

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
FACULTAD DE AGRONOMIA
DEPARTAMENTO DE PROTECCION AGRICOLA Y FORESTAL



TRABAJO DE TESIS

EVALUACION DE 16 GENOTIPOS DE FRIJOL NEGRO
(Phaseolus vulgaris L.), POR SU REACCION A TIZON
SUREÑO (*Sclerotium rolfsii sacc*), BAJO CONDICIONES
DE INVERNADERO

AUTOR:

Br. José Manuel Galán Sevilla

ASESORES:

Ing.M.Sc. Reinaldo J. Laguna Miranda

Lic. Verónica Guevara Torres

MANAGUA, NICARAGUA
MARZO 2005

DEDICATORIA

En primera instancia, le dedico este trabajo al portador de la sabiduría, al ser que me dio la vida, salud y que estuvo conmigo durante todo el proceso formativo: DIOS padre.

Con mucho amor y cariño a mi querida madre María L. Sevilla, quien sin condiciones me ha entregado los mejores años de su vida, por brindarme seguridad, confianza y apoyo en los momentos más difíciles, por los valores y principios inculcados y por darme el tesoro más preciado de mi vida como es mi educación, obtenida a través del gran esfuerzo y sacrificio por parte de usted.

A mi abuelita María P. Mercado, por ser como mi segunda madre, por su apoyo incondicional y por qué siempre que la necesité está presente y pendiente de mí.

A mis hermanos Miguel A. Galán y Marbell L. Ampie, familiares, ya que de una u otra manera han sido participe de mis esfuerzos para salir adelante y poder culminar mi carrera universitaria.

Br. José Manuel Galán Sevilla

AGRADECIMIENTO

Agradezco ante todo a DIOS por regalarme sabiduría, salud, paciencia y seguridad en mi caminar.

Agradezco por su esmero, amistad, ayuda, dedicación y confianza a mis asesores Ing.MSc. Reynaldo Laguna Miranda (q.e.p.d) y Lic. Verónica Guevara Torres.

Al Ing.MSc Avaro Benavides Gonzales quien contribuyo en el análisis estadístico de los datos recopilados en los ensayos.

Al personal del CENIDA, por su valiosa e importante colaboración en la búsqueda de información que hizo posible este trabajo.

A los profesores de la Universidad Nacional Agraria que de una u otra manera me brindaron su apoyo.

Mis más sinceros agradecimientos de corazón.

Br. José Manuel Galán Sevilla

INDICE DE CONTENIDO

| SECCIÓN | PÁGINA |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| DEDICATORIA | i |
| AGRADECIMIENTO | ii |
| INDICE DE CUADROS | v |
| INDICE DE FIGURAS | vi |
| INDICE DE ANEXOS | vii |
| RESUMEN | viii |
| ABSTRATRAC | ix |
| | |
| I. INTRODUCCION | 1 |
| II. OBJETIVOS | 4 |
| III. REVISION DE LITERATURA | 5 |
| IV. MATERIALES Y METODOS | 10 |
| 4.1 Localización de los experimento | 10 |
| 4.2Fase de laboratorio | 10 |
| 4.3 Fase de invernadero | 11 |
| 4.3.1 Tratamiento de suelo | 11 |
| 4.3.2 Diseño experimental y tratamientos | 12 |
| 4.3.2.1 Evaluación de aislados y dosis de inóculos de <i>Sclerotiumrolfsii</i> | 12 |
| 4.3.2.2 Reacción de germoplasma de frijol negro a la infección por tizón sureño (<i>Sclerotiumrolfsii</i>) (Ensayo II y Ensayo III). | 13 |
| 4.3.3 Inoculación | 13 |
| 4.4 Material genético | 14 |
| 4.5 Análisis de datos | 15 |
| 4.6 Variables evaluados | 16 |

| | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 4.6.1 Severidad | 16 |
| V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 17 |
| 5.1 Fase de laboratorio | 17 |
| 5.2 Fase de invernadero | 17 |
| 5.2.1 Evaluación de aislados y dosis de inóculo de <i>Sclerotium rolfsii</i> Sacc. | 17 |
| 5.2.1.1 Virulencia de aislados | 17 |
| 5.2.2 Reacción de germoplasma de frijol negro a la infección por tizón sureño (<i>Sclerotium rolfsii</i>) (DPAF) | 19 |
| 5.2.2.1 Severidad de tizón sureño | 19 |
| 5.2.2.2 Área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE) | 21 |
| 5.2.3 Reacción de germoplasma de frijol negro a la infección por tizón sureño (<i>Sclerotium rolfsii</i>) (REGEN) | 23 |
| 5.2.3.1 Severidad de tizón sureño | 23 |
| 5.2.3.2 Área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE) | 25 |
| V. CONCLUSIONES | 27 |
| VII. RECOMENDACIONES | 28 |
| VI. BIBLIOGRAFIA | 29 |
| IX. ANEXO | 33 |

INDICE DE CUADROS

| CUADRO | | PÁGINA |
|--------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| 1 | Tratamientos utilizados en el experimento evaluación de aislados y dosis de inóculo de <i>sclerotiumrolfsii</i> en cultivar susceptible de frijol | 12 |
| 2 | Genealogía de 16 variedades de frijol común (<i>phaseolusvulgaris L.</i>) de grano negro evaluado en invernadero para la resistencia a tizón sureño (<i>sclerotiumrolfsii</i>), 2004 | 14 |
| 3 | Sistema estándar para la evaluación de germoplasma de frijol común | 16 |
| 4 | Comportamiento de significación estadística en los efectos principales e interacción para la variable severidad en cinco momentos de evaluación | 18 |

INDICE DE FIGURAS

| FIGURA | | PÁGINA |
|--------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| 1 | Promedio de temperatura (°C) y humedad relativa (%), durante el experimento en el invernadero. UNA, Managua, Nicaragua, 2004. | 19 |
| 2 | Curva de progresos de tizón sureño (<i>Sclerotiumrolfsii</i>) en 16 genotipos de frijol negro (<i>Phaseolusvulgararis</i>) en diferentes fechas; UNA Managua, 2004. | 21 |
| 3 | Área bajo la curva de progreso de enfermedad (ABCPE) para la enfermedad tizón sureño (<i>Sclerotiumrolfsii</i>) en 16 genotipos de frijol negro; UNA Managua, 2004. | 22 |
| 4 | Promedio de temperatura (°C) y humedad relativa (%), durante el experimento en el invernadero. UNA, Managua, Nicaragua, 2004. | 23 |
| 5 | Curva de progresos de tizón sureño (<i>Sclerotiumrolfsii</i>) en 16 genotipos de frijol negro (<i>Phaseolusvulgararis</i>) en diferentes fechas; UNA Managua, 2005. | 24 |
| 6 | Área bajo la curva de progreso de enfermedad (ABCPE) para la enfermedad tizón sureño (<i>Sclerotiumrolfsii</i>) en 16 genotipos de frijol negro; UNA Managua, 2005. | 25 |
| 7 | Promedio de temperatura (°C) y humedad relativa (%), durante el experimento en el invernadero. UNA, Managua, Nicaragua, 2005. | 26 |

INDICE DE ANEXOS

| CUADRO | PÁGINA |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|
| 1. Significación de estadística ($Pr>F$) en las fuentes de variación y separación de medias en la variable área bajo la curva en cinco momentos de evaluación, UNA, Managua, 2004. | 33 |
| 2. Significación de estadística ($Pr>F$) en las fuentes de variación y separación de medias en la variable área bajo la curva en cinco momentos de evaluación, UNA, Managua, 2005. | 34 |
| 3. Comparación de valores promedios (%) para la variable severidad de tizón sureño (<i>Sclerotiumrolfsii</i>) bajo condiciones de invernaderos, Managua, Nicaragua 2004. | 35 |
| 4. Comparación de valores promedios (%) para la variable severidad de tizón sureño (<i>Sclerotiumrolfsii</i>) bajo condiciones de invernaderos, Managua, Nicaragua 2004. | 36 |

RESUMEN

Con el propósito de identificar fuentes de resistencia para la enfermedad tizón sureño, (*Sclerotium rolfsii* Sacc), 16 genotipos de frijol negro (*Phaseolus vulgaris* L.), fueron examinados por su reacción a la infección inducida. La investigación se llevó a en los invernaderos de la Universidad Nacional Agraria, ubicado en el km 12 ½ Carretera Norte en los meses de Junio y Julio de los años 2004 y 2005. Para determinar la efectividad del patógeno se realizó una prueba de patogenicidad y virulencia utilizando 3 aislados Arenal Masatepe (AM), Sabanita Masatepe (SM) y Ojoche Masatepe (OM) provenientes del departamento de Masaya con 3 niveles de inóculo (1.0, 2.0, 3.0 ml, de solución hongo PDA-agua), sobre el cultivar susceptible de frijol criollo. Al final de esta prueba se determinó que el aislado AM en 3.0 ml de solución patogénica provocó la mayor infección. Una vez determinado el mejor aislado y nivel de inóculo se procedió a la evaluación de los 16 genotipos. El experimento se estableció bajo condiciones de invernadero utilizando un diseño completamente al azar (DCA) con tres réplicas de 10 plantas cada una. La inoculación de los materiales se realizó a los 15 dds y la evaluación de la enfermedad a los 22, 24, 26, 28,30 y 32 dds utilizando la escala Estándar para la Evaluación de Germoplasma de frijol común propuesta por el CIAT(1987). El experimento fue repetido una vez para obtener mayor confiabilidad de los resultados. Para la medición de los niveles de resistencia se calculó el área bajo de la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE) así como el análisis de varianza y separación de medias (LSD $\alpha=0.05$). En ambos experimentándose observaron diferencias significativas de severidad entre los genotipos evaluados. La mayor severidad la presentó el material NEGRO INIPAF así como por el TESTIGO. Los materiales con mayor grado de resistencia en el primer experimento fueron: B 2059, INTA Cardenas, MN 13074-4 y MN 13337-26; en el segundo ensayo el genotipo NEGRO INIFAP y el TESTIGO presentaron mayor grado de severidad, el mayor grado de resistencia se observó en los genotipos: MN 13337-26, MN 13071-56, B 2059, MN 13074-4, INTA Cardenas, B 2028, B 2067.

ABSTRACT

In order to identify sources of resistance to southern blight disease (*Sclerotium rolfsii* Sacc), 16 genotypes of black beans (*Phaseolus vulgaris* L.) were examined for their reaction to induced infection. The research was conducted in the greenhouses of the National Agrarian University, located at km 12 ½ Northern Highway, in June and July 2004 and 2005. To determine the effectiveness of the pathogen, a pathogenicity and virulence test was performed using 3 isolates: Arenal Masatepe (AM), Sabanita Masatepe (SM) and Ojoche Masatepe (OM), all from Masaya, with 3 inoculum levels (1.0, 2.0, 3.0 ml of fungus PDA-water solution) on the susceptible traditional bean cultivates. At the end of this test it was determined that the AM isolate in 3.0 ml of solution caused the greatest pathogenic infection. Once the best isolate and inoculum level were determined, the 16 genotypes were evaluated. The experiment was established under greenhouse conditions using a completely random design with three replicates of 10 plants each. Inoculation of the materials was performed at 15 days and the evaluation of disease at 22, 24, 26, 28, 30 and 32 days using the standard scale for evaluating common bean germplasm developed by CIAT (1987). The experiment was repeated once to obtain greater reliability of the results. In order to measure the resistance levels we calculated the area under the disease progress curve and the analysis of variance and mean separation ($LSD_{\infty} = 0.05$). In both experiments significant differences were observed in severity among the genotypes evaluated. The most severe was NEGRO INIFAP and TESTIGO. Materials with a higher degree of resistance in the first experiment were the B 2059, INTACardenas, MN 13074-4 and MN 13337-26 genotypes; in the second test the NEGRO INIFAP and TESTIGO genotypes presented a greater degree of severity, while the highest degree of resistance was observed in the B 2059, INTA Cardenas, MN 13074-4, MN 13337-26, MN 13071-56, B 2028, B 2067 genotypes.

I. INTRODUCCION

El fríjol común (*Phaseolus vulgaris* L.) es originario de Mesoamérica y las zonas Andinas. (Ospina & Aldana, 1998). Dentro del grupo de las leguminosas comestibles, el frijol común es una de las más importantes debido a su contenido nutricional indispensable en la dieta alimenticia distribuida en los 5 continentes, principalmente Centro y Sudamérica (INTA, 2002). En Nicaragua es el segundo cultivo en orden de importancia después del maíz (*Zea mays* L.), por su alto valor nutritivo (Tapia & Camacho, 1988).

El cultivo del frijol contiene gran importancia ya que es una de las principales fuentes de proteína vegetal de buena calidad, con 22.1 %, 1.7 % de grasas y 61.4 % de carbohidratos, así como otros elementos esenciales en la dieta humana; además, el valor nutricional de la proteína del grano es muy alto debido al mayor contenido de aminoácidos esenciales, comparado con la papa y el maíz y ligeramente superior que la carne de pollo (Rosas, 1998).

En Nicaragua, actualmente la producción de frijol se encuentra en manos de pequeños agricultores, con escaso capital, acceso limitado al crédito y a la información de extensión (Verissimo, 1999). El consumo aparente para este grano es de 15.9 kg per cápita al año siendo mayor en las áreas rurales que en las urbanas 18.1 y 14.1 kg per cápita respectivamente (IICA, 2004). El país cuenta con potencial para el aumento de la productividad, pudiéndose alcanzar hasta unos 1136-1364 kg ha⁻¹, con sólo usar semilla de buena calidad y aplicando manejo integrado del cultivo (INTA, 2004).

Por otro lado, se cultiva el frijol rojo para consumo interno, sin embargo, en años recientes se han incrementados las áreas de siembra con cultivares de frijol negro, debido a que se han abiertos nuevos mercados para este rubro en Costa Rica, México y ahora con Venezuela, por lo que los agricultores están demandando nuevas variedades de frijol común de grano color negro que venga a satisfacer esta demanda (PROMESA, 2001).

El cultivo de frijol negro es similar al frijol rojo, incluso se menciona que es más resistente a plagas y enfermedades y de mayores rendimientos. En Nicaragua existen las condiciones agroecológicas adecuadas para su producción (MAG, 1992). Las exportaciones de frijol negro se han ido incrementando sustancialmente, por lo que se puede asegurar que el cultivo de frijol es una alternativa de producción y negocio para los pequeños y medianos agricultores en diversas zonas de país; no obstante esta opción no significa que se debe reducir la producción de frijol con testa roja ya que seguirán siendo demandados por la población nicaragüense y seguirse produciendo para satisfacer la demanda (GEA, 2002).

En general el cultivo del frijol es afectado más por organismos fitopatógenos, y sus aislados son más virulentos en las regiones tropicales que en las templadas provocando que la incidencia y el daño ocasionado por los patógenos varíe significativamente entre estaciones y de un año a otro (Schwartz y Gálvez, 1980). Entre los patógenos fungosos están: *Rhizoctonia solani*, *Pythium* spp., *Thanatephorus cucumeris*, *Phaeoisariopsis griseola*, *Uromyces phaseoli*, *Colletotrichum lindemuthianum* y *Sclerotium rolfsii*. Estos patógenos son los que se presentan con mayor frecuencia en los campos de frijol de Nicaragua, causando daños en las raíces, follaje y vainas (Ocón y Tapia, 1985).

Aunque los agentes causales de las pudriciones radicales producen síntomas menos notable que los ocasionados por los agentes de enfermedades foliares, las pudriciones radicales también pueden disminuir significativamente el desarrollo de las plantas y su producción, sin embargo las pudriciones radicales que afectan el frijol común han sido muy poco estudiadas en América Latina en comparación con las enfermedades foliares (CIAT, 1980).

Las plantas son resistentes a ciertos patógenos, debido a que pertenecen a grupos taxonómicos que son inmunes a esos patógenos, porque tienen genes que proporciona resistencia directa ante los genes que determinan la virulencia del patógeno en particular (resistencia verdadera). La resistencia a las enfermedades que es controlada genéticamente por la presencia de uno, varios o muchos genes para resistencia en la planta contra el ataque del patógeno se conoce como resistencia verdadera.

Existen dos tipos de resistencia verdadera: Horizontal y Vertical (Agris, 1996).

Las evaluaciones de la resistencia pueden hacerse bajo condiciones de campo y/o invernadero, pero las evaluaciones realizadas bajo condiciones de invernadero tienen algunas ventajas en comparación con las efectuadas bajo condiciones de campo. En condiciones de invernadero es posible lograr un mejor control de las condiciones ambientales, particularmente la humedad que es un factor crítico para las pudriciones radiculares (CIAT, 1981).

II. OBJETIVOS

Objetivo general:

- Seleccionar genotipos de frijol negro (*Phaseolus vulgaris* L.) resistentes a tizón sureño (*Sclerotium rolfsii* Sacc.) en condiciones de invernadero.

Objetivos específicos:

- Evaluar tres aislados de *Sclerotium rolfsii* Sacc procedentes de Masatepe y tres dosis de inóculos *Sclerotium rolfsii* en un material susceptible.
- Determinar el efecto de las interacciones o tratamientos del patógeno (*Sclerotium rolfsii* Sacc.) conformados sobre un material susceptible.
- Seleccionar el mejor tratamiento del patógeno (*Sclerotium rolfsii* Sacc.) y comprobar su efectividad en 16 genotipos de frijol negro (*Phaseolus vulgaris* L.)
- Identificar genotipos resistentes a tizón sureño sureño (*Sclerotium rolfsii* Sacc.) dentro del germoplasma evaluado.

III. REVISIÓN DE LITERATURA

Tizón sureño

El tizón sureño o pudrición radicular *en* el frijol común es causado por *Sclerotium rolfsii* Sacc. (CIAT, 1994). Este hongo es un patógeno de mucha importancia en los suelos de las regiones cálidas de trópico. Ataca un gran número de hospedantes, produciendo pudriciones radicales y marchitamiento (González, 1981). Es una enfermedad importante del frijol en muchos países latinoamericanos (Abawi, 1994), la pudrición radical de *Sclerotium* se presenta en muchos países y regiones situados entre las latitudes 38° Norte y 38° Sur. Entre los países de América Latina que se consideran la pudrición radical por *Sclerotium* como enfermedad importante del frijol, se encuentra Brasil, México, Costa Rica y Venezuela (CIAT, 1980), es típica de zonas calientes y húmedas como las del pacífico occidental de Nicaragua, ocurriendo en proporciones epidémicas cuando a periodos secos le siguen periodos lluviosos en suelos livianos (Avelares, 2004).

Etiología

El estado sexual, *Athelia rolfsii*, no tiene mayor importancia en el desarrollo de la enfermedad (Castaño y Mendoza, 1994)

Sclerotium rolfsii tiene un alto rango de hospedante que abarca a más de 200 especies de plantas, incluyendo la mayoría de las hortalizas y el frijol (Hall, 1991). El hongo crece fácilmente en una variedad de medios de agar artificial y en residuos de hospedantes en la superficie del suelo, en condiciones ambientales favorables (CIAT, 1994), sobre los tejidos infectados, e incluso sobre el suelo, el hongo produce numerosos esclerosis pequeños de tamaño uniforme que son redondos o irregulares (0.5-1.5 mm de diámetro) y blancos cuando inmaduros, pero de color café oscuro o negro cuando llega a su madurez, produce un micelio abundante de color blanco, veloso y ramificado que forma numerosos esclerocios pero comúnmente estériles, es decir, no produce esporas (Agrios, 1996).

Taxonomía

De acuerdo con Castaño- Zapata (1994) *Sclerotium rolfsii* presenta la siguiente estructura taxonómica:

| | |
|----------------------|---------------------------|
| Reino: | Fungí |
| División: | Mycota |
| Sub División: | Eumycotina |
| Clase: | Deuteromycetes |
| Orden: | Agonomycetales |
| Familia: | Tuberculariaceae |
| Género: | <i>Sclerotium</i> |
| Especie: | <i>S. rolfsii</i> (Sacc.) |

Epidemiología

La supervivencia del hongo lo constituyen los esclerocios como forma principal. Las temperaturas y las altas humedades favorecen la germinación de los esclerocios entre 10°C y 35 °C, y requiere una humedad relativa superior al 99%, la germinación de los esclerocios disminuyen al aumentar la profundidad del suelo debido a la reducción de la aireación, la germinación tiene lugar a un pH que varía entre 2,6 y 7,7, con un óptimo de 2,6 y 4,4 (CIAT, 1980), la máxima severidad se presenta a 25°C y 35°C, que es también el rango óptimo para el crecimiento del micelio y la germinación de los esclerocios (CIAT, 1994).

Los esclerocios de *S. rolfsii* sobreviven en el suelo por lo menos durante un año. El hongo también puede sobrevivir en tejidos infectados del hospedante y colonizar residuos orgánicos disponibles, el añublo sureño generalmente se presenta en proporciones epidémicas cuando a periodos secos siguen periodos lluviosos. El patógeno es fuertemente aeróbico y, por lo tanto, prevalece en suelos livianos bien aireados; los esclerocios enterrados profundos no pueden germinar. Los cordones de micelios que se originan en residuos infectados o en esclerocios en germinación penetran al tejido del frijol a través de aberturas naturales y heridas o por penetración directa del tejido intacto (Corrales, 1991).

El hongo ataca directamente a los tejidos; Sin embargo, produce una masa abundante de micelio que mata y desintegra a dichos tejidos al secretar ácido oxálico, así como también encimas pectinolíticas, celulolíticas y otras enzimas antes de que penetre el hospedante. Una vez que se ha establecido en las plantas, el hongo avanza y forma micelio y esclerocios con gran rapidez, al parecer, el patógeno crece, sobrevive y ataca a las plantas con mayor frecuencia cerca de la superficie del suelo, quizás debido a que ese nivel las temperaturas son más favorables, ya que hay mayor abastecimiento de sustancias orgánicas que el hongo utiliza para alimentarse y quizás a que hay una menor competencia o antagonismo con otros organismos del suelo (Agrios, 1996).

Sintomatología

El hongo *Sclerotium rolfsii* puede causar damping-off, añublo del tallo y pudrición radical (CIAT, 1980), los síntomas iniciales en las plantas infectadas aparecen inicialmente en el tallo o en el hipocotilo, justo debajo de la superficie del suelo, con una lesión de color oscuro. Las lesiones se extienden generalmente hacia abajo a través del tejido del tallo, hasta el interior de la raíz principal, destruyendo la corteza, iniciando síntomas de pudrición radical. Los síntomas por encima del nivel del suelo, consisten en un amarillamiento de las hojas y defoliación de las ramas superiores de la planta, síntomas que pueden presentarse después seguidos por una marchites súbita. Con frecuencia se encuentra abundante micelio blanco, esclerocios y partículas de suelo adheridos a la base del tallo. Las vainas de frijol también puede llegar a infectarse y pudrirse si hacen contacto con el suelo, el hongo puede ser transmitido a través de la semilla (Castaño y Mendoza, 1994).

Manejo de la enfermedad

Prácticas culturales

Se deben de aplicar todas las medidas de control, evitando el uso de semillas contaminadas o de material vegetal infectado, excluyendo así la introducción de *S. rolfsii* en campos limpios, la eliminación de malezas hospedantes del hongo, la destrucción de los residuos infectados del hospedante mediante quemas o aradas profundas, rotación con cultivos tolerantes o resistentes como el sorgo y el maíz, son prácticas culturales que ayudan a reducir la incidencia del patógeno en el suelo y, en consecuencia, el potencial de la enfermedad (Castaño y Mendoza, 1994).

La acumulación de inóculo se puede reducir evitando suelos de pH bajos o aplicándoles cal para elevar su pH, mejorando el drenaje de los suelos, utilizando un espaciamiento amplio entre plantas. La aplicación al suelo de correctivos nitrogenados como el amoníaco, el nitrato de amonio, la Urea y otros ha reducido la infección del tejido del hospedante por *S. rolfsii* (CIAT, 1994).

Control químico

En términos generales los esclerocios son muy difíciles de destruir con funguicidas. No obstante, se han encontrado varios funguicidas efectivos contra *Sclerotium rolfsii*, entre los que se encuentra el captafol, acetato de fenil-estaño, tridemorf y dicloran; además son efectivos cuando se aplican como tratamiento al suelo (Mendoza y Pinto, 1985).

Control biológico

En el control biológico de las enfermedades por *Sclerotium*, se han encontrado principalmente el uso de especies parásitas y antagonistas como el hongo *Trichoderma*, de algunas bacterias *Pseudomonas* y algunas especies de *Streptomyces*, para tratar la semilla u otros órganos de

propagación vegetativa de los cultivos sembrados en suelos infestado por *Sclerotium*; pero hasta ahora, todos estos métodos de control están es su fase experimental (Agrios, 1996).

Control por resistencia

El uso de variedades resistentes es sin duda el método más adecuado y económico para combatir cualquier enfermedad, cuando se logra poner al alcance del agricultor una variedad que no sea afectada por una enfermedad de importancia, no solamente se tiene un segura contra las pérdidas que ocasiona la enfermedad, sino que ahorran los gastos y las complicaciones inherentes a las medidas de combate de otra naturaleza (González, 1981).

Solo se dispone información limitada acerca de la reacción del germoplasma del frijol a la infección por *S. rolfsii*. Sin embargo, México 348-2 y Blanco son moderadamente tolerantes al patógeno, por lo que se requiere investigación adicional para encontrar otras fuentes de resistencia o tolerancia a este hongo (CIAT, 1994).

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Localización de los experimentos

Se realizaron tres experimentos, el primero se realizó con el propósito de estudiar el comportamiento de tres aislados de *Sclerotium rolfsii* y tres dosis de inóculo en un material susceptible (Cuadro 1), y los otros dos con el objetivo de evaluar 16 genotipos de frijol negro (Cuadro 2) por su reacción a la enfermedad tizón sureño estableciéndose en el invernadero de la Universidad Nacional Agraria, ubicado en el kilómetro 12 ½ Carretera Norte. La localidad se ubica geográficamente a 12° 08' 36" Latitud Norte y 86° 10' 49" Longitud Oeste, a una altitud de 56 msnm (INETER, 2005).

4.2 Fase de laboratorio

Se realizó con muestras de material enfermo de frijol rojo criollo recolectadas en la zona productora del pacífico del país: en el municipio de Masatepe, departamento Masaya, Comarca el Arenal, Sabanita y El Ojoche. Se hizo una colecta de material enfermo por cada comarca. Se seleccionaron las plantas enfermas que presentaron síntomas de la enfermedad en diferentes puntos de los plantíos, y se tomaron 10 plantas por cada una de las colectas. Se extrajo toda la planta, y cada muestra fue envuelta en papel periódico húmedo y luego empacada en bolsas plásticas, conservándose en una hielera para ser trasladados al laboratorio de microbiología, del Departamento de Protección Agrícola y Forestal de la Universidad Nacional Agraria, en donde cada muestra fue identificada y procesada.

Después se procedió a seleccionar las partes de las plantas que presentaban mayor cantidad de síntomas, ya sean las raíces o las bases del tallo, luego se procedió hacer cortes verticales, para luego ser lavadas y desinfectadas con Hipoclorito de Sodio al 5 % por 3 minutos, seguidamente se colocaron en platos Petri con papel filtro húmedo con agua destilada estéril (cámara húmeda), dejándose incubar por 24 horas.

Los trocitos que presentaron crecimiento miceliar del hongo se trasladaron a platos Petri con medio de Potato Dextroxa Agar para obtener el cultivo puro del patógeno. Luego cada aislado fue reproducido en platos Petri esterilizados para conservar las cepas de dicho hongo, para que cada aislado no perdiera su virulencia y poder realizar con ellos las distintas inoculaciones que se realizaron en la fase de invernadero. La identificación y la observación microscópica de las estructuras del patógeno permitieron la identificación del hongo con ayuda de claves de identificación de Deutoromycetes (Barnett & Hunter, 1999).

Para la preparación del inóculo se licuaron 20 placas Petri de PDA conteniendo el hongo y se diluyeron en 1 litro de agua destilada y estéril para ser utilizado en el primer experimento.

Para el segundo y tercer experimento se licuaron 30 placas Petri de PDA conteniendo *Sclerotium rolfsii* utilizando el aislado AM (Arenal-Masatepe) diluidas en 3 litros de agua destilada y estéril.

En los tres experimentos se realizó la aplicación del inóculo utilizando una jeringa el cual se medía las tres porciones que se estaban evaluando.

4.3 Fase de invernadero

4.3.1 Tratamiento del suelo

Para los experimentos se utilizó suelo procedente del Municipio de Masatepe, Departamento Masaya, presentando textura franco arcilloso y pH de 6.4. Se esterilizó por medio de calor seco un horno esterilizador (Soil-Sterilizer), a una temperatura de 100°C durante 6 horas.

4.3.2 Diseño experimental y tratamientos

4.3.2.1 Evaluación de aislados y dosis de inóculo de *Sclerotium rolfsii* (Ensayo I)

El Ensayo I se estableció en marzo del 2004. Los tratamientos fueron arreglados en un Diseño Completamente Aleatorio (DCA) con la combinación de dos factores (Cuadro 1). El factor A estuvo representado por los Aislados y el factor B las dosis de inóculos para un total de 9 tratamientos (Cuadro 1) con 10 repeticiones por cada tratamiento.

El experimento se estableció en 3 bancos de concreto con 30 maceteras por banco con un total de 90 maceteras cada una con capacidad de 360 gramos de suelo y con un volumen de 798 cm³.

Al momento de la siembra, se colocaron 3 semillas por macetera, luego se hizo un raleo a los 7 ddg, dejándose solamente 1 planta por macetera, para un total de 90 plantas.

Cuadro. 1. Tratamientos utilizados en el experimento evaluación de aislados y dosis de inoculo de *Sclerotium rolfsii* en cultivar susceptible de frijol.

| | Factor A | Factor B |
|-------|-----------------------------------------|----------------------|
| | Aislado | Dosis (ml de PDA) |
| Nivel | a ₁ . AM (Arenal-Masatepe) | b ₁ . 1.0 |
| | a ₂ . SM (Sabanita-Masatepe) | b ₂ . 2.0 |
| | a ₃ . OM (Ojoche-Masatepe) | b ₃ . 3.0 |

4.3.2.2 Reacción de germoplasma de frijol negro a la infección por tizón sureño (*Sclerotium rolfsii*) (Ensayos II y III)

Estos experimentos se realizaron con el fin de determinar si los materiales presentaban reacción de resistencia. El Ensayo II se estableció en el invernadero del Departamento de Protección Agrícola y Forestal (DPAF) y el Ensayo III realizó en el invernadero del Programa de Recursos Genéticos Nicaragüenses (REGEN), ambos adscritos a la Universidad Nacional Agraria.

Los 16 genotipos más el frijol rojo criollo (Cuadro 2) que fue el testigo fueron dispuestos en un diseño unifactorial DCA con 3 repeticiones. El material genético (tratamientos) se estableció en tres bancos de concreto con 170 maceteras por banco para un total de 510 maceteras cada una con capacidad de 360 g de suelo y con un volumen de 798 cm³.

Al momento de la siembra se colocaron dos semillas por macetera, luego se practicó un raleo a los 7 días después de la germinación (ddg), dejándose solamente una planta por macetera, para un total de 510 plantas.

4.3.3 Inoculación

Las inoculaciones se realizaron a los 15 días después de la siembra (dds) y la evaluación de la enfermedad se hizo a los 5 días después de inoculación.

Durante esta fase de invernadero las plantas fueron mantenidas en un ambiente semi controlado después de la inoculación, tratando de preservar humedad relativa alta y temperaturas moderada, para lograr éxito en el proceso infectivo del hongo y la manifestación de síntomas.

4.4 Material genético

El material genético estudiado en los Ensayos II y III fueron las 16 variedades de frijol común de color negro, traídas de distinto lugares, de los cuales 7 provienen de Proyecto de Resistencia Múltiple; 7 de los Viveros de Adaptación Centroamericano; 1 variedad comercial de México y una variedad de amplia adaptación y conocida por los productores de frijol negro; sus características (identificación origen y progenitores) se describen en el Cuadro 2. Como testigo se utilizó el material rojo criollo.

Cuadro 2. Genealogía de 16 variedades de frijol Común (*Phaseolus vulgaris* L.) de grano negro evaluado en invernadero para la resistencia a tizón sureño (*Sclerotium rolfsii*), 2004.

| Trat. | ID | Origen | Progenitores |
|-------|--------------|-----------------|--------------------------------------------------|
| 1 | MN1332648 | ERRM 2001 | DOR500/MUS181/SAM1/F1(NN)D-(NN)C |
| 2 | MN130744 | ERRM 2001 | INTA OSTUA//VAX3/TURBO3//A247/DOR500 |
| 3 | MN1333726 | ERRM 2001 | VAX4/A801/F1//DOR500/-(NN)Q-4P-(NN)D-(NN)C |
| 4 | INTAcárdenas | ERVIVAC 2001 | DOR364/G18521//DOR365/LM30630 |
| 5 | MN1307156 | ERVIVAC 2001 | DOR500///A216/G727//VAX3/G5207 |
| 6 | BRUNCA | Testigo Local | PORRILLO SINT/COMP CHIMALTECO |
| 7 | B2020 | EAP/ZVIDAC 2001 | MD3075/ICTA OSTUA |
| 8 | MN132414 | ERRM 2001 | A774/DOR390/SAM1/F1(NN)Q-6P- (NN)D- (NN)C |
| 9 | B2028 | VIDAC/Z 2000/1 | NDBG20510-6/MD3075 |
| 10 | B2056 | VIDAC/Z 2000/1 | DOR 390/MUS 181 |
| 11 | B2067 | ERVIDACN 2001 | MUS 181/MD3075 |
| 12 | B2053 | ERRM 2001 | ICTA OSTUA/DOR 390 |
| 13 | B2059 | ERVIDACN 2001 | JU-90-7/MUS 181 |
| 14 | MN1333638 | ERRM 2001 | VAX2/COM.CHIMALTECO-2/DOR500/(NN)Q4P-(NN)D-(NN)C |
| 15 | MN1333238 | ERRM 2001 | A774/VAX1/E1//DOR500/(NN)1-4P- (NN) D(NN)C |
| 16 | NEGROINIFAP | TLVARMEX | DOR 149/1397 |
| 17 | Rojo Criollo | Testigo | |

Trat.: Número de Tratamientos

ID: Identificación

ERRM: Ensayo de resistencia múltiple.

ERVIVAC: Ensayo de rendimiento del vivero de adaptación centroamericano.

EAP/ZVIDAC: Escuela agrícola panamericana/Zamorano, Vivero de adaptación centroamericano.

ERVIDAC: Ensayo de rendimiento. Vivero de adaptación centro americano.

TL VARMEX: Testigo local variedad mexicana.2.3.1.2. Habito de crecimiento.

4.5 Análisis de datos

Para evaluar la enfermedad, se realizó un análisis de varianza y separación de medias mediante la prueba de LSD, utilizando el programa estadístico SAS (Statistical Analysis System), Versión 8.02. Para la medición de los niveles de resistencia se estimó el área bajo de la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE), basándose en la fórmula:

$$ABCPE = \sum_{i=1}^n \left(\frac{x_{i+1} + x_i}{2} \right) (t_{i+1} - t_i)$$

Donde:

ABCPE: Área bajo de la curva de progreso de la enfermedad. (Proporción - días).

x = Proporción de la enfermedad.

t = Tiempo en días.

N = Número de veces en que se calcula el área

Para describir la severidad de tizón sureño se utilizó la siguiente fórmula:

$$S = \sum \left(\frac{\text{Valores observados} * 100}{\text{Valor máximo de Escala} * \text{No. de plantas}} \right)$$

4.6 Variables evaluadas

4.6.1 Severidad

En los tres experimentos realizados se evaluó la severidad de tizón sureño *Sclerotium rolfsii* Sacc, en la etapa V4 hasta la R7 y se hizo por observación visual, utilizando, la escala estándar propuesta por el CIAT (1987), la cual se describe a continuación:

Cuadro 3. Sistema Estándar para Evaluación de Germoplasma de frijol Común.

| Escala | Severidad (síntomas) |
|--------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1 | Sin síntomas visibles de la enfermedad. |
| 3 | Los síntomas de la pudrición gris (o carbonosa) están restringidos a los cotiledones. En el añublo sureño se da esta calificación cuando un 1% del hipocótilo tiene síntomas. Los tejidos inferiores del tallo están cubiertos con lesiones pequeñas y susceptibles. |
| 5 | Aproximadamente 10% del hipocótilo y de los tejidos inferiores del tallo están cubiertos con lesiones, acompañadas frecuentemente por estructuras de fructificación del hongo. |
| 7 | Aproximadamente 25% del hipocótilo y de los tejidos inferiores del tallo están cubiertos con lesiones, acompañadas frecuentemente por estructuras de fructificación del hongo. |
| 9 | Aproximadamente 50% o más del hipo cotilo y de los tejidos del tallo están cubiertos con lesiones y con un gran número de estructuras de fructificación del hongo. |

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Fase de laboratorio

En las muestras recolectadas y procesadas en el laboratorio se identificó el patógeno *Sclerotium rolfsii*. Para su cultivo se utilizó medio PDA, se observó crecimiento de micelios de color blanco y grueso y numerosos esclerocios característicos, que son de paredes lisas, redondos (0.5-1.5 mm de diámetro) y pardos.

Sclerotium rolfsii, es un hongo imperfecto que produce un micelio de color blanco, veloso y ramificado que forma numerosos esclerocios que son estructuras de resistencia o sobrevivencia, pero comúnmente es estéril, es decir no produce esporas, en ocasiones produce basidiosporas en los bordes de las lesiones cuando el clima es húmedo, su etapa perfecta es *Athelia (Pellicularia) rolfsii*. Al parecer el hongo, sobrevive principalmente en forma de esclerocios, pero también en forma de micelio en los tejidos infectados o en los restos de las plantas, estas estructuras causan amarillamiento de las hojas y defoliación de las ramas superiores de las plantas, posteriormente, la muerte de planta (Agrios, 1982).

5.2 Fase de invernadero

5.2.1 Evaluación de aislados y dosis de inóculo de *Sclerotium rolfsii* Sacc.

5.2.1.1 Virulencia de los aislados

Según el ANDEVA no se encontraron diferencias estadísticas en los efectos principales (Cuadro 4). De igual manera, el ANDEVA y separación de medias en los diferentes momentos de evaluación, 20, 22, 24,26 y 28 días después de la siembra se presentó diferencias significativas entre los tratamientos, registrándose claramente tres categorías estadísticas donde las plantas inoculadas con el aislado AM en dosis de 3.0 y 2.0 ml de solución mostraron los mayores niveles de infección en las dos últimas fechas, diferenciándose estadísticamente de las demás, por otro lado las plantas inoculadas con el tratamiento AM + 1.0 ml de solución de inóculo obtuvo un valor promedio de 0.33, mientras que las plantas inoculadas con los otros aislados SM y OM en las diferentes dosis de inóculo no mostraron ninguna reacción (Cuadro 4).

Estos resultados indican que el comportamiento del aislado AM con dosis de 3 ml y 2 ml fueron los más efectivos. Según Jarvis (1998), el avance de una enfermedad no está necesariamente relacionado con la cantidad del inóculo sino que es afectado por otros factores (susceptibilidad de los tejidos del huésped, temperatura y humedad relativa), la producción de inóculo a partir de los tejidos infectados depende del tipo de patógeno y de la interacción de ciertas condiciones del lugar del experimento.

Cuadro 4. Comportamiento de la significación estadística en los efectos principales e interacción para la variable severidad en cinco momentos de evaluación en todas las 16 variedades de frijol negro.

| Aislado | Severidad (%) | | | | |
|-------------------|----------------------------|---------|---------|---------|---------|
| | Días después de la siembra | | | | |
| | 20 | 22 | 24 | 26 | 28 |
| Arenal Masatepe | 1.78 | 3.56 | 4.67 | 5.67 | 5.68 |
| Sabanita Masatepe | 0.22 | 1.68 | 1.89 | 2.44 | 5.78 |
| Ojoche Masatepe | 0.00 | 0.11 | 0.11 | 0.11 | 0.11 |
| Dosis | | | | | |
| 3 ml | 1.78 | 3.56 | 4.68 | 5.67 | 5.67 |
| 2 ml | 0.22 | 1.68 | 1.89 | 2.44 | 5.78 |
| 1 ml | 0.00 | 0.11 | 0.11 | 0.11 | 0.11 |
| Tratamientos | | | | | |
| (AM + 3 ml) | 5.33 a | 10.67 a | 14.00 a | 17.00 a | 17.00 a |
| (AM + 2ml) | 0.70 b | 5.00 b | 5.67 b | 17.33 a | 17.33 a |
| (AM + 1ml) | 0.00 c | 0.33 c | 0.55 c | 0.33 c | 0.33 b |
| (SM + 1ml) | 0.00 c | 0.00 c | 0.00 c | 0.00 c | 0.00 b |
| (SM + 2ml) | 0.00 c | 0.00 c | 0.00 c | 0.00 c | 0.00 b |
| (SM + 3ml) | 0.00 c | 0.00 c | 0.00 c | 0.00 c | 0.00 b |
| (OM + 1ml) | 0.00 c | 0.00 c | 0.00 c | 0.00 c | 0.00 b |
| (OM + 2ml) | 0.00 c | 0.00 c | 0.00 c | 0.00 c | 0.00 b |
| (OM + 3ml) | 0 | 0.00 c | 0.00 c | 0.00 c | 0.00 b |
| Tratamientos | 0.042 | 0.006 | 0.003 | 0.004 | 0.005 |
| R ² | 0.50 | 0.57 | 0.6 | 0.58 | 0.7 |
| CV (%) | 57.68 | 67.21 | 71.33 | 74.56 | 21.00 |

Es importante mencionar que la humedad relativa durante el experimento alcanzó un promedio de 65 % y temperaturas promedio de 24 °C (Figura 1), las cuales no favorecieron el desarrollo de la enfermedad. Según Hall (1991) los esclerocios germinan dentro de un rango de temperatura que oscila entre 10 y 35 °C, pero requieren una humedad relativa alta, cercana al 100 % lo cual no sucedió durante este experimento.

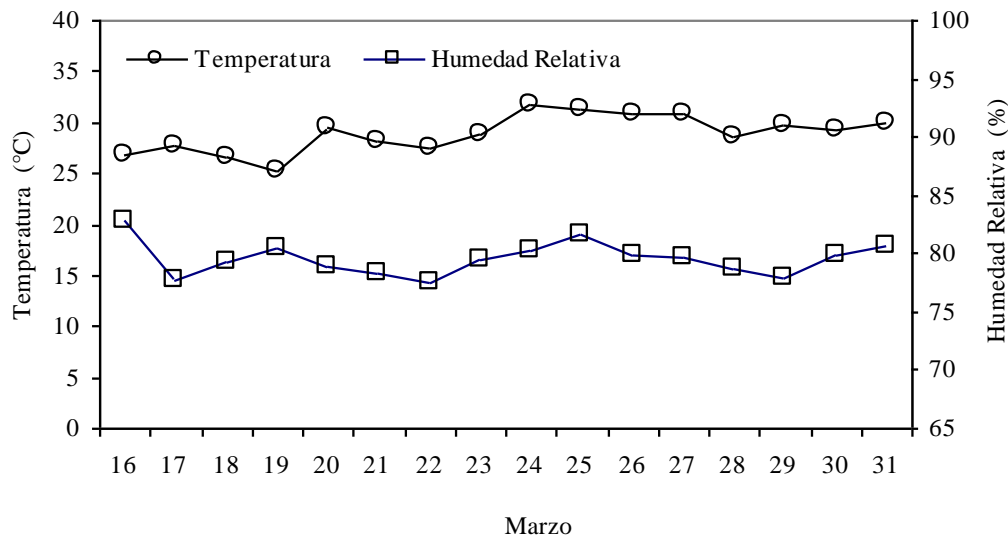


Figura 1. Promedios de temperatura (°C) y humedad relativa (%), durante el tiempo que duro el experimento en el invernadero. UNA, Managua, Nicaragua, 2004.

5.2.2 Reacción de germoplasma de frijol negro a la infección por tizón sureño (*Sclerotium rolfsii*) (DPAF)

5.2.2.1 Severidad de tizón sureño

Según Fuentes (1998) la capacidad del hospedante para impedir la invasión del inóculo recibe el nombre de resistencia y la pérdida de resistencia se llama susceptibilidad. Ninguno de los materiales mostró poseer resistencia absoluta a la infección por *Sclerotium rolfsii*. Al realizar el ANDEVA y separación de medias se encontró diferencias significativas entre los genotipos en las diferentes fechas de evaluación (anexo 3), utilizándose 3 ml del aislado AM los genotipos MN 13337-26, MN 13071-51, B 2059, MN 13074-4, INTA Cárdenas, B 2028 y B 2067 mostraron los menores niveles de infección. Por otro lado los genotipos NEGRO INIFAP seguido por el testigo presentaron la mayor severidad promedio (Figura 2).

Los primeros síntomas de tizón sureño se presentaron 5 días después de la inoculación con la cantidad de 3 ml del aislado AM, La severidad promedio en relación con el tiempo fue progresiva, pero la severidad en este ensayo fue relativamente baja como se puede observar en la Figura 2. Existen factores que influyen en la máxima y mínima expresión de infección, estando condicionados por la interacción de los factores como humedad relativa y temperatura con los aislados correspondientes (Agrios, 1998).

Cabe señalar que la humedad relativa durante el experimento alcanzó promedios de 65 % y temperaturas de 35 °C (Figura 4), es bastante probable que la temperatura en este caso ayudó al proceso infeccioso; sin embargo, la humedad relativa no aportó mucho ya que humedades mayores al 85 % se reportan como adecuadas para la infección de tizón sureño (CIAT, 1980).

Por lo común la infección, empieza como una lesión oscura que aparece sobre el tallo succulento en la superficie inferior del tallo, precisamente debajo de la línea del suelo, a menudo se observan, pegados al tejido del tallo cerca del suelo, abundante micelio y esclerocios blancos y gruesos (CIAT, 1981).

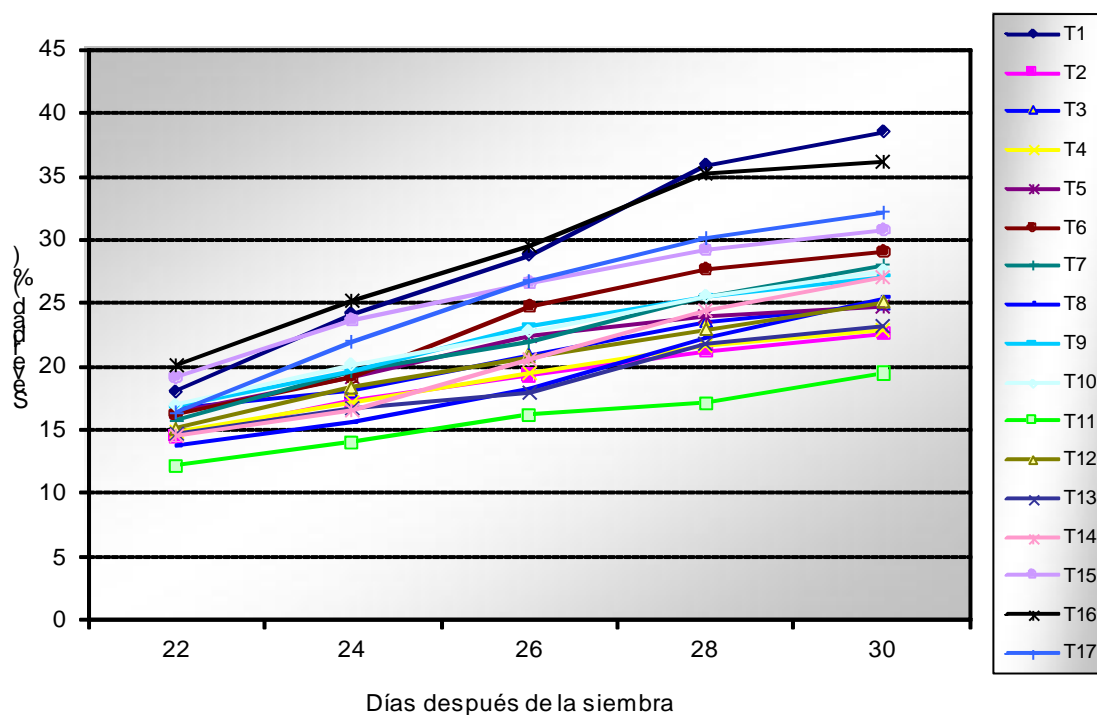


Figura 2. Curva de progreso de tizón sureño (*Sclerotium rolfsii*) en 16 genotipos de frijol negro (*Phaseolus vulgaris*) en diferentes momentos de evaluación. UNA Managua, 2004.

5.2.2.2 Área bajo de la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE)

Al igual que el ANDEVA de la severidad de tizón sureño, el análisis de varianza realizado para el área bajo la curva indica que existen diferencias significativas entre los tratamientos. La mayor área bajo la curva se observó en el genotipo NEGRO INIFAP seguido por el material testigo y los materiales MN 13336-38, MN 13332-38 y B 2056. Por otro lado la menor área debajo de la curva de progreso de enfermedad se observó en las líneas MN 13337-26, MN 13071-51, B 2059, MN 13074-4, INTA Cárdenas, B 2028 y B 2067 (Figura 3).

De acuerdo con el ABCPE los genotipos resistentes a la enfermedad tizón sureño corresponden a MN 13337-26, MN 13071-51, B 2059, MN 13074-4, INTA Cárdenas, B 2028 y B 2067 y los más susceptibles corresponden a NEGRO INIFAP MN 13336-38, MN 13332-38 y B 2056 en un nivel intermedio se ubican el resto de los materiales evaluados como se puede observar en la Figura 3. Es importante anotar que la resistencia o susceptibilidad de un genotipo es producto de la interacción entre el huésped, el patógeno y el ambiente (Cubrero, 1999).

Las plantas presentan cualidades inherentes a los patógenos que las hacen resistentes durante algunas etapas de su vida. A veces ocurre que el patógeno y el hospedero son incompatibles entre si (Mendoza y Benito, 1985), lo cual no sucedió en este experimento en donde todos los materiales mostraron algún grado de infección. En este caso se puede asegurar la presencia de resistencia general u horizontal en los materiales con menores niveles de infección.

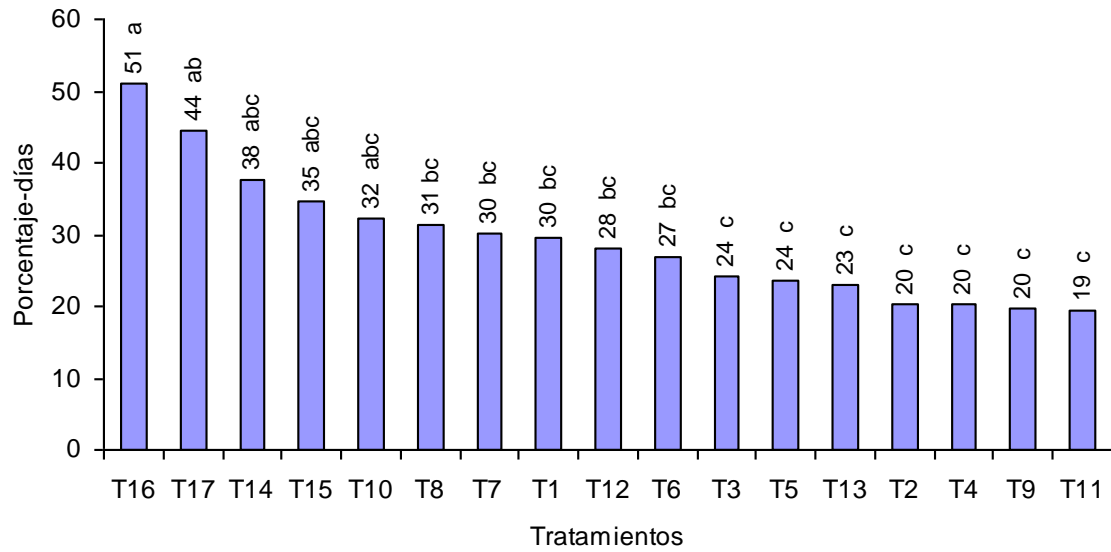


Figura 3. Área bajo la curva de progreso de enfermedad (ABCPE) para la enfermedad tizón sureño (*Sclerotium rolfsii*) en 16 genotipos de frijol negro; UNA Managua, 2004.

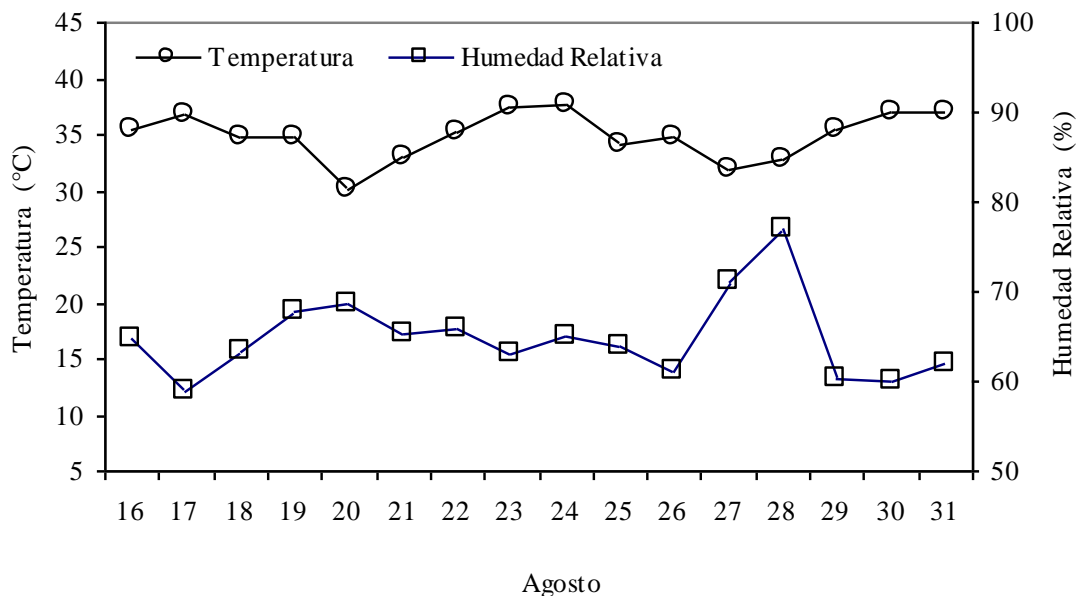


Figura 4. Promedios de temperatura (°C) y humedad relativa (%), durante el tiempo que duro el experimento en el invernadero. UNA, Managua, Nicaragua, 2004.

5.2.3 Reacción de germoplasma de frijol negro a la infección por tizón sureño (*Sclerotium rolfsii*) (REGEN)

5.2.3.1 Severidad de tizón sureño

En este experimento se presentaron resultados similares al experimento anterior excepto que en este caso solo cuatro de los siete genotipos caracterizados como resistentes mostraron similar reacción. El ANDEVA indica que hubo diferencias significativas entre los materiales en las diferentes fechas de muestreo (Anexo 4). Los más bajos niveles de infección se observaron en los tratamientos B 2028, INTA Cárdenas, MN 13074-4 y MN 13337-26. En cambio la mayor infección la mostraron los genotipos NEGRO INFAP, testigo, MN 13324-14 y MN 13326-48 (Figura 5).

La infección de tizón sureño comenzó a manifestarse a partir de los 5 días después de la inoculación, la que no detuvo su desarrollo. Una vez que el hongo entra en contacto con la planta, éste se ramifica muy rápidamente en los tejidos del tallo y de la raíz, dando lugar a la hidrólisis y muerte del tejido con antelación a la invasión. Varias enzimas hidrolíticas y

fitotoxinas son producidas por *S. rolfsii* y están presentes en el tejido infectado. (CIAT, 1994). Cabe mencionar que este efecto es progresivo a través del tiempo, razón por la cual la enfermedad fue agresiva a partir de la inoculación, detectándose los síntomas 5 días después (Figura 5).

Durante el desarrollo de este experimento la humedad relativa registró promedios de 85 % y temperaturas de 29 °C (Figura 7), lo cual puede haber aportado mucho al proceso de infección y colonización del hongo ya que humedades mayores al 85 % y temperaturas entre 10 y 35 °C se reportan como adecuadas para la infección de tizón sureño (Schwartz y Gálvez, 1980).

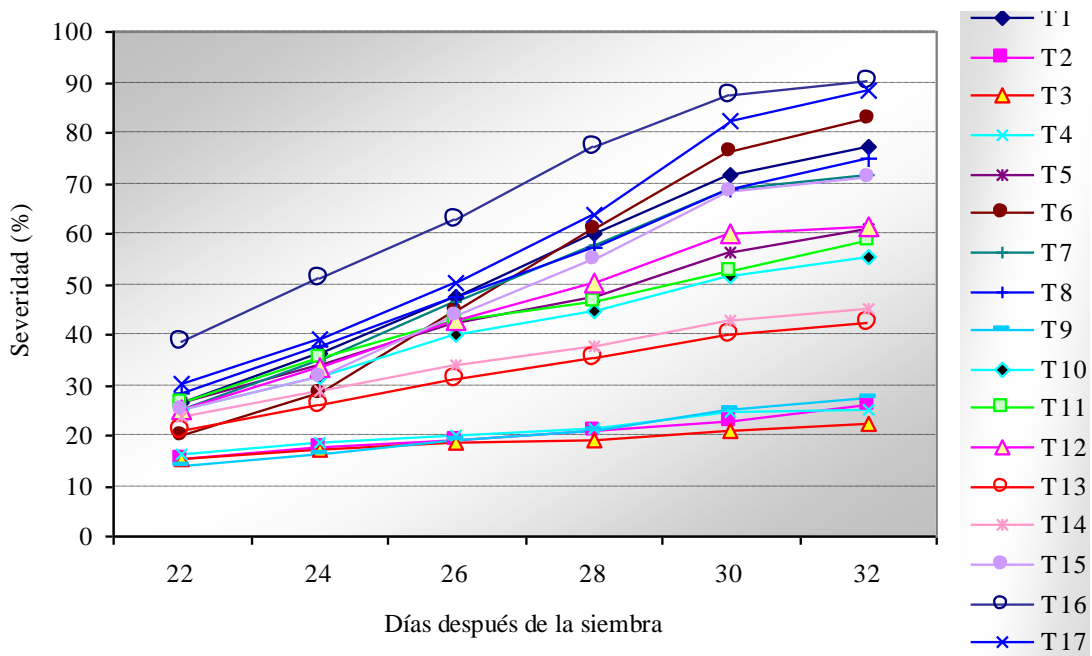


Figura 5. Curva de progreso de tizón sureño (*Sclerotium rolfsii*) en 16 genotipos de frijol negro (*Phaseolus vulgaris*) en seis momentos de evaluación; UNA Managua, 2005.

5.2.3.2 Área bajo de la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE)

Al igual que el ANDEVA de la severidad de la enfermedad tizón sureño, el análisis de varianza realizado al área debajo de la curva de progreso de enfermedad indica que hubo diferencias significativas entre los genotipos. Las líneas con menor área debajo de la curva fueron B 2028, INTA Cárdenas, MN 13074-4 y MN 13337-26 siendo iguales estadísticamente, manifestando ser resistentes al patógeno. El genotipo con mayor área debajo de la curva fue NEGRO INIFAP seguido por el testigo, MN 13324-14 y MN 13326-48 con lo cual demuestran ser los más susceptibles, el resto de los genotipos se encuentran en un nivel intermedio (Figura 6).

La resistencia poligénica es llamada resistencia horizontal y se caracteriza por reducir el progreso de la epidemia, pero no del inoculo inicial (Pastor – Corrales, 1985).

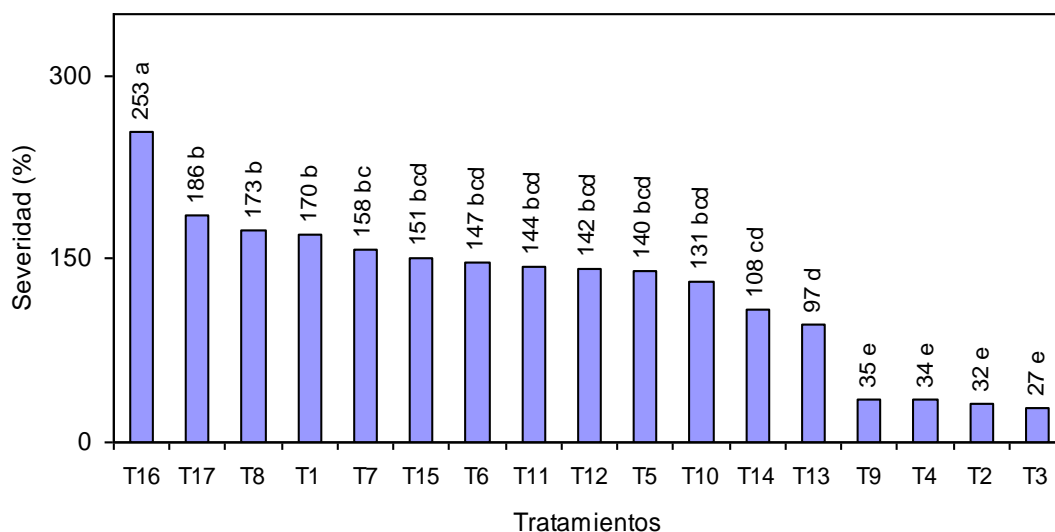


Figura 6. Área bajo la curva de progreso de enfermedad (ABCPE) para la enfermedad tizón sureño (*Sclerotium rolfsii*) en 16 genotipos de frijol negro; UNA Managua, 2005

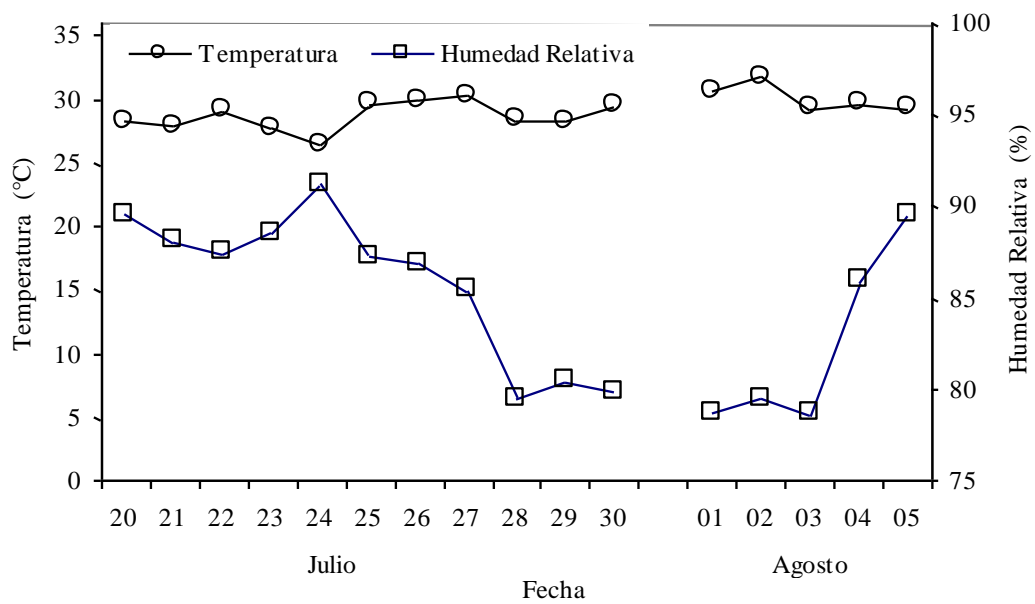


Figura 7. Promedios de temperatura (°C) y humedad relativa (%), durante el tiempo que duro el experimento en el invernadero. UNA, Managua, Nicaragua, 2005.

VI. CONCLUSIONES

El análisis e interpretación de los resultados obtenidos en el presente estudio permite emitir las siguientes conclusiones:

- En la evaluación del material susceptible, la severidad no presentó efecto significativo en cuanto a los aislados y dosis de inóculos, no así la interacción que resultó significativa. El mayor grado de infección de tizón sureño en el material susceptible se logró aplicando 2 y 3 ml de solución de inóculo con el aislado Arenal Masatepe.
- De los 16 genotipos de frijol negro evaluados utilizando 3 ml del aislado AM se identificaron los cultivares MN 13337-26, MN 13071-51, B 2059, MN 13074-4, INTA Cárdenas, B 2028 y B 2067, con los menores niveles de infección por *Sclerotium rolfsii*. Los materiales NEGRO INIFAP, Testigo, MN 13336-38, MN 13332-38 y B 2056 presentaron el mayor grado de susceptibilidad a la infección por el hongo, y el resto de los materiales se ubicaron en un nivel intermedio.
- El mayor grado de resistencia utilizando 3 ml del aislado AM, se observó en los materiales B2028, INTA Cárdenas, MN 13074-4 y MN 13337-26. Los genotipos que lograron el mayor nivel de severidad corresponden a NEGRO INIFAP, Rojo criollo, MN 13324-14 y MN 13326-48 con un nivel intermedio de severidad en cuanto al resto de materiales evaluados.
- La humedad relativa en la prueba de susceptibilidad alcanzó promedios bajos y temperatura que no favorecieron el desarrollo de la enfermedad. Por otro lado, la alta humedad relativa y temperatura, contribuyeron al desarrollo de la infección por tizón sureño en la evaluación de los 16 genotipos.

VII. RECOMENDACIONES

- Realizar evaluaciones en invernaderos que presten las condiciones adecuadas de temperatura y humedad relativa.
- Evaluar aislados de zonas donde se presente la enfermedad con mayor frecuencia como es el caso de Chinandega y otros departamentos como Estelí y Carazo.
- Corroborar los resultados obtenidos en viveros o invernaderos con experimentos de campo para determinar si la tolerancia es efectiva.

VIII. BIBLIOGRAFIA

Agrios, G. N. 1996. Fitopatología. Editorial Limusa. S. A de CV. Grupo Noriega Editores, México, D. F; pp 126-128.

Abawi, G. S. 1994. Pudriciones radiculares. En CIAT (ed.). Problemas de producción de frijol en los trópicos, pp121-184.

Barnett, H. L & Hunter, B. B. 1999. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. APS PRESS. The American Phytopathological Society. Minnesota, USA. 217 p.

CIAT. 1980. Centro Internacional de Agricultura Tropical. Problemas de producción de frijol. Enfermedades, insectos, limitaciones edáficas y climáticas de *Phaseolus vulgaris*. 424 p.

CIAT. 1981. pudriciones radicales de frijol y su control. Guía de estudio para ser usada como complemento de la unidad auditorial sobre el mismo tema. Centro Internacional de Agricultura Tropical. Cali, Colombia. 52 p.

CIAT. 1987. Sistema Estándar para la Evaluación de Germoplasma de frijol. Schoonhoven, A y Corrales M. (Copiladores). Cali, Colombia. 56 p.

CIAT. 1994. Problemas de producción de frijol en los trópicos. 2ed. Pastor- Corrales, M y Schwartz, H.F (eds). Cali, Colombia. 805 p.

Campbell C. L. & Laurence V. M. 1990. Introduction to plant disease epidemiology. pp 192-194.

Castaña Zapata, J & Mendoza, L. 1994. Guía para el diagnostico y control de enfermedades en el cultivo de importancia económica. Ed, Zamorano Academic Press. Honduras C.A. 290 p.

Corrales, M. 1991. Enfermedades causadas por hongos. En: frijol, Investigación y producción. Editado por López, M; Fernández, F. y Van Schoonhoven, A. CIAT. Cali, Colombia. pp 169-170.

Cubrero, J. 1999. Introducción a la mejora genética vegetal. Madrid, España. Ediciones Mundi-Prensa. pp 262-266.

Fuentes, J. 1998. Botánica Agrícola. 5^o edición. Madrid, España. Ediciones Mundi – Prensa. pp 237-238.

FNI (Fondo Nicaragüense de Inversiones). 1993. Manual técnico financiero para el cultivo del frijol negro. Managua, Nicaragua. 45 p.

González, L. C. 1981. Introducción a la Fitopatología. 1ed. San José, Costa Rica. IICA. 148 p.

Hall, R. 1991. Compendium of bean diseases. APS PRESS. The American Phytopathology Society. Minnesota, USA. 71 p.

INETER. 2004. Departamento de Estadística de Meteorología. Managua, Nicaragua.

IICA. 2004. Estudio de la Comercialización de frijol rojo. Editora EDITARTE. 3 p.

INTA. 1995. Guía tecnológica del cultivo del frijol No. 3. Managua, Nicaragua. 11 p.

INTA. 2002. Boletín Informativo cultivo de frijol. Managua, Nicaragua. 25 p.

INTA. 2004. Cultivando frijol con menos riesgos. 2ed, PASA/DANIDA. Managua, Nicaragua. 39 p.

Jarvis, W. R. 1998. Control de enfermedades en cultivos de invernaderos. The American Phytopathological Society. Ediciones Mundi-Prensa. USA. 334 p.

Mendoza, C. Z. & Pinto, C. B 1985. Principios de fitopatología y enfermedades causadas por hongos. Ed, Imprenta Universitaria de la U.A.CH. Chapingo, México. 311 p.

MAG. 1992. El frijol común. Guía Técnica. NIBS. Managua, Nicaragua. 59 p.

Ocón, P y Tapia, B. H. 1985. Dinámica de la transmisibilidad de inóculos fungosos en semilla de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.). CENIDA. UNA. Managua, Nicaragua. 24 p.

Ospina, J. E & Aldana, N. 1998. Producción Agrícola En: Enciclopedia Agropecuaria, Terranova Editores Ltda. Santa Fe de Bogota, Colombia. pp 130-133.

Pastor- Corrales, M. 1985. Conceptos básicos sobre patología del frijol. En Fernández, F y Schoonhoven, A. Frijol: Investigación y Producción. CIAT. Cali, Colombia. 184 p.

PROMESA. 2001. Proyecto de frijol negro, Nicaragua INTA, Managua, Nicaragua. 45 p.

Rosas, J. 1998. El cultivo de frijol en América Tropical. Zamorano, Honduras. El Zamorano Academic Press. 184 p.

Shaner, G & Finney, R. E. 1977. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow mildewing resistance in Knox wheat. *Phytopathology*. pp 1051-1056.

Schoonhoven, A y Voysest, O. 1994. El frijol común en América latina y sus limitaciones. En Pastor Corrales y Schwartz, H. Problemas de la producción de frijol en los trópicos. 2º Edición, CIAT. Cali, Colombia. 42 p.

Schoonhoven, A y Pastor – Corrales, M. 1987. Sistema estándar para la evaluación de germoplasma de frijol común. CIAT. Cali Colombia. 46 p.

Tapia, B. H. y Camacho. 1998. Manejo integrado en la producción de frijol basado en labranza cero. 1 ed. GTZ. Managua, Nicaragua. 417 p.

UNA. 2004. Laboratorio de Microbiología. DPAF/UNA. Managua, Nicaragua.

Verissimo, L. 1999. Leguminosas de grano En: Enciclopedia Práctica de la Agricultura y la Ganadería. OCEANO grupo editorial, S.A, Barcelona España. pp 356-358

IX. ANEXOS

Anexo 1. Significación estadística ($Pr>F$) en las fuentes de variación y separación de medias en la variable área bajo la curva en cinco momentos de evaluación, UNA Managua, 2004.

| Tratamiento | AUDCP | Severidad (%) | | | | |
|----------------|------------|---------------|--------|----------|---------|----------|
| | | 22 DDS | 24 DDS | 26 DDS | 28 DDS | 30 DDS |
| T16 | 50.933 a | 0.8 ab | 2.4 a | 7.5 a | 13.2 a | 14.0 a |
| T17 | 44.367 ab | 0.9 ab | 3.0 a | 5.6 ab | 8.1 bc | 9.0 abcd |
| T14 | 37.700 abc | 1.5 ab | 2.1 a | 4.0 abcd | 8.3 abc | 8.6 bcd |
| T15 | 34.767 abc | 0.7 ab | 2.2 a | 3.8 abcd | 6.1 bcd | 7.5 bcd |
| T10 | 32.233 abc | 1.2 ab | 2.9 a | 4.2 abcd | 5.3 cd | 7.8 bcd |
| T8 | 31.200 bc | 0.2 b | 1.7 a | 5.7 ab | 7.8 bc | 9.0 abcd |
| T7 | 30.033 bc | 0.5 ab | 2.6 a | 4.4 abcd | 7.8 bcd | 11.1 ab |
| T1 | 29.567 bc | 0.9 ab | 2.9 a | 5.2 abc | 10.3 ab | 10.3 abc |
| T12 | 28.033 bc | 0.7 ab | 2.3 a | 2.8 bcd | 4.2 cd | 7.5 bcd |
| T6 | 26.933 bc | 1.2 ab | 2.0 a | 4.5 abcd | 5.3 cd | 5.3 cd |
| T3 | 24.233 c | 2.0 a | 2.8 a | 3.6 bcd | 4.1 cd | 5.0 d |
| T5 | 23.567 c | 0.5 ab | 2.2 a | 3.5 bcd | 6.1 bcd | 7.5 bcd |
| T13 | 22.967 c | 0.4 ab | 0.7 a | 1.4 d | 4.8 cd | 6.6 bcd |
| T2 | 20.400 c | 1.1 ab | 2.5 a | 3.6 bcd | 3.6 cd | 4.1 d |
| T4 | 20.300 c | 0.9 ab | 2.3 a | 2.8 bcd | 4.1 cd | 5.0 d |
| T9 | 19.733 c | 0.4 ab | 1.2 a | 2.3 bcd | 2.8 d | 5.0 d |
| T11 | 19.300 c | 0.1 b | 0.4 a | 1.8 cd | 3.5 cd | 5.8 cd |
| Bloque | 0.1353 | 0.7217 | 0.4337 | 0.0543 | 0.0925 | 0.0790 |
| Tratamiento | 0.0953 | 0.8435 | 0.9359 | 0.2006 | 0.0129 | 0.0301 |
| R ² | 0.50 | 0.24 | 0.22 | 0.47 | 0.58 | 0.55 |
| CV (%) | 40.31 | 127.37 | 85.58 | 56.38 | 47.96 | 40.68 |
| DMS | 19.573 | 1.0869 | 3.0729 | 3.7144 | 4.9831 | 5.1391 |

Nota: Promedios con igual letra no difieren estadísticamente ($LSD_{\alpha=0.05}$)

DDS: Días después de la siembra.

Anexo 2. Significación estadística ($P > F$) en las fuentes de variación y separación de medias en la variable área bajo la curva en seis momentos de evaluación, UNA Managua, 2005.

| Tratamiento | AUDCP | Severidad (%) | | | | | |
|----------------|------------|---------------|---------|---------|---------|-----------|----------|
| | | 22 DDS | 24 DDS | 26 DDS | 28 DDS | 30 DDS | 32 DDS |
| T16 | 253.13 a | 7.3 a | 14.2 a | 21.6 a | 29.9 a | 37.1 a | 39.8 a |
| T17 | 185.60 b | 4.4 ab | 7.8 abc | 13.3b | 19.1b | 31.6 ab | 37.3 ab |
| T8 | 173.30 b | 4.0 ab | 9.1 ab | 13.1 b | 18.4 bc | 27.3 bcde | 33.3 bc |
| T1 | 170.00 b | 2.9 ab | 6.7 bc | 11.3 b | 19.8 b | 29.2 bc | 32.8 bc |
| T7 | 157.63 bc | 3.6 ab | 6.7 bc | 11.3 b | 17.9 bc | 26.5 bcde | 29.0 cde |
| T15 | 151.33 bcd | 1.9 b | 4.5 bc | 10.3 bc | 16.9 bc | 27.5 bcd | 30.8 cd |
| T6 | 146.63 bcd | 0.6 b | 2.5 bc | 8.6b cd | 16.5 bc | 28.2 bc | 34.0 abc |
| T11 | 143.67 bcd | 3.9 ab | 8.9 ab | 13.5 b | 15.8 bc | 20.3 efg | 22.5 fg |
| T12 | 142.24 bcd | 3.7 ab | 7.4 abc | 11.9 b | 15.2 bc | 22.6 cdef | 24.0 efg |
| T5 | 139.67 bcd | 4.0 ab | 7.6 abc | 12.1 b | 14.3 bc | 21.1 def | 25.0 def |
| T10 | 131.10 bcd | 3.2 ab | 6.9 abc | 12.5 b | 14.5 bc | 18.8 fg | 22.3 fg |
| T14 | 108.30 cd | 3.4 ab | 6.3 bc | 9.4 bcd | 11.6 c | 15.8 fg | 18.3 gh |
| T13 | 96.90 d | 2.4 b | 5.7 bc | 8.7 bcd | 11.3 c | 13.7 g | 15.3 h |
| T9 | 34.60 e | 0.4 b | 1.2 c | 2.7 cd | 3.5 d | 6.1 h | 7.0 i |
| T4 | 34.40 e | 0.7 b | 1.8 bc | 3.0 cd | 3.5 d | 5.3 h | 6.1 i |
| T2 | 31.60 e | 0.4 b | 1.5 c | 2.1 d | 3.5 d | 5.0 h | 6.6 i |
| T3 | 27.30 e | 0.4 b | 1.2 c | 2.6 cd | 2.9 d | 4.2 h | 4.8 i |
| Bloque | 0.2278 | 0.7856 | 0.9065 | 0.2971 | 0.0591 | 0.0138 | 0.8750 |
| Tratamiento | 0.0001 | 0.1683 | 0.0647 | 0.0012 | 0.0001 | 0.0001 | 0.0001 |
| R ² | 0.83 | 0.43 | 0.48 | 0.65 | 0.81 | 0.90 | 0.93 |
| CV (%) | 28.07 | 94.17 | 74.02 | 47.1 | 31.4 | 21.0 | 16.5 |
| DMS | 58.415 | 4.41 | 7.2883 | 7.7699 | 7.2275 | 7.0288 | 6.3125 |

Nota: Promedios con igual letra no difieren estadísticamente (LSD $\alpha=0.05$)

DDS: Días después de la siembra.

Anexo 3. Comparación de valores promedios (%) para la variable severidad de tizón sureño (*Sclerotium rolfsii*) bajo condiciones de invernadero. Managua, Nicaragua 2004.

| Tratamiento | Severidad (%) | | | | |
|----------------|---------------|-----------|----------|------------|----------|
| | 22 DDS | 24 DDS | 26 DDS | 28 DDS | 30 DDS |
| T16 | 38.5 a | 51.1 a | 62.9 a | 77.0 a | 87.4 a |
| T17 | 31.1 ab | 38.8 b | 48.8 b | 63.3 b | 82.2 ab |
| T8 | 28.1 bc | 37.7 bc | 47.4 b | 57.0 bcde | 68.8 cd |
| T1 | 26.6 bc | 36.2 bc | 47.4 b | 60.0 bc | 71.8 bc |
| T11 | 26.6 bc | 35.5 bc | 42.9 bc | 46.6 efg | 52.5 ef |
| T5 | 26.6 bc | 34.0 bc | 42.2 bcd | 47.4 defg | 56.2 e |
| T12 | 25.1 bcd | 33.3 bc | 42.5 bc | 50.3 cdef | 59.9 de |
| T10 | 25.1 bcd | 31.8 bc | 40.0 bcd | 44.4 fgh | 51.8 ef |
| T15 | 25.1 bcd | 31.8 bc | 43.7 bc | 54.8 bcdef | 68.1 cd |
| T7 | 25.1 bcd | 34.8 bc | 46.6 b | 57.7 bcd | 68.8 cd |
| T14 | 23.7 bcde | 28.8 bcd | 34.0 cd | 37.7 gh | 42.9 fg |
| T13 | 20.7 cde | 25.9 cde | 31.1 de | 35.5 h | 40.0 g |
| T6 | 20.0 cde | 28.1 bcde | 44.4 bc | 60.7 bc | 76.2 abc |
| T4 | 16.3 de | 18.5 de | 20.0 ef | 21.4 i | 24.4 h |
| T3 | 15.5 de | 17.0 de | 18.5 f | 19.2 i | 20.7 h |
| T2 | 15.5 de | 17.7 de | 19.2 f | 20.7 i | 22.9 h |
| T9 | 14.0 e | 16.2 e | 19.2 f | 20.7 i | 25.1 h |
| Bloque | 0.9727 | 0.6607 | 0.0521 | 0.0241 | 0.0986 |
| Tratamiento | 0.0016 | 0.0001 | 0.0001 | 0.0001 | 0.0001 |
| R ² | 0.63 | 0.72 | 0.85 | 0.91 | 0.94 |
| CV (%) | 24.48 | 23.21 | 17.55 | 14.36 | 12.46 |
| DMS | 9.78 | 11.889 | 11.306 | 10.98 | 11.287 |

Nota: Promedios con igual letra no difieren estadísticamente (LSD $\alpha=0.05$)

DDS: Días después de la siembra.

Anexo 4. Comparación de valores promedios (%) para la variable severidad de tizón sureño (*Sclerotium rolfsii*) bajo condiciones de invernadero. Managua, Nicaragua 2004.

| Tratamiento | Severidad (%) | | | | | |
|----------------|---------------|-----------|----------|------------|----------|---------|
| | 22 DDS | 24 DDS | 26 DDS | 28 DDS | 30 DDS | 32DDS |
| T16 | 38.5 a | 51.1 a | 62.9 a | 77.0 a | 87.4 a | 90.3 a |
| T17 | 31.1 ab | 38.8 b | 48.8 b | 63.3 b | 82.2 ab | 87.7 a |
| T8 | 28.1 bc | 37.7 bc | 47.4 b | 57.0 bcde | 68.8 cd | 74.8 bc |
| T1 | 26.6 bc | 36.2 bc | 47.4 b | 60.0 bc | 71.8 bc | 77.0 bc |
| T11 | 26.6 bc | 35.5 bc | 42.9 bc | 46.6 efg | 52.5 ef | 58.5 e |
| T5 | 26.6 bc | 34.0 bc | 42.2 bcd | 47.4 defg | 56.2 e | 60.7 e |
| T12 | 25.1 bcd | 33.3 bc | 42.5 bc | 50.3 cdef | 59.9 de | 61.4 de |
| T10 | 25.1 bcd | 31.8 bc | 40.0 bcd | 44.4f gh | 51.8 ef | 55.5 e |
| T15 | 25.1 bcd | 31.8 bc | 43.7 bc | 54.8 bcdef | 68.1 cd | 71.1 cd |
| T7 | 25.1 bcd | 34.8 bc | 46.6 b | 57.7 bcd | 68.8 cd | 71.8 c |
| T14 | 23.7 bcde | 28.8 bcd | 34.0 cd | 37.7 gh | 42.9 fg | 45.1 f |
| T13 | 20.7 cde | 25.9 cde | 31.1 de | 35.5 h | 40.0 g | 42.2 f |
| T6 | 20.0 cde | 28.1 bcde | 44.4 bc | 60.7 bc | 76.2 abc | 82.9 ab |
| T4 | 16.3 de | 18.5 de | 20.0 ef | 21.4 i | 24.4 h | 25.1 g |
| T3 | 15.5 de | 17.0 de | 18.5 f | 19.2 i | 20.7 h | 22.2 g |
| T2 | 15.5 de | 17.7 de | 19.2 f | 20.7 i | 22.9 h | 25.9 g |
| T9 | 14.0 e | 16.2 e | 19.2 f | 20.7 i | 25.1 h | 27.4g |
| Bloque | 0.9727 | 0.6607 | 0.0521 | 0.0241 | 0.0986 | 0.4040 |
| Tratamiento | 0.0016 | 0.0001 | 0.0001 | 0.0001 | 0.0001 | 0.0001 |
| R ² | 0.63 | 0.72 | 0.85 | 0.91 | 0.94 | 0.95 |
| CV (%) | 24.48 | 23.21 | 17.55 | 14.36 | 12.46 | 10.36 |
| DMS | 9.78 | 11.889 | 11.306 | 10.98 | 11.287 | 9.9921 |

Nota: Promedios con igual letra no difieren estadísticamente (LSD $\infty=0.05$)

DDS: Días después de la siembra.