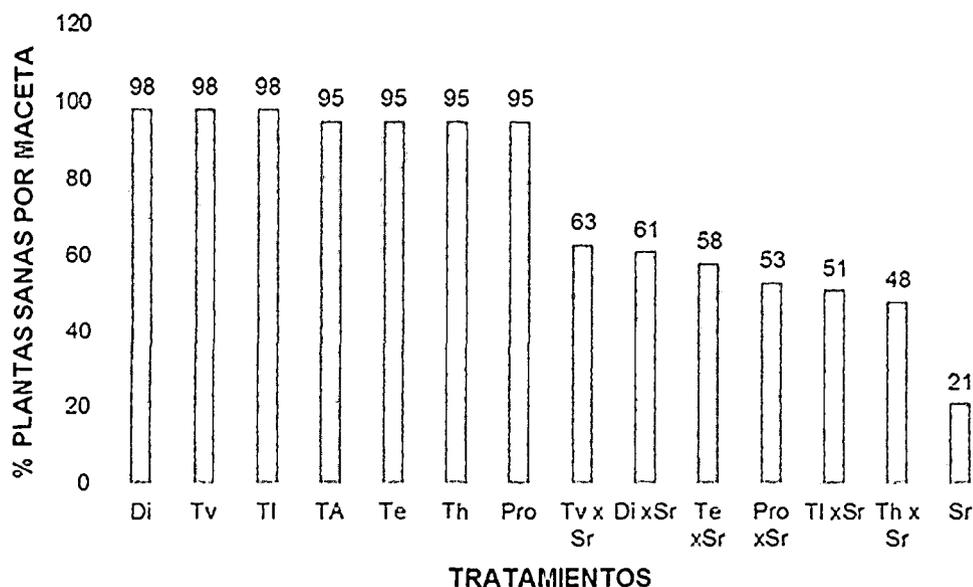


Figura N° 07. Porcentaje de plantas vivas por macetas.

4.2. Discusiones

a.- Identificación

La identificación realizada por la Clínica de Diagnóstico de Fitopatología de la UNALM de las muestras enviadas concuerda con los síntomas descritos por Agrios (1996). Y al realizar la prueba de patogenicidad, cumpliendo los postulados de Koch descritos por Agrios (1996) se confirma que el agente causal de la pudrición seca del frijol es *Sclerotium sp.*

b.- Fungicidas

A nivel in vitro, los fungicidas sistémicos: Tebuconazole (T4) y Difenconazole (T5) y el fungicida de contacto: Procloraz (T6) inhibieron el desarrollo del patógeno durante la prueba del alimento envenenado, lo cual indica que son igualmente efectivos; porque impiden o inhiben el desarrollo del patógeno.

Esto concuerda con Rivera (1995) y Bayer (2009) porque tienen el mismo modo de acción en la biosíntesis de las membranas, atacando el C14-demetilación en la biosíntesis de esteroides y de la misma manera pertenecen al grupo de los inhibidores de la biosíntesis de esteroides, por más que sean de grupos químicos diferentes cumplen el mismo propósito. Por otro lado tenemos a los fungicidas Mancozeb (T3) y Propineb (T2) quienes redujeron significativamente el desarrollo del patógeno, aunque no lo impidió totalmente, a diferencia de los otros fungicidas; esto debido a que son fungicidas de contacto que tienen otro mecanismo de acción llamado multi-sitio que actúan solo en la superficie de la planta evitando que los esporangios penetren a las células y al pasar los días pierden su capacidad de residualidad. Y el biofungicida Propóleo (T7) tuvo mayor desarrollo de *Sclerotium sp.*, Perú no tiene reportes con este biofungicida pero Latorre (1988) menciona su actividad fúngica para *Alternaria solani* que es un hongo de suelo y dio buenos resultados a nivel in vitro. Por último el Testigo (T1) tuvo un desarrollo total del patógeno.

c.- Antagonismo

A nivel in vitro, en la prueba de porcentaje de antagonismo de los diferentes biocontroladores frente al agente causal de la pudrición seca del frijol los resultados obtenidos fueron que *T. viride* presentó un área de desarrollo mayor con un 18% de inhibición del crecimiento del patógeno, seguido de *T. lignorum* con 13.7% de inhibición del crecimiento del patógeno, esto coincide con los estudios realizados por Paricoto (2008) quien también menciona que *T. viride* mostró un alto nivel de antagonismo hacia *Sclerotium sp.* con un 12.05 % de inhibición, seguido de *T. harzianum* con un 10.86 % a nivel in vitro, debido a que estas especies de *Trichoderma spp.* poseen un rápido crecimiento y desarrollo, al producir metabolitos antifúngicos y diferentes enzimas hidrolíticas que lo hacen agresivos; además la mayoría presentan zona de intersección con las hifas del patógeno; es decir hacen contacto a diferentes tiempos y mientras menor sea el tiempo de contacto, mayor es la inhibición por parte del hongo antagonista, esto debido a los mecanismos de competencia por espacio y nutrientes.

A nivel de invernadero, *Sclerotium sp.* afectó la germinación del frijol. El micelio cubrió la semilla y hubo formación de esclerotes próximos y en contacto a las semillas que impidieron la germinación y causó la muerte de éstas. En las plantas de frijol se observaron síntomas de amarillamiento, marchitez y muerte. Al extraer estas plantas también se observó a nivel de cuello una lesión de color café y en algunos casos micelio y esclerotes, lo cual concuerda con Agrios (1996).

En invernadero al trabajar sólo con fungicidas inhibidores de la biosíntesis de esteroides (ergosterol) dieron buenos resultados entre 95 y 98 % de plantas sanas y demuestran que no afectan algún mecanismo de la fisiología del frijol como indica Bayer (2011), salvo las observaciones de algunas semillas podridas por ser sembradas a mucha profundidad. En cuanto a las diferentes dosis usadas se escoge la dosis baja para evitar fitotoxicidad, así como lo señalan Aycocock (1966) y Beebe (1983). Así mismo, los biocontroladores *T. viride*, *T. lignorum* y *T. harzianum* al actuar solos dieron también un 98 % de las plantas sanas, lo que indica que *Trichoderma* no mata a las plantas como menciona Olivos (1989).

El mayor porcentaje de plantas sanas se observó al trabajar los fungicidas Difenconazole, Tebuconazole y Procloraz con respecto a *Sclerotium sp.* fue de 61, 58 y 53 % debido al modo de acción de estos fungicidas como indica Latorre (1988), para el caso de los biocontroladores respecto a *Sclerotium sp.* fue el *T. viride* con 63 % de plantas sanas, seguido de *T. lignorum* y *T. harzianum* con 51 y 48 % en comparación con los testigos solos; es decir *Trichoderma* de una u otra manera es un hongo antagonista del suelo, y se concuerda con Paricoto (2008) donde, *T. viride* mostró ser mejor biocontrolador para *Sclerotium sp.* seguido de la cepa de *T. lignorum* en condiciones de invernadero y a nivel de campo también fue *T. viride* quien produjo plantas de mayor altura y con mayor cantidad de vainas y granos en comparación a *T. lignorum*, *T. harzianum* y al testigo. Por otro lado, Carhuavilca (2011) indica que al trabajar con *T. viride* y *T. harzianum* solos o en combinación; el mejor resultado lo obtuvo con la combinación de *T. viride* + *T. harzianum*; lo que indica que al trabajar con las diferentes especies de *Trichoderma* solas o en combinación, se obtienen buenos resultados.

V. CONCLUSIONES

- Al cumplirse los cuatro principios del postulado de Koch, el agente causal principal identificado de las plántulas de frijol colectados de Santa Ana – La Convención es *Sclerotium sp.*

- *Trichoderma viride* demostró ser el mejor biocontrolador para *Sclerotium sp.* presentando 18% de la inhibición del crecimiento seguido de *Trichoderma lignorum* con 13.7% y *Trichoderma harzianum* con 6.1% respecto a *Sclerotium sp.* de aquí podemos decir que *T. viride* mostró ser el mejor biocontrolador para *Sclerotium sp.* frente a *T. lignorum* y *T. harzianum*.

- A nivel in vitro, los mejores fungicidas que inhibieron completamente el crecimiento de *Sclerotium sp.* fueron tres: Tebuconazole, Difenoconazole y Procloraz que controlan en sus 3 dosis baja (0.5), media (2.5), alta (4.5) (%).

- En las pruebas a nivel de invernadero, el porcentaje de plantas vivas de los biocontroladores y fungicidas sobre *Sclerotium sp.* fueron para: *T. viride* x *Sclerotium sp.* con 63%, *T. lignorum* x *Sclerotium sp.* con 51% y *T. harzianum* x *Sclerotium sp.* con 48% de plantas vivas por maceta. Asimismo, para los fungicidas Tebuconazole y Procloraz con 95%, Difenoconazole x *Sclerotium sp.* con 61%, Tebuconazole x *Sclerotium sp.* con 58% y Procloraz x *Sclerotium sp.* con 53% de plantas vivas por maceta. También se observa que el tratamiento absoluto con 95% de plantas vivas por maceta respecto del testigo con 21%, obteniendo el mayor número de plantas muertas. Por ello el mejor fungicida y biocontrolador a nivel invernadero es Difenoconazole y *T. viride* porque permite disminuir el ataque de *Sclerotium sp.* con respecto de los otros tratamientos.

VI. RECOMENDACIONES

- **Buscar biocontroladores que controlen *Sclerotium sp.* en condiciones de laboratorio y campo.**
- **Sería conveniente seguir realizando otros experimentos con biocontroladores y fungicidas en otras condiciones de suelo y diferentes épocas de año, así como a diferentes dosis y frecuencias de aplicación para poder visualizar cuales son los factores esenciales y críticos que hacen que tengan un deficiente o excelente efecto sobre el patógeno.**
- **Desarrollar una metodología para realizar un control integrado de *Sclerotium sp.* en base a los datos existentes y trabajos en estudio realizados en la zona.**
- **Probar dosis más altas de concentración del biofungicida Propóleo a nivel in vitro e invernadero y así generar más información.**

VII. BIBLIOGRAFÍA

- Aycock, R. 1966. Stem root and other disease caused by *Sclerotium rolfsii*. North Carolina Agricultural Experiment Station. Tech. Bull. 202 pp.
- Agrios, George. 1996. Fitopatología. Universidad de Massachussets. México, D.F. 838 p.
- Bankova, V.S.; Castro, S. L. D.; Macucci, M. C. 2000. Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. *Apidology* 31 3-15.
- Barahona, M. 2001. Control Quindío. Boletín Facultad de Agronomía Universidad de Chile. 81p.
- Barrón, G.L. 1972. The genera of Hyphomycetes from soil. Ed. Robert E. Krieger Publishing Company. New York. 364 p.
- Bayer Crop Science. 2011. Diccionario de Especialidades Agroquímicas. DEAQ. Edición 5. Lima-Perú. 943p.
- Bayer, 2009. "Boletín Informativo Técnico". Los Fungicidas 150 F. C. Lima – Perú. 42 p
- Beebe, S. 1983. Pudriciones radicales del frijol y su control. CIAT. Cali, Colombia. 52 pp.
- Bolkam, H. 1980. Problemas de pudrición, enfermedades, insectos y limitaciones edáficas de *Phaseolus vulgaris*. CIAT. Cali. Colombia. 424 pp.

Camarena, F.; Huaranga, A. y Mostacero, E. 2009. Innovación Tecnológica para el incremento de la producción de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) Ediciones Agrum. UNALM. Primera Edición. Auspiciado por CONCYTEC.

Carhuavilca G. N. 2011. Evaluación de la eficacia de especies de *Trichoderma spp* en el control del ojo de pollo del café, en la provincia de La Convención. Tesis UNSAAC – FACAT.

Cejas, A.; Fernández-Larrea, O.; Calderón, A. y Fraga, M. 1998. Métodos de reproducción de *Trichoderma harzianum* que se aplican y se desarrollan en Cuba.

Centro Internacional de Agricultura Tropical. CIAT. 1988. Manual de métodos de evaluación, selección y manejo agronómico. Cali – Colombia. 178p.

Chumbiauca, L. y J. Munive. 1993. Identificación de los principales patógenos asociados al complejo radicular del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) a nivel nacional. En: Releza IV. 21p.

Dirección Regional de Agricultura Cusco. 2013. Informes Anuales DRAC - 2013

Elad, ; A. Kalfon .1982. Control of *Rhizoctonia solani* in cotton by seed coating with *Trichoderma harzianum* app. Spores. Plant and soil 66: 279-281.

Fernández Larrea, Vega. 2001. Microorganismos antagonistas para el control fitosanitario. Avances en el fenómeno de productos Fitosanitarios No Sintéticos. Manejo Integrado de Plagas, Costa Rica N° 62: 96-100.

Latorre, G. B. 1988. Enfermedades de las plantas cultivadas. Ed. Universidad Católica de Chile. Santiago de Chile. 303 pp.

Matos, B. , Higaona, C. 1993. Enfermedades del cultivo de frijol. Serie Folleto

- N° 32-93. Instituto Nacional de Investigación Agraria-INIA.Lima, Perú.
- Ministerio de Agricultura y Riego (MINAGRI). 2014 Oficina de estudios económicos y estadísticos (OEEE). Rendimiento y superficie del cultivo de frijol grano seco a nivel nacional. Lima-Perú.
- Montealegre, R. 1990. Principios del control de enfermedades de las plantas. Lima, Perú. 287 p.
- Olivos, M. 1989. Antagonismo microbiano para *Sclerotium rolfsii* causante de la pudrición basal en *Hordeum vulgare*. Tesis Magister Scientiae. UNALM. Lima-Peru. 77pp.
- Olivos, M., R. Mont. 1993. Uso de fungicidas y *Trichoderma viride* en el control de *Sclerotium rolfsii*. Fitopatología 28(1): 16-21.
- Paricoto A. D. 2008. "Control Biológico De *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib) De Bary. en Frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) En Santa Ana – La Convención". Tesis UNSAAC – FACAT.
- Punja, Z. 1985. The biology, ecology and control of *Sclerotium rolfsii*. Ann. Rev. Phytopathology 23: 97-127.
- Reyes, Reynaldo Alonso; Barranco, Beatriz; Rivero, Graciela y Jiménez, Gilda. 2002. Actividad in vivo de *Trichoderma harzianum* sobre *Sclerotium rolfsii* en plántulas de tomate. Manejo Integrado de Plagas y Agroecología. Costa Rica. N°66: 45-48.

- Rivera Romero, A. 1995. *Trichoderma viride* Pers. y fungicidas sistémicos en el control de *Sclerotium rolfsii* Sacc. en maní (*Arachis hypogea* L.) bajo condiciones de invernadero. Tesis para optar grado de Ingeniero Agrónomo. UNALM. Lima-Perú. 96p.
- Sañudo, B.; B. Martínez y A. Cáceres. 1976. Efecto de algunos microorganismos antagónicos sobre *Sclerotium rolfsii* patógeno del frijol en el departamento de Nariño. *Fitopatología* 11: 39-41.
- Singh, S. 1999. Mejoramiento del frijol común en el siglo XXI. Publicado por la Academia Kluwer. The Netherlands. 405p.
- Smith, G. 1960. An introduction to industrial mycology. Fifty editions. Edith. Edward Arnold Publisher Ltd. Great Britain. 399p.
- Valladolid, CH. A. 1993. Cultivo de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en la Costa del Perú. Serie Manual N° 17-93 Instituto Nacional de Investigación Agraria – INIA. Lima, Perú. 116 p.
- Vallejos, O.V. 1988. Efecto de *Rhizoctonia solani* y *Sclerotium rolfsii* sobre 10 cultivares y líneas de frijol en Lambayeque, Perú. *Fitopatología* 23 (1): 22-25.

ANEXOS

**ANEXO 01. Resultados obtenidos de las muestras de frijol enviadas a la
Clínica de Diagnóstico de Fitopatología y Nematología de la Universidad
Nacional Agraria la Molina.**



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA

Clínica de Diagnóstico de Fitopatología y Nematología

Av. La Universidad s/n - La Molina Agdo. 056 L-12

Teléfono: 349-6601 - Fax: 416-9804

e-mail: oficina@lamolina.edu.pe



La Molina, 23 de mayo de 2013
CEAF 172-2013 LAC 084
DPT 183

Sr.
Edwin Paucar Venero
Cusco
Perú

De mi consideración:

El resultado del análisis fitopatológico de dos muestras de cámara húmeda con mezcla blanca, algodonosa, sobre tallos de frijol, con síntomas de pudrición de cuello, para la identificación de género, procedente de Quilabamba, Cusco, es el siguiente:

1. ANÁLISIS DEL TEXIDO.

METODO	RESULTADO
Examen microscópico	<i>Sclerotium</i> sp.

2. DIAGNÓSTICO.

En la muestra remitida por ustedes se ha detectado la presencia del hongo *Sclerotium* sp., el cual está reportado como agente causal de la pudrición basal del frijol y ocasiona los síntomas observados en la muestra.

3. RECOMENDACIONES.

- ✓ Eliminar las plantas afectadas, sobretodo antes de la producción de los escrotes, los cuales tienen una viabilidad de varios años.
- ✓ Realizar una aplicación de Homal a la dosis de 1 por ml, dirigida al cuello de las plantas asintomáticas y en forma de trench; con la finalidad de protegerlas de la infección.
- ✓ En la siguiente campaña rotar con un cultivo que no sea susceptible a este patógeno según las rotaciones establecidas en la zona.

Nos despedimos de ustedes recordándoles que la Clínica de Diagnóstico está a su disposición para cualquier consulta.

Atentamente,


Mg. Sc. Liriana Aragón Caballero
COORDINADORA
CLÍNICA DE DIAGNOSIS

LAC/mg
c.c. Archivo

ANEXO 02. Datos y características climáticas del Lugar del Experimento

Cuadro N° 2.1. Datos climáticos durante el Experimento

ESTACIÓN QUILLABAMBA

Latitud 12° 51' 21"
 Longitud 72° 41' 30"
 Altitud 990.00 msnm

Región CUSCO
 Provincia LA CONVENCION
 Distrito SANTAANA

AÑO - 2013

MES	ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	JUN	JUL	AGO	SEP	OCT	NOV	DIC
PRECIPITACIÓN MÁXIMA EN (mm)	21.20	31.00	21.80	21.09	18.40	6.60	38.10	14.50	14.00	19.20	28.90	20.00
TEMPERATURA MEDIA MENSUAL EN (°C)	25.20	23.90	23.80	24.20	24.60	24.00	22.70	24.30	23.70	25.40	25.10	24.40
HUMEDAD RELATIVA EN (%)	76.00	76.00	75.00	74.00	77.00	78.00	84.00	80.00	79.00	78.00	81.00	80.00

FUENTE SENAMHI QUILLABAMBA

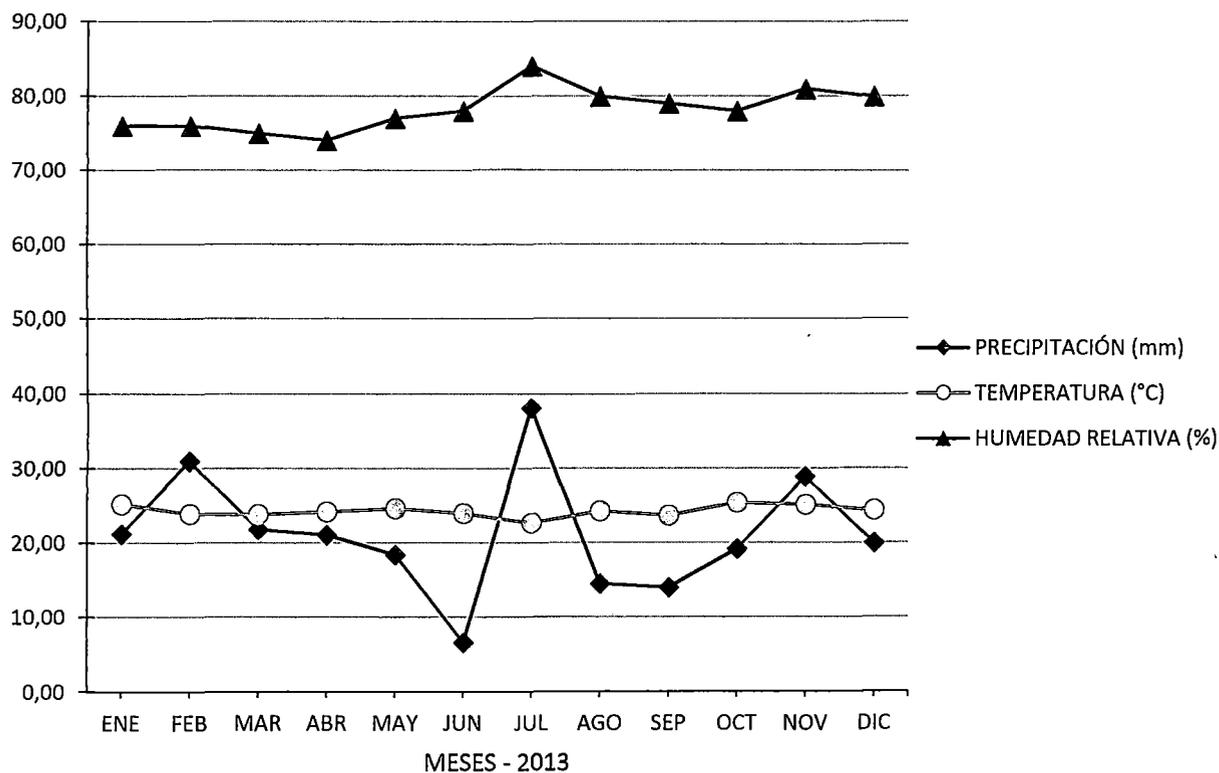


Figura N° 2.1. Características climáticas durante el Experimento

CLAVE DE TRATAMIENTOS

Di = Difeconazole

T.v = *T. viride*

T.l = *T. lignorum*

T.a = Testigo absoluto

Te. = Tebuconazole

T.h = *T.harzianum*

Pro.= Prochloraz

T.v. x S.sp = *T.viride x sclerotium sp.*

Di. x S.sp. = Difeconazole x *Sclerotium sp.*

Te. x S.sp. = Tebuconazole x *Sclerotium sp.*

Pro.x S.sp. = Prochloraz x *Sclerotium sp.*

T.l. x S.sp. = *T. lignorum x Sclerotium sp.*

T.h x S,sp. = *T.harzianum x Sclerotium sp.*

S.sp . = *Sclerotium sp.*

FICHAS TÉCNICAS DE FUNGICIDAS



Dithane* 60 OF

Fungicida Agrícola

Suspensión Concentrada en Aceite OF

COMPOSICIÓN GARANTIZADA:

INGREDIENTE ACTIVO:

MANCOZEB: 600 g/l

Producto de coordinación del ión zinc y el etilénbisditiocarbamato de manganeso de formulación a 20°C.

INGREDIENTES ADITIVOS: c.s.p. 1 litro

Registro de Venta ICA No. 3252

Titular del Registro: Dow AgroSciences de Colombia S.A.

FABRICADO POR:

Dow AgroSciences de Colombia S.A.

Transversal 18 No.96-41 Piso 7°.

Bogotá (091) 219 6000

Soledad - Atlántico (095) 375 9300

(*) Marca Registrada de Dow AgroSciences LLC

**CATEGORÍA TOXICOLÓGICA III - MEDIANAMENTE TÓXICO
CUIDADO**

INSTRUCCIONES DE USO Y MANEJO

“CONSULTE CON UN INGENIERO AGRÓNOMO”

BANANO:

Dithane® 60 OF formulado como suspensión concentrada diluible en aceite, se recomienda para el control de Sigatoka Negra, causada por el hongo *Mycosphaerella fijiensis var difformis* en el cultivo de banano. Se puede aplicar sólo o en mezcla con un fungicida sistémico, en aceite agrícola, cuando sea necesario por incremento de presión de la enfermedad, debido a condiciones climáticas favorables (época de lluvias).

RECOMENDACIONES PARA LA PREPARACIÓN DE LA MEZCLA CON Dithane® 60 OF:

Agite muy bien el producto en su envase antes de realizar la mezcla. Asegúrese de medir bien la dosis a utilizar.

1. EMULSIÓN:

Siga estrictamente el siguiente orden en la preparación de la mezcla:

- Aceite
- Emulsificante: 1.5% del volumen del aceite. Agitación durante 2 minutos.
- Dithane® 60 OF, mezclar suavemente hasta homogenizar durante 2 minutos.
- Hacer la emulsión con el 25% del agua. Agite la mezcla por 2 minutos.
- Adicionar el resto del agua. Agite la mezcla hasta tener homogenización total.

2. SUSPENSIÓN:

Se prepara en el siguiente orden:

- Aceite
- Dithane® 60 OF. Agite hasta homogenizar.

A la cantidad requerida del Dithane® 60 OF se le adiciona el aceite a utilizar agitándose durante dos (2) minutos. Si se usa un sistémico, adicionarlo a la primera mezcla y agitarla nuevamente durante quince (15) minutos.

3. MEZCLA PARA PAPA Y TOMATE DE ÁRBOL:

Siga estrictamente el siguiente orden en la preparación de la mezcla:

- Llene un cuarto de caneca con agua.
- Adicione los polvos mojables. Estos se deben premezclar previamente.
- Adicione los concentrados solubles y luego los emulsionables.
- Adicione el Dithane® 60 OF, previamente diluido.
- Complete el volumen de agua hasta alcanzar 200 Litros, agitando permanentemente.

NOTA: AGITACIÓN PROLONGADA Y DE ALTA VELOCIDAD PUEDE PERJUDICAR LA ESTABILIDAD FÍSICA Y ACCIÓN BIOLÓGICA DEL PRODUCTO.

VOLUMEN TOTAL:

Para aplicaciones aéreas se recomienda usar volúmenes entre 10 a 25 litros/ha. En aplicaciones terrestres, con bomba de motor use volúmenes de 25 a 60 litros/ha.



Sportak® 450 CE

Prochloraz 450 g/litro

Formulación	: Concentrado Emulsionable (EC).
Modo de Acción	: Fungicida sistémico con efecto preventivo, curativo y erradicativo.
Mecanismo de Acción	: Inhibidor de la biosíntesis del ergosterol.
Toxicidad	: Ligeramente Peligroso.
Grupo Químico	: Imidazoles

PRINCIPALES CARACTERISTICAS

Fungicida de amplio espectro, con aplicaciones para desinfección de semillas, coronas, bulbos, tubérculos, esquejes y otros órganos de propagación. Controla eficientemente *Fusarium* en espárrago y claveles, *Alternaria* en tomate y papa. Se recomienda su uso para el tratamiento post cosecha en mango.

Indicaciones de Uso

Mezclar la cantidad del fungicida recomendada en la mitad de agua, agitar fuertemente, luego agregar la cantidad de agua faltante hasta lograr una mezcla uniforme.

Es compatible con la mayoría de productos químicos de uso agrícola, sin embargo es conveniente hacer una mezcla previa para corroborar la compatibilidad entre ambos productos. No se recomienda mezclarlo con productos de fuerte reacción alcalina.

Se puede usar en tratamiento de órganos de propagación, aplicaciones foliares y en post cosecha.

Indicaciones para el médico: Observar el sistema respiratorio. Si ha ingerido, se debe practicar lavado estomacal. Seguir tratamiento sintomático

Primeros Auxilios

En caso de intoxicación llamo al medico inmediatamente o lleve al paciente al medico y muéstrela la etiqueta.

Quitar la ropa y lavar las partes del cuerpo contaminadas con agua y jabón. Mantener al paciente en reposo. Si el producto ha caído a los ojos, enjuagarlos con un chorro suave de agua pura durante 10 a 15 minutos.



Sportak® 450 CE

Prochloraz 450 g/litro

Recomendaciones de Uso

CULTIVOS	ENFERMEDAD		DOSIS ml/cil	%	UAC* (días)	LMR** (ppm)
	NOMBRE COMUN	AGENTE CAUSAL				
Mango	Antracnosis	<i>Colletotrichum gloeosporoides</i>	70 - 150	-	n/d	2
Papaya	Mancha foliar	<i>Cercospora spp.</i>	70 - 150	-	n/d	1
Frijol	Roya	<i>Uromyces phaseoli</i>	70 - 150	-	n/d	-
Tomate	Alternariosis	<i>Alternaria solani</i>	70 - 150	-	n/d	-
Clavel	Cladosporium	<i>Cladosporium echinulatum</i>	100 - 200	-	n/d	-
Espárrago	Fusarium	<i>Fusarium spp.</i>	100 - 200	-	n/d	-
Gladiolo	Fusarium	<i>Fusarium spp.</i>	100 - 200	-	n/d	-
Rosa	Mildiu polvoroso	<i>Sphaerotheca pannosa</i>	150 - 200	-	n/d	-
Plato	Lasiodiplodía	<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	-	0.1	n/d	5

*UAC=Última aplicación antes de la cosecha (días)
**LMR=Límite Máximo de Residuos (ppm)

TRATAMIENTO POST-COSECHA

Mango	Complejo de hongos de pudrición en post-cosecha	<i>Penicillium spp</i> <i>Alternaria spp</i> <i>Aspergillus spp</i> <i>Rhizopus spp</i> <i>Botryodiplodia theobromae</i>	500 - 100 ml/100 litros de agua	No tiene	2
-------	---	--	------------------------------------	-------------	---

Envases : Frasco x 250 ml
Frasco x 1 lt

Numero de Registro : 397-97-AG-SENASA



FOLICUR® 250 EW

Fungicida agrícola

Dispersión (emulsión aceite en agua)

Reg.: RSCO-FUNG-0394-302-015-025

COMPOSICIÓN PORCENTUAL:

Porcentaje en peso

Ingredientes activos

Tebuconazole: (RS)-1-p-clorofenil-4,4-dimetil-3-(1H-1,2,4-Triazol)-1-ilmetil)-pentan-3-ol

No menos de 25.00%

(Ecuivalente a 250 g de I.A./L)

Ingredientes inertes

Solvente, emulsificante y compuestos relacionados

No más de 75.00%

Total 100.00%

PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS DE USO: Personas menores de 18 años no deben manejar ni aplicar el producto. Manéjelo con equipo de protección completo: mascarilla, guantes y ropa protectora.

No coma, beba o fume durante su aplicación. Después de aplicarlo, báñese o lávese bien con agua y jabón y cámbiese de ropa.

Advertencias sobre riesgos: Folicur® 250 EW es un producto ligeramente tóxico para humanos y animales.

Evite la ingestión e inhalación y el contacto con piel y/u ojos.

Guárdelo bajo llave. No se transporte ni almacene junto a productos alimenticios, ropa o forrajes. Manténgase fuera del alcance de los niños y animales domésticos.

No almacenar en casas habitación. No deben exponerse ni manejar este producto las mujeres embarazadas, en lactación ni personas menores de 18 años. No se reutilice el envase, destrúyase.

ALTO, LEA LA ETIQUETA ANTES DE USAR EL PRODUCTO

MÉTODO PARA PREPARAR Y APLICAR EL PRODUCTO: Para abrir el envase utilice la tapa, colocándola de forma invertida sobre el recipiente y girándola para que la pestaña corte el sello de seguridad. Calibrar el equipo de aplicación.

CONTRAINDICACIONES: No debe aplicarse sin el equipo de protección personal adecuado.

Procure aplicar por la mañana, cuando las temperaturas sean bajas. No aplicar con temperaturas arriba de los 35°C ni con vientos mayores a 15 km/h.

FITOTOXICIDAD:

Folicur® 250 EW no es fitotóxico a las dosis y en los cultivos recomendados en la etiqueta.

INCOMPATIBILIDAD: Sólo deberá mezclarse con productos registrados y para la combinación cultivo-enfermedad ante la autoridad competente.

Se recomienda realizar pruebas preliminares de compatibilidad. No mezclar con productos de fuerte reacción alcalina.

EN CASO DE INTOXICACIÓN, LLEVE AL PACIENTE CON EL MÉDICO Y MUÉSTRELE LA ETIQUETA

PRIMEROS AUXILIOS: Si la intoxicación fue por ingestión y la persona está consciente, induzca el vómito introduciendo un dedo en la garganta.

Si fue por contacto, quite las ropas impregnadas y lávelo; abrigúelo y recuéstelo en un lugar ventilado. Si está inconsciente, no administre nada por la boca y vigile que respire sin dificultad.

RECOMENDACIONES AL MÉDICO: El producto pertenece al grupo químico de los triazoles.

Síntomas y signos de intoxicación: No son específicos; por lo general se presentan como hiperactividad seguida de una sedación.

Tratamiento: Debe ser sintomático. Checar tensión arterial y frecuencia cardíaca. Si aparecen signos de parálisis dar respiración artificial.

Aplicar medidas terapéuticas para eliminación de la sustancia del cuerpo (lavado gástrico, laxantes salinos). La terapia en niños debe supervisarla un médico.

MEDIDAS DE PROTECCIÓN AL AMBIENTE: Durante el manejo del producto, evitese contaminar con los envases o excedentes de la aplicación el aire, suelo, ríos, lagos, presas o depósitos de agua.

Aplique el procedimiento del triple lavado: al envase vacío y deposite el agua de enjuague en el depósito o contenedor donde preparó la mezcla (salvo por incompatibilidad química o si el envase lo impide). En caso de derrames (usando equipo de protección personal), recupere el material absorbiéndolo con arcilla o arena, colecte los desechos en un recipiente hermético y envíelos a un sitio autorizado para su disposición final. Maneje el envase vacío y sus residuos conforme lo establece la Ley General para la Prevención y Gestión Integral de los Residuos, su reglamento o al Plan de Manejo de Envases Vacíos de Plaguicidas. El producto es tóxico para peces y abejas.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE: Transporte y almacene el producto en su envase original, debidamente cerrado y etiquetado, en un lugar seguro, lejos del calor o fuego directo. Nunca junto con alimentos, ropa o forrajes.

GARANTÍA: Bayer de México, S.A. de C.V., división Bayer CropScience, garantiza que el contenido de ingrediente activo y contenido neto del producto corresponden a lo indicado en la etiqueta.

Como el manejo, transporte, almacenaje, dosificación y aplicación del producto están fuera de nuestro control, Bayer de México, S.A. de C.V., división Bayer CropScience, no se hace responsable del uso y resultados del producto. En caso de duda, consulte las publicaciones respectivas o al técnico de la región.

URGENCIAS: En caso de intoxicación por nuestros productos, llame al Servicio de Información Toxicológica (SINTOX/AMIFAC) las 24 horas del día. Área metropolitana: 5598-6659, 5611-2634. LADA sin costo: 01-800-009-2800.

INSTRUCCIONES DE USO:

Siempre calibre el equipo de aplicación

ÚSESE EXCLUSIVAMENTE EN LOS CULTIVOS Y CONTRA LAS ENFERMEDADES AQUÍ RECOMENDADOS

Cultivo	Enfermedades	Dosis (L/ha)	Observaciones
	Roya amarilla (<i>Puccinia striiformis</i>)	0.3 a 0.5	
Cebada (35)	Mancha reticulada (<i>Pyrenophora teres</i>)	0.5 a 0.7	Aplicar al observar los primeros síntomas o cuando las condiciones ambientales sean favorables para el desarrollo de la enfermedad. Repetir la aplicación en caso de reinfección.
	Escaldadura de las hojas (<i>Rhynchosporium secalis</i>)		Aplicar al observar los primeros síntomas o cuando las condiciones ambientales sean favorables para el desarrollo de la enfermedad. Repetir la aplicación en caso de reinfección.
Trigo (35)	Roya de la hoja (<i>Puccinia recondita</i> f. sp. <i>tritici</i>)	0.4 a 0.6	Aplicar al observar los primeros síntomas o cuando las condiciones ambientales sean favorables para el desarrollo de la enfermedad. Repetir la aplicación en caso de reinfección.
	Carbón parcial (<i>Tilletia indica</i>)		Aplicar al observar los primeros síntomas durante el espigamiento-floración y en caso de ser necesario aplicar nuevamente 10 días después.
Plátano (0)	Sigatoka negra (<i>Mycosphaerella fijiensis</i> , var. <i>difformis</i>)	0.4 + 5 a 6 L de aceite agrícola + adherente	Realizar un máximo de 8 aplicaciones en un periodo de 12 meses, en bloques de 2 aplicaciones entre 14 y 21 días, alternando con 1 o 2 aplicaciones de productos de diferente modo de acción.
	Sigatoka amarilla (<i>Mycosphaerella musicola</i>)		
	Cladosporium (<i>Cladosporium musae</i>)		
Cempasúchil (0)	Mancha foliar (<i>Alternaria</i> sp)	0.5 a 1.0	Realizar la primera aplicación al inicio de la formación de botones. La dosis dependerá de las condiciones ambientales que favorezcan la infección. Es recomendable hacer las aplicaciones en forma preventiva.
Sorgo para semilla * (0)	Ergot (<i>Sphacelia sorghi</i>)	0.4 a 0.6	Iniciar aplicaciones al observar los primeros síntomas de la enfermedad; repetir en caso necesario a intervalos de 7 días. Realizar un máximo de 4 aplicaciones.
Vid (14)	Cenicilla de la vid (<i>Uncinula necator</i>)	0.5 a 0.75	Realizar las aplicaciones cuando las condiciones ambientales sean favorables para el desarrollo de la enfermedad. Repetir la aplicación en caso de reinfección.
Chile			
Jitomate			

syngenta®

Score®

INGREDIENTE ACTIVO

Difenoconazol

CARACTERISTICAS

El difenoconazol es un fungicida perteneciente al grupo de los triazoles, efectivo contra un amplio rango de enfermedades pertenecientes a las familias de Ascomycetos, Basidiomycetos y Deuteromycetos. No tiene actividad contra hongos del orden de los peronosporales.

FORMULACION

Concentrado Emulsionable (EC): Contiene 250 gramos de ingrediente activo por Litro de producto formulado

MODO DE ACCION

En relación a la planta : Difenoconazol tiene propiedades sistémicas locales y alta translaminaridad.

En relación al hongo: Difenoconazol tiene acción protectante (preventiva), curativa y erradicante. Inhibe significativamente el desarrollo del crecimiento subcuticular del micelio del hongo y de esa manera previene el desarrollo de la enfermedad. Se ha observado también en algunos hongos excelente actividad antiesporulante luego de tratamientos protectivos y curativos

El difenoconazol interfiere en la síntesis del ergosterol en el hongo, por inhibición de demetilación de los esteroides de C^{14} , lo cual produce cambios morfológicos y funcionales en la membrana de la célula del hongo.

Consulte con un Ingeniero Agrónomo

CULTIVO	ENFERMEDADES		DOSIS	
	NOMBRE COMUN	NOMBRE CIENTIFICO	ml / ha	ml / 200 L
Aji pprika	Oidium	<i>Leveillula taurica</i>	250 - 375	100 - 150
	Alternariosis	<i>Alternaria spp.</i>	300 - 375	200 - 250
Ajo	Alternaria	<i>Alternaria porri</i>		150 - 200
Alcachofa	Oidium	<i>Leveillula taurica</i>	250 - 375	100 - 150
Apio	Mancha foliar	<i>Cercospora apicola</i>		150 - 200
Arveja	Oidio	<i>Erysiphe polygoni</i>		150 - 200
Cebolla	Alternaria	<i>Alternaria porri</i>		150 - 200
	Tizn foliar	<i>Stemphylium vesicarium</i>		200 - 250
Clavel	Roya	<i>Uromyces dianthi</i>		200 - 300
Col	Oidium	<i>Erysiphe polygoni</i>		150 - 200
Espárrago	Roya	<i>Puccinia asparagui</i>	350 - 500	
Frijol	Roya	<i>Uromyces appendiculatus</i>		150 - 200
	Oidium	<i>Erysiphe polygoni</i>		150 - 200
Marigold	Alternaria	<i>Alternaria sp.</i>		150 - 200
Manzano	Oidio	<i>Podosphaera leucotricha</i>		80
Mango	Antracnosis	<i>Colletotrichum gloeosporoides</i>	125	
Meln	Oidium	<i>Erysiphe cichoracearum</i>		150 - 200
Rosa	Oidium	<i>Sphaerotheca pannosa v. rosae</i>		200 - 300
Sandía	Oidium	<i>Erysiphe cichoracearum</i>		150 - 200
Tomate	Alternaria	<i>Alternaria solani</i>		150 - 200
Vainita	Roya	<i>Uromyces appendiculatus</i>		150 - 200
	Oidium	<i>Erysiphe polygoni</i>		
Vid	Oidium	<i>Uncinula necator</i>		50 - 100 (1)
Zapallo	Oidium	<i>Erysiphe cichoracearum</i>		150 - 200 (2)

(1) En variedades sin pepa (2) En variedades con pepa

MOMENTO DE APLICACION

Preferiblemente de manera preventiva; para evitar el desarrollo de resistencia es altamente recomendable lo siguiente:

- Utilizar la dosis recomendada que aparece en la etiqueta
- Seguir una estrategia basada en la adopción de programas de rotación, con aplicaciones intercaladas o en bloques, con fungicidas de diferente modo de acción. Siempre es recomendable no aplicarlo mas de tres veces consecutivas.
- A pesar de que Score 250 EC puede ser utilizado como curativo y/o erradicante es altamente recomendable utilizarlo de manera preventiva.

CATEGORIA TOXICOLOGICA

Moderadamente Peligroso (Categoría II de la OMS)

REGISTRO

N 566-98-AG-SENASA

TITULAR DE REGISTRO

Syngenta Crop protection S.A.



TOLERANCIAS (ppm)

	España
Espárrago	0.02
Ajo	0.02
Cebolla	0.02
Apio	0.02
Col	0.02
Frijol / Vainita	0.02
Zapallo	0.02
Sandía	0.02
Melón	0.02
Tomato	0.50
Vid	0.02

Descargo de Responsabilidad

La información sobre límites máximos de residuos contenida en esta hoja ha sido extraída de la base de datos sobre límites máximos de residuos de Syngenta, que comprende aquellos notificados a Syngenta por las autoridades regulatorias de todo el mundo con respecto a los productos de Syngenta. En vista de que todas las autoridades regulatorias tienen el poder de modificar los niveles máximos de residuos en cualquier momento:

- Es posible que los límites máximos de residuos notificados a Syngenta sean luego modificados sin que se notifique a Syngenta al respecto;
- Syngenta no puede garantizar que la información contenida en este folleto no ha sido modificada de esta manera;
- Por lo tanto, ustedes no deben basarse únicamente en la información contenida en este folleto, sino deben además revisar los datos con las autoridades regulatorias competentes del país al que exporta;
- Syngenta no tendrá responsabilidad alguna por ninguna pérdida, incluyendo, sin limitación alguna, pérdidas directas, indirectas o consocuentes, lucro cesante, interrupción de negocios, pérdida de ingresos, demandas, reclamos, acciones, procedimientos, daños y perjuicios, pagos, gastos u otras obligaciones ocasionadas o sufridas por cualquier persona que tome cualquier acción o se abstenga de tomar cualquier acción debido a la información contenida en esta hoja.

FOTOGRAFIAS

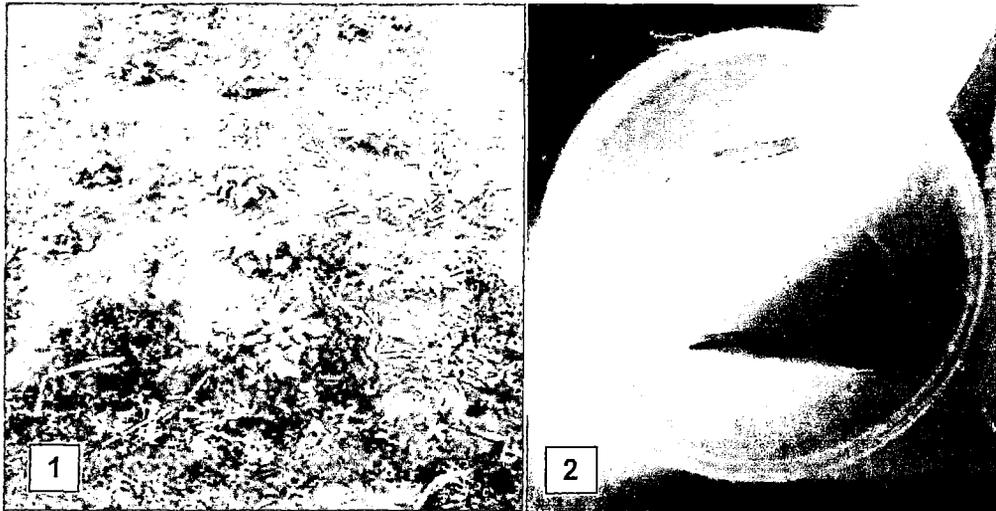


FOTO 01.1. Aislamiento de *Sclerotium sp.* de plántulas de frijol y de suelo infestado provenientes del campo experimental de la Facultad de Ciencias Agrarias Tropicales – UNSAAC.

FOTO 01.2. Siembra de plántulas de frijol con *Sclerotium sp.* en medio PDAO.

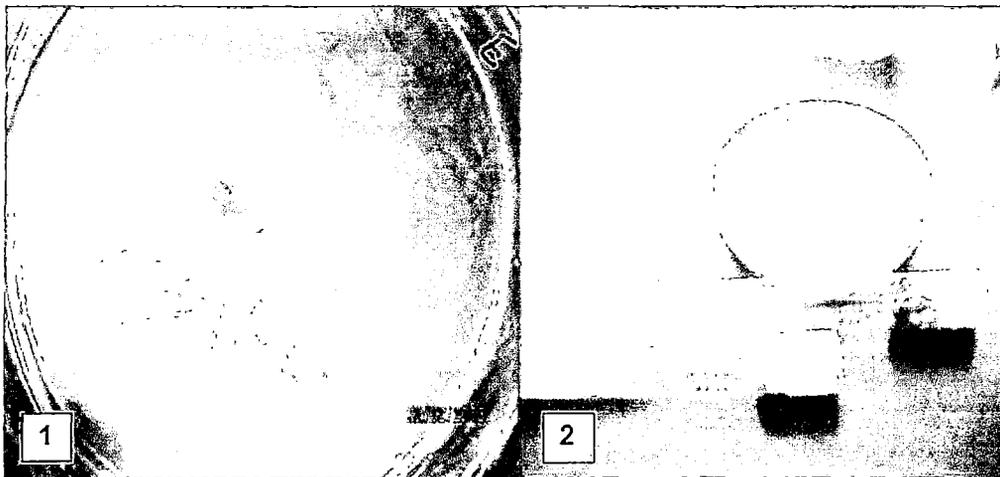


FOTO 02:1. Crecimiento de micelio de *Sclerotium sp.* en placas con PDAO.

FOTO 02.2. Cultivo puro de *Sclerotium sp.* en placas petri y tubos con medio PDAO para su traslado a la Clínica de Diagnósis de Fitopatología y Nematología de la UNALM.

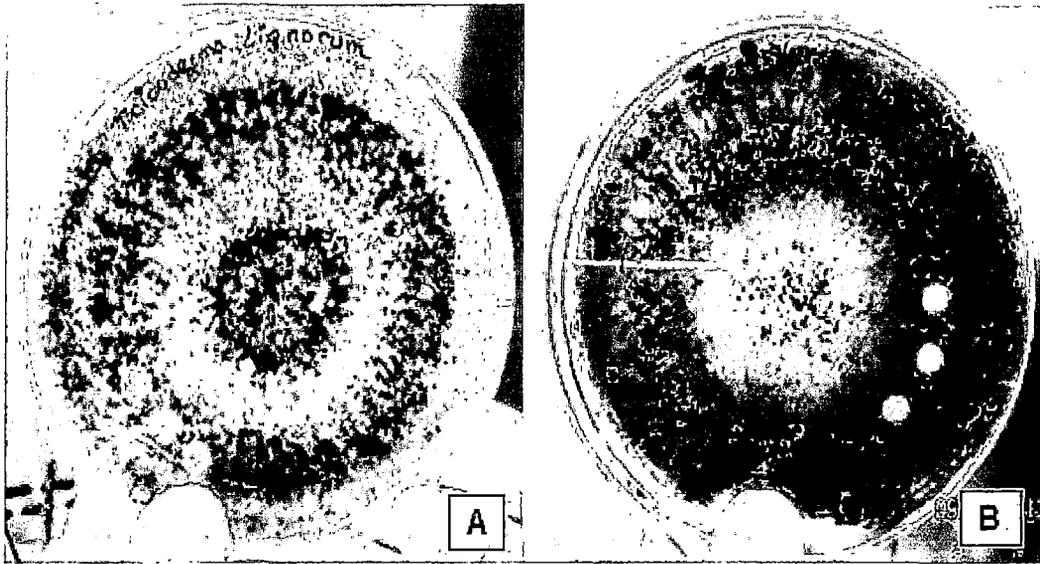


FOTO 03. A y B Aislamiento y Crecimiento de los biocontroladores *Trichoderma lignorum* y *T. viride* en medio PDAO.

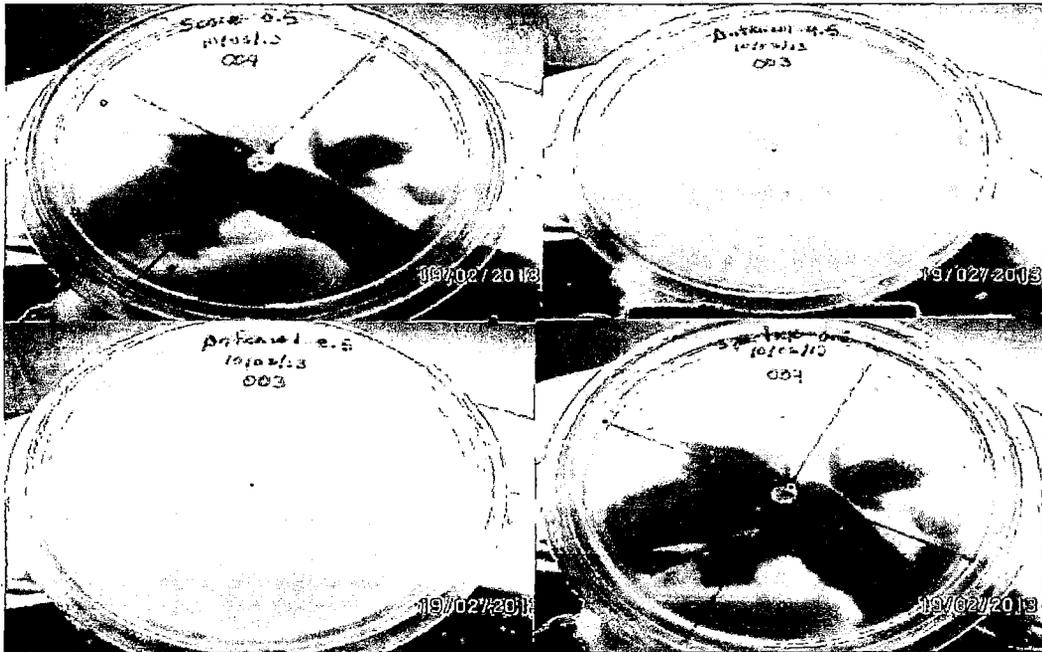


FOTO 04. Prueba de alimento envenenado con diferentes fungicidas y diferentes dosis para *Sclerotium sp.* a los 5 días.

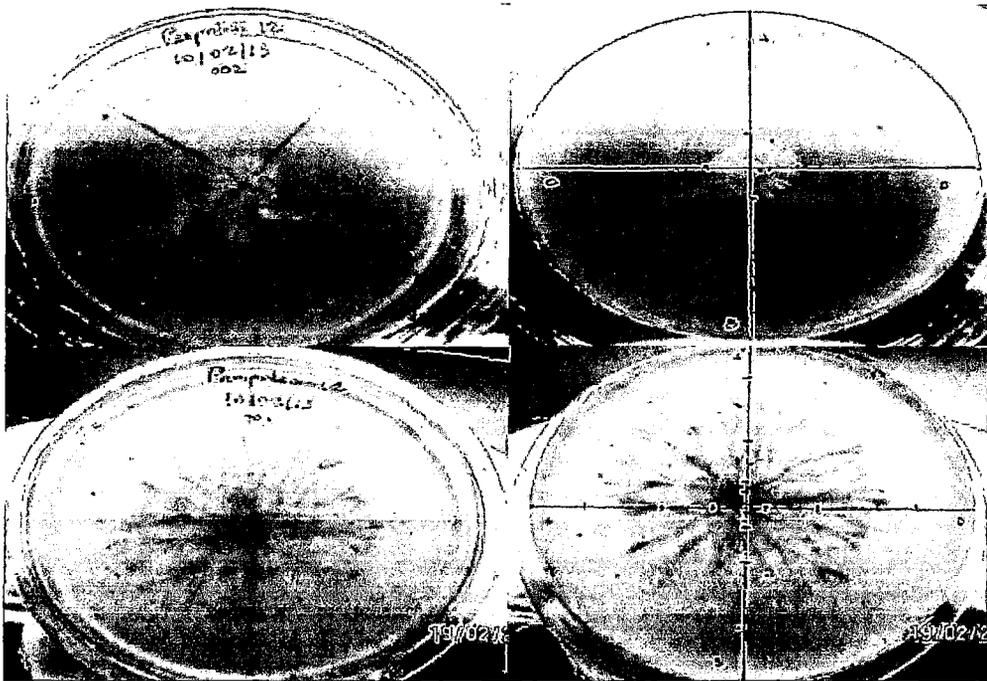


FOTO 05. Crecimiento y medición micelial de *Sclerotium sp.* en alimento envenenado "Propóleo" en diferentes días.

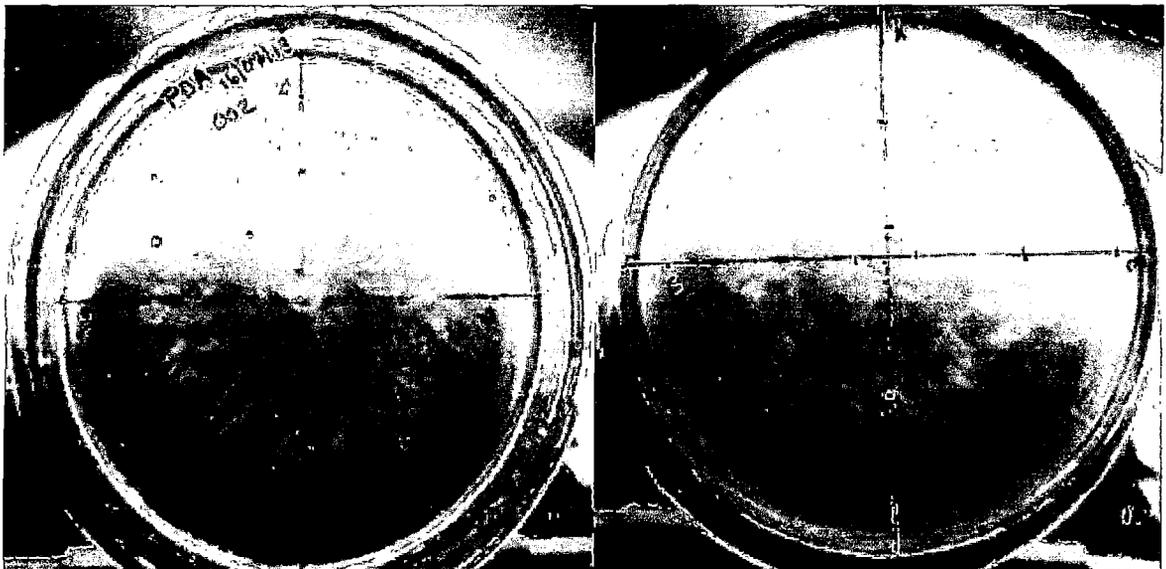


FOTO 06. Crecimiento y medición micelial de *Sclerotium sp.* en PDAO como testigo.

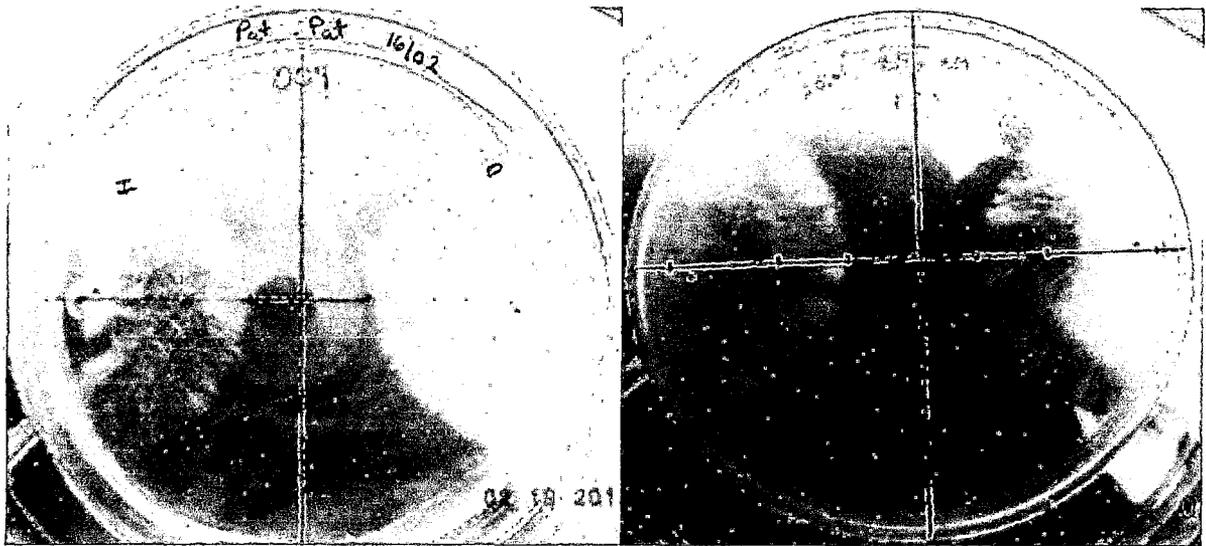


FOTO 07. Prueba de enfrentamiento entre testigos *Sclerotium sp.* vs *Sclerotium sp.*

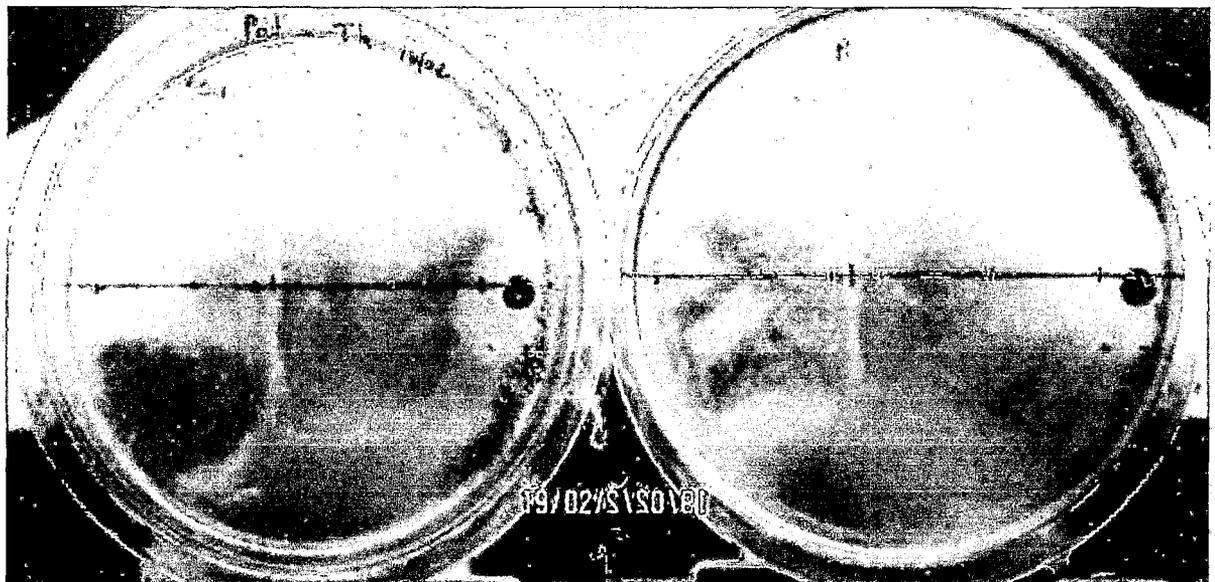


FOTO 08. Prueba de enfrentamiento entre *Sclerotium sp.* vs *Trichoderma harzianum*.

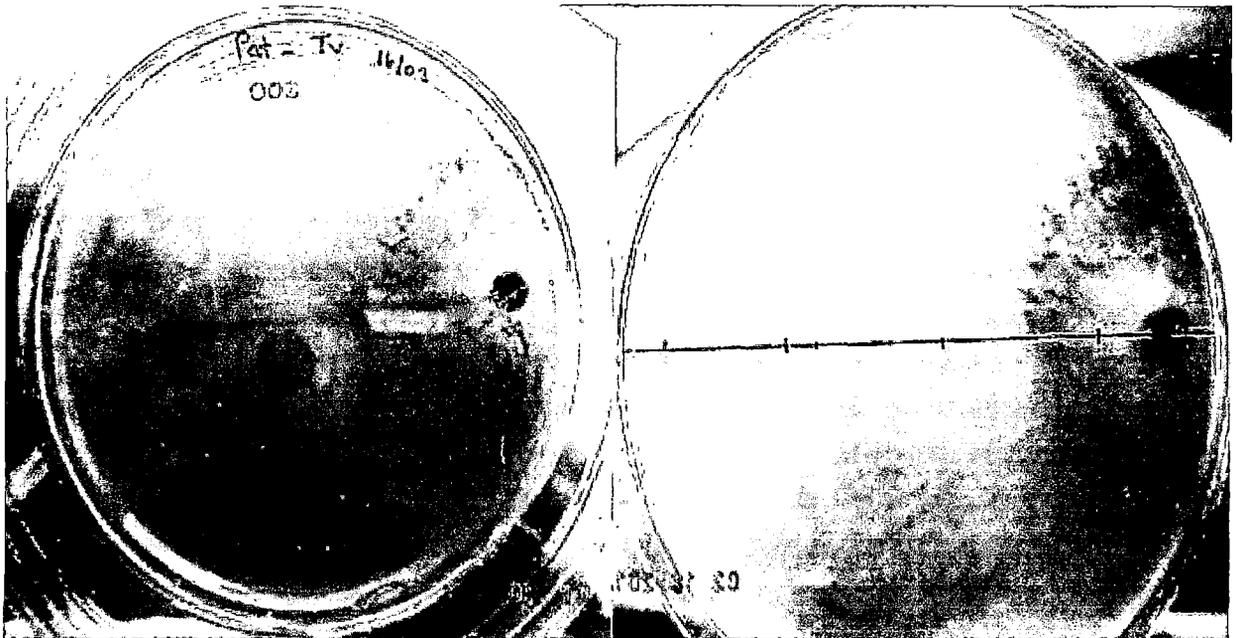


FOTO 09. Prueba de enfrentamiento entre *Sclerotium* sp. vs *Trichoderma viride*.

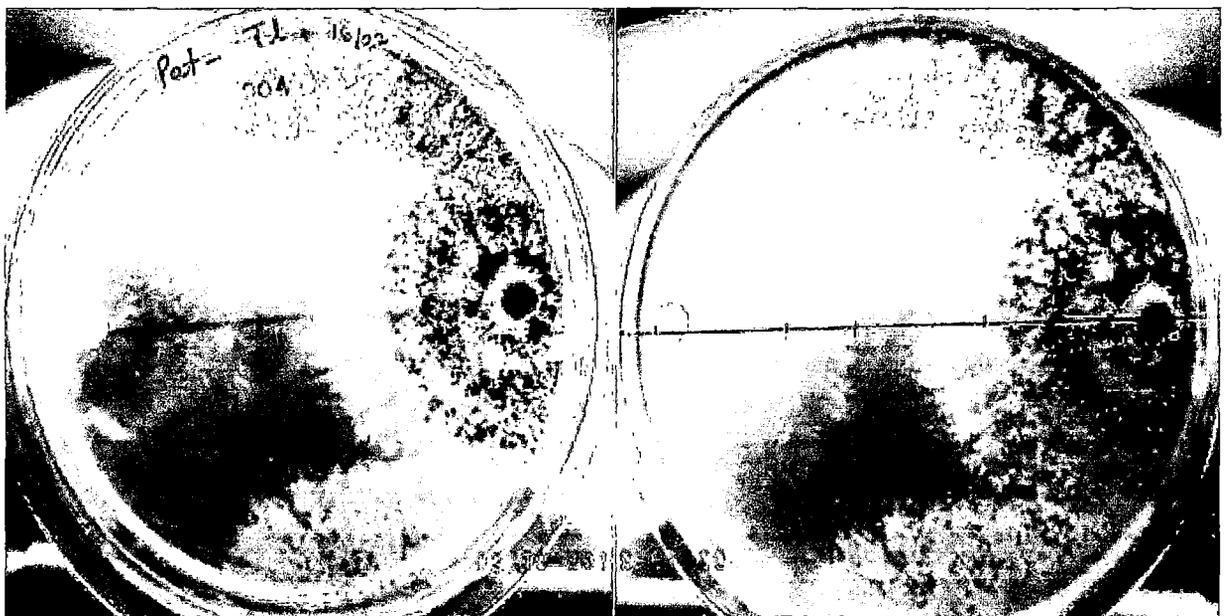


FOTO 10. Prueba de enfrentamiento entre *Sclerotium* sp. vs *Trichoderma lignorum*.



FOTO 11. Esterilización del sustrato.



FOTO 12. Distribución de los tratamientos en invernadero.



FOTO 13. Señalización de los tratamientos en invernadero.



FOTO 14. Preparación de rodajas de 0.5 cm con sacabocado de *Sclerotium* sp. y *Trichoderma harzianum*, *T. viride* y *T. lignorum*.



FOTO 15. Siembra de *Sclerotium sp.*, *Trichoderma harzianum*, *T. viride* y *T. lignorum* según los tratamientos.



FOTO 16. Vista de todos los tratamientos en estudio en el invernadero de la Facultad de Agronomía Tropical.



FOTO 17. Vista de algunos tratamientos en estudio en invernadero.