

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

Guardado-Torres, Y.M
Estudiante tesista, Facultad de Ciencias Agronómicas,
Universidad de El Salvador.
E-mail: marguardadot@gmail.com

Ramírez-Segovia, D.A
Estudiante tesista, Facultad de Ciencias Agronómicas,
Universidad de El Salvador.
E-mail: diana.alexandra00@gmail.com

Rivas-Flores, A.W
Docente director, Facultad de Ciencias Agronómicas,
Universidad de El Salvador.
E-mail: awrivas@yahoo.com

Resumen

La investigación se realizó en el laboratorio e invernadero del Departamento de Protección Vegetal de la Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de El Salvador, de septiembre 2016 a mayo 2017, se evaluó la efectividad de control de tres biopreparados (lombriabono, bocashi y microorganismos de montaña), un antagonista *Trichoderma harzianum* (Excalibur Gold®), un testigo relativo Hidróxido de Cobre (Kocide WG ®) y un testigo absoluto en dos métodos de aplicación (Enmienda al suelo, Peletizado en semilla), sobre el fitopatógeno *Sclerotium rolfsii* L. causante de la enfermedad del añublo sureño del frijol. Se realizó un ensayo con 11 tratamientos y 5 repeticiones, más un duplicado, el cultivo se llevó desde la siembra hasta el primer mes en invernadero, inoculando el fitopatógeno en sustrato estéril, tomándose datos de emergencia e infección en semilla a los cinco días después de siembra, y luego cada tres días para medir el nivel de infección en planta.

Los métodos de aplicación tuvieron influencia en el control de infección en semilla de frijol por *S. rolfsii* L. ($X_1=93.96\%$ $p=2.2 \times 10^{-16}$). El menor porcentaje de probabilidad fue enmienda al suelo (2.5%, EE=0.60), sugiriendo que éste método permite disminuir los efectos de infección.

La evaluación en aplicación de productos mostró diferencias para infección en semilla ($X_4=62.52$, $p<8.55 \times 10^{-13}$), siendo *Trichoderma harzianum* (Excalibur Gold FS®) aplicado peletizado el que presentó menor porcentaje de infección (4.5% EE=3.2%). Existieron fuertes efectos de interacción entre productos y formas de aplicación, para emergencia ($X_4=48.921$ $p=6.066 \times 10^{10}$), infección en semilla ($X_4=32.894$ $p=1.256 \times 10^6$) e infección en planta de frijol ($X_4=15.6784$ $p=0.003483$).

Palabras clave: *Sclerotium rolfsii* L. *Phaseolus vulgaris*, *Trichoderma harzianum*, biopreparados, enmiendas al suelo.

Abstract

The research was conducted in the laboratory and greenhouse of the Department of Plant Protection of the Faculty of Agricultural Sciences, University of El Salvador, from September 2016 to May 2017, the effectiveness of control of three biopreparados was evaluated (lombriabono, bocashi and mountain microorganisms), an antagonist *Trichoderma harzianum* (Excalibur Gold®), a relative control Copper Hydroxide (Kocide WG ®) and an absolute control in two application methods (soil amendment, seed pelletizing), on the phytopathogen *Sclerotium rolfsii* L. causative of southern blight disease in beans. A trial was carried out with 11 treatments and 5 repetitions, plus a duplicate, the culture was carried from planting to the first month in the greenhouse, inoculating the phytopathogen in sterile substrate, taking emergency data and infection in seed five days after sowing, and then every three days to measure the level of infection in plant.

The methods of application had an influence on the control of beans seed infection by *S. rolfsii* L. ($X_1 = 93.96\%$ $p = 2.2 \times 10^{-16}$). The lowest percentage of probability was soil amendment (2.5%, EE = 0.60), suggesting that this method reduces the effects of infection.

The evaluation in application of products showed differences for infection in seed ($X_4 = 62.52$, $p < 8.55 \times 10^{-13}$), being *Trichoderma harzianum* (Excalibur Gold FS®) applied pelleted the one that presented lower percentage of infection (4.5% EE = 3.2%). There were strong effects of interaction between products and forms of application, for emergence ($X_4 = 48.921$ $p = 6.066 \times 10^{10}$), infection in seed ($X_4 = 32.894$ $p = 1.256 \times 10^6$) and bean plant infection ($X_4 = 15.6784$ $p = 0.003483$).

Key words: *Sclerotium rolfsii* L. *Phaseolus vulgaris*, *Trichoderma harzianum*, bioprepared, amendments to the soil.

Introducción

El frijol es una leguminosa de gran importancia en el consumo humano a nivel mundial, principalmente en los países en desarrollo, debido a su alto contenido en proteínas y nutrientes, sin embargo, la producción está sujeta a numerosas limitaciones que varían de región a región. Los principales factores responsables de los rendimientos bajos son la alta presión de enfermedades e insectos (CIAT 1994).

La Enfermedad de añublo sureño del Frijol, ocasionada por el hongo *Sclerotium rolfisii* L. puede llegar a representar el 25% de las pérdidas del cultivo durante épocas secas y calientes. El patógeno puede atacar a gran diversidad de plantas durante todo su ciclo de vida y sobrevivir en residuos de siembras anteriores de frijol u otras plantas y en el suelo por lo menos un año, esto debido a sus estructuras de reproducción, llamadas esclerocios, cuyo control se dificulta por la naturaleza del hongo (Red SICTA y IICA, 2008). De acuerdo a investigaciones, el hongo *Trichoderma harzianum* ha sido registrado como un controlador efectivo de *S. rolfisii* L. debido a mecanismos específicos como competencia directa por espacio o nutrientes, producción de metabolitos antibióticos y parasitismo directo de determinadas especies de *Trichoderma* sobre el hongo fitopatógeno (Cook y Baker 1989 citados por Lisboa Minguzzi 2003).

Además, se conoce que los microorganismos del suelo juegan un papel fundamental en el control de patógenos, por lo que la salud de este es de gran importancia para reducir pérdidas y obtener buenos rendimientos. En la región del Perú, en los últimos años se han estudiado y promovido tecnologías alternativas para el control del añublo sureño del frijol, entre estas destacan el uso de biopreparados como el bocashi, lombriabono y microorganismos de montaña (IPES *et al.* 2010).

La forma de aplicación de los tratamientos ha demostrado ser de importancia para inhibir el desarrollo de fitopatógenos y regular sus poblaciones, entre éstas se tiene la peletización o recubrimiento de semilla, con la cual se protege a la semilla de factores externos que impiden su germinación y, las enmiendas al suelo, las cuales incrementan la biomasa del suelo con sustancias orgánicas que conducen a la supresión de patógenos y la regulación microbiana del suelo (Universidad de Andalucía, s.f.).

En El Salvador, no se han reportado datos porcentuales de infección de la enfermedad por el patógeno *Sclerotium rolfisii* L. pese a estar presente en suelos agrícolas, lo cual demuestra la importancia de su estudio y

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

Materiales y métodos

Ubicación, Duración, Unidades Experimentales

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

Metodología de Laboratorio

Se recolectó suelo a partir de la metodología de muestreo de suelos para análisis microbiológico desarrollada por Castellanos *et al.* s.f. en tres lotes de la Estación Experimental y de Prácticas (EEP) de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de El Salvador, basado en el historial de incidencia de la enfermedad en el cultivo de frijol, según información obtenida por parte de los trabajadores de la EEP.

Reproducción del patógeno

Se extrajeron esclerocios de *Sclerotium rolfisii* L. a partir de planta de frijol que presentaba síntomas y signos específicos de la enfermedad, se inocularon en nueve recipientes de polietileno de 32 onz, se sembraron seis semillas de frijol CENTA Costeño 2 en cada uno y se colocaron en el invernadero del Departamento de Protección Vegetal, con una temperatura de 30 °C hasta la formación y desarrollo de nuevos esclerocios.

Aislamiento del Patógeno

Para aislar el patógeno se siguió la metodología de Manejo del hongo *Sclerotium rolfisii* L. en Laboratorio, propuesta por Castellanos, *et al.* (s.f.).

Metodología de Campo

Se preparó el sustrato siguiendo la metodología recomendada por Rivas 2016, se mezcló suelo y arena en proporciones 2:1 esterilizándolo con una dilución de ½ galón de lejía disuelto en ocho galones de agua por cada 45.45

kg de sustrato, se mezcló cada tres días durante dos semanas. Se tenía un total de 55 cajas de siembra para realizar posteriormente el ensayo.

Paralelamente a la desinfección del sustrato, se preparó el inóculo para adicionarse a las cajas de siembra. Para esto se siguió la metodología propuesta por Castellanos *et al.* s.f.

Metodología estadística

El ensayo en invernadero se distribuyó utilizando un Diseño de Bloques Completamente al Azar con arreglo factorial, con 11 tratamientos y 5 repeticiones por tratamiento; además se realizaron dos réplicas.

La unidad experimental fue constituida por una caja de madera, en cada una se sembraron veinte semillas de frijol CENTA Costeño 2, que se consideraron como unidades de muestreo.

Tratamientos

Método de aplicación: Peletizado a la Semilla de frijol

El peletizado a la semilla consistió en el recubrimiento del producto en las semillas de frijol y posteriormente se “empanizaron” con harina de almidón para evitar que la solución se desprendiera, para el caso de microorganismos de montaña (MM), las semillas se sumergieron en una solución líquida y luego se recubrieron con almidón al igual que los demás tratamientos (Cuadro 1).

Método de aplicación: Enmienda al Suelo

Los productos se aplicaron directamente al suelo en forma sólida para Bocashi y lombriano y en forma líquida para microorganismos de montaña (MM) y *Trichoderma harzianum* R (Cuadro 2).

Análisis de Variables

Determinación de Emergencia de la Semilla de frijol

Porcentaje de emergencia de la semilla a los tres y cinco días después de la siembra.

Infección en Semilla de frijol

Porcentaje de semillas que no emergieron y que fueron infectadas por el patógeno.

Infección en Planta de frijol

Porcentaje de plantas infectadas de cada tratamiento a través de la identificación de signos de la enfermedad. La toma de datos fue cada tres

Cuadro 1. Dosis y código de tratamientos para peletizado a la semilla de frijol.

| Tratamiento | Dosis | |
|---|--------------------------------------|--------|
| | Tratamiento de semilla | Código |
| Microorganismos de montaña (MM) | 1/4 litro por 2 libras de semilla | TS-MM |
| Lombriabono | 2 lb/1 lb de semilla de frijol | TS-LA |
| Bocashi | 2 lb/1 lb de semilla de frijol | TS-BO |
| <i>Trichoderma harzianum</i> R. producto Excalibur Gold FS® | 30 gr de producto/ 100 lb de semilla | TS-TH |
| Testigo químico Hidróxido de Cobre (Kocide WG ®) | 900 gr/80 lbs de semilla | TS-KO |
| Testigo absoluto (blanco) | ----- | TS-TX |

Cuadro Cuadro 2. Dosis y código de tratamientos para enmienda al suelo.

| Tratamiento | Dosis | |
|---|--------------------------------|--------|
| | Enmienda al suelo (dosis) | Código |
| Microorganismos de montaña | 50 ml por postura | ES-MM |
| Lombriabono | 4 onz por postura | ES-LA |
| Bocashi | 4 onz por postura | ES-BO |
| <i>Trichoderma harzianum</i> R. producto Excalibur Gold FS® | 1 gr de producto/Litro de agua | ES-TH |
| Testigo químico Hidróxido de Cobre (Kocide WG ®)* | ----- | ES-KO |
| Testigo absoluto (blanco) | ----- | ES-TX |

*Para enmienda al suelo no se aplicó control químico.

días después de la emergencia hasta la semana cuatro del cultivo por la rapidez de infección de *Sclerotium rolfsii* L.

Análisis de datos

El análisis estadístico se hizo con el programa R studio y los tratamientos que resultaron significativos se analizaron bajo la prueba de Tukey.

Por método de aplicación

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

Por producto biopreparado

Se evaluaron las variables para los cinco productos, para identificar el efecto de éstos en el desarrollo del cultivo y del patógeno.

Interacción método

Se evaluaron las variables para la interacción entre productos y formas de aplicación para evaluar la correlación de éstos y su incidencia en el desarrollo del patógeno.

Metodología económica

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

Resultados y Discusión

Se evaluaron las variables emergencia, infección en semilla de frijol e infección en planta de frijol para determinar el efecto del método de aplicación, efecto de los productos y de la interacción de método por productos, obteniéndose que la interacción del método de aplicación de enmienda al suelo con el producto lombriabono demostró ser más efectivo que todos los demás tratamientos sin embargo obtuvo el mayor índice de costo efectividad, en contraste con *Trichoderma harzianum* (Excalibur Gold FS), cuyo índice de costo efectividad fue menor siendo el segundo tratamiento más efectivo.

Efecto método de aplicación

El análisis de efecto de métodos de aplicación mostró diferencias significativas en el comportamiento de los métodos enmienda al suelo y tratamiento a la semilla, en el que tratamiento a la semilla mostró menor emergencia de la semilla de frijol (54.52%), por lo que el porcentaje de infección fue mayor tanto en semilla de frijol (12.80%) como en planta de frijol (12.40%). A diferencia del tratamiento de enmienda al suelo, con mayor porcentaje de semilla emergida (72.34%) y el porcentaje de infección en semilla fue menor (2.5%) lo que resultó en menos plantas de frijol infectadas al final del ensayo (5.20%).

Las enmiendas al suelo presentaron menor infección en semilla y planta con respecto a la peletización de la semilla, lo cual refleja que adicionar biopreparados en forma de enmienda al suelo, reduce los efectos patogénicos de *Sclerotium rolfisii* L. La investigación concuerda con Nico, A. L. *et al.* (2005), quienes demostraron que el agregado de enmiendas orgánicas generan una modificación en el comportamiento poblacional del suelo, reflejado en la diferencia en la que actúan los métodos de aplicación sobre la infección por el patógeno *Rhizoctonia solani* en Frijol (Poroto), dando como resultado, una menor infección por parte de las enmiendas.

Efecto de productos

A partir de los resultados del análisis de infección en semilla, se encontró diferencia significativa ($X_5=62.52$, $p<8.55 \times 10^{-13}$) en la efectividad de los productos evaluados, donde *Trichoderma harzianum*, Microorganismos de Montaña, Lombriabono y Bocashi mostraron un mejor control de *Sclerotium rolfisii* L. Sin embargo, no se registró efecto de los productos para la emergencia de semilla de frijol ($X_5=2.44$ $p>0.655$) ni para la infección en etapa de planta de frijol ($X_4=3.12$ $p>0.53$).

Valdés (2010), obtuvo en estudio similar que los tratamientos biológicos (Compost, *Rhizobium* y Micorriza) mostraron las menores afectaciones de *Sclerotium rolfisii* L. en la incidencia de la enfermedad causada por este patógeno en frijol, sugiriendo que la aplicación de productos provee protección a la planta de frijol contra el patógeno.

Efecto de interacción: Forma de aplicación por producto

Se observaron fuertes efectos de interacción entre el método de aplicación y los productos aplicados para emergencia ($X_4=48.921$ $p<6.066 \times 10^{-10}$), Infección a la semilla ($X_4=32.894$ $p<1.256 \times 10^6$) e infección en planta ($X_4=15.6784$, $p<0.003483$). Se observó una fuerte relación entre peletizar la semilla con la infección al inicio y final del cultivo. Las interacciones demuestran tener un gran porcentaje de influencia sobre el comportamiento del patógeno en frijol (Fig. 1). Para este análisis no se tomó en cuenta el tratamiento químico (TS-KO).

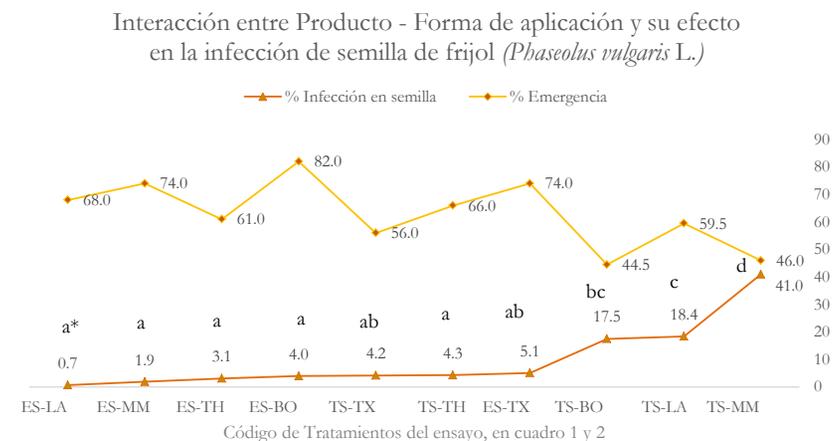


Figura 1. Interacción entre productos y formas de aplicación y su efecto en el Porcentaje de emergencia e infección por *Sclerotium rolfisii* L.

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

La interacción entre productos más forma de aplicación pueden intervenir en el control del agente patógeno de manera sinérgica. Se observa que combinar una forma de aplicación más un biopreparado, puede generar doble efecto de control contra el patógeno *Sclerotium rolfii* L. siendo todos los productos aplicados como enmiendas los potenciales métodos de control. Además, podría deberse a que el aumento de la biomasa total que tiene lugar a continuación de la aplicación de enmiendas al suelo, baja la carga infectiva de la misma y reduce el área de contacto del patógeno con la fuente nutricional necesaria para activar los esclerocios del hongo y generar la infección.

Análisis Económico de Costo-Efectividad

Los resultados de la evaluación económica (Cuadro 3) muestran entre los tratamientos más efectivos a Lombriabono (98%), aplicado como enmienda al suelo, sin embargo, éste representa el mayor índice de costo/efectividad (0.85%). Asimismo, se obtuvo un segundo tratamiento efectivo (92%), el peletizado de semilla con *Trichoderma harzianum* (Excalibur Gold FS®), el cual se presentaría como alternativa efectiva comparada con lombriabono y con menor índice costo/efectividad (0.00047%).

Conclusiones

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

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

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

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

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

Cuadro 3. Evaluación Económica para mil plantas.

| Tratamientos a la Semilla | Fórmulas | Dosis para mil plantas | Número de Plantas Sanas | Costo variable (\$) | Índice costo/efectividad |
|-----------------------------|----------|------------------------|-----------------------------|--|------------------------------------|
| | | | Porcentaje de Plantas Sanas | Costo de la dosis utilizada para mil plantas | *Costo variable / % de efectividad |
| Enmienda Testigo | | — | 91%* | \$0.00 | 0% |
| Semilla Testigo | | — | 88% | \$0.00 | 0% |
| Enmienda Lombriabono | | 250 libras | 98% | \$83.33 | 0.85% |
| Semilla Lombriabono | | 4.5 libras | 67% | \$1.50 | 0.022% |
| Enmienda Bocashi | | 250 libras | 89% | \$66.67 | 0.749% |
| Semilla Bocashi | | 4.5 libras | 58% | \$1.07 | 0.018% |
| Enmienda MM | | 50 litros | 54% | \$16.67 | 0.308% |
| Semilla MM | | 0.11 litros | 64% | \$0.04 | 0.000625% |
| Enmienda Excalibur Gold FS® | | 0.196 g | 79% | \$0.06 | 0.00075% |
| Semilla Excalibur Gold FS® | | 0.138 g | 92%* | \$0.044 | 0.00047% |
| Semilla (Kocide WG®) | | 5.2 gr | 31% | \$0.075 | 0.0024% |

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

Recomendaciones

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

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

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

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

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

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

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

Bibliografía

Castellanos, G., Jara, C., y Mosquera, G. s.f. Guía Práctica 8, *Sclerotium rolfsii*. Enfermedad: Añublo sureño. Manejo Del Hongo En El Laboratorio, 15p.

CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical). 1994. Problemas de Producción del frijol en los Trópicos. (M. Pastor Corrales & H. F. Schwartz, Eds.), Problemas de producción del frijol en los trópicos (2a edición). Cali, Colombia. Retrieved from: <http://www.sidalc.net/cgi-bin/wxis.exe/?IsisScript=EARTH.xis&method=post&formato=2&cantidad=1&expresion=mfn=008437>

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

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

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

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

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

Universidad de Andalucía, s.f. Cubrición de la semilla. Experiencia de aplicación de semillado directo para la restauración forestal. La cubrición de la semilla. Retrieved from: https://www.juntadeandalucia.es/medioambiente/consolidado/publicacionesdigitales/80381_Experiencias_de_aplicacion_de_semillado_directo_para_la_restauracion_forestal/80381/6_la_cubricion_de_las_semillas.

Valdés, E. A. 2010. Empleo de abonos orgánicos y biofertilizantes en la reducción de las afectaciones por hongos patógenos del suelo, y su repercusión en el rendimiento del frijol común. Universidad Central “Marta Abreu” De Las Villas. Retrieved from file:///G:/tesis Frijol/Bibliografia/Abonos organicos y reduccion de hongos patogenos en frijol.pdf