



Por un Desarrollo Agrario  
Integral y Sostenible

# UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

## DIRECCIÓN DE CIENCIAS AGRÍCOLAS

### Trabajo de Tesis

**Manejo de la mancha foliar (*Cercospora* spp.)  
en el cultivo del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.)  
en invernadero.**

#### **Autor**

Br. Juan Ismael Garmendia

#### **Asesor**

Ing. MSc. Trinidad Castillo Arévalo

Presentado a la consideración del honorable comité  
evaluador como requisito final para optar al grado de  
Ingeniero Agrónomo

Managua, Nicaragua  
Abril, 2025

Este trabajo de graduación fue evaluado y aprobado por el honorable comité evaluador designado por la Dirección de Ciencias Agrícolas como requisito final para optar al título profesional de:

Ingeniero Agrónomo

---

Miembros del Comité Evaluador

---

MSc. Santos Romero  
Presidente

MSc. Ariel Mena García  
Secretario

---

MSc. Isaías Sánchez Gómez  
Vocal

Lugar y fecha: Managua, Nicaragua, 11 de abril 2025

---

## **DEDICATORIA**

Dedico este trabajo de tesis a todas las personas que, de una manera u otra, formaron parte de este camino. A los docentes que compartieron sus conocimientos a lo largo del ciclo de formación como Ingeniero Agrónomo, a mis compañeros de estudio que en todo momento de duda me motivaron a seguir adelante y a mi familia, que siempre estuvo a mi lado. A ustedes les dedico este logro.

## **AGRADECIMIENTO**

Ante todo, quiero agradecer a Dios fuente de toda sabiduría y fortaleza, por brindarme la oportunidad de llegar hasta este punto, su infinita presencia en mi vida ha sido fundamentales para superar las dificultades y desafíos que se presentaron a lo largo de este proceso, sin la bendición de Dios, nada de esto habría sido posible.

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a todas las personas que han sido parte de este proyecto y han contribuido de alguna manera a su realización. Agradezco profundamente a mi asesor Ing. MSc. Trinidad Castillo Arévalo por su invaluable guía, apoyo y paciencia durante todo el proceso de investigación. Al técnico de laboratorio de hongos Ing. María Elena Zamora por su ayuda incondicional durante el aislado y cultivado del patógeno, así como en las dosificaciones de los tratamientos. Al docente Lic. MSc. Miguel Ángel Garmendia Zapata quien colaboro en la parte del análisis de los datos. Su experiencia y conocimientos fueron piezas fundamentales en la elaboración de este trabajo investigativo.

A mi familia que siempre creyó en mí y me motivó a seguir adelante, gracias por brindarme la fuerza para superar los obstáculos que surgieron durante este proyecto investigativo.

Por último, pero no menos importante a la Universidad Nacional Agraria por proporcionar los recursos necesarios para llevar a cabo la investigación.

Br. Juan Ismael Garmendia.

## ÍNDICE DE CONTENIDO

SECCIÓN	PÁGINA
<b>DEDICATORIA</b>	<b>iii</b>
<b>AGRADECIMIENTO</b>	<b>iv</b>
<b>ÍNDICE DE CUADROS</b>	<b>vii</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>	<b>viii</b>
<b>ÍNDICE DE ANEXOS</b>	<b>x</b>
<b>RESUMEN</b>	<b>xi</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>xii</b>
<b>I. INTRODUCCION</b>	<b>1</b>
<b>II. OBJETIVOS</b>	<b>3</b>
2.1. Objetivo general	3
2.2. Objetivos específicos	3
<b>III. MARCO DE REFERENCIA</b>	<b>4</b>
3.1. Descripción de <i>Cercospora</i> spp.	4
3.2. Descripción de <i>Trichoderma</i> spp.	5
3.3. Descripción de <i>Bacillus subtilis</i>	7
3.4. Descripción del Ácido Piroleñoso	8
3.5. Descripción de los postulados de Koch	9
<b>IV. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>11</b>
4.1. Ubicación del estudio	11
4.2. Diseño experimental	13
4.3. Manejo agronómico	13
4.4. Variables por evaluar	15
4.5. Toma de datos	15
4.6. Análisis de datos	16
<b>V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>20</b>
5.1. Variables de crecimiento generalizadas	20
5.2. Relación de las variables de crecimiento con las variables epidemiológicas	22
5.3. Efecto de los tratamientos en las variables de crecimiento	22
5.4. Comparación entre tratamientos para las variables de crecimiento	24

5.5. Área bajo la curva del progreso de la enfermedad incidencia y severidad	29
<b>VI. CONCLUSIONES</b>	<b>32</b>
<b>VII. RECOMENDACIONES</b>	<b>33</b>
<b>VIII. LITERATURA CITADA</b>	<b>34</b>
<b>IX. ANEXOS</b>	<b>41</b>

---

## ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO	PÁGINA
1. Detalles sobre los cuatros tratamientos que se utilizaron en el estudio. Dosis aplicadas a razón de un litro de agua	12
2. Lista de fertilizantes y momentos en los cuales fueron aplicados durante el estudio	15
3. Descripción de las variables registradas en el estudio	15
4. Escalas de incidencia y severidad, y su descripción (Dixon y Estrada, 2022)	19
5. Descripción general de las variables diámetro, altura y número de hojas de <i>Phaseolus vulgaris</i> en la última medición	20

## ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA	PÁGINA
1. Fotografía de <i>Cercospora chenopodii</i> (CCTU 1033). A. Afectación visual en la planta, B - C. Conidióforos fasciculados, D - G. Conidios. Barra de escala 10 $\mu$ m. Fuente: Bakhshi et al. (2015)	5
2. Estructura microscópica de una cepa de <i>Trichoderma</i> por medio de la tinción con azul de lactofenol. Fuente: Universidad de Salamanca (s.f.)	6
3. Micrografía electrónica de una raíz de guisantes con células de <i>Bacillus subtilis</i> . (Fuente: Kilian et al., 2001)	8
4. Ubicación del invernadero en donde se realizó el experimento, Managua, Nicaragua	11
5. Representa las variables: A. Diámetro (mm), B. Altura (cm) y C. Número de hojas de las plantas de <i>Phaseolus vulgaris</i> de forma generalizada en el tiempo dividido en semanas sin representación gráfica de los tratamientos	21
6. Representa las variables: A. Diámetro (mm), B. Altura (cm) y C. Número de hojas de las plantas de <i>Phaseolus vulgaris</i> en el tiempo dividido en semanas para cada tratamiento; para el testigo (TESTIGO), el tratamiento con <i>Trichoderma</i> spp. (TRICHO), tratamiento con <i>Bacillus subtilis</i> (BACIL-SUBT), tratamiento con Ácido Piroleñoso (ACIDO-PIROL) y tratamiento con la combinación de <i>Trichoderma</i> spp. + <i>Bacillus subtilis</i> (TRICHO+BACIL-SUBT). Partiendo de la semana nueve cuando se inocula el patógeno en las unidades experimentales	23
7. Representa las variables: A. Diámetro (mm), B. Altura (cm) y C. Número de hojas de las plantas de <i>Phaseolus vulgaris</i> medidas para el testigo (TESTIGO), el tratamiento con <i>Trichoderma</i> spp. (TRICHO), tratamiento con <i>Bacillus subtilis</i> (BACIL-SUBT), tratamiento con Ácido Piroleñoso (ACIDO-PIROL) y tratamiento con la combinación de <i>Trichoderma</i> spp. + <i>Bacillus subtilis</i> (TRICHO+BACIL-SUBT)	24
8. Representa el desarrollo de las plantas de <i>Phaseolus vulgaris</i> en cuanto al diámetro (cm) a lo largo de las semanas (9 – 14 semanas) en las que se aplicó los tratamientos	26
9. Representa el desarrollo de las plantas de <i>Phaseolus vulgaris</i> en cuanto a la altura (cm) a lo largo de las semanas (9 – 14 semanas) en las que se aplicó los tratamientos	27

---

10. Representa el desarrollo de las plantas de <i>Phaseolus vulgaris</i> en cuanto al número de hojas a lo largo de las semanas (9 – 14 semanas) en las que se aplicó los tratamientos	28
11. Representa el área bajo la curva del progreso de la enfermedad donde en el eje x se muestran los días después de la aplicación del patógeno y en el eje y el porcentaje de severidad para cada uno de los tratamientos evaluados	29
12. Representa el Área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE) donde en el eje x se muestran los días después de la aplicación del patógeno y en el eje y el porcentaje de severidad para cada uno de los tratamientos evaluados	30
13. Representa el Área bajo la curva del progreso de la incidencia (ABCPICa) donde en el eje x se muestran los días después de la aplicación del patógeno y en el eje y el porcentaje de severidad para cada uno de los tratamientos evaluados	31

---

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>ANEXO</b>	<b>PÁGINA</b>
1. Formulario de toma datos del experimento	41
2. Escala visual para la incidencia y severidad de la enfermedad. Escala diagramática en hoja de soja. Fuente: Calviño (2023)	42
3. Dossier fotográfico del proceso del experimento, en el invernadero	42
4. Codificación en R que presenta la aplicación de las pruebas Shapiro Wilks (supuesto de normalidad), Levene (homogeneidad de varianza), Kruskal Wallis y la comparación múltiple de Dunn	43

## RESUMEN

La enfermedad de la mancha foliar es causada por el hongo *Cercospora* spp. que afecta al frijol negro y al frijol rojo por igual. El hongo se transmite principalmente por semilla y puede sobrevivir durante periodos de más de 2 años en los desechos de las plantas en el suelo bajando hasta el sistema radicular de la planta. En este trabajo se evaluó el manejo de *Cercospora* spp. con dos productos biológicos (*Trichoderma* spp., *Bacillus subtilis*) y un producto botánico (Ácido Piroleñoso). El estudio e investigación se realizó en la Universidad Nacional Agraria (UNA) sede de Managua Nicaragua. Se seleccionó uno de los invernaderos de la UNA donde se realizó el experimento de diseño completamente aleatorio (DCA). Cada tratamiento se replicó 16 veces, resultando en un total de 80 unidades experimentales. Mediante los postulados de Koch se inoculó el patógeno *Cercospora* spp. en plántulas de *Phaseolus vulgaris* L., posterior a 7 días de la inoculación del patógeno se aplicaron los tratamientos. Se determinó que el tratamiento con los mayores valores de mediana para todas las variables de crecimiento (altura de la planta y número de hojas) se obtuvieron con el tratamiento *Trichoderma* spp., para la variable de crecimiento (diámetro del tallo) fue el tratamiento *Bacillus subtilis* y la combinación de *Trichoderma* spp. + *Bacillus subtilis*, presentando el porcentaje de severidad mínimo ante la afectación del patógeno al final del periodo de evaluación con 7.64 %. *Trichoderma* spp. y *Bacillus subtilis* se presentan como opciones eficaces y sostenibles para el manejo biológico de *Cercospora* spp. en diversos cultivos promoviendo la protección contra la enfermedad al competir por nutrientes, producir metabolismo antagonista y estimular las defensas del hospedante.

**Palabras claves:** Postulados de Koch, fitoprotección, microorganismos antifúngicos, manejo biosanitario.

## ABSTRACT

Leaf spot disease is caused by the fungus *Cercospora* spp. which affects black beans and red beans equally. The fungus is primarily transmitted through seeds and can survive for more than 2 years in plant debris in the soil, reaching the plant's root system. This study evaluated the management of *Cercospora* spp. with two biological products (*Trichoderma* spp., *Bacillus subtilis*) and a botanical product (Pyroligneous Acid). The study and research were conducted at the National Agrarian University (UNA) campus in Managua, Nicaragua. One of UNA's greenhouses was selected for the completely randomized design (CRD) experiment. Each treatment was replicated 16 times, resulting in a total of 80 experimental units. Using Koch's postulates, the pathogen *Cercospora* spp. was inoculated in *Phaseolus vulgaris* L. seedlings, and treatments were applied 7 days after pathogen inoculation. It was determined that the treatment with the highest median values for all growth variables (plant height and number of leaves) was obtained with the *Trichoderma* spp. treatment. For the growth variable (stem diameter), the treatment was *Bacillus subtilis* and the combination of *Trichoderma* spp. + *Bacillus subtilis*, presenting the minimum severity percentage of pathogen impact at the end of the evaluation period with 7.64%. *Trichoderma* spp. and *Bacillus subtilis* are presented as effective and sustainable options for the biological management of *Cercospora* spp. in various crops, promoting protection against the disease by competing for nutrients, producing antagonistic metabolism, and stimulating host defenses.

**Keywords:** Koch's postulates, phytoprotection, antifungal microorganisms, biosanitary management.

## I. INTRODUCCION

El fríjol común *Phaseolus vulgaris* L. es una leguminosa muy importante en la dieta diaria de los nicaragüenses. Se considera la fuente más barata de proteínas y calorías, además que genera ingresos económicos a las familias de los pequeños productores de este rubro. Entre los granos básicos, el fríjol ocupa el segundo lugar después del maíz, tanto por la superficie sembrada, como por la cantidad que consume la población. El consumo de fríjol fluctúa según la disponibilidad del grano, el estrato social y sitio de residencia (urbano o rural), las cantidades van desde 9 a 21 kilogramos por año (Escoto, 2004).

Las legumbres como el frijol, son fundamentales en una dieta saludable para conseguir altos contenidos de proteínas y fibras con bajos porcentajes de grasa. En Nicaragua el grano de frijol es parte esencial de la gastronomía nacional, es muy poco probable que la población nicaragüense pase un día sin incluir una buena porción de frijoles en su dieta. Según cifras del Ministerio de Agricultura la población consume el 68% de la producción nacional, equivalente a unas 62 mil toneladas métricas al año. El restante de la producción unas 33 mil toneladas se exportan principalmente a Estados Unidos y El Salvador (Programa Mundial de Alimentos [PMA], 2021).

Para prevenir y/o evitar que las plantas sean afectadas por plagas y enfermedades se deben realizar manejos integrados con diferentes métodos de control que incluyan labores o prácticas de manera conjunta en el momento oportuno, contribuyendo al éxito de la seguridad alimenticia (Tamayo y Londoño, 2001).

El cultivo de frijol *Phaseolus vulgaris* L. está sujeto al ataque de múltiples enfermedades a lo largo de todo su ciclo fisiológico, pues existen patógenos de gran importancia económica que dañan la calidad del grano, siendo la mancha foliar (*Cercospora* spp.) una de ellas.

La enfermedad de la mancha foliar es causada por el hongo *Cercospora* spp. agente causal que provoca una de las enfermedades importantes del cultivo de fríjol. El inóculo proviene principalmente de los restos contaminados de la cosecha anterior y de semilla contaminada con el patógeno. La afectación de la enfermedad se observa en todas las partes aéreas de la planta de fríjol, pero los síntomas típicos que le dan el nombre a la enfermedad son lesiones o manchas observadas en las hojas. La enfermedad es favorecida o más severa cuando ocurren

fluctuaciones en las temperaturas, períodos alternos de altas y bajas temperaturas, así como una humedad relativa entre el 80 % a 90 % (Escoto, 2004).

La sintomatología del patógeno se presenta inicialmente a modo de pequeñas manchas circulares u ovaladas, acuosas en las hojas, las cuales se agrandan con el tiempo y que pueden variar en color, desde el verde oscuro, al marrón con márgenes rojizos o purpúreos; aparece en las hojas generalmente de 3 a 5 semanas después de la siembra. En etapas avanzadas, el patógeno se multiplica, los pétalos de las flores se vuelven amarillos y se caen de los tallos, mientras que las hojas en los cultivos comestibles toman un color marrón grisáceo a medida que se secan y mueren del todo (Rivers, 2021).

Ante la problemática de la presencia del patógeno de la mancha foliar, han surgido métodos de manejo biológico como alternativas ante el creciente uso de agroquímicos para combatir fitopatógenos que afectan los principales cultivos de consumo nacional, y de exportación y el caso del rubro del frijol no está exento del uso de pesticidas para el manejo de fitopatógenos. En este caso el cultivo de frijol *Phaseolus vulgaris* L. se pueden utilizar productos orgánicos en el manejo del patógeno de *Cercospora* spp. cuya afectación puede ser hasta del 100% de la pérdida de la cosecha y donde el manejo convencional con agroquímicos conlleva a generar resistencia del patógeno a los productos utilizados (Pillaca, 2019).

La constante búsqueda de nuevas alternativas para un manejo que no afecte la palatabilidad del grano hacia el consumidor final, genera la necesidad de investigaciones que ofrezcan cambios importantes acordes a las condiciones ambientales de cada zona del país, las cuales influyen en la propagación y desarrollo de plagas y enfermedades, es por ello que los métodos de manejo biológico son una buena opción para reducir el uso de agroquímicos en los cultivos, desarrollando una agricultura más amigable con el medio ambiente.

Con esta investigación se estará aportando al conocimiento que brindan los productos biológicos en el manejo de enfermedades, de esta manera se busca identificar y reconocer cuál de los tres tratamientos tienen mayor eficacia en el manejo de *Cercospora* spp. y recomendar las dosis que frenen el avance del fitopatógeno.

## II. OBJETIVOS

### 2.1. Objetivo general

Evaluar el manejo de *Cercospora* spp. en el cultivo de frijol en invernadero.

### 2.2. Objetivos específicos

- Comparar la eficacia de los tratamientos en el manejo de *Cercospora* spp.
- Determinar la relación entre la presencia del patógeno y las variables de crecimiento.
- Analizar la influencia de los productos biológicos en el crecimiento y desarrollo de las plantas de frijol.
- Evaluar la incidencia y severidad de *Cercospora* spp. en *Phaseolus vulgaris* L. bajo manejo biológico.

### III. MARCO DE REFERENCIA

En el presente documento se determinó la capacidad de manejo de tres productos: *Trichoderma* spp., *Bacillus subtilis* y Ácido Piroleñoso en el manejo de *Cercospora* spp. bajo condiciones de invernadero con plántulas de frijol aplicando el fitopatógeno a los tejidos mediante la metodología de los postulados de Koch, para luego realizar el porcentaje de incidencia y severidad del patógeno.

#### 3.1. Descripción de *Cercospora* spp.

El género *Cercospora* spp. (Figura 1) perteneciente a la familia Mycosphaerellaceae, es uno de los géneros más grandes y sus especies se consideran patógenos importantes de una amplia variedad de plantas (Rangel, 2020).

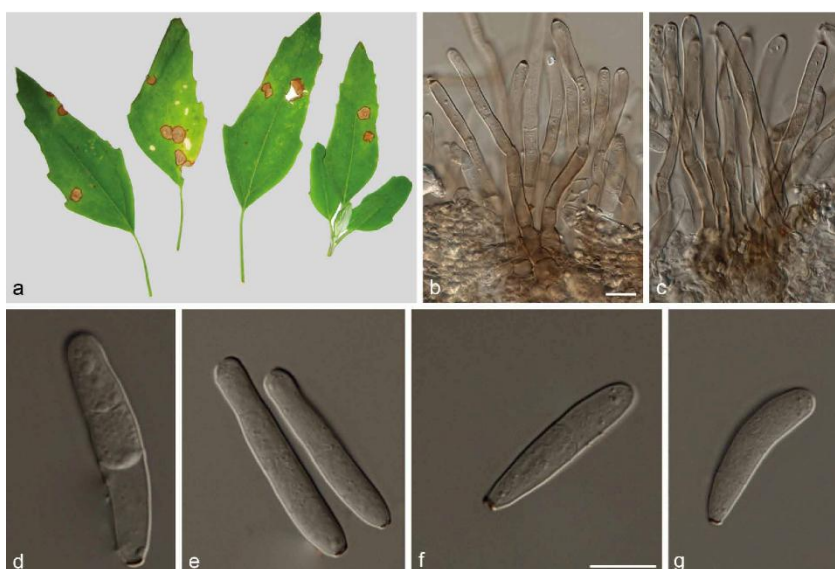
Hasta la fecha se reconocen 659 especies en el género *Cercospora* spp. y 281 especies morfológicamente idénticas que se incluyen en el complejo *Cercospora apii* (Groenewald, 2005). La mayoría de especies del género *Cercospora* no cuentan con una etapa sexual conocida y en las pocas especies que cuentan con una etapa sexual, el teleomorfo pertenece al género *Mycosphaerella* (Goodwin, 2001; Świdarska-Burek, 2020).

Las infecciones de las especies de *Cercospora* spp. se asocian con manchas en las hojas y frutos en diferentes plantas cultivadas y silvestres en todo el mundo (Nguanhom, 2015). Los síntomas del patógeno *Cercospora* spp. se presentan con mayor intensidad en las partes más externas e inferiores de la planta, aunque también pueden encontrarse en cualquier parte de la hoja o incluso en los frutos, como pequeñas manchas irregulares de color marrón claro o, incluso, blancas, con halos amarillos que se tornan secos y quebradizos (Tian, 2008).

Durante las primeras etapas de la infección, el hongo es biotrófico. Sin embargo, durante su desarrollo cambia a necrotrófico en el que se produce la muerte de la célula huésped para completar su ciclo de vida (Ebert, 2020).

Para el desarrollo óptimo del patógeno, se necesitan condiciones de alta humedad relativa mayores a 94% y con un rango de temperaturas entre 24° C a 30 ° C. Los microclimas formados por el abundante desarrollo del follaje, densidades altas de siembra, fertilización nitrogenada inadecuada y riegos abundantes favorecen la presencia y desarrollo del patógeno; a su vez el

riego tecnificado, un distanciamiento mayor entre las hileras y su orientación a la dirección del viento, previenen su ataque (Limgroup, 2015).



**Figura 1.** Fotografía de *Cercospora chenopodii* (CCTU 1033). A. Afectación visual en la planta, B - C. Conidióforos fasciculados, D - G. Conidios. Barra de escala 10  $\mu$ m. Fuente: Bakhshi et al. (2015).

### 3.2. Descripción de *Trichoderma* spp.

Es un hongo antagonista del suelo, que ataca a hongos patógenos siendo beneficioso para las plantas, incluye a más de 100 especies presentes en diferentes zonas climáticas y se encuentra colonizando a una amplia gama de nichos, incluidas plantas vivas y muertas, suelo, sedimento, materia orgánica, tejido animal, entre otros (Wang y Zhuang, 2020; Nuangmek, 2021).

*Trichoderma* spp. (Figura 2) poseen un metabolismo versátil que les da capacidad de manejar diversos fitopatógenos debido principalmente a la producción de enzimas hidrolíticas, competencia por espacio y nutrientes, inducción de resistencia en el hospedero, antibiosis, micoparasitismo, entre otros (Gamarra, 2017; Zhou, 2020). Dentro de las especies de *Trichoderma* spp. más importantes como agentes de bio manejo hacia fitopatógenos se encuentran: *T. reesei*, *T. koningii*, *T. asperellum*, *T. viride*, *T. harzianum*, *T. aureoviride*, entre otros (Brito, 2020; Alfiky y Weisskopf, 2021).

Este género es utilizado para desarrollar bioproductos comerciales para el manejo de enfermedades en las plantas (Singh y Jadon, 2019; Carrillo, 2020); sin embargo, existen casos de baja eficiencia en el manejo de fitopatógenos, debido a que las diversas especies de *Trichoderma* spp. que componen los bioproductos comerciales son originarios de regiones edafoclimáticas diferentes a la zona geográfica donde se aplica (Harman, 2010). Por lo tanto, es importante la selección de microorganismos nativos adaptados a las condiciones edafoclimáticas de la región donde se pretende realizar el manejo de las enfermedades en plantas (Al-Mekhlafi, 2019; Tegene, 2021).

Además de ser un organismo en descomposición, también puede funcionar como agente biológico, multiplicándose rápidamente en la zona de las raíces de la planta, en su papel como agente biológico trabaja en base a su mecanismo antagónico (Wahyuno, 2009).

Según Purwantisari (2009), *Trichoderma* spp. es un hongo parásito que ataca y toma los nutrientes de otros hongos, con la habilidad de parasitar otros hongos fitopatógenos y es antagónico por tener la capacidad de matar o inhibir el crecimiento de otros hongos.



**Figura 2.** Estructura microscópica de una cepa de *Trichoderma* por medio de la tinción con azul de lactofenol. Fuente: Universidad de Salamanca (s.f.).

### 3.3. Descripción de *Bacillus subtilis*

En 1872, Ferdinand Cohn reconoció y nombró a la bacteria *Bacillus subtilis* (Todar, 2001). Ésta es considerada una bacteria Gram positiva, aerobia facultativa, la cual se encuentra por lo general en el suelo, aire y material de descomposición. Sin embargo, en la mayoría de condiciones no se encuentra biológicamente activo sino en forma de spora. *Bacillus subtilis* tiene la habilidad de generar endosporas que le sirven de protección y tolerar condiciones ambientales extremas (Madigan, 2005).

*Bacillus subtilis* (Figura 3) es una bacteria catalasa positiva que se encuentra ampliamente distribuida por todo el globo terráqueo. Constituye uno de los especímenes del género *Bacillus* más estudiado, siendo una bacteria que reporta enormes beneficios en diversos campos con años de estudio de sus propiedades bioquímicas. Como todas las bacterias que pertenecen a este género, las células de *Bacillus subtilis* tienen forma de barra con bordes redondeados. Miden aproximadamente 1 micra de ancho por 2-3 micras de largo. Se encuentran de forma individual o formando pequeñas cadenas (Lifeder. 2022).

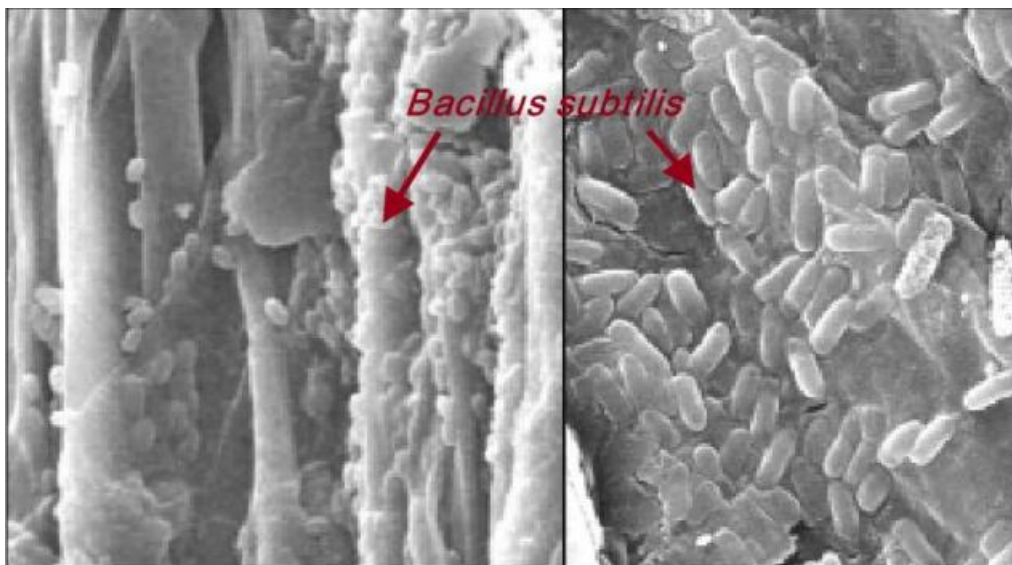
Al observarlas al microscopio, se puede notar en el centro de la célula bacteriana una spora esférica, que no modifica la forma de la bacteria. La célula bacteriana presenta una pared celular gruesa, constituida por un peptidoglicano, conocido como mureína. En lo referente a su genoma, la bacteria posee un único cromosoma circular, en el que están contenidos 4,100 genes que codifican la expresión de ciertas proteínas. De la superficie celular se desprenden unas prolongaciones, los flagelos. Estos contribuyen a la movilidad de la célula (EDU.LAT, 2022).

Cuando se somete al proceso de tinción de Gram, la bacteria adopta la típica coloración violeta de las bacterias grampositivas. Esto es debido al peptidoglicano presente en su pared celular. En lo referente al metabolismo, la *Bacillus subtilis* es capaz de hidrolizar triglicéridos, no así fosfolípidos ni caseína (Universidad Francisco de Paulo Santander [UFPS], s.f.).

Las condiciones óptimas para el desarrollo de la bacteria deben ser estáticas con temperaturas de 30 °C lo que les permite la formación de la biopelícula, si la temperatura comienza a fluctuar las biopelículas no se desarrollaran secándose a una temperatura de 40 °C (Sarti et al., 2019).

*Bacillus subtilis* forma parte de las bacterias más estudiadas a nivel mundial por su desempeño en actividades antifúngicas debido a la síntesis de metabolitos peptídicos de acción antibiótica

(gramicidina, surfactin, iturin, y fengycin). Su actividad antagonica se completa por su alta capacidad de colonización de la zona de la rizosfera (competencia espacial), la rápida asimilación de nutrientes y su secreción de enzimas digestoras degradan y matan por contacto directo a hongos y bacterias (quitinasas, celulasas, proteasas y glucanasas) los cuales les sirven de alimento (Nagua, 2016).



**Figura 3.** Micrografía electrónica de una raíz de guisantes con células de *Bacillus subtilis*. (Fuente: Kilian et al., 2001).

### 3.4. Descripción del Ácido Piroleñoso

El Ácido Piroleñoso, también conocido como vinagre de madera es utilizado con multipropósitos, por ejemplo: como enraizador, para el mejoramiento de la calidad del suelo y como un fertilizante foliar. La calidad de este ácido depende de la madera de que sea extraído siendo las maderas para elabora carbón y bambú las que dan un mejor rendimiento. La duración del ácido es de tres años si se mantiene en recipientes bien tapados y sin exponerse al sol (Álvarez y Hirai, 2009).

El Ácido Piroleñoso es un producto derivado de la pirolisis de madera, consiste en la descomposición de biomasa en condiciones ambientales controladas (Mohan, 2007). La obtención de Ácido Piroleñoso se realiza a partir de desechos de aserrío de la industria forestal

maderable, siendo uno de sus usos como fungicida para evitar la pudrición de la madera (Fregoso-Madueño, 2017).

La composición química del bioaceite depende de las condiciones del proceso y de las composiciones de la biomasa usada. Se han realizados estudios sobre las composiciones químicas y las aplicaciones basadas en la biomasa de roble, sakura, té verde, bambú, eucalipto, planta de manglar, residuos de podas y de agricultura. Sin embargo, no se ha llegado a ninguna investigación sistemática en el análisis químico del bioaceite (Burbano-Salas, 2018).

Según los estudios previos realizados al bioaceite, este contiene tres compuestos químicos presentes en mayor contenido relativo: 2- propanona, 1-hidroxi (22.83 %), 1-hidroxi- 2- butanona (8.87 %) y fenol, 2-metoxi (8.24 %) (Catacora-Pinazo, Quispe-Apaza, Julian-Laime, 2019).

Con respecto de las propiedades fungicidas, pruebas micológicas in vitro parecen indicar un adecuado nivel de toxicidad del líquido piroleñoso frente a hongos pudridores de madera, similar al encontrado en informes de la literatura (Sayra Navas, s.f.).

### **3.5. Descripción de los postulados de Koch**

Robert Koch, en colaboración con otros científicos, descubrieron que muchas enfermedades tenían un origen infeccioso, es decir, eran causadas por agentes patógenos, como las bacterias. En base a esa teoría, se propusieron varios enunciados, llamados postulados de Koch, que han adquirido gran importancia en la historia de la microbiología y en el estudio de las enfermedades infecciosas (Byrd & Segre, 2016).

Los postulados de Koch son cuatro criterios que fueron diseñados para establecer la relación causal entre agentes patógenos, mayormente microbios, y las enfermedades. Fueron formulados en 1884 por el médico alemán Robert Koch, en colaboración con Friedrich Loeffler, basándose en conceptos descritos anteriormente por Jakob Henle. Koch realizó los postulados para describir la etiología del cólera y la tuberculosis, los cuales ahora se atribuyen a las bacterias (AcademiaLab., 2024).

Los postulados de Koch originalmente fueron tres los que se presentaron al congreso internacional de medicina en Berlín, luego de hacer las revisiones pertinentes el mismo Koch encontró que sus postulados tienen puntos débiles y que se tendría que abordar más a fondo en

el estudio de las enfermedades infecciosas. Años posteriores se agregó un cuarto postulado luego de realizar algunas revisiones. (Byrd & Segre, 2016).

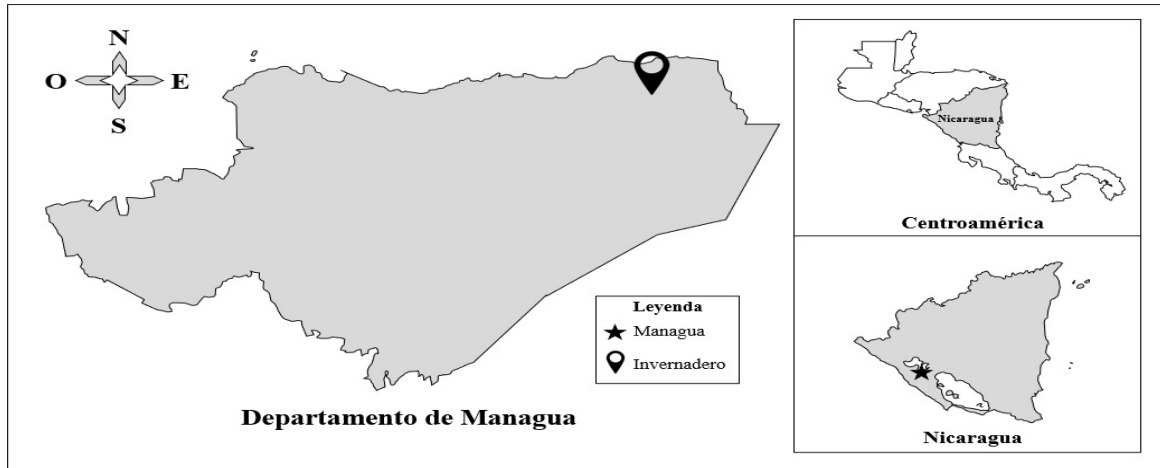
A continuación, se presentan los cuatros postulados de Koch descritos en Cohen (2017):

- Primer postulado: “El microorganismo debe poder ser encontrado en abundancia en todos los organismos que estén padeciendo la enfermedad, pero no debería encontrarse en los que estén sanos”.
- Segundo postulado: “El microorganismo debe poder ser extraído y aislado de un organismo enfermo y cultivarse en un cultivo puro”.
- Tercer postulado: “El microorganismo que se ha cultivado en un cultivo debería poder causar la enfermedad una vez introducido en un organismo sano”.
- Cuarto postulado: “El mismo patógeno debería poder ser re-aislado de individuos a quienes se les inoculó experimentalmente, y ser idéntico al patógeno extraído del primer individuo enfermo al que se le extrajo”.

## IV. MATERIALES Y MÉTODOS

### 4.1. Ubicación del estudio

La Universidad Nacional Agraria (UNA) es una universidad pública con sede en Managua, Nicaragua. La Universidad Nacional Agraria se localiza en Managua Nicaragua (Figura 4), carretera norte kilómetro 12, coordenadas  $12^{\circ}55'24.87''$  N,  $85^{\circ}55'20.27''$  W. Limita al norte con urbanización Flor de Pino, al sur con el aeropuerto internacional Augusto C. Sandino, al este con el Ministerio del Ambiente y Recursos Naturales y la corporación de Zona Franca y al oeste con barrio el Rodeo. La UNA es líder en las ciencias agropecuarias y por ello cuenta con diversas unidades de apoyo a la docencia y a la investigación, por lo que cuenta con invernaderos para realizar experimentos agronómicos.



**Figura 4.** Ubicación del invernadero en donde se realizó el experimento, Managua, Nicaragua.

El estudio se realizó en la Universidad Nacional Agraria sede de Managua, Nicaragua; seleccionando uno de los invernaderos con que cuenta la universidad.

El invernadero donde se realizó el experimento cuenta con las dimensiones 21 metros de largo, 20 metros de ancho, 2.5 metros de altura. Dentro del invernadero se encuentran: Un sistema de riego por aspersión y seis mesas de 1 metro de ancho por 2 metros de largo.

#### 4.1.1. Unidad experimental

Las unidades experimentales corresponden a cada una de las plantas de frijol, teniendo un total de 80 unidades experimentales. Las unidades experimentales estaban distribuidas aleatoriamente entre los tratamientos sin tener en cuenta ninguna característica específica de las

unidades que pueda influir en los resultados. Se le asigno de manera aleatoria a cada unidad experimental un tratamiento, realizando una especie de tómbola con una aplicación de generador de números aleatorios para que se cumpla el principio de un diseño experimental en DCA (Diseño Completamente Aleatorio), en cada unidad experimental se pusieron a germinar 2 semillas de frijol de la variedad INTA rojo. En la semana 9 o a los 63 días después de la germinación se inoculo el patógeno en las plántulas dejándolo actuar durante 7 días. Una vez transcurrido el periodo de inoculación del patógeno se procedió a la aplicación de los 4 tratamientos.

#### 4.1.2. Diseño metodológico

El diseño metodológico se refiere al plan o estrategia concebida para obtener la información que se desea con la aplicación del experimento con el fin de responder al planteamiento del problema. La metodología de investigación que se realizó con este experimento fue un diseño experimental en DCA (Diseño Completamente Aleatorio).

#### 4.1.3. Tratamientos

El experimento consistió en 4 tratamientos y un testigo que serán descritos a continuación:

**Cuadro 1.** Detalles sobre los cuatros tratamientos que se utilizaron en el estudio. Dosis aplicadas a razón de un litro de agua.

<b>Producto comercial</b>	<b>Ingrediente activo</b>	<b>Organismo biológico</b>	<b>Dosis</b>	<b>Tratamiento</b>
Trichoecol® 5 WP	<i>Trichoderma</i> spp.	Biológico	15 gramos	T1
Serenade® SC1,34	<i>Bacillus subtilis</i>	Biológico	5 ml	T2
Ácido Piroleñoso	Ácido Piroleñoso	Botánico	10 ml	T3
Trichoecol® 5 WP + Serenade® SC1,34	<i>Trichoderma</i> spp. + <i>Bacillus subtilis</i>	Biológico	15 gramos + 5 ml	T4
Testigo	Sin aplicación			T5

- Tratamiento 1: Consiste en la aplicación del aislado de *Trichoderma* spp.
- Tratamiento 2: Consiste en la aplicación del aislado de *Bacillus subtilis*.
- Tratamiento 3: Consiste en la aplicación del Ácido Piroleñoso.
- Tratamiento 4: Consiste en la aplicación de la mezcla entre *Trichoderma* spp. y *Bacillus subtilis*.
- Tratamiento 5: El testigo no contará con la aplicación de ningún tratamiento, pero sí la inoculación del patógeno.

#### **4.2. Diseño experimental**

Para el presente trabajo experimental se implementó un estudio de Diseño Completamente Aleatorio (DCA), estratégicamente identificado conforme a los objetivos del estudio; cada tratamiento se replicó 16 veces dentro del área del invernadero, resultando en un total de 80 unidades experimentales.

Mediante los postulados de Koch se inoculo el patógeno *Cercospora* spp. en plántulas de frijol, transcurrido tres días de inoculación las unidades experimentales no presentaban indicios de afectación; al cabo de siete días de haber inoculado se observó la colonización del patógeno en las unidades experimentales y se procedió a la aplicación de los tratamientos (*Trichoderma* spp., *Bacillus subtilis* y Ácido Piroleñoso) con ayuda de un de aspersor de mano.

#### **4.3. Manejo agronómico**

El conjunto de operaciones necesarias para llevar a cabo el crecimiento, desarrollo y rendimiento del cultivo de frijol bajo condiciones de invernadero serán descritas a continuación.

##### **4.3.1. Requerimientos del cultivo**

Este cultivo se adapta a una diversidad de suelos y climas, aunque prefiere suelos sueltos y climas moderadamente fríos con temperaturas entre 16° C y 25° C. Las necesidades hídricas del frijol o las normas de riego totales máximas están entre 352 – 432 mm para suelos arcillosos y medios, y 415 – 498 mm para suelos arenosos. Su periodo vegetativo varía entre los 90 y 120 días.

#### **4.3.2. Selección de la variedad**

La variedad utilizada para el experimento es INTA rojo, semilla adquirida en una tienda de productos agrícolas donde se pueden obtener semillas certificadas de una amplia variedad de cultivos en la ciudad de Managua. Se seleccionó esta variedad de frijol por su tolerancia al exceso de agua y su adaptabilidad rápida a las condiciones climáticas de la zona.

#### **4.3.3. Tratamiento de semilla**

La semilla de frijol se debe tratar con insecticida contra plagas del suelo el mismo día que se va a sembrar. Para el tratamiento de semilla se aplicó GERMIMAX® 40,5 FS con dos ingredientes activos principales Imidacloprid y Thiodicarb, a razón de 0,5 ml por 500 ml de agua para media libra de semilla.

#### **4.3.4. Preparación del invernadero**

Se dispusieron dentro del invernadero mesas con las siguientes dimensiones: 1 metro de ancho, 2 metros de largo y 1 metro de alto. Donde se colocaron bolsas de 8x14 pulgadas para colocar las semillas de frijol.

#### **4.3.5. Distancia de siembra**

Se colocaron dos líneas de bolsas para invernadero separadas por unos 30 cm entre hilera y 15 cm entre plantas en cada mesa, con 10 plantas lineales, con los diferentes tratamientos totalmente aleatorios.

#### **4.3.6. Riego**

El riego se realizó manualmente cada dos días se aplicaban 300ml de agua por planta para un aproximado de 300 cm<sup>3</sup> de agua, debido a que el clima de la ciudad de Managua no es el óptimo para el cultivo ya que es un clima tropical seco.

#### **4.3.7. Fertilización**

La fertilización es determinante para dar al cultivo los nutrientes necesarios y obtener buenos rendimientos. Para el experimento se utilizaron los fertilizantes que se muestran en el cuadro 2.

**Cuadro 2.** Lista de fertilizantes y momentos en los cuales fueron aplicados durante el estudio.

<b>Fertilizante</b>	<b>Momento de aplicación</b>
Foliar plus + Albamin	A los 20 días después de la germinación
Albamin + Oligomix	A los 30 días después de la germinación
Foliar plus + Albamin	Segunda aplicación a los 2 meses después de la germinación
Albamin + Oligomix	Segunda aplicación a los 2 meses después de la germinación
Calcio, Boro y Zinc.	Al momento de la floración.

#### **4.3.8. Control de plagas**

Durante el experimento, no se registraron plagas foliares ni del suelo, ya que las condiciones controladas del invernadero garantizaron la sanidad de las unidades experimentales, evitando la interferencia de enfermedades externas asociadas a estas plagas.

#### **4.4. Variables por evaluar**

La variable aleatoria observada corresponde a la medida registrada en cada unidad experimental. En este estudio, se evaluaron las siguientes variables: grosor del tallo, altura de la planta, número de hojas sanas, número de hojas enfermas, y los porcentajes de incidencia y severidad de la enfermedad. (Cuadro 3).

**Cuadro 3.** Descripción de las variables registradas en el estudio.

<b>Variable</b>	<b>Medición de las variables.</b>
Grosor del tallo.	Datos tomados con un Vernier en mm
Altura de la planta.	Datos tomados con un centímetro lineal
Número de hojas sanas	Contabilizadas visualmente.
Número de hojas enfermas	Contabilizadas visualmente.
Porcentaje de incidencia y severidad de la enfermedad	Contabilizadas visualmente.

#### **4.5. Toma de datos**

La toma de datos se realizó cada siete días, para la colecta de los datos se utilizaron instrumentos como Vernier, centímetro lineal, escala visual para la incidencia y severidad de la enfermedad. Partiendo de que las unidades experimentales tuvieran una semana de germinación, se inició el

proceso de toma de datos. La misma metodología de recolección de datos se implementó una vez inoculado el patógeno. El registro de datos se realizó por medio de un formulario de toma de datos que se presenta en Anexo 1.

#### **4.6. Análisis de datos**

El análisis de los datos, después de su almacenamiento, incluye la aplicación de análisis descriptivos e inferenciales en programas computacionales. A continuación, se describen.

##### **4.6.1. Almacenamiento de los datos**

Los datos tomados fueron almacenados en una tabla de datos utilizando una hoja de cálculos del programa computacional Microsoft Excel. La tabla de datos estaba estructurada de manera estándar, en la cual las filas corresponderán a los registros (cada planta muestreada) y las columnas a las variables (categóricas y numéricas). Las dimensiones de la tabla de datos utilizada fueron de 1,121 filas y 9 columnas.

##### **4.6.2. Análisis descriptivos**

Para aplicar un Análisis de Varianza, los datos debían de cumplir dos supuestos, seguir una distribución normal y tener homogeneidad de varianza (Reyes, 2019). Para determinar si los datos siguen una distribución normal, se aplicó la prueba de Shapiro-Wilk y para determinar homogeneidad de varianza se aplicó la prueba de Levene. Si los datos no cumplían estos supuestos (los dos a la vez), eran transformados y a los datos transformados se les corría las pruebas Shapiro-Wilks y Levene de nuevo; si los datos transformados continuaban incumpliendo los supuestos, se utiliza una prueba homóloga no paramétrica. La prueba homóloga al Análisis de Varianza de una vía fue la de Kruskal-Wallis y la prueba homóloga para Análisis de Varianza de medidas repetidas fue la de Friedman. Asociado a la prueba paramétrica o no paramétrica se aplicó una prueba de separación de medias o mediana con las pruebas de Tukey o Dunn, respectivamente. Reyes, G. (2019). El procedimiento para la implementación de las pruebas en el programa R y sus resultados se encuentran en el anexo 4.

Los datos se describieron utilizando la media ( $\pm$  error estándar) y la mediana como medidas de tendencia central, las cuales fueron representadas con gráficos de línea, gráficos de barras y gráficos de caja. Estos últimos representaban los valores de la mediana, los máximos, mínimos, el primer y tercer cuartil y se incluían las observaciones como puntos dispersos. También se

calculó el porcentaje, a partir de las variables categóricas, principalmente para representar la severidad, el ABCPE y el ABCPICA.

### *Análisis inferenciales*

Las pruebas inferenciales utilizadas en esta investigación están en la categoría de pruebas de hipótesis, en la que nos permitirá aceptar o rechazar una afirmación por medio de datos numéricos. Para todas las pruebas de hipótesis en este trabajo se utilizó un nivel de significancia ( $\alpha$ ) de 0.05.

### *Análisis de varianza*

En principio se aplicó la prueba de Shapiro-Wilks para verificar el supuesto de normalidad y la prueba Levene para verificar el supuesto de homogeneidad de varianza, previo a la implementación de un Análisis de Varianza, tomando como referencia a Di Rienzo, et al. (2008) y Santamaría, Inzunza y Sánchez (2009). En el caso específico de la información de esta investigación, no se cumplieron los supuestos, por lo que se procedió a aplicar una prueba alternativa no paramétrica, en este caso la de Kruskal-Wallis. Con esta prueba se exploraron las diferencias entre las medianas de los tratamientos (factor) en función de las variables numéricas.

La hipótesis de la prueba fue la siguiente:

$$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 \dots \mu_p$$

$$H_1 = \text{Al menos una mediana no es igual.}$$

Donde,

$\mu$  = Mediana de los grupos (niveles del factor).

El modelo lineal de la prueba de Kruskal-Wallis es:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

Donde,

$Y_{ij}$  = es la j-ésima observación del i-ésimo tratamiento.

$\mu$  = es el valor de la mediana.

$\tau_i$  = es el efecto del i-ésimo tratamiento.

$\varepsilon_{ij}$  = es el error o residuo.

La comparación múltiple entre las medias de los niveles del factor se realizó utilizando la prueba *aposteriori* de Dunn. Para medidas repetidas se aplicó la opción no paramétrica llamada Prueba de Friedman.

### ***Prueba Chi-Cuadrado***

Las variables numéricas continuas provenientes de conteos (frecuencias de observación) fueron analizadas mediante tablas de contingencias, análisis cuyo procedimiento principal es la prueba Chi-Cuadrado (Dagnino, 2014). Para este análisis se definió la variable categórica dependiente e independiente, siendo la variable dependiente la respuesta y las variables independientes las condiciones que ejercen efecto sobre la variable dependiente (por ejemplo, los tipos de tratamientos).

La ecuación de Chi-cuadrado es la siguiente:

$$X^2 = \sum \frac{(O - E)^2}{E}$$

Donde,

$X^2$  = Chi-cuadrado.

$O$  = eventos observados.

$E$  = eventos esperados.

### **4.6.3. Incidencia y severidad**

La incidencia consiste en el porcentaje de hojas con síntomas y se calculó con la relación entre las hojas con síntomas y el total de hojas muestreadas, a como se presenta en la siguiente ecuación (Castillo-Arévalo y Jiménez-Martínez, 2020):

$$\text{Incidencia (\%)} = \frac{\text{Número de hojas muestreadas con síntomas}}{\text{Total de hojas muestreadas}} \times 100$$

La severidad representa el nivel de daño foliar en las plantas muestreadas y se calculó con la siguiente ecuación (Castillo-Arévalo y Jiménez-Martínez, 2020):

$$Severidad (\%) = \frac{\sum i}{N (Vmax)} \times 100$$

Donde,

$i$ = sumatoria de valores observados.

$N$ = número de plantas muestreadas.

$Vmax$ = valor máximo de la escala.

En esta investigación la escala estuvo dada de la siguiente forma (Dixon y Estrada, 2022):

**Cuadro 4.** Escalas de incidencia y severidad, y su descripción. (Dixon y Estrada, 2022)

<b>Clasificación</b>	<b>Categoría</b>	<b>Descripción</b>
1, 2, 3	Resistente	Síntomas no visibles o muy leves.
4, 5, 6	Intermedio	Síntomas visibles y conspicuos que solo ocasionan un daño económico.
7, 8, 9	Susceptible	Síntomas severos a muy severos que causan pérdidas considerables en rendimiento o la muerte.

Para la escala visual de la incidencia y severidad se utilizó la escala diagramática de la hoja de soja, debido a que ambas plantas son leguminosas, tienen hojas compuestas trifoliadas, tienen un tamaño similar y la disposición de las hojas en ambas plantas son alternas en los tallos.

#### **4.6.4. Programas computacionales**

Para el almacenamiento de los datos se utilizó las hojas de cálculo del programa computacional Microsoft Excel. Los análisis descriptivos e inferenciales se realizaron con el programa computacional R (R Core Team, 2023) y su interfaz RS - studio (Posit Team, 2023), las visualizaciones se realizaron con el paquete ggplot2 (Wickham, 2016).

## V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

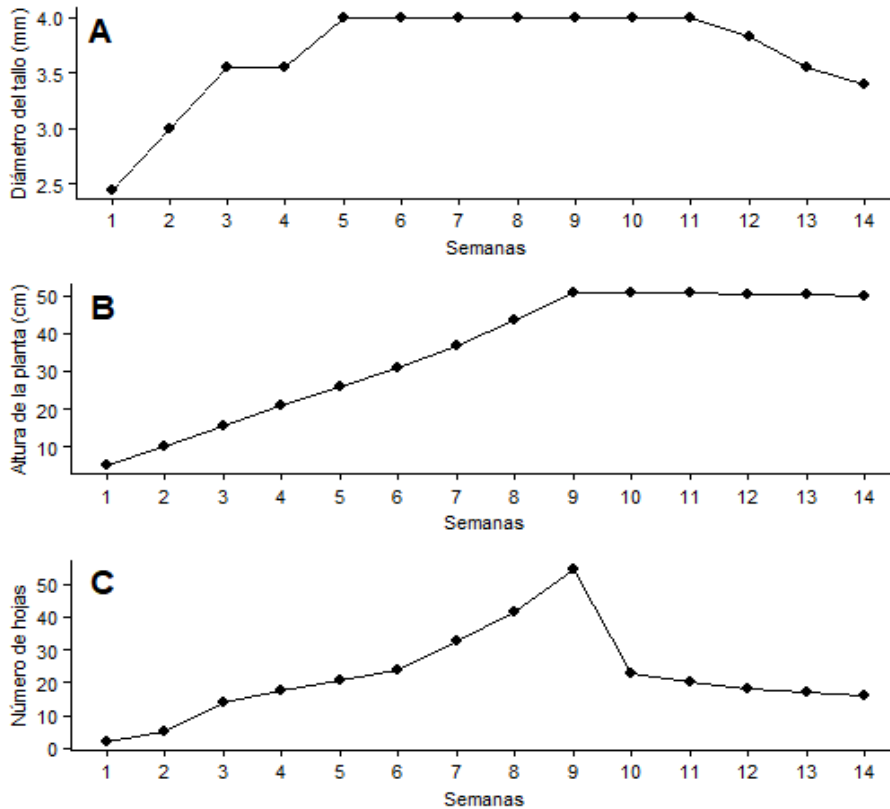
### 5.1. Variables de crecimiento generalizadas

De manera general, en la última medición de las plantas de *Phaseolus vulgaris* se obtuvo un promedio ( $\pm$  error estándar) del diámetro de  $3.4 \pm 0.1$  mm, con un valor mínimo de 2 mm y un valor máximo de 4 mm. En términos de la altura se registró un promedio de  $50.0 \pm 0.4$  cm con valor mínimo de 39 cm y máximo de 58 cm. El número de hojas promedio fue de  $16.2 \pm 1.2$  hojas, con un mínimo de cero y un máximo de 35 hojas (Cuadro 5).

**Cuadro 5.** Descripción general de las variables diámetro, altura y número de hojas de *Phaseolus vulgaris* en la última medición.

<b>Variables</b>	<b>Promedio</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>
Diámetro	$3.4 \pm 0.1$	2	4
Altura	$50.0 \pm 0.4$	39	58
Número de hojas	$16.2 \pm 1.2$	0	35

A lo largo de catorce semanas, se registraron datos sobre el crecimiento de *P. vulgaris*, evaluando el diámetro del tallo (mm), la altura de la planta (cm) y el número de hojas. Los resultados indican una tendencia de crecimiento progresivo en todas las variables medidas reflejando un desarrollo uniforme de las plantas. En la semana nueve el crecimiento progresivo de las plantas se ve afectado por la afectación del patógeno lo que indica que puede influir en las variables de crecimiento mencionadas anteriormente (Figura 5).



**Figura 5.** Representa las variables: A. Diámetro (mm), B. Altura (cm) y C. Número de hojas de las plantas de *Phaseolus vulgaris* de forma generalizada en el tiempo dividido en semanas sin representación gráfica de los tratamientos.

El diámetro del tallo muestra un crecimiento constante, con un valor mínimo de 2.5 mm y un valor máximo de 4 mm. En la semana 5, las plantas alcanzaron el valor máximo de 4 mm, manteniéndose constante hasta la semana 12, cuando estos valores decrecieron debido a la desecación gradual de las plantas por la reducción de su capacidad para producir energía a partir de la luz solar, debilitando su sistema vascular.

Los valores de la altura de la planta muestran un valor máximo de crecimiento de 50 cm. En la semana 9, las plantas dejan de crecer y mantienen el valor máximo constante hasta la semana 14. El número de hojas de las plantas presenta un crecimiento sistemático hasta la semana 9, disminuyendo abruptamente en la semana 10, debido a la inoculación del patógeno, que provoca una pérdida foliar notable al interrumpir la función normal de las hojas. Con la aplicación de los tratamientos, se logra estabilizar la pérdida foliar, reduciendo el impacto del patógeno.

## **5.2 Relación de las variables de crecimiento con las variables epidemiológicas**

Las variables de crecimiento de las plantas (altura, diámetro del tallo y número de hojas) están estrechamente relacionadas con las variables epidemiológicas (incidencia y severidad del patógeno) debido a que:

La altura de la planta puede verse afectada por la presencia de patógenos. Las plantas infectadas suelen mostrar un crecimiento reducido debido al estrés causado por la enfermedad. Además, la altura puede influir en la dispersión de esporas y otros agentes patógenos, afectando la incidencia de la enfermedad.

El diámetro del tallo también puede ser afectado por la infección de patógenos. Un tallo más delgado puede ser un indicador de una planta debilitada por la enfermedad. Además, un tallo más grueso puede ofrecer una mayor resistencia a la penetración de patógenos.

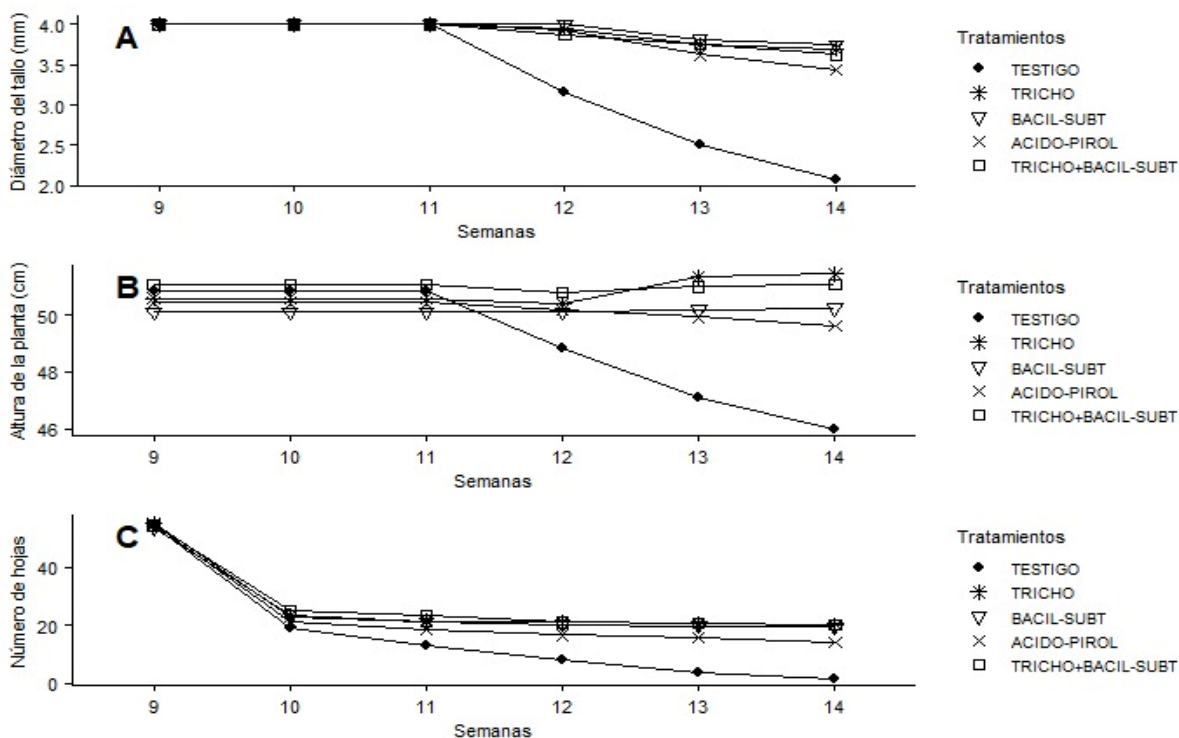
El número de hojas puede disminuir en plantas infectadas debido a la caída prematura de hojas o a la inhibición del crecimiento de nuevas hojas. Las hojas son esenciales para la fotosíntesis, y una reducción en su número puede afectar negativamente el crecimiento general de la planta.

La incidencia se refiere al número de plantas afectadas por el patógeno, mientras que la severidad se refiere al grado de daño causado. Ambas variables epidemiológicas pueden influir en las variables de crecimiento mencionadas anteriormente. Por ejemplo, una alta incidencia de patógenos puede llevar a una mayor competencia por recursos y, por lo tanto, a un crecimiento reducido.

Las variables de crecimiento y las variables epidemiológicas están interrelacionadas y pueden influirse mutuamente. El estudio de estas relaciones es crucial para desarrollar estrategias efectivas de manejo de enfermedades en plantas.

## **5.3. Efecto de los tratamientos en las variables de crecimiento**

La línea evidencia el crecimiento de las plantas de *P. vulgaris* en el tiempo para cada uno de los tratamientos. Los datos se recolectaron cada siete días, mostrando una tendencia de crecimiento constante hasta el momento de la inoculación del patógeno (*Cercospora* spp.) en la semana 9. Se muestra el comportamiento de las plantas en las variables de crecimiento luego de la aplicación de los diferentes tratamientos (Figura 6).



**Figura 6.** Representa las variables: A. Diámetro (mm), B. Altura (cm) y C. Número de hojas de las plantas de *Phaseolus vulgaris* en el tiempo dividido en semanas para cada tratamiento; para el testigo (TESTIGO), el tratamiento con *Trichoderma* spp. (TRICHO), tratamiento con *Bacillus subtilis* (BACIL-SUBT), tratamiento con Ácido Piroleñoso (ACIDO-PIROL) y tratamiento con la combinación de *Trichoderma* spp. + *Bacillus subtilis* (TRICHO+BACIL-SUBT). Partiendo de la semana nueve cuando se inocula el patógeno en las unidades experimentales.

El diámetro del tallo crece hasta 4 mm en la semana 12 y luego disminuye. El testigo muestra los valores más bajos debido a la ausencia de manejo del patógeno. El tratamiento más efectivo es *Bacillus subtilis*, seguido de *Trichoderma* spp., *Trichoderma* spp. + *Bacillus subtilis* y el menos efectivo es Ácido Piroleñoso.

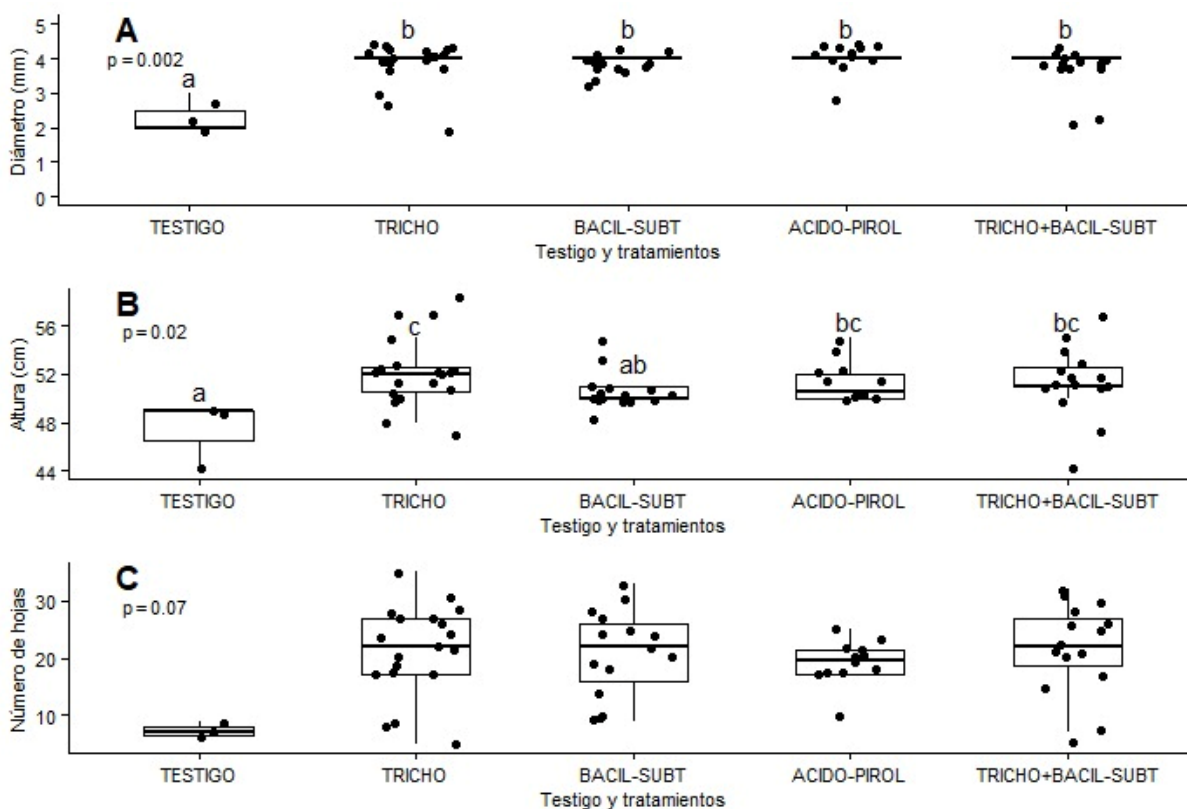
La altura de la planta se mantiene en 50 cm de la semana 9 a la 11. En la semana 12, el testigo presenta una caída abrupta debido a la desecación de las unidades experimentales. El tratamiento más efectivo es *Trichoderma* spp., seguido de *Trichoderma* spp. + *Bacillus subtilis*, *Bacillus subtilis* y el menos efectivo es Ácido Piroleñoso.

El número de hojas se mantiene en 40 de la semana 9 a la 10, luego disminuye drásticamente. El testigo es el más afectado, terminando en defoliación total. El tratamiento más efectivo es *Trichoderma* spp. + *Bacillus subtilis*, seguido de *Trichoderma* spp., *Bacillus subtilis* y el menos efectivo es Ácido Piroleñoso.

#### 5.4. Comparación entre tratamientos para las variables de crecimiento

Se muestra el crecimiento de plantas de *P. vulgaris* en términos de diámetro (7A), altura (7B) y número de hojas (7C) comparando diferentes tratamientos. El eje X de los tres paneles incluye el testigo y los tratamientos: *Trichoderma* spp., *Bacillus subtilis*, Ácido Piroleñoso y *Trichoderma* spp. + *Bacillus subtilis*. El eje Y representa las variables de crecimiento seleccionadas (Figura 7).

Los valores se muestran en gráficos de caja, con la mediana representada por una línea horizontal y los puntos individuales fuera de las cajas. Se incluye el valor de probabilidad ( $p$ ) de la prueba de Kruskal-Wallis y los resultados de la prueba de Dunn para comparación múltiple de datos no paramétricos. Letras diferentes indican diferencias significativas, comenzando con "a" para el nivel con menor mediana. Los procedimientos de los análisis estadísticos en el programa computacional R se encuentran en el anexo 4.



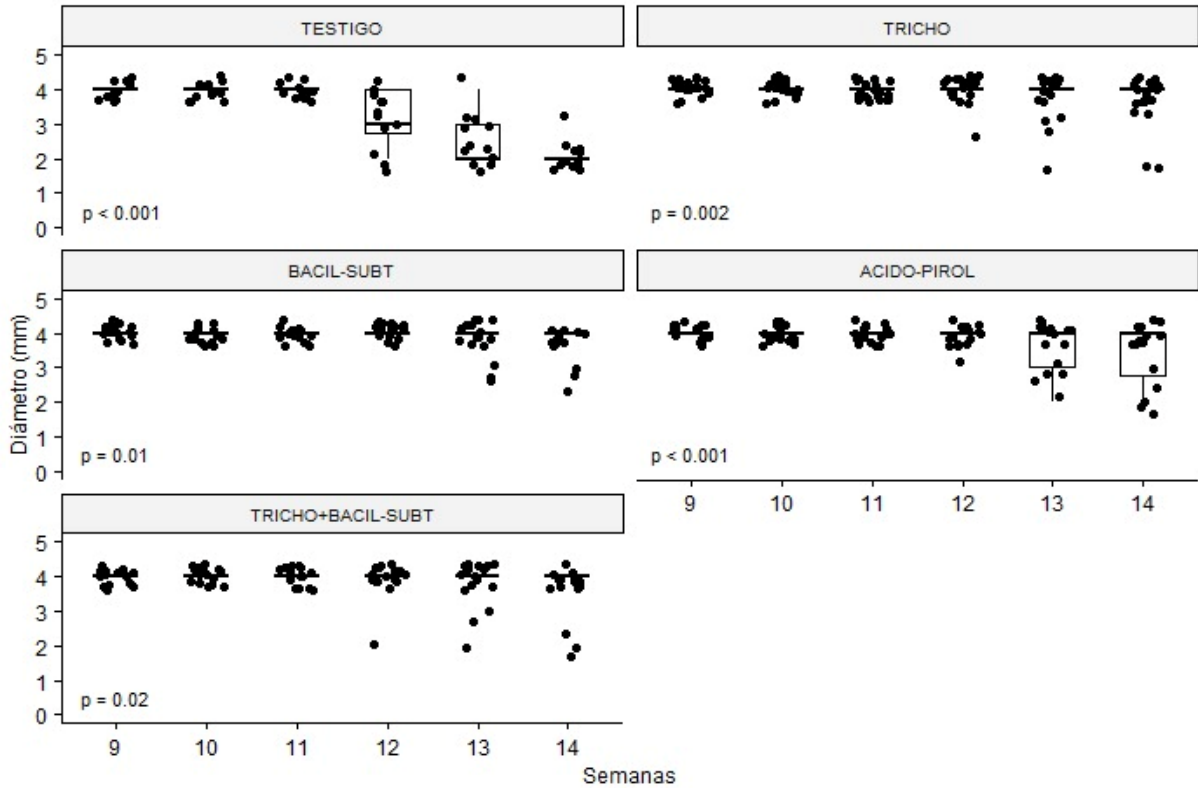
**Figura 7.** Representa las variables: A. Diámetro (mm), B. Altura (cm) y C. Número de hojas de las plantas de *Phaseolus vulgaris* medidas para el testigo (TESTIGO), el tratamiento con *Trichoderma* spp. (TRICHO), tratamiento con *Bacillus subtilis* (BACIL-SUBT), tratamiento

con Ácido Piroleñoso (ACIDO-PIROL) y tratamiento con la combinación de *Trichoderma* spp. + *Bacillus subtilis* (TRICHO+BACIL-SUBT).

Para las tres variables es notorio un valor de mediana bajo para el testigo en comparación con los tratamientos, debido a que las unidades experimentales entraron en etapa de senescencia y paulatinamente se fueron secando. Además, es notable que el tratamiento 1 presenta los mayores valores de la mediana en las tres variables, aunque no haya sido significativo para el número de hojas. En el gráfico 7A, se observa un decrecimiento del diámetro a lo largo del tiempo, siendo más abrupto en el testigo en comparación con los tratamientos, lo cual es significativo ( $p = 0.002$ ).

En el gráfico 7B, se evidencia una diferencia en la variable altura a lo largo del tiempo, con el testigo presentando el valor mínimo de mediana. El tratamiento con *Bacillus subtilis* muestra una mediana similar al testigo, mientras que los tratamientos con Ácido Piroleñoso y la combinación de *Trichoderma* spp. + *Bacillus subtilis* tienen medianas similares entre sí, pero con pequeñas similitudes con el tratamiento *Trichoderma* spp. El tratamiento *Trichoderma* spp. presenta el valor máximo para la variable de crecimiento (55 cm), siendo significativo ( $p = 0.02$ ).

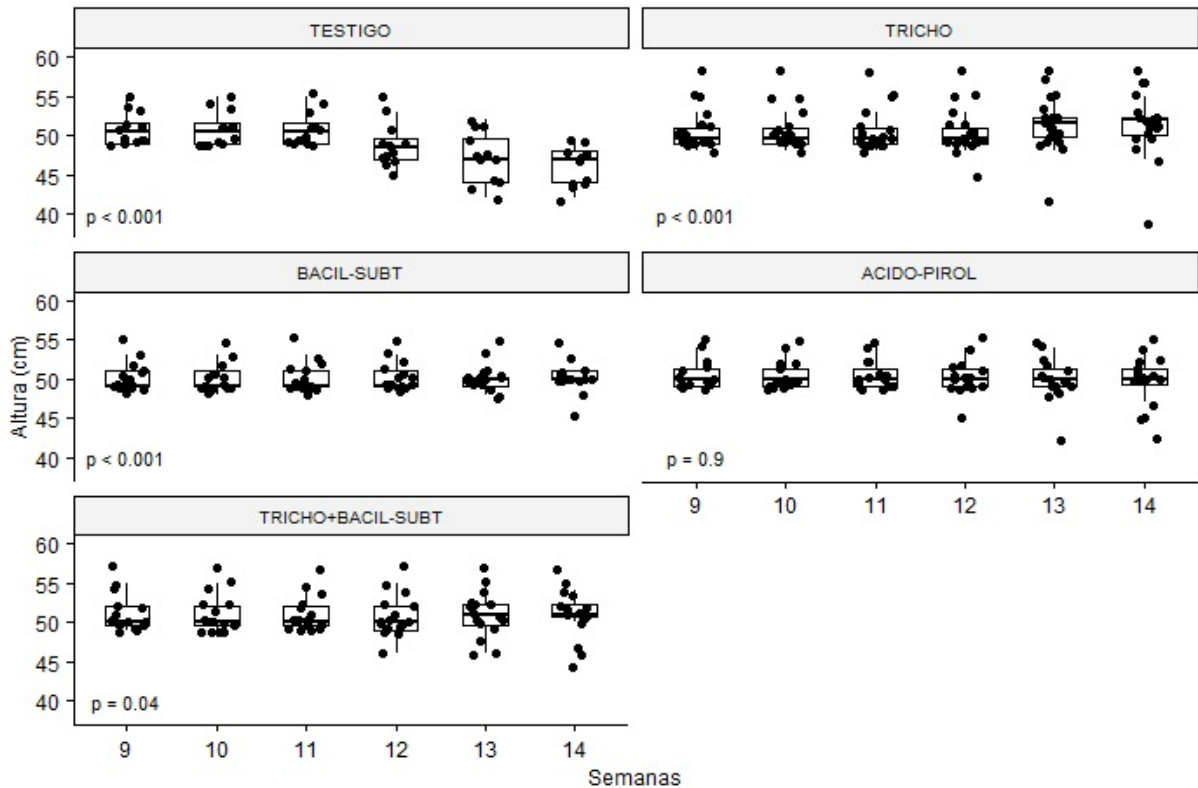
En el gráfico 7C, se observa una gran diferencia en el número de hojas entre el testigo y los tratamientos (TRICHO – TRICHO+BACIL-SUBT) debido a la severidad del patógeno. Los tratamientos tienen medianas similares entre sí, lo cual se confirma con la prueba de Kruskal Wallis ( $p = 0.07$ ). A pesar de esto, el tratamiento *Trichoderma* spp. obtiene el valor máximo de mediana, seguido de cerca por el tratamiento *Bacillus subtilis*.



**Figura 8.** Representa el desarrollo de las plantas de *Phaseolus vulgaris* en cuanto al diámetro (cm) a lo largo de las semanas (9 – 14 semanas) en las que se aplicó los tratamientos.

La reducción del diámetro del tallo a lo largo del tiempo se puede deber a la desecación progresiva de las unidades experimentales, lo que provocó una pérdida periódica de grosor en el tallo. En el caso del testigo, la reducción más abrupta del diámetro en comparación con los tratamientos se debe a la falta de protección contra el patógeno, lo que demuestra la severidad de la enfermedad en ausencia de un manejo adecuado.

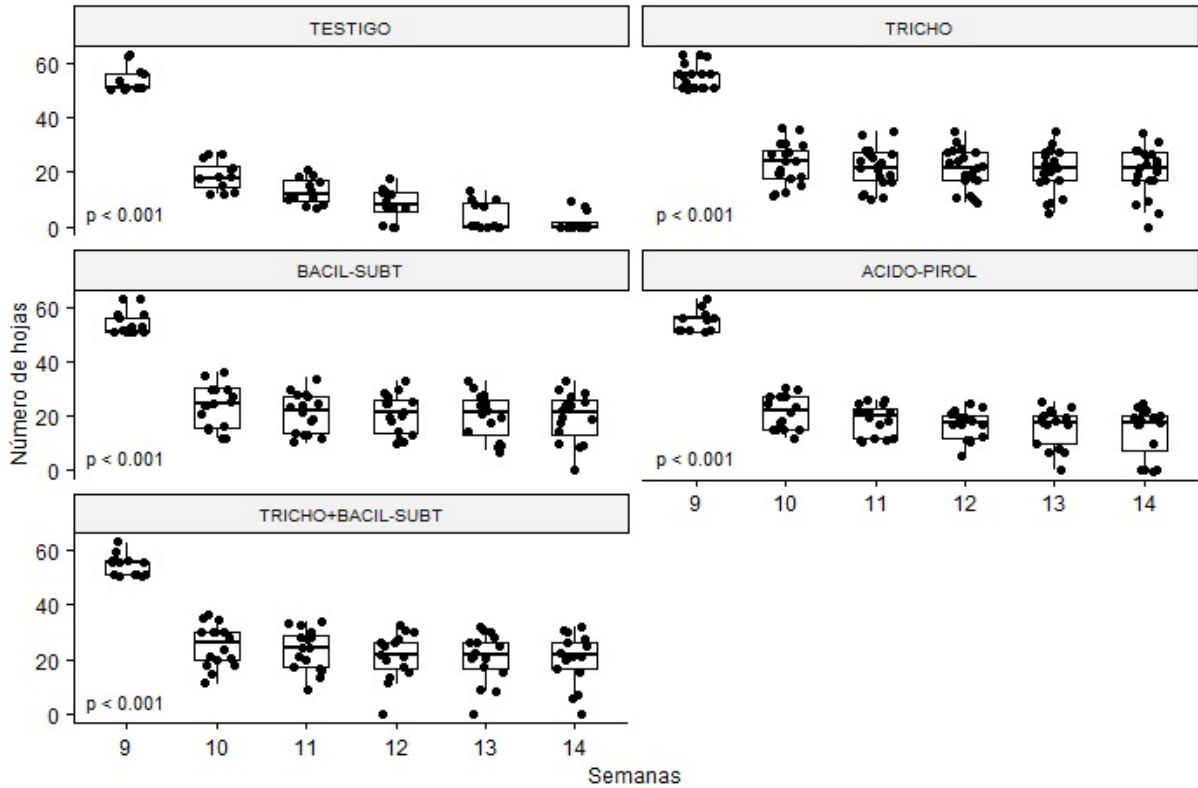
Esto resalta la importancia de los tratamientos en el manejo del patógeno, ya que todos ellos mostraron significancia según la prueba de Friedman. El tratamiento con mayor valor de mediana fue *Bacillus subtilis* ( $p = 0.01$ ), seguido de *Trichoderma* spp. ( $p = 0.002$ ), la combinación de *Trichoderma* spp. + *Bacillus subtilis* ( $p = 0.02$ ), y finalmente Ácido Piroleñoso ( $p = 0.001$ ). Estos resultados demuestran la efectividad de los tratamientos en la mitigación de la reducción del diámetro del tallo causada por el patógeno.



**Figura 9.** Representa el desarrollo de las plantas de *Phaseolus vulgaris* en cuanto a la altura (cm) a lo largo de las semanas (9 – 14 semanas) en las que se aplicó los tratamientos.

La reducción de la altura a lo largo del tiempo se atribuye a la senescencia de las unidades experimentales, lo que provocó un decrecimiento progresivo en su tamaño. En el caso del testigo, la disminución más abrupta de la altura en comparación con los tratamientos se puede deber a la falta de un agente orgánico para el manejo del patógeno, lo que pone de manifiesto la severidad de la enfermedad sin un manejo adecuado.

Los resultados muestran que los tratamientos tuvieron una significancia notable en el manejo del patógeno, según la prueba de Friedman. El tratamiento con el mayor valor de mediana fue *Trichoderma* spp. ( $p = 0.001$ ), seguido de la combinación de *Trichoderma* spp. + *Bacillus subtilis* ( $p = 0.04$ ), *Bacillus subtilis* ( $p = 0.001$ ), y por último Ácido Piroleñoso ( $p = 0.9$ ). Estos datos demuestran la efectividad de los tratamientos en la mitigación de la reducción de la altura causada por el patógeno.



**Figura 10.** Representa el desarrollo de las plantas de *Phaseolus vulgaris* en cuanto al número de hojas a lo largo de las semanas (9 – 14 semanas) en las que se aplicó los tratamientos.

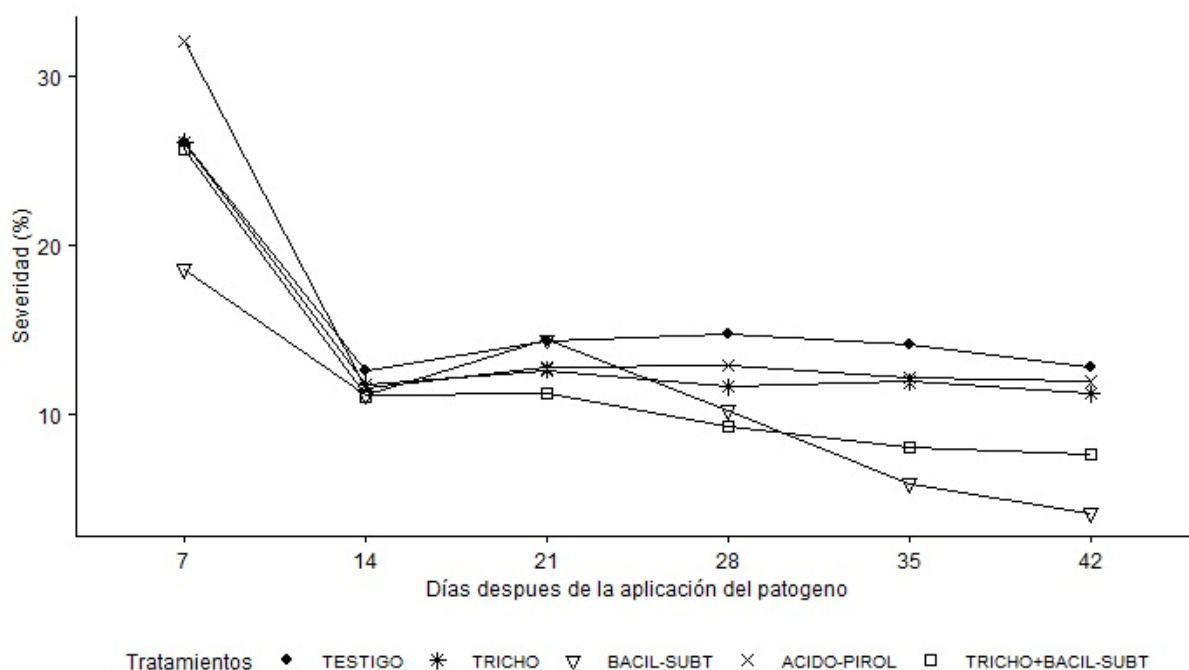
La reducción del número de hojas a lo largo del tiempo se debe a la senescencia de las unidades experimentales, lo que provocó una defoliación progresiva. En el caso del testigo, la disminución más abrupta del número de hojas en comparación con los tratamientos se debe a la ausencia de agentes orgánicos para el manejo del patógeno, lo que resultó en la pérdida foliar y la eventual muerte de las unidades experimentales, demostrando así la severidad de la enfermedad.

Entre las semanas nueve y diez, se inoculó el patógeno y se observó un alto porcentaje de afectación, lo que llevó a una abrupta defoliación en todas las unidades experimentales. Los tratamientos mostraron una significancia notable en el manejo del patógeno, según la prueba de Friedman. El tratamiento con el mayor valor de mediana fue *Trichoderma* spp. ( $p = 0.001$ ), seguido de la combinación de *Trichoderma* spp. + *Bacillus subtilis* ( $p = 0.001$ ), *Bacillus subtilis* ( $p = 0.001$ ), y por último Ácido Piroleñoso ( $p = 0.001$ ).

Estos resultados evidencian la efectividad de los tratamientos en la mitigación de la reducción del número de hojas causada por el patógeno, destacando la importancia de un manejo adecuado para controlar la severidad de la enfermedad y minimizar las pérdidas foliares.

### 5.5. Área bajo la curva del progreso de la enfermedad incidencia y severidad

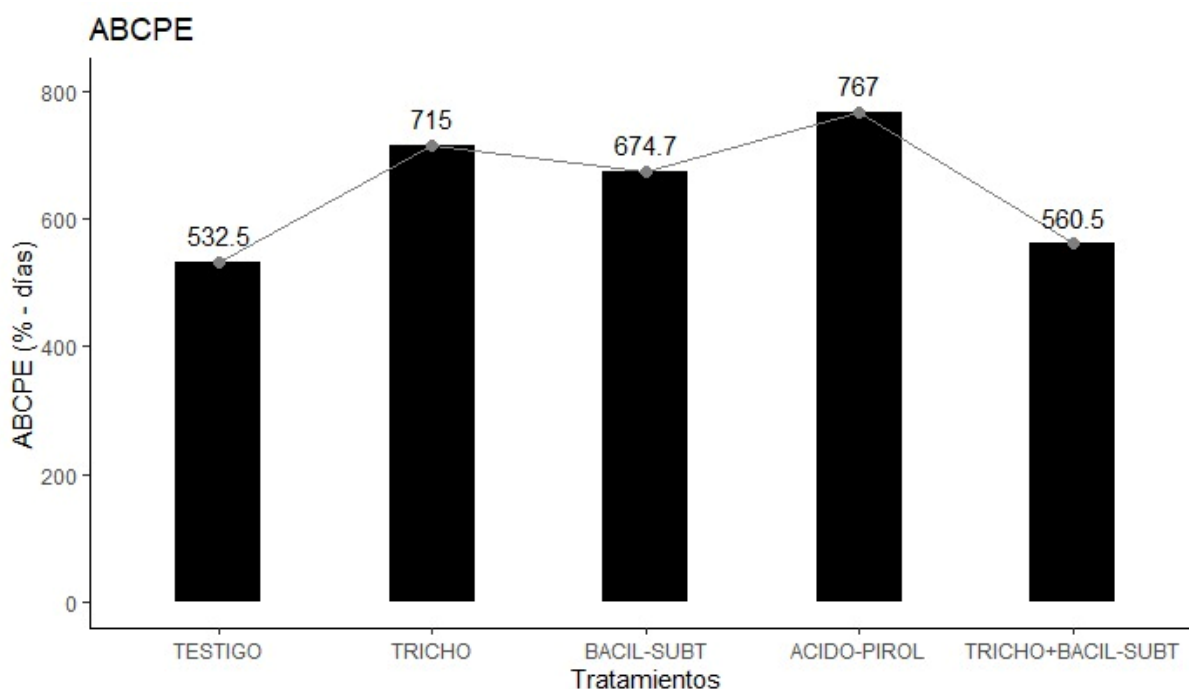
Se muestra el área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE). La línea evidencia el porcentaje de severidad de la enfermedad en el tiempo para cada uno de los tratamientos. Los datos se recolectaron cada siete días, mostrando el comportamiento de la severidad del patógeno (*Cercospora* spp.) bajo la influencia de los tratamientos y detectando diferencias significativas en la severidad del patógeno entre tratamientos.



**Figura 11.** Representa el área bajo la curva del progreso de la enfermedad donde en el eje x se muestran los días después de la aplicación del patógeno y en el eje y el porcentaje de severidad para cada uno de los tratamientos evaluados.

La severidad de *Cercospora* spp. fue más alta en el tratamiento con *Trichoderma* spp. (32.08%), seguido por *Bacillus subtilis* y Ácido Piroleñoso (ambos con 26.11%), y la combinación *Trichoderma* spp. + *Bacillus subtilis* (25.69%). El porcentaje del testigo fue menor (18.61%) debido a la senescencia y defoliación severa de las plantas.

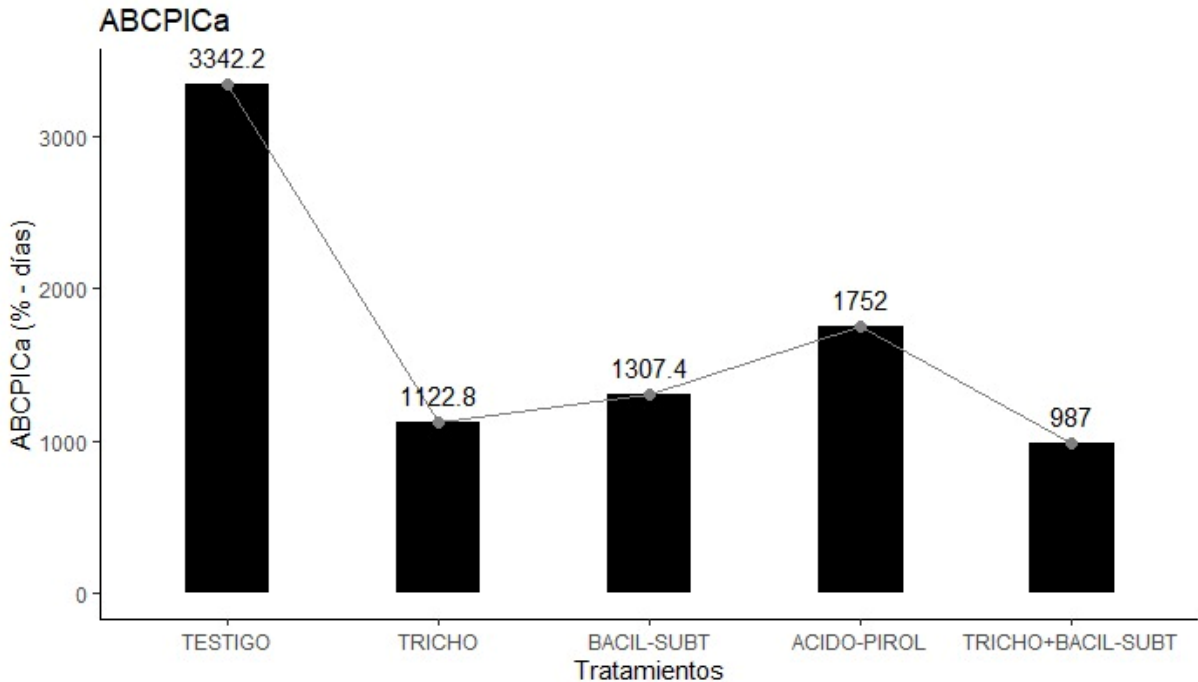
Para el día catorce, la severidad disminuyó significativamente en todos los tratamientos, con la combinación *Trichoderma* spp. + *Bacillus subtilis* mostrando la menor severidad final (7.64%), seguido por *Bacillus subtilis* (11.25%), *Trichoderma* spp. (11.94%) y Ácido Piroleñoso (12.77%).



**Figura 12.** Representa el Área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE) donde en el eje x se muestran los días después de la aplicación del patógeno y en el eje y el porcentaje de severidad para cada uno de los tratamientos evaluados.

Las plantas testigo mostraron un menor porcentaje de progreso de la enfermedad debido a que estaban expuestas al ataque biológico del patógeno sin tratamientos, lo que provocó que activaran mecanismos de defensa, como la producción de etileno para la abscisión de hojas, y utilizaran la energía en regular el crecimiento y desarrollo. Esta defoliación severa impidió recolectar datos precisos del avance de la enfermedad.

En cuanto a los tratamientos, el más efectivo fue la mezcla de *Trichoderma* spp. + *Bacillus subtilis* con una efectividad del 560.5%, seguido por *Bacillus subtilis* (674.7%), *Trichoderma* spp. (715%) y Ácido Piroleñoso (767%).



**Figura 13.** Representa el Área bajo la curva del progreso de la incidencia (ABCPICa) donde en el eje x se muestran los días después de la aplicación del patógeno y en el eje y el porcentaje de severidad para cada uno de los tratamientos evaluados.

El testigo presentó la mayor incidencia de la enfermedad con un 3342.15% debido a la falta de protección. La efectividad de los tratamientos para reducir la incidencia de la enfermedad fue la siguiente: Tratamiento *Trichoderma* spp. + *Bacillus subtilis*: 987.04%, tratamiento *Trichoderma* spp.: 1122.77%, tratamiento *Bacillus subtilis*: 1307.39%, tratamiento Ácido Piroleñoso: 1752.00%.

## VI. CONCLUSIONES

El manejo de *Cercospora* spp. en el cultivo de frijol en invernadero resultó ser efectivo utilizando productos orgánicos seleccionados. Los tratamientos demostraron una reducción significativa en la incidencia y severidad de la enfermedad, manejando el avance del patógeno; siendo el tratamiento *Trichoderma* spp. + *Bacillus subtilis* el que presentó el mejor manejo en cuanto a la incidencia y severidad del patógeno *Cercospora* spp.

Comparando los diferentes tratamientos se observó que por separado los tratamientos *Trichoderma* spp. y *Bacillus subtilis* obtuvieron significancias aceptables en cuanto al manejo del patógeno, pero en combinación actuaron de forma más efectiva manejando el progreso de la enfermedad.

Los tratamientos orgánicos mostraron una eficacia notable en el manejo de *Cercospora* spp., reduciendo la severidad de la enfermedad de un 32.08% a un 7.64%, destacando su viabilidad como alternativas sostenibles a los métodos tradicionales.

La infección por el patógeno resultó en una reducción significativa en las variables de crecimiento de las plantas de frijol, indicando que el desarrollo de las plantas se ve adversamente afectado por la presencia de la enfermedad.

## VII. RECOMENDACIONES

Para futuras réplicas de este experimento incluir más unidades experimentales con la finalidad de evaluar distintas formas en que los agentes biológicos pueden ser aplicados, por ejemplo (por sistema de riego, vía drench o por inoculación sistemática).

Es recomendable replicar este experimento en áreas de cultivo en parcelas específicas que tengan las condiciones climáticas adecuadas para el cultivo, con la finalidad de incluir datos floración y de producción. De tal forma que se pueda evaluar el beneficio de los productos orgánicos para mitigar el patógeno y por lo tanto conocer su impacto en la producción.

Si se desea replicar el experimento en campo se recomienda tener la precaución de dejar el terreno en reposo debido a que el patógeno puede vivir en el área utilizada por tiempo prolongado de hasta más de 2 años.

Recomendar a los agricultores sobre la implementación de estrategias orgánicas para el manejo de *Cercospora* spp. en diferentes tipos de cultivos, evaluando la sostenibilidad en comparación con los tratamientos químicos, considerando factores como el costo, la seguridad ambiental y los beneficios a largo plazo.

## VIII. LITERATURA CITADA

- AcademiaLab. (2024). Postulados de Koch. <https://academia-lab.com/enciclopedia/postulados-de-koch/>
- Alfiky A, and Weisskopf L. 2021. Deciphering *Trichoderma*-plant-pathogen interactions for better development of biocontrol applications. Journal of Fungi. <https://doi.org/10.3390/jof7010061>.
- Al-Mekhlafi NA, Abdullah QY, Al-Helali MF and Alghalibi SM. 2019. Antagonistic potential of native *Trichoderma* species against tomato fungal pathogens in Yemen. International Journal of Molecular Microbiology. <https://psmpublishers.org/issues/antagonistic-potential-of-native-trichoderma-species-against-tomato-fungal-pathogens-in-yemen/>.
- Álvarez F. y Hirai Y., 2009. InfoAgro Costa Rica. Extraído de: [http://www.infoagro.go.cr/InfoRegiones/Publicaciones/produccion\\_uso\\_acido\\_pirolenoso.pdf](http://www.infoagro.go.cr/InfoRegiones/Publicaciones/produccion_uso_acido_pirolenoso.pdf)
- Bakhshi, M., Arzanlou, M., Babai-Ahari, A., Groenewald, J.Z., Braun, U. & Crous, P.W. (2015). Application of the consolidated species concept to *Cercospora* spp. from Iran. *Persoonia - Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, 34(1):65-86.
- Brito RAS, Cavalcante GP, Stock VM, Colman AA, dos Santos DP, Sermarini RA and Maffia LA. 2020. *Trichoderma* species show biocontrol potential against *Ceratocystis* wilt in mango plants. European Journal of Plant Pathology. <https://doi.org/10.1007/s10658-020-02095-6>.
- Burbano-Salas, D. (2018). Uso del Kikuyo (*Pennisetum clandestinum* L), residuo de la poda de áreas verdes para la obtención de ácido piroleñoso con fines agropecuarios. Revista del Instituto de Investigación de la Facultad de Ingeniería Geológica, Minera, Metalúrgica y Geográfica, 21(41), 3–8.
- Byrd, A. L., & Segre, J. A. (2016). Adapting Koch's postulates. Science.
- Carrillo P, Woo SL, Comite E, El-Nakhel C, Rouphael Y, Fusco GM, Borzacchiello A, Lanzuise S and Vinale F. 2020. Application of *Trichoderma harzianum*, 6-pentyl- $\alpha$ -pyrone and

- plant biopolymer formulations modulate plant metabolism and fruit quality of plum tomatoes. *Plants*. <https://doi.org/10.3390/plants9060771>.
- Castillo-Arévalo, T. y Jiménez-Martínez, E. (2020). Incidencia y severidad de enfermedades asociadas al cultivo de plátano (*Musa paradisiaca* L.) en Rivas, Nicaragua. *La Calera*, 20(35): 1-16.
- Cohen, J. (2017). The Evolution of Koch's Postulates. In *Infectious Diseases*. Elsevier.
- Dagnino, J. (2014). Análisis de proporciones. *Rev. Chil Anest*, 43: 134-138.  
<https://revistachilenadeanestesia.cl/PII/revchilanestv43n02.12.pdf>
- Di Rienzo, J., Casanoves, F., Gonzalez, L., Tablada, E., Díaz, M., Robledo, C. y Balzarini, M. (2008). *Estadística para las Ciencias Agropecuarias*. Séptima Edición. Edición electrónica.  
[https://www.researchgate.net/publication/286931297\\_Estadistica\\_para\\_las\\_Ciencias\\_Agropecuarias\\_Sexta\\_Edicion](https://www.researchgate.net/publication/286931297_Estadistica_para_las_Ciencias_Agropecuarias_Sexta_Edicion)
- Dixon, B. y Estrada, M. (2022). Evaluación del rendimiento y susceptibilidad a mancha angular [*Pseudocercospora griseola* (Sacc.) Crous & Braun] de seis genotipos de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), 2021. Tesis de grado. Universidad Nacional Agraria, Managua, Nicaragua.
- Ebert MK, Rangel LI, Spanner RE, Taliadoros D, Wang X, Friesen TL, de Jonge R, Neubauer JD, Secor GA, Thomma BPHJ. 2020. Identification and characterization of *Cercospora beticola* necrosis inducing effector CbNip1. *Molecular Plant Pathology*. Disponible en: 10.1111/mpp.13026.
- EDU.LAT. (2022). *Bacillus subtilis*: Qué es, taxonomía, morfología, características.  
<https://definicion.edu.lat/>
- Escoto, (2004). El cultivo de frijol. Secretaría de agricultura y ganadería SAG. Dirección de ciencia y tecnología agropecuaria. El cultivo del frijol. Microsoft Word - RE0003\_07.doc (una.edu.ni)
- Fregoso-Madueño, J. N., Goche-Télles, J. R., Rutiaga-Quiñones, J. G., González- Laredo, R. F., Bocanegra-Salazar, M., & Chávez-Simental, J. A. (2017). Alternative uses of sawmill

- industry waste. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 23(02), 243–260. <https://doi.org/10.5154/r.rchscfa.2016.06.040>
- Gamarra MAF, Ojeda MM and Maldonado GAE. 2017. Identificación molecular y tasa de crecimiento de cepas nativas de *Trichoderma* spp. aisladas de la Región Norte del Paraguay. <https://doi.org/10.18004/investig.agrar.2017.diciembre.127-132>.
- Goodwin SB, Dunkle LD, Zismann VL. 2001. Phylogenetic Analysis of *Cercospora* and *Mycosphaerella* Based on the Internal Transcribed Spacer Region of Ribosomal DNA. *Ecology and Population Biology*. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18942994/>.
- Groenewald M, Groenewald JZ, Crous PW. 2005. Distinct species exist within the *Cercospora apii* Morphotype. *Phytopathology*. Disponible en: 951. 10.1094 / PHYTO-95-0951.
- Gutiérrez (2012). Compendio de guías. Universidad Nacional Agraria [UNA].
- Gutiérrez Gaitán, 2012. MÓDULO PRÁCTICO Técnicas de laboratorio. Compendio de Guías. *RiUNA*. Pp 30-31. URL: <NH20G984.pdf> ([una.edu.ni](http://una.edu.ni))
- Harman G, Obregon M, Samuels G and Lorito M. 2010. Changing models for commercialization and implementation of biocontrol in the developed and developing world. *Plant Disease*. <https://doi.org/10.1094/PDIS-94-8-0928>.
- Lacey, L. And W.M.Brooks. 1997. Initial handling and diagnosis of diseased insects. En *Manual of techniques in insect pathology*. Biological techniques series. Lacey, L (ed.) California (USA). Academic Press. Pp 1 - 12.
- Lifeder. (2022). *Bacillus subtilis*. <https://www.lifeder.com/bacillus-subtilis/>
- Limgroup. 2015. Limnews marzo, *Cercospora asparagi*. Disponible en: [archive.befve.com/userfiles/2015%2003%20Limnews%20mrt%20ES.pdf](http://archive.befve.com/userfiles/2015%2003%20Limnews%20mrt%20ES.pdf)
- Madigan M; Martinko, J. 2005. *Brock Biología de los microorganismos*, 11ª ed., Prentice Hall.
- Mario Catacora-Pinazo<sup>1</sup>, Iván Quispe-Apaza<sup>1</sup>, Edgar Julian-Laime<sup>2</sup>, Rosario Zanabria-Mallqui<sup>3</sup>, María Roque-Cruz<sup>1</sup> y Percy Zevallos-Pollito<sup>4</sup> 2019. CARACTERIZACIÓN DE LOS COMPONENTES QUÍMICOS DEL ÁCIDO PIROLEÑOSO OBTENIDO DE

3 ESPECIES FORESTALES, CON FINES AGRÍCOLAS EN SAN GABAN, PUNO (PERÚ). Ceprosimad. Vol. 07 (2): 06-16.

Microbiología Italia. <https://www.microbiologiaitalia.it/>

Mohan, D., Pittman, C. U., Bricka, M., Smith, F., Yancey, B., Mohammad, J., ... Gong, H. (2007). Sorption of arsenic, cadmium, and lead by chars produced from fast pyrolysis of wood and bark during bio-oil production. *Journal of Colloid and Interface Science*, 310(1), 57–73. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2007.01.020>

Monzón C., 2013. Producción y uso de hongos entomopatógenos. Pp 6.

Nagua, 2016. USO DE LA BACTERIA *BACILLUS SUBTILIS* COMO AGENTE DE CONTROL BIOLÓGICO DE HONGOS FITOPATÓGENOS EN CULTIVOS TROPICALES Universidad Técnica de Machala [UTMACH]. [DE00003\\_EXAMENCOMPLEXIVO.pdf \(utmachala.edu.ec\)](https://www.utmachala.edu.ec/DE00003_EXAMENCOMPLEXIVO.pdf)

Nguanhom J, Cheewangkoon R, Groenewald J, Braun U, Anun C, Crous P. 2015. Taxonomy and phylogeny of *Cercospora* spp. from Northern Thailand. *Phytotaxa*. Disponible en: [10.11646/phytotaxa.233.1.2](https://doi.org/10.11646/phytotaxa.233.1.2)

Nina, D. (2011). Análisis de medidas repetidas mediante métodos de máxima verosimilitud. *Revista Varianza*, 8:22-25. [http://revistasbolivianas.umsa.bo/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S9876-67892011000100008&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://revistasbolivianas.umsa.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S9876-67892011000100008&lng=es&nrm=iso&tlng=es)

Nuangmek W, Aiduang W, Kumla J, Lumyong S and Suwannarach N. 2021. Evaluation of a newly identified endophytic fungus, *Trichoderma phayaoense* for plant growth promotion and biological control of gummy stem blight and wilt of muskmelon. *Frontiers in Microbiology*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.634772>.

Pillaca Edwards, (2019). Tesis Acción biocontroladora de tres especies de *Trichoderma* frente a *Cercospora asparagi* Sacc. en el cultivo de *Asparagus officinalis* L. (Espárrago). Universidad Nacional Mayor de San Marcos [UNMSM].

Plantix 2024. Mancha de Cercospora. *Cercospora canescens*. <https://plantix.net/es/library/plant-diseases/100067/cercospora-leaf-spot-of-legumes>

- Posit Team (2023). RStudio: Integrated Development Environment for R. Posit Software, PBC, Boston, MA. <http://www.posit.co/>.
- Purwantisari S. (2009). Isolasi dan identifikasi cendawan indigenous rhizosfer tanaman kentang dari lahan pertanian kentang organik di Desa Pakis. Magelang. Jurnal BIOMA.
- R Core Team (2023). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>
- Rangel LI, Spanner RE, Ebert MK, Pethybridge SJ, Stukenbrock EH, De Jonge R, Secor GA, Bolton MD., (2020). *Cercospora beticola*: The intoxicating lifestyle of the leaf spot pathogen of sugar beet. *Molecular Plant Pathology*. Disponible en: 10.1111/mpp.12962.
- Reyes, G. (2019). Comprobación de los supuestos del análisis de varianza con InfoStat. Recuperado de <https://reyesestadistica.blogspot.com/2019/03/comprobacion-de-los-supuestos-del.html>
- Rivers. A. (2021). Información sobre la enfermedad foliar por *Cercospora*. eHow en Español. [https://www.ehowenespanol.com/informacion-enfermedad-foliar-cercospora-sobre\\_143860/](https://www.ehowenespanol.com/informacion-enfermedad-foliar-cercospora-sobre_143860/)
- Santamaría, E., Inzunza, M. y Sánchez, I. (2009). *Análisis Estadístico con Aplicaciones en Agronomía*. Primera Edición. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, México. <http://cenid-raspa.inifap.gob.mx/demo/modulo/Libros%20Tecnicos/2009/Analisis%20estadistico%20con%20aplicaciones%20en%20agronomia.pdf>
- Sarti, G., Cristóbal, A. y Curá, A. (2019). Optimización de las condiciones de cultivo para el desarrollo de una biopelícula bacteriana y su aplicación como biofertilizante en *Solanum lycopersicum* L. var. Río grande. *Rev. Protección Veg.* 34(2): 1-13.
- Sayra Navas. Evaluación fungicida y antitérmica preliminar del líquido piroleñoso. *Tecnología en Marcha*. Vol. 16 N° 3.
- Scielo (2019). Revista en línea. Optimización de las condiciones de cultivo para el desarrollo de una biopelícula bacteriana y su aplicación como biofertilizante en *Solanum lycopersicum* L. var. Río grande. [Optimización de las condiciones de cultivo para el](#)

desarrollo de una biopelícula bacteriana y su aplicación como biofertilizante en Solanum lycopersicum L. var. Río grande (sld.cu)

Singh SK and Jadon KS. (2019). Biocontrol efficacy of *Trichoderma viride* against fungal pathogens of cumin, groundnut and castor. Indian Phytopathology. <https://doi.org/10.1007/s42360-019-00156-3>.

Świdarska-Burek U, Daub ME, Thomas E, Jaszek M, Pawlik A, Janusz G. (2020). Phytopathogenic Cercosporoid Fungi—From Taxonomy to Modern Biochemistry and Molecular Biology. International Journal of Molecular Sciences. Disponible en: 10.3390/ijms21228555.

Tamayo y Londoño, (2001). Manejo integrado de enfermedades y plagas del frijol: manual de campo. CORPIOCA. Regional cuatro. [https://repository.agrosavia.co/bitstream/handle/20.500.12324/13446/Ver\\_Documento\\_13446.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repository.agrosavia.co/bitstream/handle/20.500.12324/13446/Ver_Documento_13446.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

Tecnologías y prácticas que utilizan los productores en el manejo postcosecha de maíz y frijol en Estelí, Madriz y Nueva Segovia, Nicaragua. *La Calera*, 23, 41: 124-132. URL: <http://portal.amelica.org/ameli/journal/306/3064360004/VisorRedalyc-Tecnologías-y-prácticas-que-utilizan-los-productores-en-el-manejo-poscosecha-de-maíz-y-frijol-en-Estelí-Madriz-y-Nueva-Segovia-Nicaragua-amelica.org>

Tegene S, Dejene M, Terefe H, Tegegn G, Tena E and Ayalew A. (2021). Evaluation of native *Trichoderma* isolates for the management of sugarcane smut (*Ustilago scitaminea*) in sugar plantations of Ethiopia. Cogent Food and Agriculture. <https://doi.org/10.1080/23311932.2021.1872853>.

Tian SM, Ma P, Liu DQ, Zou MQ. (2008). First Report of *Cercospora* causing *Cercospora* leaf blotch of potato in Inner Mongolia, North China. Plant Dis. Disponible en: 10.1094 / PDIS-92-4-0654C.

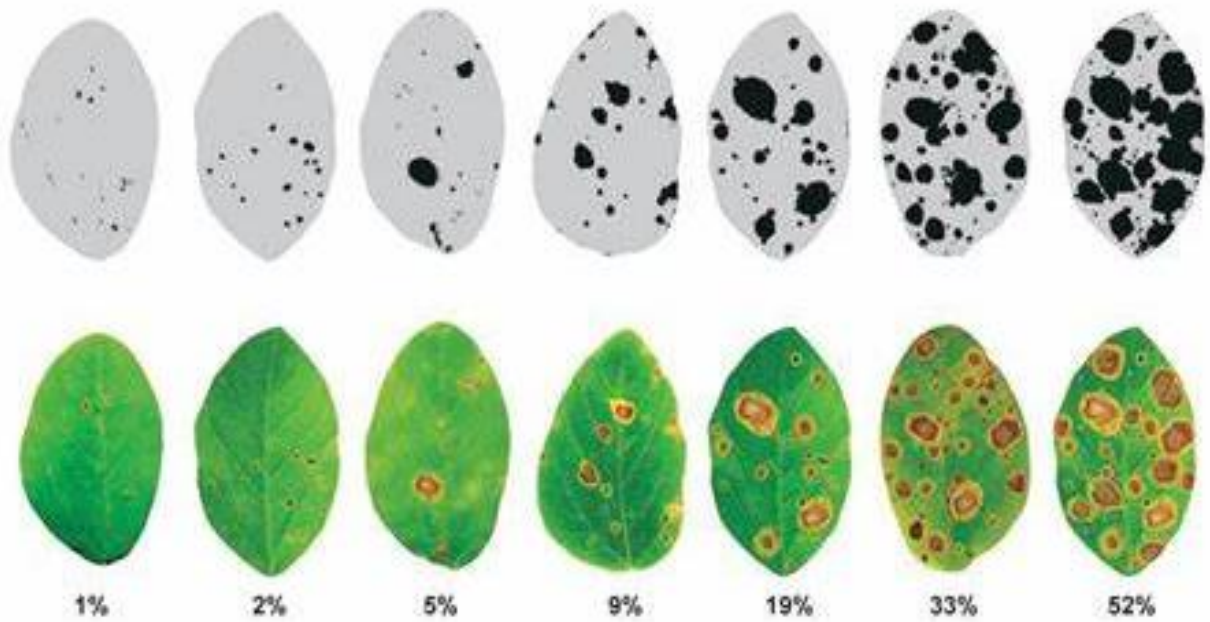
Todar, K. (2001). El género *Bacillus*. Universidad de Wisconsin.

Universidad Francisco de Paulo Santander. Asignatura Seguridad y salud en el trabajo (1810402). Extraído de *Bacillus subtilis* - obtención de una buena calificación - *Bacillus subtilis* *Bacillus subtilis* es una - Studocu

- Voysest, O. (2000). Mejoramiento Genético del Frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) Legado de Variedades de América Latina 1930-199. Cali, Colombia, Centro Internacional de Agricultura Tropical.195p
- Wahyuno D, Manohara D, dan Mulya K. (2009). Peranan bahan organik pada pertumbuhan dan daya antagonisme *Trichoderma harzianum* dan pengaruhnya terhadap *P. capsici*. pada tanaman lada. Jurnal Fitopatologi Indonesia.
- Wang C and Zhuang WY. (2020). Carbon metabolic profiling of *Trichoderma* strains provides insight into potential ecological niches. Mycologia. <https://doi.org/10.1080/00275514.2019.1698246>.
- WFP. Programa Mundial de Alimentos. Los frijoles rojos, la legumbre más apetecida por los nicaragüenses | World Food Programme (wfp.org)
- Wickham, H. (2016). *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. Springer-Verlag New York.
- Zhou Y, Wang Y, Chen K, Wu Y, Hu J, Wei Y, Li J, Yang H, Ryder M and Denton MD. (2020). Near-complete genomes of two *Trichoderma* species: A resource for biological control of plant pathogens. Molecular Plant Microbe Interactions. <https://doi.org/10.1094/MPMI-03-20-0076-A>.



**Anexo 2.** Escala visual para la incidencia y severidad de la enfermedad. Escala diagramática en hoja de soja. Fuente: Calviño (2023).



**Anexo 3.** Dossier fotográfico del proceso del experimento, en el invernadero.



Inoculación del patógeno.



Día 7 después de la inoculación del patógeno.



Aplicación de los tratamientos.



Unidades experimentales en la semana 12.

**Anexo 4.** Codificación en R que presenta la aplicación de las pruebas Shapiro Wilks (supuesto de normalidad), Levene (homogeneidad de varianza), Kruskal Wallis y la comparación múltiple de Dunn.

```
# Información asociada a la figura 7.
# Prueba de shapiro wilks para el diámetro del tallo (DT), altura de la
planta (AP) y número de hojas (NH) en función de cada nivel de los
tratamientos.

> tapply(TD3$DT, TD3$TT, FUN = shapiro.test)
$`0`

      shapiro-wilk normality test

data:  x[[i]]
w = 0.75, p-value < 2.2e-16

$`1`

      shapiro-wilk normality test

data:  x[[i]]
w = 0.46012, p-value = 2.268e-07

$`2`

      shapiro-wilk normality test

data:  x[[i]]
w = 0.41281, p-value = 7.525e-07

$`3`
```

```

      Shapiro-wilk normality test
data:  x[[i]]
W = 0.32693, p-value = 1.207e-06

$`4`

      Shapiro-wilk normality test
data:  x[[i]]
W = 0.41281, p-value = 7.525e-07
> tapply(TD3$AP, TD3$TT, FUN = shapiro.test)
$`0`

      Shapiro-wilk normality test
data:  x[[i]]
W = 0.75, p-value < 2.2e-16

$`1`

      Shapiro-wilk normality test
data:  x[[i]]
W = 0.91615, p-value = 0.09606

$`2`

      Shapiro-wilk normality test
data:  x[[i]]
W = 0.75078, p-value = 0.000918

$`3`

      Shapiro-wilk normality test
data:  x[[i]]
W = 0.7681, p-value = 0.004157

$`4`

      Shapiro-wilk normality test
data:  x[[i]]
W = 0.91622, p-value = 0.1686
> tapply(TD3$NH, TD3$TT, FUN = shapiro.test)
$`0`

      Shapiro-wilk normality test
data:  x[[i]]
W = 0.96429, p-value = 0.6369

$`1`

```

```

      Shapiro-wilk normality test

data:  X[[i]]
w = 0.95904, p-value = 0.5536

$`2`

      Shapiro-wilk normality test

data:  X[[i]]
w = 0.94632, p-value = 0.4685

$`3`

      Shapiro-wilk normality test

data:  X[[i]]
w = 0.92955, p-value = 0.3754

$`4`

      Shapiro-wilk normality test

data:  X[[i]]
w = 0.92394, p-value = 0.2212

# Prueba de Levene para el diámetro del tallo (DT), altura de la planta
(AP) y número de hojas (NH) en función de cada nivel de los tratamientos.

> library("car")
> leveneTest(DT ~ TT, data = TD3)
Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = median)
  Df F value Pr(>F)
group 4  0.3275 0.8584
      59
> leveneTest(AP ~ TT, data = TD3)
Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = median)
  Df F value Pr(>F)
group 4  1.0185 0.4053
      59
> leveneTest(NH ~ TT, data = TD3)
Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = median)
  Df F value Pr(>F)
group 4  2.1781 0.08247 .
      59
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

# Prueba de Shapiro wilks para el diámetro del tallo (DT), altura de la
planta (AP) y número de hojas (NH) transformados con logaritmo natural en
función de cada nivel de los tratamientos.

> tapply(log(TD3$DT), TD3$TT, FUN = shapiro.test)
$`0`

      Shapiro-wilk normality test

data:  X[[i]]
w = 0.75, p-value < 2.2e-16

$`1`

```

```

      Shapiro-wilk normality test
data:  x[[i]]
w = 0.44506, p-value = 1.696e-07

$`2`
      Shapiro-wilk normality test
data:  x[[i]]
w = 0.41281, p-value = 7.525e-07

$`3`
      Shapiro-wilk normality test
data:  x[[i]]
w = 0.32693, p-value = 1.207e-06

$`4`
      Shapiro-wilk normality test
data:  x[[i]]
w = 0.41281, p-value = 7.525e-07

> tapply(log(TD3$AP), TD3$TT, FUN = shapiro.test)
$`0`
      Shapiro-wilk normality test
data:  x[[i]]
w = 0.75, p-value < 2.2e-16

$`1`
      Shapiro-wilk normality test
data:  x[[i]]
w = 0.92491, p-value = 0.1395

$`2`
      Shapiro-wilk normality test
data:  x[[i]]
w = 0.76012, p-value = 0.001183

$`3`
      Shapiro-wilk normality test
data:  x[[i]]
w = 0.77216, p-value = 0.004598

$`4`

```

```

      Shapiro-wilk normality test
data:  X[[i]]
w = 0.90031, p-value = 0.09623

> tapply(log(TD3$NH), TD3$TT, FUN = shapiro.test)
$`0`

      Shapiro-wilk normality test
data:  X[[i]]
w = 0.98122, p-value = 0.7374

$`1`

      Shapiro-wilk normality test
data:  X[[i]]
w = 0.83948, p-value = 0.004545

$`2`

      Shapiro-wilk normality test
data:  X[[i]]
w = 0.88274, p-value = 0.05213

$`3`

      Shapiro-wilk normality test
data:  X[[i]]
w = 0.83874, p-value = 0.02673

$`4`

      Shapiro-wilk normality test
data:  X[[i]]
w = 0.78534, p-value = 0.002399

# Prueba de Kruskal wallis para el diámetro del tallo (DT), altura de la
planta (AP) y número de hojas (NH) en función de cada nivel de los
tratamientos.

> kruskal.test(DT ~ TT, data = TD3)

      Kruskal-wallis rank sum test
data:  DT by TT
Kruskal-wallis chi-squared = 16.471, df = 4, p-value = 0.002448
> kruskal.test(AP ~ TT, data = TD3)

      Kruskal-wallis rank sum test
data:  AP by TT
Kruskal-wallis chi-squared = 12.305, df = 4, p-value = 0.01522

```

```

> kruskal.test(NH ~ TT, data = TD3)

    kruskal-wallis rank sum test

data:  NH by TT
Kruskal-wallis chi-squared = 8.6581, df = 4, p-value = 0.07024

# Prueba de comparación múltiple de Dunn para el diámetro del tallo (DT) y
altura de la planta (AP) en función de cada nivel de los tratamientos.

> dunnTest(DT ~ TT, method = "bonferroni", data = TD3)
Dunn (1964) kruskal-wallis multiple comparison
p-values adjusted with the Bonferroni method.

  Comparison      Z      P.unadj      P.adj
1      0 - 1 -3.71651784 2.019874e-04 0.0020198738
2      0 - 2 -3.78191939 1.556238e-04 0.0015562376
3      1 - 2 -0.24021487 8.101637e-01 1.0000000000
4      0 - 3 -3.89247464 9.922687e-05 0.0009922687
5      1 - 3 -0.55230824 5.807372e-01 1.0000000000
6      2 - 3 -0.31160923 7.553375e-01 1.0000000000
7      0 - 4 -3.68704798 2.268706e-04 0.0022687059
8      1 - 4 -0.06649546 9.469834e-01 1.0000000000
9      2 - 4  0.16432210 8.694776e-01 1.0000000000
10     3 - 4  0.46653360 6.408336e-01 1.0000000000
> dunnTest(AP ~ TT, method = "bonferroni", data = TD3)
Dunn (1964) kruskal-wallis multiple comparison
p-values adjusted with the Bonferroni method.

  Comparison      Z      P.unadj      P.adj
1      0 - 1 -2.9534995 0.003141931 0.03141931
2      0 - 2 -1.7247668 0.084569505 0.84569505
3      1 - 2  2.1542099 0.031223715 0.31223715
4      0 - 3 -2.2362418 0.025335936 0.25335936
5      1 - 3  1.0614840 0.288470019 1.00000000
6      2 - 3 -0.9105373 0.362539232 1.00000000
7      0 - 4 -2.7590491 0.005796983 0.05796983
8      1 - 4  0.2603317 0.794607933 1.00000000
9      2 - 4 -1.7914294 0.073224407 0.73224407
10     3 - 4 -0.7784386 0.436310488 1.00000000

# Información asociada a la figura 8, 9 y 10.
# Prueba de Shapiro wilks para el diámetro del tallo (DT), altura de la
planta (AP) y número de hojas (NH) en función de cada nivel de las semanas.

> tapply(TD4$DT, TD4$TomaD, FUN = shapiro.test)
Error en FUN(X[[i]], ...): all 'x' values are identical # Varios tienen
números 4.
> tapply(TD4$AP, TD4$TomaD, FUN = shapiro.test)
$`9`

    Shapiro-wilk normality test

data:  x[[i]]
w = 0.79182, p-value = 2.818e-09

$`10`

    Shapiro-wilk normality test

data:  x[[i]]
w = 0.79182, p-value = 2.818e-09

```

```

$`11`
      Shapiro-wilk normality test
data:  x[[i]]
w = 0.79182, p-value = 2.818e-09

$`12`
      Shapiro-wilk normality test
data:  x[[i]]
w = 0.90657, p-value = 2.334e-05

$`13`
      Shapiro-wilk normality test
data:  x[[i]]
w = 0.9516, p-value = 0.00426

$`14`
      Shapiro-wilk normality test
data:  x[[i]]
w = 0.95376, p-value = 0.00569

> tapply(TD4$NH, TD4$TomaD, FUN = shapiro.test)
$`9`
      Shapiro-wilk normality test
data:  x[[i]]
w = 0.78608, p-value = 1.968e-09

$`10`
      Shapiro-wilk normality test
data:  x[[i]]
w = 0.94849, p-value = 0.002827

$`11`
      Shapiro-wilk normality test
data:  x[[i]]
w = 0.96436, p-value = 0.02498

$`12`
      Shapiro-wilk normality test
data:  x[[i]]
w = 0.97905, p-value = 0.2131

```

```

$`13`

      Shapiro-wilk normality test

data:  X[[i]]
w = 0.95062, p-value = 0.003743

$`14`

      Shapiro-wilk normality test

data:  X[[i]]
w = 0.91248, p-value = 4.271e-05

# Prueba de Levene para el diámetro del tallo (DT), altura de la planta
(AP) y número de hojas (NH) en función de cada nivel de las semanas.

> leveneTest(DT ~ TomaD, data = TD4)
Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = median)
      Df F value    Pr(>F)
group  5   21.58 < 2.2e-16 ***
      474
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
> leveneTest(AP ~ TomaD, data = TD4)
Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = median)
      Df F value    Pr(>F)
group  5   4.0753 0.001243 **
      474
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
> leveneTest(NH ~ TomaD, data = TD4)
Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = median)
      Df F value    Pr(>F)
group  5   12.14 4.395e-11 ***
      474
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

# Prueba de Shapiro wilks para el diámetro del tallo (DT), altura de la
planta (AP) y número de hojas (NH) transformados con logaritmo natural en
función de cada nivel de las semanas.

> tapply(log(TD4$DT), TD4$TomaD, FUN = shapiro.test)
Error en FUN(X[[i]], ...): all 'x' values are identical # Varios valores
iguales (4).
> tapply(log(TD4$AP), TD4$TomaD, FUN = shapiro.test)
$`9`

      Shapiro-wilk normality test

data:  X[[i]]
w = 0.80171, p-value = 5.307e-09

$`10`

      Shapiro-wilk normality test

data:  X[[i]]
w = 0.80171, p-value = 5.307e-09

```

```

$`11`
      Shapiro-wilk normality test
data:  x[[i]]
w = 0.80171, p-value = 5.307e-09

$`12`
      Shapiro-wilk normality test
data:  x[[i]]
w = 0.9159, p-value = 6.12e-05

$`13`
      Shapiro-wilk normality test
data:  x[[i]]
w = 0.94038, p-value = 0.001009

$`14`
      Shapiro-wilk normality test
data:  x[[i]]
w = 0.9399, p-value = 0.0009512

> tapply(log(TD4$NH), TD4$TomaD, FUN = shapiro.test)
$`9`
      Shapiro-wilk normality test
data:  x[[i]]
w = 0.79208, p-value = 2.863e-09

$`10`
      Shapiro-wilk normality test
data:  x[[i]]
w = 0.93848, p-value = 0.0007995

$`11`
      Shapiro-wilk normality test
data:  x[[i]]
w = 0.95153, p-value = 0.004224

$`12`
      Shapiro-wilk normality test
data:  x[[i]]
w = NaN, p-value = NA

```

```

$`13`
      Shapiro-wilk normality test

data:  X[[i]]
W = NaN, p-value = NA

$`14`
      Shapiro-wilk normality test

data:  X[[i]]
W = NaN, p-value = NA

# Prueba de Friedman para comparación de las medianas del diámetro del
tallo (DT), altura de la planta (AP) y número de hojas (NH) en función de
cada nivel de las semanas.

# Extraer información por tratamiento

T0 <-TD4 %>% filter(TT == "0")
T1 <-TD4 %>% filter(TT == "1")
T2 <-TD4 %>% filter(TT == "2")
T3 <-TD4 %>% filter(TT == "3")
T4 <-TD4 %>% filter(TT == "4")

# Correr el test

install.packages("rstatix")
library("rstatix")

# Información asociada a la figura 8.

> T0 %>% friedman_test(DT ~ TomaD | id)
# A tibble: 1 × 6
  .y.      n statistic    df      p method
* <chr> <int>    <dbl> <dbl>    <dbl> <chr>
1 DT      12      51.5     5 6.77e-10 Friedman test
> T1 %>% friedman_test(DT ~ TomaD | id)
# A tibble: 1 × 6
  .y.      n statistic    df      p method
* <chr> <int>    <dbl> <dbl>    <dbl> <chr>
1 DT      20      19.0     5 0.00194 Friedman test
> T2 %>% friedman_test(DT ~ TomaD | id)
# A tibble: 1 × 6
  .y.      n statistic    df      p method
* <chr> <int>    <dbl> <dbl>    <dbl> <chr>
1 DT      16      14.9     5 0.0110 Friedman test
> T3 %>% friedman_test(DT ~ TomaD | id)
# A tibble: 1 × 6
  .y.      n statistic    df      p method
* <chr> <int>    <dbl> <dbl>    <dbl> <chr>
1 DT      16      23.8     5 0.000233 Friedman test
> T4 %>% friedman_test(DT ~ TomaD | id)
# A tibble: 1 × 6
  .y.      n statistic    df      p method
* <chr> <int>    <dbl> <dbl>    <dbl> <chr>
1 DT      16      12.9     5 0.0241 Friedman test

# Información asociada a la figura 9.

> T0 %>% friedman_test(AP ~ TomaD | id)

```

```

# A tibble: 1 × 6
  .y.      n statistic    df          p method
* <chr> <int>    <dbl> <dbl>    <dbl> <chr>
1 AP      12      48.0     5 0.00000000362 Friedman test
> T1 %>% friedman_test(AP ~ TomaD | id)
# A tibble: 1 × 6
  .y.      n statistic    df          p method
* <chr> <int>    <dbl> <dbl>    <dbl> <chr>
1 AP      20      41.6     5 0.0000000713 Friedman test
> T2 %>% friedman_test(AP ~ TomaD | id)
# A tibble: 1 × 6
  .y.      n statistic    df          p method
* <chr> <int>    <dbl> <dbl>    <dbl> <chr>
1 AP      16      20.8     5 0.000888 Friedman test
> T3 %>% friedman_test(AP ~ TomaD | id)
# A tibble: 1 × 6
  .y.      n statistic    df          p method
* <chr> <int>    <dbl> <dbl>    <dbl> <chr>
1 AP      16       1.40     5 0.924 Friedman test
> T4 %>% friedman_test(AP ~ TomaD | id)
# A tibble: 1 × 6
  .y.      n statistic    df          p method
* <chr> <int>    <dbl> <dbl>    <dbl> <chr>
1 AP      16      11.4     5 0.0448 Friedman test

# Información asociada a la figura 10.

> T0 %>% friedman_test(NH ~ TomaD | id)
# A tibble: 1 × 6
  .y.      n statistic    df          p method
* <chr> <int>    <dbl> <dbl>    <dbl> <chr>
1 NH      12      58.6     5 2.41e-11 Friedman test
> T1 %>% friedman_test(NH ~ TomaD | id)
# A tibble: 1 × 6
  .y.      n statistic    df          p method
* <chr> <int>    <dbl> <dbl>    <dbl> <chr>
1 NH      20      89.4     5 8.79e-18 Friedman test
> T2 %>% friedman_test(NH ~ TomaD | id)
# A tibble: 1 × 6
  .y.      n statistic    df          p method
* <chr> <int>    <dbl> <dbl>    <dbl> <chr>
1 NH      16      73.9     5 1.55e-14 Friedman test
> T3 %>% friedman_test(NH ~ TomaD | id)
# A tibble: 1 × 6
  .y.      n statistic    df          p method
* <chr> <int>    <dbl> <dbl>    <dbl> <chr>
1 NH      16      67.5     5 3.38e-13 Friedman test
> T4 %>% friedman_test(NH ~ TomaD | id)
# A tibble: 1 × 6
  .y.      n statistic    df          p method
* <chr> <int>    <dbl> <dbl>    <dbl> <chr>
1 NH      16      73.0     5 2.46e-14 Friedman test

```