

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

FACULTAD DE AGRONOMÍA



**“INCORPORACIÓN DE BIOMASA DE *Lemna minor* Y SU
EFECTO EN LA INCIDENCIA DE *Rhizoctonia solani* EN
FRIJOL COMÚN”**

Presentado por:

AUGUSTO CHANG YUI

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE

INGENIERO AGRÓNOMO

Lima - Perú

2018

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

FACULTAD DE AGRONOMIA

**“INCORPORACIÓN DE BIOMASA *Lemna minor* Y SU
EFECTO EN LA INCIDENCIA DE *Rhizoctonia solani* EN
FRIJOL COMÚN”**

Presentado Por:

AUGUSTO CHANG YUI

Tesis para optar el Título de:

INGENIERO AGRÓNOMO

Sustentada y Aprobada ante el siguiente jurado:

Dr. Felix Camarena Mayta
Presidente

Dra. Luz Leonor Mattos Calderón
Miembro

Dr. Sady Javier Garcia Bendezú
Miembro

Ing. Mg. Sc. Carlos Cadenas Giraldo
Patrocinador

LIMA – PERÚ
2018

AGRADECIMIENTOS

A mi patrocinador Carlos Alberto Cadenas Giraldo por su guía y paciencia en todas las etapas de esta tesis y por su estimulación a la investigación.

A los miembros del jurado por su guía y contribución a la investigación.

ÍNDICE

RESUMEN.....	i
I. INTRODUCCION	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1. El frijol.....	3
2.1.1. Origen e historia	3
2.1.2. Importancia	3
2.1.3. Taxonomía	4
2.1.4. Fenología del cultivo	4
2.1.5. Manejo agronómico	6
2.2. <i>Rhizoctonia solani</i>	8
2.2.1. Alternativas al control químico de poblaciones de patógenos del suelo	10
2.2.2. La Biofumigación	10
2.2.3. Potencial biofumigante de las plantas acuáticas.....	15
III. METODOLOGÍA.....	20
3.1. Lugares de ejecución	20
3.2. Fase de laboratorio.....	20
3.2.1. Aislamiento e identificación de <i>Rhizoctonia solani</i> a partir de plantas de frijol en campos de la UNALM	20
3.2.2. Multiplicación de <i>Rhizoctonia solani</i> en trigo.....	23
3.3. Fase de campo o tinglado.....	23
3.3.1. Preparación de sustrato.....	23
3.3.2. Inoculación de <i>Rhizoctonia solani</i> en el sustrato.....	24
3.3.3. Recolección y multiplicación de <i>Lemna minor</i>	25
3.3.4. Incorporación de <i>Lemna minor</i>	25
3.3.5. Instalación de los sustratos en las macetas para la siembra de frijol	27
3.3.6. Prueba de germinación de las semillas de frijol	28
3.3.7. Siembra de frijol en las macetas	28
3.3.8. Evaluaciones realizadas en la fase de campo	28
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	31
4.1. Fase de laboratorio.....	31
4.1.1. Aislamiento e identificación de <i>Rhizoctonia solani</i> de las plantas de frijol de la UNALM.....	31

4.2. Fase de campo.....	32
4.2.1. Temperaturas del sustrato en los tratamiento durante el proceso de descomposición de <i>L. minor</i>	32
4.2.2. Análisis de fertilidad de suelo.....	35
4.2.3. Obtención del área bajo la curva de progreso de la enfermedad	38
4.2.4. Reaislamiento e identificación de <i>R. solani</i> de las plantas de frijol proveniente del experimento	41
4.2.5. Rendimiento.....	41
V. CONCLUSIONES	48
VI. RECOMENDACIONES.....	49
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	50
VIII. ANEXOS	62

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1: Fases del cultivo del genero Phaseolus.....	5
Cuadro 2: Exigencias nutricionales del fríjol	7
Cuadro 3: Actividad biológica de los metabolitos secundarios de las diferentes especies de Azolla.....	17
Cuadro 4: Tratamientos que se emplearon en la evaluación del efecto de la incorporación de L. minor en la incidencia de enfermedades causadas por R. solani en frijol.	25
Cuadro 5: Promedios de la temperatura del suelo del factor incorporación de residuos de brócoli dependiente de la incorporación de estiércol de equino y solarización y prueba de Tukey al 0.05 de probabilidad.....	33
Cuadro 6: Análisis de fertilidad de suelo en todos los tratamientos después transcurrido 30 días después de la enmienda de Lemna minor	35
Cuadro 7: Análisis de agua proveniente la UNALM	36
Cuadro 8: Promedios de incidencia ocasionada por Rhizoctonia solani en los diferentes tratamientos a los 22 días después de la siembra y prueba de comparación de Tukey al 0.05 de probabilidad.....	37
Cuadro 9: Promedios del área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE) del factor incorporación de Lemna minor en diferente dosis y prueba de Tukey al 0.05 de probabilidad.....	39
Cuadro 10: Promedios de peso seco y de la altura de planta del cultivo de frijol por cada tratamiento y prueba de Tukey al 0.05 de probabilidad.....	43
Cuadro 11: Comparación significativa de altura de plantas entre tratamientos y prueba de Tukey al 0.005 de probabilidad.....	46

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: A: Plántulas de frijol de diferentes campos experimentales de la universidad agraria la molina B: Planta con amarillamiento en las hojas causados por la <i>R. Solani</i>	21
Figura 2: A: Planta de frijol con canchros causados por <i>R. solani</i> (fig. derecha) B: Tejidos extraídos(Figura de la izquierda).	22
Figura 3: Partes de tejidos desinfectadas y secas son sembradas en placas Petri con medio Papa Dextrosa Agar (PDA).	22
Figura 4: Colocación del sustrato estéril en las terrinas	24
Figura 5: Incorporación de Lemna minor a diferentes dosis	26
Figura 6: Instalación de los sustratos en las macetas para la siembra de frijol	27
Figura 7: Croquis de los seis bloques experimentales instalados en el tinglado del Departamento Académico de Fitopatología de la Facultad de Agronomía de la UNALM.	27
Figura 8: Hifas con ramificación en ángulo de 90° de <i>Rhizoctonia solani</i>	31
Figura 9: Promedio de temperatura de los diferentes tratamientos	33
Figura 10: Temperaturas registradas del suelo en los diferentes tratamientos	34
Figura 11: Incidencia de <i>R. solani</i> en el cultivo de frijol en cada uno de los cinco tratamientos.	38
Figura 12: Promedios del área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE) del factor incorporación de Lemna minor en diferente dosis y prueba de Tukey ($\alpha=0.05$).....	39
Figura 13: Promedio del peso seco de la planta de frijol por tratamiento	42
Figura 14: Promedio de la altura total del cultivo de frijol por tratamiento	46

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Prueba de germinación de las semillas de frijol	62
Anexo 2: Análisis de variancia de la temperatura del suelo en el período de instalación de los tratamientos en el campo	63
Anexo 3: Datos originales de la incidencia de Rhizoctonia solani del suelo en el cultivo de frejol	64
Anexo 4: Área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE) causada por Rhizoctonia solani en el cultivo de frejol.....	65
Anexo 5: Análisis de variancia para la incidencia causada por Rhizoctonia solani en el cultivo de frejol	66
Anexo 6: Análisis de variancia para el área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE) causada por Rhizoctonia solani en el cultivo de frejol	67
Anexo 7: Análisis de variancia para el % promedio de materia seca de la hoja del cultivo de frejol	68
Anexo 8: Análisis de variancia para el % promedio de materia seca de la raíz del cultivo de frejol	69
Anexo 9: Análisis de variancia para el % promedio de materia seca del tallo del cultivo de frejol.	70
Anexo 10: Análisis de variancia para el promedio de altura del cultivo de frejol	71

RESUMEN

El uso de abonos verdes en el proceso de compostaje en el interior del suelo mediante los procesos de biofumigación, favorece el control de agentes fitopatógenos en función de la temperatura, tiempo, microorganismos implicados, plantas empleadas y características del suelo. Esta investigación tuvo por objetivo evaluar el efecto de biodesinfección del suelo con la incorporación de la lenteja de agua (*Lemna minor*) como abono verde en la incidencia de las enfermedades causadas por *Rhizoctonia solani* en el rendimiento en el cultivo del frijol (*Phaseolus vulgaris*). Previo al ensayo se dispuso de un aislamiento de *Rhizoctonia solani* para su inoculación en un sustrato estéril al que posteriormente fue incorporado diferentes cantidades de *Lemna minor* como abono verde. Este trabajo determinó la eficacia de la biofumigación en el control del hongo causante de pudrición de tallo a nivel de cuello en plántulas recién emergidas en el cultivo de frijol en macetas, empleando cinco tratamientos; T1: Suelo estéril sin incorporación de *Lemna minor* o testigo, T2 Suelo con *Rhizoctonia solani* sin incorporación de *Lemna minor*, T3: Suelo con *Rhizoctonia solani* con 25 t/ha de *Lemna minor*, T4 Suelo con *Rhizoctonia solani* con 50 t/ha de *Lemna minor*, T5 Suelo con *Rhizoctonia solani* con 75 t/ha de *Lemna minor*. El uso de la dosis de 75 t/ha de *Lemna minor* fue la que obtuvo mejores resultados en la altura de planta, acumulación de materia seca y en la reducción de la incidencia de *Rhizoctonia solani* en frijol a diferencia de los otras dosis.

Palabras Claves: Biofumigación, *Phaseolus vulgaris*, biodesinfección, *Rhizoctonia solani*, *Lemna minor*.

I. INTRODUCCION

La rentabilidad del cultivo de frijol es afectada principalmente por las enfermedades fungosas causadas por patógenos como *Rhizoctonia solani*, el cual puede infectar desde las etapas de siembra, germinación y emergencia comprometiendo seriamente el desarrollo posterior del cultivo. El control químico principalmente es realizado a nivel de semilla, sin embargo, uno de los problemas observados en la aplicación de estos productos en campañas continuas, es la reducción de su eficacia; por lo cual se debe implementar otras medidas de control que sean más sostenibles a través del tiempo. Una de las alternativas propuestas en la actualidad es la biodesinfección del suelo basada en la incorporación de abonos verdes o de residuos vegetales, que, además de ejercer un control directo de los patógenos habitantes de los suelos, mejora el equilibrio microbiológico del mismo.

Uno de las ventajas de la biodesinfección del suelo con la incorporación de enmiendas orgánica es que puede ser beneficioso por su bajo costo, tal es el caso de utilizar como enmienda a *Lemna minor* conocido comúnmente como “lenteja de agua”, que es una planta acuática flotante e invasora de las reservas de agua naturales, y que, por su alto contenido proteico (40 %) es utilizado como forraje de diversas especies ganaderas en varios países. Esta macrofitas acuática puede ser utilizada con alta eficacia para mejorar la calidad nutricional de los suelos por su alto contenido de nitrógeno y paralelamente también combatir las altas poblaciones de los fitopatógenos que pueden albergarse en diversos suelos y sustratos agrícolas.

En el presente trabajo de investigación se planteó la incorporación de diferentes dosis de *Lemna minor* como enmienda orgánica para evaluar su efecto la incidencia de enfermedades causadas por *Rhizoctonia solani* en frijol y evaluar su efecto en el crecimiento y desarrollo de las plantas de frijol, esperando que la dosis de 75 t/ha permita obtener un efecto en la biodesinfección del suelo de *Rhizoctonia solani*.

- Objetivo general

Evaluar el efecto de la incorporación de biomasa fresca de la lenteja de agua sobre la incidencia de enfermedades ocasionadas por *Rhizoctonia solani* en el cultivo de frijol a nivel de tinglado.

- Objetivos específicos

1. Evaluar el efecto de la incorporación de tres dosis (25 t/ha; 50 t/ha y 75 t/ha) de *Lemna minor*, sobre la incidencia de enfermedades causadas por *Rhizoctonia solani* en el cultivo de frijol.
2. Evaluar el efecto de la incorporación de las tres dosis en el crecimiento del cultivo de frijol determinadas por la altura de planta y producción de materia seca.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. El frijol

2.1.1. Origen e historia

El frijol es uno de los cultivos más antiguos conocidos por el hombre que ha formado parte importante de la dieta humana desde tiempos remotos y tiene su centro de origen en la región de Mesoamérica, particularmente en el occidente y sur de México, y que hubo dos centros de domesticación: uno primario (Mesoamérica) y otro secundario (Sur Andino). La selección hecha por las culturas precolombinas generó un gran número de diferentes formas y, en consecuencia, también de diferentes nombres comunes dentro de los que destacan los de frijol, poroto, alubia, judía, frijol, nuña, habichuela, vainita, caraota y feijao. Los primeros exploradores y comerciantes europeos llevaron posteriormente las variedades del frijol americano a todo el mundo y a principios del siglo XVII, ya eran cultivos populares en Europa, África y Asia (Hernández *et al.*, 1991).

2.1.2. Importancia

Diversos autores (Ortega, 1991; Kohashi, 1996; Castellanos *et al.*, 1997; Serrano y Goñi, 2004), han destacado las propiedades nutritivas que posee el fríjol, de manera fundamental por su alto contenido en proteínas y en menor medida en carbohidratos. Los resultados de dichos estudios evidencian, de cierta forma, las razones del porqué las culturas mesoamericanas desde tiempos inmemoriales basaron su alimentación en el fríjol y el maíz, al igual que la razón del porqué en la actualidad continúan siendo complementos básicos entre la población de Mesoamérica.

2.1.3. Taxonomía

El género *Phaseolus* se clasifica dentro de la familia *Fabaceae*, subfamilia *Papilionoida*, tribu *Phaseolae* y subtribu *Phaseolinae*. Es una planta herbácea autógama de ciclo anual, que se cultiva en zonas tropicales y regiones templadas. Esta característica permite agruparla en las denominadas especies termófilas, dado que no soporta bajas temperaturas (Debouck e Hidalgo, 1985). Se distingue por ser altamente poliforme ya que de acuerdo con el medio agroecológico donde se desarrolla, es posible distinguir variaciones fenológicas entre la misma especie de una región a otra (Romero, 1993).

Desde el punto de vista taxonómico, el frijol es el prototipo del género *Phaseolus* y su nombre científico es *Phaseolus vulgaris* L. asignado por Lineo en 1753 (CIAT, 1984).

2.1.4. Fenología del cultivo

El Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) estableció una escala para clasificar las etapas de desarrollo del fríjol según la morfología de la planta y en los cambios fisiológicos que se suceden durante el desarrollo. La distribución de la materia seca indica el crecimiento de las plantas; así a través de esta se puede determinar la duración de cada una de las fases de desarrollo del vegetal, las que influyen en el crecimiento vegetativo, la fructificación y la senescencia. Lo anterior es fundamental para el desarrollo de recomendaciones del manejo agronómico tendientes a maximizar la producción (Chirinos *et al.*, 1999).

Fernández *et al.*, (1985), describe las fases vegetativas de la V0 a la V4 de la misma forma, pero son seguidas por otras dos fases V4,4 Cuarta hoja trifoliada: 50% de las plantas que presenten la cuarta hoja trifoliada totalmente desplegada en el sexto nudo del tallo principal, comenzando por el nudo cotiledonal, la fase V4,5 Quinta hoja trifoliada: 50% de las plantas que presenten la quinta hoja trifoliada totalmente desplegada en el séptimo nudo del tallo principal, comenzando por el nudo cotiledonal, terminado aquí la etapa vegetativa, para la etapa reproductiva se describe de igual forma la fase R5 denominada prefloración terminando en la fase R9 denominada maduración (Cuadro N°1)

Cuadro 1. Fases del cultivo del genero *phaseolus*.

Etapa ^a	Descripción ^b
V0	Germinación: absorción de agua por la semilla; emergencia de radícula y su transformación en raíz primaria.
V1	Emergencia: los cotiledones a nivel del suelo y empezar a separarse. El epicotilo comienza su desarrollo
V2	Hojas primarias: hojas primarias totalmente abiertas
V3	Primera hoja trifoliada: se abre la primera hoja trifoliada y aparece la segunda hoja trifoliada.
V4	Tercera hoja trifoliada: se abre la tercera hoja trifoliada y las yemas de los nudos inferiores producen ramas.
R5	Prefloración: aparece el primer botón floral o el primer racimo. Los botones florales de las variedades determinadas se forman en el último nudo del tallo o en la rama. En las variedades indeterminadas, los racimos aparecen primero en los nudos más bajos.
R6	Floración: se abre la primera flor.
R7	Formación de las vainas: aparece la primera vaina que mide más de 2.5 cm de longitud
R8	Llenado de vainas: comienza a llenarse la primera vaina (crecimiento de la semilla). Al final de la etapa, las semillas pierden su color verde y comienza a mostrar las características de la variedad.
R9	Maduración: maduración y secado de vainas. Aquí termina el ciclo biológico de la planta y esta se encuentra lista para la cosecha. Se inicia la defoliación.

a : V: Vegetativa; R: Reproductiva.

b : cada etapa comienza cuando el 50 % de las plantas muestran las condiciones que corresponden a la descripción de la etapa (Schoonhoven *et al*, 1987).

Rendimientos

Los componentes del rendimiento se clasifican en dos grupos (Laing, 1979):

- Morfológicos: número de vainas, número de ramas por planta, número de semillas por vaina y peso seco de individual de: tallos, ramas, vainas y semilla.

- Fisiológicos: tamaño y duración del crecimiento foliar, el área foliar por unidades de peso y eficiencia de traslocación de fotosintatos.

El rendimiento del frijol se debe a causas externas e internas. Entre los factores externos están las plagas y enfermedades, deficiencias en el manejo agronómico y entre los factores internos están las características genéticas de la planta misma (Rodríguez 1951).

En el Perú, el rendimiento potencial del frijol alcanza los 3,000 kg/ha con tipos arbustivos y de 4000 con tipos indeterminados (MINAG, 2003).

En el Perú la mayor área sembrada se encuentra en la sierra (46 %), seguido por la costa (36 %) y luego la selva (18 %). La costa ocupa el primer lugar en cuanto a la producción (47.4 %) esto debido a sus rendimientos unitarios, la sierra ocupa el segundo lugar (34.4 %) y la selva el tercer lugar con 18 % de la producción nacional. Una parte de la producción de la sierra se destina al consumo y el resto se envía a los centros urbanos de la costa; en el caso de la selva el total de la producción se destina para el autoconsumo de la región (Camarena *et al.*, 2010).

2.1.5. Manejo agronómico

a. Siembra

La densidad óptima de siembra es aquella que permite obtener el más alto rendimiento por unidad de área. Esto, sin embargo, puede modificarse para que produzca mayor ingreso económico neto y en casos en los que, por ejemplo, se requiere una determinada calidad de producto (Siura *et al.*, 1993).

El efecto de la densidad de siembra del frijol Canario cv. Molinero, donde el componente de rendimiento de peso de 100 granos (g), se hallaron 61 diferencias estadísticamente significativas para el efecto de los niveles de la población de plantas. Se presentaron valores promedios similares tendientes a decrecer conforme se incrementa la densidad de siembra. Los valores más altos se dan a un nivel de D1 (120,000 plantas/ha) con 44.77 gr., respectivamente registrándose una ligera caída en

D3 (180,000 plantas/ha) con 42.34 gr., y en D4 (210,00 pl/ha) con 42.13 g., registrándose una relación inversa entre los niveles de población y el peso de 100 granos (Falcón, 2001).

b. Fertilización

En el cultivo de fríjol, la mayoría de los agricultores basan su fertilización en altas dosis debido al desconocimiento de las concentraciones adecuadas, por lo que existe exceso en dosis de nitrógeno y dosis variables de fósforo, descuidando otros nutrientes de igual importancia como lo son el potasio, magnesio, calcio y azufre, llevando a un continuo desbalance de nutrientes que perjudican la fertilidad del cultivo produciendo así una absorción desproporcionada de nutrientes por parte de la planta (Arias *et al.*, 2007).

Cuadro 2. Exigencias nutricionales del fríjol.

Extracción de nutrientes (g/planta)	Extracción de nutrientes (g/planta)		
	Vainas	Tallo	Total
N	34	65	96
P	4	5	9
K	22	71	93
Ca	4	50	54
Mg	4	14	18
S	10	15	25

FUENTE: (Arias *et al.*, 2007).

El fríjol es una planta que presenta altos requerimientos nutricionales para obtener un óptimo rendimiento; según Arias *et al* (2007), el frijol absorbe cantidades altas de N, P y K y en menor cantidad S, Mg y Ca.

El requerimiento mineral en cuanto a macro elementos que actúan principalmente sobre la productividad del fríjol se observan en la (Cuadro 2).

c. Plagas y enfermedades

Las plagas principales en este cultivo son los trips (*Caliothrips phaseoli*) que se alimentan de la savia de la plantas y el minador de la hoja (*Liriomyza trifolii*) que forma galerías en el mesófilo de la hoja y secundarias) (Padilla *et al.*, 2009)

Las enfermedades más importantes para este cultivo bajo nuestras condiciones son las enfermedades radiculares, las cuales pueden afectar durante la etapa de siembra y crecimiento. Estas enfermedades son causadas por *Pythium* spp., *Rhizoctonia solani*, *Fusarium* spp. y *Phytophthora* spp. (Vallodolid, 1993).

2.2. *Rhizoctonia solani*

Es uno de los hongos más importantes reconocidos como patógeno de plantas, por lo general causa enfermedades en una amplia gama de hospedantes, afectando tanto partes aéreas como subterráneas. Usualmente se le conoce como hongo estéril, debido a que durante muchos años se pensó que era incapaz de producir algún tipo de espora, ya fuera sexual o asexual (Campbell y Pennypacker, 1980).

Las especies fitopatógenas de *Rhizoctonia solani* ocasionan pérdidas importantes en diferentes cultivos hortícolas que se desarrollan sobre o dentro del suelo. La enfermedad más importante de este patógeno es la caída de las plántulas, como consecuencia de la necrosis del tallo a nivel del cuello en plántulas emergidas. Produce una reducción significativa del vigor de las plantas (Cedeño, 2001).

Las enfermedades en frijol causadas por *R. solani* son muy frecuentes durante las primeras etapas de crecimiento (Campbell y Pennypacker, 1980). *R. solani* puede atacar los hipocótilos, la raíz y las hojas. La virulencia varía entre los diferentes grupos de anastomosis, pero no dentro de cada uno de los grupos existentes. El número de lesiones inducidas en el hospedante es también reflejo de la cantidad de inóculo presente en el suelo (Benson y Baker, 1974).

El patógeno se ha combatido por métodos químicos y culturales. La reducida persistencia de los fungicidas químicos en el suelo ha dificultado el combate de *R. solani*. Se ha determinado que este hongo posee un amplio rango de hospedantes, lo cual ha complicado el trabajo de los fitomejoradores en la búsqueda de resistencia genética. Finalmente, la acentuada habilidad saprofitica que presenta hace inefectiva la rotación de cultivos como medida de control cultural (Campbell y Pennypacker, 1980).

La pudrición por *R. solani* frecuentemente afecta a las semillas durante la germinación, en las plántulas induce muerte pre o post emergente y en plantas pudre la raíz. Las lesiones son ovales, hundidas, de color café-rojizo y seco. Se observa flacidez del follaje y posteriormente el secamiento total. La enfermedad se desarrolla a temperaturas de 18 a 23 °C y con humedad en el suelo de moderada a alta (Romero, 1988; Abawi y Pastor-Corrales, 1990; Campos, 1991)

La temperatura óptima para que este hongo pueda desarrollarse en medio de cultivo es de 25 a 30 °C con un mínimo de 8 °C y un máximo de 31 a 35 °C. Sus esclerocios germinan en un rango de 8 a 30 °C con una temperatura óptima de 23 °C y a nivel del suelo la temperatura óptima para el ataque del patógeno es de 18 °C. Estas temperaturas favorecen también el ataque por *Fusarium* spp. El desarrollo de estas enfermedades se caracteriza por ser muy lento y causa severos daños solo bajo condiciones de alta humedad en el suelo y uso de variedades muy susceptibles (Cedeño *et al.*, 2001).

La patogenicidad de *Rhizoctonia solani* sobre el fríjol ha sido reconocida desde hace mucho tiempo a nivel mundial. La transmisión por semilla de *R. solani* en numerosas especies cultivadas ha sido igualmente estudiada con amplitud, habiéndose demostrado que el inóculo proveniente del crecimiento del patógeno en el sistema radicular de hospedantes silvestres y el que proviene de semilla infectada de fríjol, son de importancia primordial en la incidencia de la enfermedad en esta especie (Campos, 1991).

2.2.1. Alternativas al control químico de poblaciones de patógenos del suelo

En la actualidad, los fungicidas presentan algunos inconvenientes como herramienta para el control de enfermedades debido a sus efectos detrimentales en el ambiente y en la salud, el riesgo de resistencia y su alto costo (Barnes y Csinos, 1990).

Varios autores (Smiley *et al.*, 1990; Lifshitz *et al.*, 1985) han argumentado que la aplicación de fungicidas a la semilla, para la protección contra patógenos habitantes del suelo, puede provocar un desbalance microbiológico a nivel de rizósfera, desfavorable para la actividad de la flora microbiana benéfica. En el caso particular del frijol, el cual requiere de inoculación con *Rhizobium leguminosarum* para aumentar la eficiencia en fijación biológica de nitrógeno, la práctica de tratar la semilla con fungicidas y al mismo tiempo con *Rhizobium*, no se puede realizar sin causar detrimento en la relación simbiótica planta-rhizobios (Diatloff, 1970; Cook y Gut, 1974). Además, algunos fungicidas utilizados para tratar la semilla no son confiables en el control de *R. solani*. Muchos fungicidas presentan una alta toxicidad al hongo *in vitro*, pero no así en el campo, lo cual posiblemente sea debido a bajas concentraciones y a la insuficiente persistencia del producto en el suelo (Smiley, *et al.*, 1990).

El desarrollo de métodos alternativos de control al uso de pesticidas químicos, tales como los Ditiocarbamatos y Benzimidazoles que se utilizan en el tratamiento de semillas o aplicaciones al pie de planta o como alternativa al uso de bromuro de metilo y de isotiocianato de metilo sintético que se utilizaban como fumigante del suelo. Estos métodos incluyen el uso de agentes biológicos, como especies bacterianas, por ejemplo *Bacillus* spp., y hongos, por ejemplo *Trichoderma* spp., para los tratamientos de suelos y semillas (Baker, 1988).

2.2.2. La Biofumigación

La biofumigación es una práctica agronómica basada en el uso de sustancias volátiles o aleloquímicos que son liberados por la biodescomposición de la materia orgánica para el control de patógenos del suelo (Bello *et al.*, 2000).

La biofumigación utiliza los gases y otros productos resultantes de la biodegradación de las enmiendas orgánicas y residuos agroindustriales como fumigantes para el control de los organismos patógenos de vegetales, se contribuye con ello, además, a resolver los problemas ambientales graves que estos productos pueden producir. Su eficacia se incrementa cuando se incorpora dentro de un sistema de manejo integrado de cultivos (Bello, 1998) y se diferencia del uso de las enmiendas orgánicas tradicionales en las características de los materiales biofumigantes y en el método de aplicación (Bello *et al.*, 1999). Esta técnica puede ser de gran interés en países en vías de desarrollo debido al bajo coste y facilidad de aplicación (MBTOC, 1998). Bello *et al.* (1999, 2000) definen la biofumigación como la acción de las sustancias volátiles producidas en la biodegradación de la materia orgánica en el control de los patógenos de las plantas, incrementándose su eficacia cuando se incluyen en un sistema integrado de producción de cultivos; presentan resultados de su aplicación en cultivos de cucurbitáceas, pimientos, zanahoria, tomate, otras hortalizas, fresón, platanera, cítricos, frutales, viñedos y flores cortadas en diferentes ambientes de la región mediterránea, obteniendo una eficacia similar a los pesticidas convencionales, al mismo tiempo que incrementan los nematodos saprófagos, mejoran las características del suelo y la nutrición de la planta, señalando la necesidad de diseñar una metodología para cada situación, diferenciándose de la aplicación de la materia orgánica en la dosis y el método de aplicación.

La adición de materia orgánica al suelo para mejorar la fertilidad y controlar las plagas y enfermedades es una práctica casi tan antigua como la agricultura. Se han ensayado una amplia variedad de materiales como enmiendas al suelo para controlar nematodos, hongos fitoparásitos y flora arvense. Estos materiales incluyen estiércol de ganado, residuos de industrias papeleras y forestales, de industrias pesqueras y de marisqueras, numerosos subproductos de agricultura, alimentación y otras industrias, así como residuos de plantas con compuestos alelopáticos (Hoitink, 1988; Bello *et al.*, 1999, 2000).

Los desechos vegetales, al ser incorporados como abonos verdes al suelo, han adquirido importancia para el control de enfermedades en diferentes sistemas de cultivos (Hirai, 2003; Cohen *et al.*, 2005), siendo de importancia el uso de estas plantas con metabolitos secundarios o aleloquímicos que participan de forma natural en las interacciones ecológicas planta-microorganismo (Macías *et al.*, 2003). La alelopatía es un fenómeno

biológico por el cual un organismo produce uno o más compuestos bioquímicos que influyen en el crecimiento, supervivencia o reproducción de otros organismos. Estos compuestos son conocidos como alelo químicos y pueden conllevar a efectos benéficos (alelopatía positiva) o efectos perjudiciales (alelopatía negativa) a los organismos receptores. Algunos compuestos que son denominados como aleloquímicos son flavonoides, terpenos, ácidos fenólicos y compuestos de glucosinolatos (GSLs) (Hirai, 2003).

a. Biofumigación y control de nemátodos

La acción de los microorganismos sobre la materia orgánica durante su descomposición produce gran cantidad de productos químicos que pueden actuar en el control de los patógenos del suelo: el amonio, nitratos, ácido sulfhídrico y un gran número de sustancias volátiles y ácidos orgánicos pueden producir una acción nematicida directa o afectar a la eclosión de los huevos o la movilidad de los juveniles de nematodos; los fenoles y los taninos son también nematicidas a ciertas concentraciones (Mian *et al.*, 1982), por ello es difícil determinar con exactitud qué sustancia es responsable de la muerte de los nematodos.

b. Biofumigación y control de hongos

Los investigadores del CSIRO de Australia (Bello *et al.*, 2000) han estado haciendo varios estudios de la biofumigación desde 1993 para el control de hongos han estudiado sobre la función de la materia orgánica, los abonos verdes y los residuos agroindustriales y su relación con los hongos del suelo es muy abundante. Papavizas y Davey (1960) observaron que abonos verdes de trigo, maíz, avena, arveja y grass de Sudán controlan *Rhizoctonia solani* en frejol. Chan y Close (1987) encuentran que la incorporación de crucíferas al suelo inhibe el desarrollo del hongo *Aphanomyces* en arveja, aunque no determinan las sustancias responsables. Kirkegaard *et al.* (1998), Angus *et al.* (1994) y Kirkegaard *et al.* (1998) demostraron que las sustancias volátiles de las brásicas inhiben el crecimiento del hongo del trigo *Gaeumannomyces graminis*, demostrando que el efecto biofumigante se debe a los isotiocianatos.

Candole y Rothrock (1997) encuentran que el abono verde de *Vicia villosa* en un cultivo de algodón reduce a *Thielaviopsis basicola* encontrando, en estudios in vitro

y en campo, que la supresión se debe a un producto volátil, el amonio, que se produce a los 3-7 días después de la incorporación, siendo más sensible al amonio *T. basicola* que *Rhizoctonia solani* o *Pythium ultimum*.

El abono verde con bráscicas tiene un efecto supresor de organismos productores de plagas y enfermedades cuando se incorpora al suelo (Chan y Close, 1987; Mojtahedi *et al.*, 1991). Este efecto es ocasionado por lo general por compuestos biocidas como los glucosinolatos que, por hidrólisis, dan lugar a sustancias como los isotiocianatos, que se han considerado como los productos más tóxicos (Brown y Morra, 1997).

La eficiencia contra estos patógenos radica en la acción fumigante de las sustancias volátiles como los taninos o fenoles, ácidos orgánicos, que la materia orgánica desprende al ser descompuesto. La eficacia de la biofumigación depende de los siguientes factores: la biomasa de la cosecha, el contenido de sustancias alelopáticas total del cultivo y la presencia de la sustancia alelopática tóxica para el patógeno (Bellostas *et al.*, 2004; Gimsing y Kirkegaard, 2009).

Los glucosinolatos (GSLs)

Los glucosinolatos son el producto de metabolitos secundarios de las plantas de las familias de las crucíferas, entre las que se destacan y que tienen interés comercial como, col de bruselas, brócoli, coliflor y repollo, de acuerdo con la cantidad de glucosinolatos varía de una especie a otra e influye de manera directa el tipo de tejido de la planta (Rosa *et al.*, 1997). En la descomposición de los desechos de las plantas, los glucosinolatos se convierten e hidrolizan en numerosos compuestos por la isoenzima mirosinasa endógena (β -D-tioglucohidrolasa) (Fahey *et al.*, 2001). Estas enzimas y los glucosinolatos comparten espacio en conjunto en la misma célula de la planta en diferentes partes pero en formas inactivas (Kissen *et al.*, 2009).

Al ser degradado el glucosinolato da como resultado a la glucosa, a los isotiocianatos (ITC), nitrilos, tiocianatos, azufre y otros subproductos, la distribución y la síntesis depende de las condiciones de hidrólisis y radicales involucrados (Gimsing y Kirkegaard, 2009). Los glucosinolatos son por lo general biológicamente no activos por si mismos

(Kissen *et al.*, 2009) y se cree que son desintegrados rápidamente en el suelo (Poulsen *et al.*, 2008), sin embargo, los isotiocianatos (ITC) debido a su similitud química con el isotiocianato de metilo (un fumigante sintético generado a partir de metam sodio) han demostrado ser el producto de degradación más activo y biocida a una amplia gama de organismos del suelo, incluyendo los nematodos, bacterias y hongos (Fahey *et al.*, 2001; Gimsing y Kirkegaard, 2009). Otros trabajos sobre sus características biológicas activas de los GSLs incluyen propiedades antinutricionales y anticancerígenos (Bellostas *et al.*, 2004, Kissen *et al.*, 2009).

Fungistasis del suelo

La fungistasis es el proceso por el cual la germinación de semillas y el crecimiento de hongos son inhibidas por medio de diferentes mecanismos, tales como la temperatura, la humedad y la nutrición favorable para el crecimiento de hongos supresores (De Boer *et al.*, 2003). La interacción de actividades microbianas, incluyendo la competencia de nutrientes y la producción de compuestos fungistáticos son los más probables mecanismos de este fenómeno (Garbeva *et al.*, 2011).

Efectos de la biofumigación en la disponibilidad de nutrientes

Tello *et al.*, 2010 reportan algunos de los siguientes resultados en relación a la modificación de algunos parámetros del suelo después de la biofumigación:

- Mejora la densidad aparente del suelo, incrementando así la porosidad y por lo tanto, la velocidad de infiltración del agua de riego y de lluvia.
- La conductividad eléctrica del suelo, y en consecuencia la concentración salina no se ve significativamente modificada por la adición de estiércoles.
- El pH en suelo calcáreos (pH>8) disminuye ligeramente al final del cultivo.
- Se incrementa el contenido de la materia orgánica.
- El sodio y los cloruros no se ven modificados en aquellos suelos que tienen una mayor concentración de ambos iones. En cambio, sí se modifican en los suelos que tienen menor concentración de sales, incrementándose la concentración de potasio en el suelo, así como la de magnesio.
- El incremento de nitrógeno depende de la relación C/N de la materia orgánica biofumigante.

- Los tratamientos con materia orgánica (estiércoles u otros residuos orgánicos) favorecen el incremento de hierro soluble en el suelo.
- Incremento considerablemente la forma manganosa (Mn^{2+}) soluble al aplicar los tratamientos, pero disminuye al final del cultivo.
- Existe un incremento del fósforo soluble y por lo tanto asimilable, posiblemente en forma de fosfatos orgánicos (actividad fosfatasa) que impiden su precipitación como fosfato tricálcico. En esta reacción no son ajenos los microorganismos asociados a la materia orgánica.
- El boro no es afectado.
- Finalmente, el efecto que tiene la biofumigación en el control de hierbas adventicias: por una parte, la actividad supresora sobre estas hierbas por parte de los cultivos de brásicas biofumigantes es similar a la ya conocida en los abonos en verde, ya que siguen una metodología de cultivo similar; por la otra, el procedimiento técnico seguido en la realización de la técnica (aumento de temperatura del suelo, inundación, etc.) tiene como resultado sobre las semillas de las hierbas adventicias una disminución de su viabilidad.

2.2.3. Potencial biofumigante de las plantas acuáticas

a. Antecedentes

Las plantas acuáticas son aquellas que requieren una gran cantidad de agua en sus raíces para vivir, crecen en medios muy húmedos y completamente inundados, básicamente tienen los mismos requerimientos nutricionales de las plantas terrestres. Se pueden clasificar en flotantes, sumergidas y emergentes (Caicedo, 1995).

Las plantas acuáticas son un recurso altamente productivo de biomasa con alto valor proteínico y pueden constituirse en un complemento ideal en la alimentación de animales domésticos (Chará, 1998) ya que tienen la capacidad de doblar su biomasa en muy escasos días.

Una de las macrofitas acuáticas es la azolla que cuenta con un notable aporte de nutrientes, mejoran las condiciones fisicoquímicas del sustrato reduciendo los

nematodos producto de la liberación de sustancias con actividad nematicida, aumentando así el rendimiento (García *et al.*, 2001).

En azolla se han descrito y evaluado sus metabolitos secundarios, de los cuales se han reportado diversas aplicaciones los cuales pueden apreciarse en el cuadro N°3. Se sabe que la naturaleza de éstos se encuentra influenciada por el ambiente que circunda a la planta que los biosintetiza, por lo cual las características de los metabolitos pueden diferir de un ecosistema a otro (Vanisree *et al.*, 2004).

Cuadro 3. Actividad biológica de los metabolitos secundarios de las diferentes especies de *azollas*.

Especie	Metabolito secundario	Disolventes utilizados	Actividad biológica	Características de recolección	Referencias bibliográficas
<i>A. pinnata</i>	Flavonoides, compuestos fenólicos, taninos, carbohidratos, saponinas y ácidos carboxílicos	Agua, acetona benceno, cloroformo, metanol, etanol	Inhibidores de crecimiento bacteriano, actividad frente a varios patógenos y antioxidante. Bioactividad en contra de varios patógenos, actividad antioxidante, antibacteriana Antimicrobiana, y citotóxica Antifúngica, anticancerígena antiinflamatoria y adelgazante	Plantas sanas y enfermas. Tasmil Nadu, India.	Muraleedharan nair <i>et al.</i> , 2011
<i>A. microphylla</i>	Compuestos fenólicos, taninos, esteroides, triterpenoides , glicósidos de antraquinonas, azúcares y aminoácidos	Metanol	Antimicrobiana , bioactividad en contra de varios patógenos, antioxidante, depleción de hierro, biofertilizante	Plantas sanas, colectadas en invierno (color rojo) y verano (color verde). Nueva Deli, India	Abraham & Vidhu, 2012. Abraham, 2013
<i>A. filiculoides</i>	β clorofila, carotenoides, xantofilas, compuestos fenólicos Alcoholes, aldehídos, alcanos y cetonas (cultivo de laboratorio); aldehídos, alcoholes, terpenoides y alcanos	n-pentano, hidrodestilación	Repelente o atrayente dependiendo de proporción de alcoholes, aldehídos y otros compuestos.	Cultivos de laboratorio y jardín botánico de la Universidad de Lisboa	Pereira <i>et al.</i> , 2011

b. *Lemna minor*

Dentro del grupo de plantas flotantes es frecuente observar a la planta denominada *Lemna minor* en lagunas o en las áreas de flujo lento en ríos y quebradas. Esta planta conocida comúnmente como lenteja de agua (Roldán, 1992), es una planta al igual que la *Azolla* que tiene un valor proteínico y pueden constituirse en un complemento ideal en la alimentación de animales domésticos (Chará,, 1998).

La lenteja de agua es una planta angiosperma (plantas con flores), monocotiledónea, perteneciente a la familia *Lemnaceae*. Su cuerpo vegetativo corresponde a una forma taloide, es decir, en la que no se diferencian el tallo y las hojas. Consiste en una estructura plana y verde y una sola raíz delgada de color blanco (Cook y Gut, 1974).

En el Instituto de Producción Animal de la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela se determinó la tasa de crecimiento de la lenteja de agua y *A. filiculoides* en monocultivo y en asociación, siendo la tasa de crecimiento de estas especies de 0.297 individuos/día. La velocidad de crecimiento no resultó afectada por la asociación (Pinto, 2000).

La lenteja de agua asimila los nutrientes liberados en el proceso de descomposición de la materia orgánica presente en las aguas residuales, tiene una gran velocidad de crecimiento y una concentración de aproximadamente 45% de proteína cruda (Gijzen, 2000). Crece rápidamente en partes calmadas y ricas en nutrientes, con altos niveles de nitrógeno y fosfatos. Con frecuencia el hierro es un elemento limitante para su adecuado desarrollo. Pueden además tolerar un rango de pH amplio, siendo óptimo entre 4.5 y 7.5 (Rook, 2002).

Análisis nutricionales se han reportado para varias especies de lentejas de agua. Los niveles de proteína cruda varían en función a los niveles de nitrógeno en el medio acuático y se han reportado valores entre 7.4 y 45% de la planta de masa seca. Se demostraron que el fósforo, grasas y elementos nutrientes contenidos son generalmente mayor en las plantas que crecen en altos contenidos de en nutrientes

que en aguas pobres en nutrientes, mientras que las cenizas y la fibra tienden a ser constante (Culley *et al.*, 1981).

Se ha señalado varios usos de la lenteja de agua por su alto contenido proteico (40%) como alimentos de lombrices (*Eisenia* sp.) y para el vermicompostaje en producción de abonos (Kostecka y Kaniuczak, 2008).

III. METODOLOGÍA

3.1. Lugares de ejecución

El presente trabajo de investigación se realizó en dos etapas:

1. La fase de laboratorio se llevó a cabo en el Laboratorio de Fitopatología del Departamento Académico de Fitopatología de la Facultad de Agronomía de la UNALM.
2. La etapa de campo se llevó a cabo en el tinglado del Departamento Académico de Fitopatología de la Facultad de Agronomía de la UNALM.

3.2. Fase de laboratorio

3.2.1. Aislamiento e identificación de *Rhizoctonia solani* a partir de plantas de frijol en campos de la UNALM

a. Muestreo

Se colectaron plántulas de frijol de diferentes cultivares, de 10 a 15 días de edad que mostraban los posibles síntomas causados por *R. solani*, de diferentes campos experimentales de la Universidad Nacional Agraria La Molina (Figura 1). Las plántulas seleccionadas fueron llevadas al laboratorio de Fitopatología.



Figura 1. **A:** Plántulas de frijol de diferentes campos experimentales de la universidad agraria la molina **B:** Planta con amarillamiento en las hojas causados por la *R. Solani*

b. Lavado y extracción de tejidos de la muestras

Todas las plántulas de frijol colectadas fueron lavadas con agua potable corriente para eliminar los restos de suelo e impurezas. Luego se cortaron las muestras en la sección de la planta que mostraban las pudriciones o canchales, comprendiendo cada corte tanto tejido sano como tejido con pudrición (Figura 2).

c. Desinfestación del tejido extraído.

Los cortes de tejido se lavaron varias veces con agua destilada estéril, y luego se sumergieron en hipoclorito de sodio al 0.5 % por tres minutos para eliminar los diferentes microorganismos presente en la superficie de los tejidos. Al finalizar este proceso, las muestras fueron secadas y depositadas sobre papel toalla estéril. Este proceso se realizó en el laboratorio de Fitopatología



Figura 2. A: Planta de frijol con canchros causados por *R. solani* (fig. derecha). B: Tejido extraídos (Figura de la izquierda)

d. Siembra del tejido desinfestado en papa dextrosa agar (PDA)

Las partes de tejidos desinfestadas y secas fueron sembradas en placas de Petri conteniendo medio de cultivo papa dextrosa agar (PDA) (Figura 3). En cada placa Petri se colocaron separadamente cinco porciones de una misma muestra y luego fueron colocados en una incubadora a 24 °C durante cuatro días. Este proceso se realizó en el laboratorio de Fitopatología.



Figura 3. Partes de tejidos desinfestadas y secas son sembradas en placas Petri con medio Papa Dextrosa Agar (PDA).

e. Purificación de la colonia obtenida

Transcurrido los cuatro días de incubación, las colonias desarrolladas fueron transferidas a nuevas placas de Petri con PDA para su purificación. Esta labor se realizó usando un sacabocado cortando discos de cinco milímetros de diámetro y sembrándolos al centro de cada placa. Por cada colonia se sembraron cuatro placas y fueron puestos en la incubadora a 24 °C durante una semana.

f. Reconocimiento de *Rhizoctonia solani*

Transcurridos los siete días se realizaron las observaciones y descripciones culturales de las colonias para luego hacer preparaciones sobre portaobjetos a fin de hacer observaciones a través de un microscopio compuesto. Las estructuras fueron observadas y clasificadas a nivel de género taxonómico mediante la clave de identificación de Barnett y Hunter (1978) y la especiación del patógeno se utilizaron las clave de Sneh *et al.* (1992)

3.2.2. Multiplicación de *Rhizoctonia solani* en trigo

Una vez aislado y purificado *Rhizoctonia solani*, se procedió a multiplicarlo en 10 bolsas de polipropileno conteniendo 250 g de trigo resbalado precocido, esterilizados en autoclave. Se dejaron incubar por siete días a 24 °C, tiempo que el hongo colonizó completamente las bolsas de trigo.

3.3 Fase de campo o tinglado

3.3.1. Preparación de sustrato

a. Mezcla del sustrato

El sustrato consistió de una mezcla de 30 % de tierra de chacra, 30 % de musgo, 30 % de arena y 10 % de compost. La mezcla fue tamizado usando una malla de 0.5 cm.

b. Esterilización del sustrato

El sustrato se esterilizó en autoclave a 121 °C por 30 minutos y a 15 PSI de presión de vapor de agua.

c. Instalación del sustrato en terrinas

El sustrato estéril se dispuso en cinco terrinas de 90 cm de largo x 40 cm de ancho x 20 cm de altura cada una, con un volumen aproximado de 72 litros (Figura 4).



Figura 4. Colocación del sustrato estéril en las terrinas.

3.3.2. Inoculación de *Rhizoctonia solani* en el sustrato

Una vez colocados los sustratos en las terrinas, a cuatro de ellas se les mezcló con 100 gramos de trigo conteniendo de *Rhizoctonia solani*. Se dejó una terrina sin inocular para el testigo. Las terrinas se dejaron con el sustrato a humedad a capacidad de campo por 20 días para la colonización del hongo en los sustratos inoculados.

3.3.3. Recolección y multiplicación de *Lemna minor*

Las plantas de lenteja de agua fueron recolectadas de las orillas de los humedales las Lagunas de Villa (12° 13' LS, 77°01' LO) y se trasladaron a pozas ubicadas en el Centro de Venta de la UNALM para que se aclimataran y multiplicaran vegetativamente hasta obtener la cantidad necesaria para el experimento. El agua de las pozas estaba libre de impurezas sólidas

3.3.4. Incorporación de *Lemna minor*

Una vez transcurrido los 20 días de incubación de *Rhizoctonia solani* se procedió a realizar la incorporación de la lenteja de agua en tres de las terrinas inoculadas con el hongo, a cada terrina se le aplicó una dosis diferente, las dosis fueron equivalentes a: 25, 50 y 70 t/ha respectivamente. Una cuarta terrina inoculada con *R. solani* no se le incorporó *L. minor* (0 tn/ha); y la quinta terrina contenía sustrato sin inocular y no recibió incorporación de *L. minor*. Los cinco tratamientos se pueden observar en el Cuadro 4.

Todas las terrinas fueron mantenidas con humedad a capacidad de campo y se dejaron descomponer por 25 días (figura 5).

Cuadro 4. Tratamientos que se emplearon en la evaluación del efecto de la incorporación de *L. minor* en la incidencia de enfermedades causadas por *R. solani* en frijol.

Tratamientos	Factores
T1	Suelo estéril
T2	Suelo con <i>Rhizoctonia solani</i> sin incorporación de biomasa <i>Lemna minor</i>
T3	Suelo con <i>R. solani</i> con incorporación de 25 t/ ha de biomasa <i>L. minor</i>
T4	Suelo con <i>R. solani</i> con incorporación de 50 t/ ha de biomasa <i>L. minor</i>
T5	Suelo con <i>R. solani</i> con incorporación de 75 t/ ha de biomasa <i>L. minor</i>

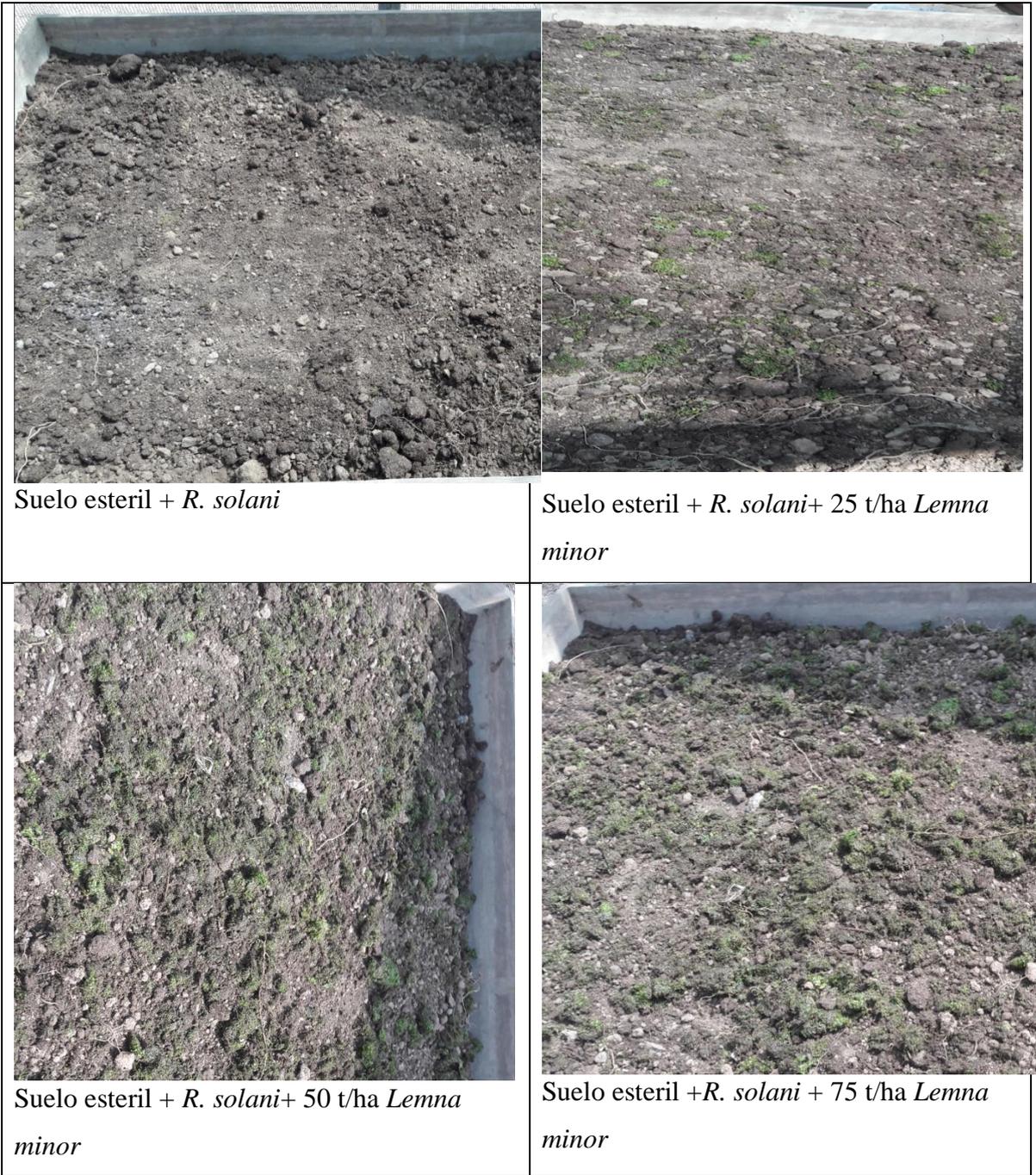


Figura 5. Incorporación de *Lemna minor* a diferentes dosis.

3.3.5. Instalación de los sustratos en las macetas para la siembra de frijol

Posteriormente a la descomposición de los tratamientos con incorporación de la enmienda orgánica, los sustratos se distribuyeron en macetas con capacidad de 1 L de volumen, considerando 20 macetas de polietileno por tratamiento y se dispusieron en 4 bloques al azar (Figura 6).

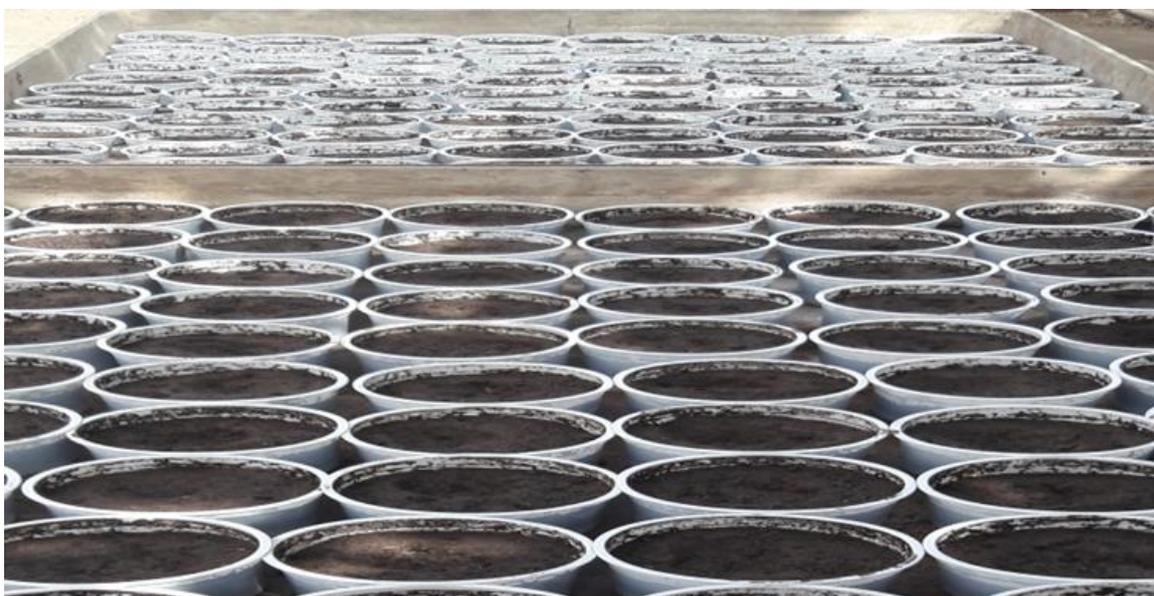


Figura 6. *Instalación* de los sustratos en las macetas para la siembra de frijol.

La distribución de los bloques experimentales se presenta en la Figura 7.

Bloque I

T1	T2	T3	T4	T5
----	----	----	----	----

Bloque II

T3	T4	T1	T2	T5
----	----	----	----	----

Bloque III

T5	T3	T2	T1	T4
----	----	----	----	----

Bloque IV

T2	T1	T3	T5	T4
----	----	----	----	----

Figura 7. Croquis de los seis bloques experimentales instalados en el tinglado del Departamento Académico de Fitopatología de la Facultad de Agronomía de la UNALM.

3.3.6. Prueba de germinación de las semillas de frijol

Antes de la siembra se realizó una prueba de germinación a las semillas de frijol para determinar su viabilidad. Para ello se colocaron 50 semillas en bandejas de vidrio de 30cm de largo x 20 cm de ancho x10 cm de alto, sobre papel toalla humedecido con agua destilada. por siete días. Transcurrido el tiempo, se evaluó el número de semillas que germinaron.

3.3.7. Siembra de frijol en las macetas

En cada una de las macetas con sustrato se sembraron equidistantemente tres semillas y se regaron cada tres a cuatro días con una salpicadera tomando en cuenta el nivel de humedad del sustrato y mantenerlo a capacidad de campo. Lo cual dependieron de las condiciones de temperatura y de la etapa fenológica del cultivo.

3.3.8. Evaluaciones realizadas en la fase de campo

a. Evaluación de la temperatura del sustrato de cada tratamiento

La temperatura del sustrato en cada tratamiento se evaluó manualmente, por medio de un termómetro de suelo convencional, a 10 centímetros de profundidad de la superficie del suelo. La temperatura se evaluó diariamente entre la 1:00 pm. y 2:00 pm. durante todo el período de descomposición de la enmienda orgánica.

b. Análisis de fertilidad del suelo análisis de fertilidad del suelo

Una vez que la fase termófila había finalizado y se observó que la lenteja de agua se había descompuesto, se inició la extracción de muestras de 500 gramos de sustrato de cada tratamiento y se llevaron al Laboratorio de Análisis de Suelos, Plantas y Agua (LASPAF – UNALM) para su análisis de fertilidad correspondiente con el objetivo de observar algún tipo de modificación en las propiedades químicas entre los tratamientos donde hubo incorporación de las diferentes dosis orgánicas y en los tratamientos donde no hubo incorporación alguna.

c. Evaluación de incidencia de enfermedades causadas por *R. solani*

Después de siete días de la siembra del cultivo de frijol se realizó la inspección de todas las plántulas emergidas en los tratamientos para registrar las plántulas con síntomas causadas por *R. solani*. Las evaluaciones se repitieron cada cuatro días llegando a un total de cinco evaluaciones.

d. Obtención del área bajo la curva de progreso de la enfermedad

Con los datos de incidencia obtenidos al evaluar las plantas de frijol (Anexo 5) se procedió a obtener el área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE) mediante la fórmula de integración trapezoidal. Este parámetro incorpora el avance de la enfermedad y la incidencia en un solo valor, y se ha demostrado que es particularmente adecuado para poder detectar diferencias entre tratamientos con un intervalo de tiempo (Campbell y Madden, 1990).

$$ABCPE = \sum_i^{n-1} \frac{y_i + y_{i+1}}{2} (t_{i+1} - t_i)$$

Donde:

Y_i : Porcentaje del número de plantas muertas a causa de algún patógeno radicular el día i .

Y_{i+1} : Porcentaje del número de plantas muertas a causa de algún patógeno radicular el día $i + 1$.

$T_{i+1} - T_i$: Número de días transcurridos desde la primera evaluación.

n : Número total de evaluaciones.

i : Día de evaluación.

e. Reaislamiento e identificación de *R. solani* de las plantas de frijol provenientes del experimento

Las plantas muertas encontradas y las que mostraron algún síntoma secundario característico de enfermedades causadas por *R. solani* fueron llevadas al laboratorio de fitopatología para el reaislamiento e identificación del patógeno.

Las plántulas muestreadas fueron procesadas en el laboratorio de fitopatología de la misma forma que se realizó para el aislamiento inicial y se realizó el reconocimiento de *R. solani* y de esta manera descartar contaminación por algún otro patógeno.

f. Evaluación de parámetros agronómicos del cultivo de frijol

Con el fin de conocer el efecto de la incorporación de diferentes dosis de enmiendas de la lenteja de agua y el efecto de *R. solani* en el cultivo del frijol, se tomaron las medidas directas de altura de plantas, peso fresco y peso seco, veinte días después de la germinación.

3.3.9 Diseño estadístico

a. Diseño experimental

El diseño estadístico correspondiente para el trabajo de investigación fue el de Bloques Completamente al Azar con cuatro bloques, cuatro tratamientos con un testigo, 20 repeticiones con tres unidades experimentales en cada repetición.

b. Tratamiento estadístico

Los análisis estadísticos que se realizaron fueron los análisis de variancia (ANVA) y una prueba de Tukey con nivel de significancia del 5 %. Para la realización de estos análisis se utilizó el software estadístico SAS (Statistical Analysis System V.9.2) (SAS, 2008).

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Fase de laboratorio

4.1.1. Aislamiento e identificación de *Rhizoctonia solani* de las plantas de frijol de la UNALM

Las muestras de plantas de frijol con síntomas de pudriciones de cuello y raíces, se aisló e identificó morfológicamente a *Rhizoctonia solani*, el hongo se caracteriza por presentar un micelio de color marrón claro. Las observaciones microscópicas mostraron las hifas jóvenes con una ramificación en un ángulo de 90° (Figura 8) y un ancho promedio de 7.5 µm.

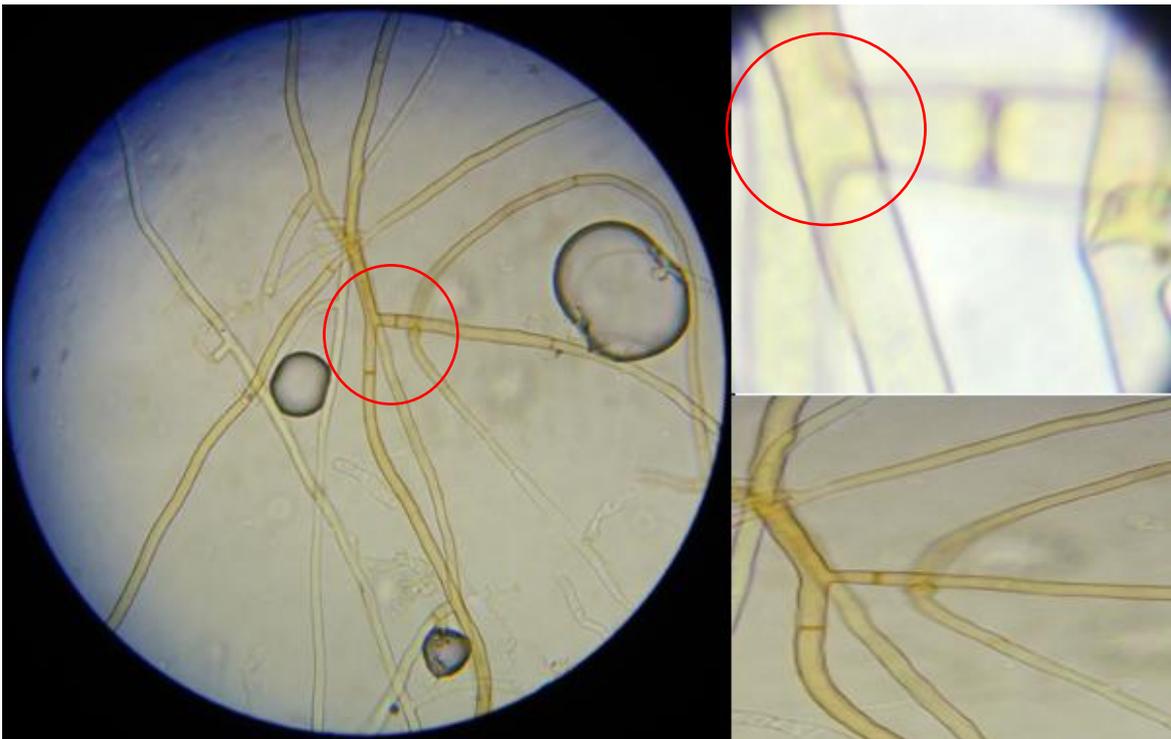


Figura 8. Hifas con ramificación en ángulo de 90° de *R. solani*.

4.2. Fase de campo

4.2.1. Temperaturas del sustrato en los tratamientos durante el proceso de descomposición de *L. minor*

Los datos de las temperaturas promedio en el sustrato se presentan en el cuadro 5 y la figura 9, donde se puede apreciar que el tratamiento 5, inoculado *R. solani* y enmiendado con 75 t/ha, registró una temperatura promedio de 33.6 °C, la cual fue la máxima temperatura registrada de todos los tratamientos. La máxima temperatura observada se pudo deber a que hubo una mayor incorporación de contenido de material orgánico, favoreciendo el desarrollo de la población de microorganismos termófilos para su descomposición. En el tratamiento 1, donde no se incorporó *Lemna minor* y no se inoculó *R. solani*, se obtuvo una temperatura promedio de 28.7 °C, la cual fue la menor entre todos los tratamientos.

En la figura 9 se puede apreciar el registro diario de las temperaturas en cada uno de los tratamientos y la comparación entre ellos. En el tratamiento 5 se registró la temperatura máxima entre todos los tratamientos: el día 2 de mayo alcanzó los 36 °C mientras que el tratamiento 1 registró la menor temperatura de todos los tratamientos, alcanzando los 26 °C el día 15 de abril.

Al realizar la comparación de medias de las temperatura mediante la prueba de Tukey al 0.05 de probabilidad (cuadro 5), se puede observar que los tratamientos 1 y 2, donde no se incorporó *L. minor*, presentaron promedios de temperaturas de 28.7 y 29.28 respectivamente, y resultaron ser estadísticamente iguales entre sí. Los tratamientos 4 y 5, donde se incorporó 50 t/ha y 75 t/ha de *L. minor* respectivamente, registraron temperaturas promedio de 32.7 y 33.6 °C respectivamente, fueron estadísticamente iguales. El tratamiento 3, donde se incorporó 25 t/ha de *L. minor*, resultó ser diferente a todos demás tratamientos.

Cuadro 5. Promedios de la temperatura del suelo del factor incorporación de diferente dosis de *lemna minor* y prueba de Tukey al 0.05 de probabilidad.

Componentes	Tratamiento	Temperatura del suelo
Suelo estéril sin enmienda	T1	28.7 c
Suelo con <i>R. solani</i> sin enmienda	T2	29.3 c
Suelo con <i>R. solani</i> con enmienda de 25 tn/ha de <i>Lemna</i>	T3	31.2 b
Suelo con <i>R. solani</i> con enmienda de 50 tn/ha de <i>Lemna</i>	T4	32.7 a
Suelo con <i>R. solani</i> con enmienda de 75 tn/ha de <i>Lemna</i>	T5	33.6 a

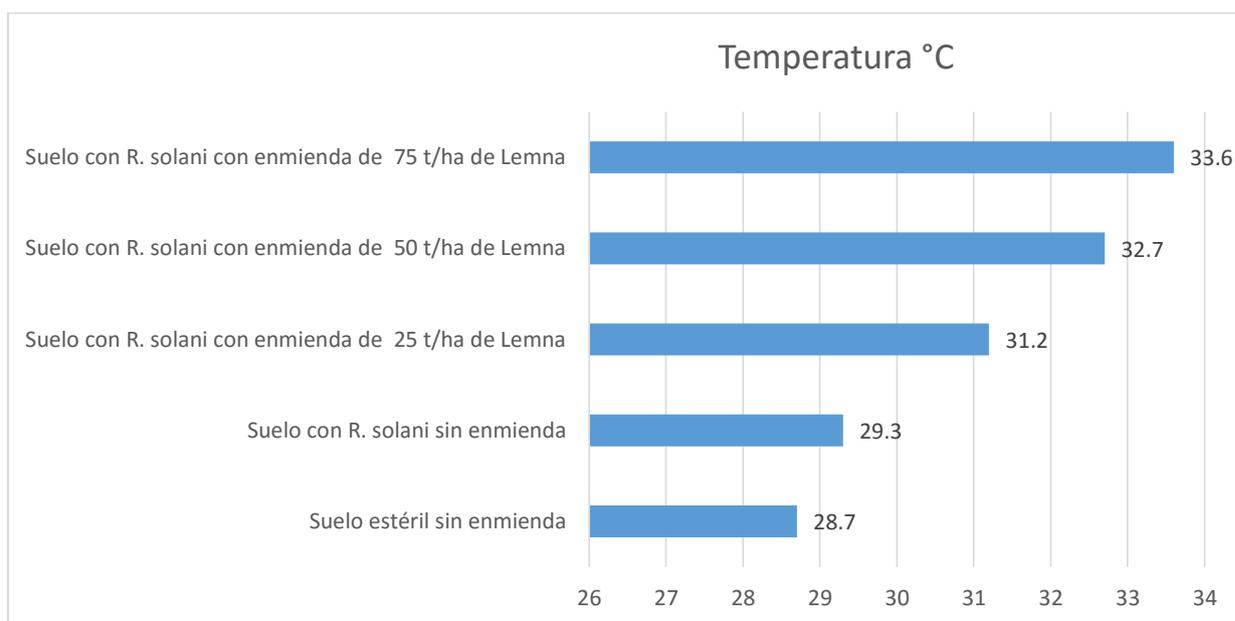


Figura 9. Promedio de temperatura de los diferentes tratamientos.

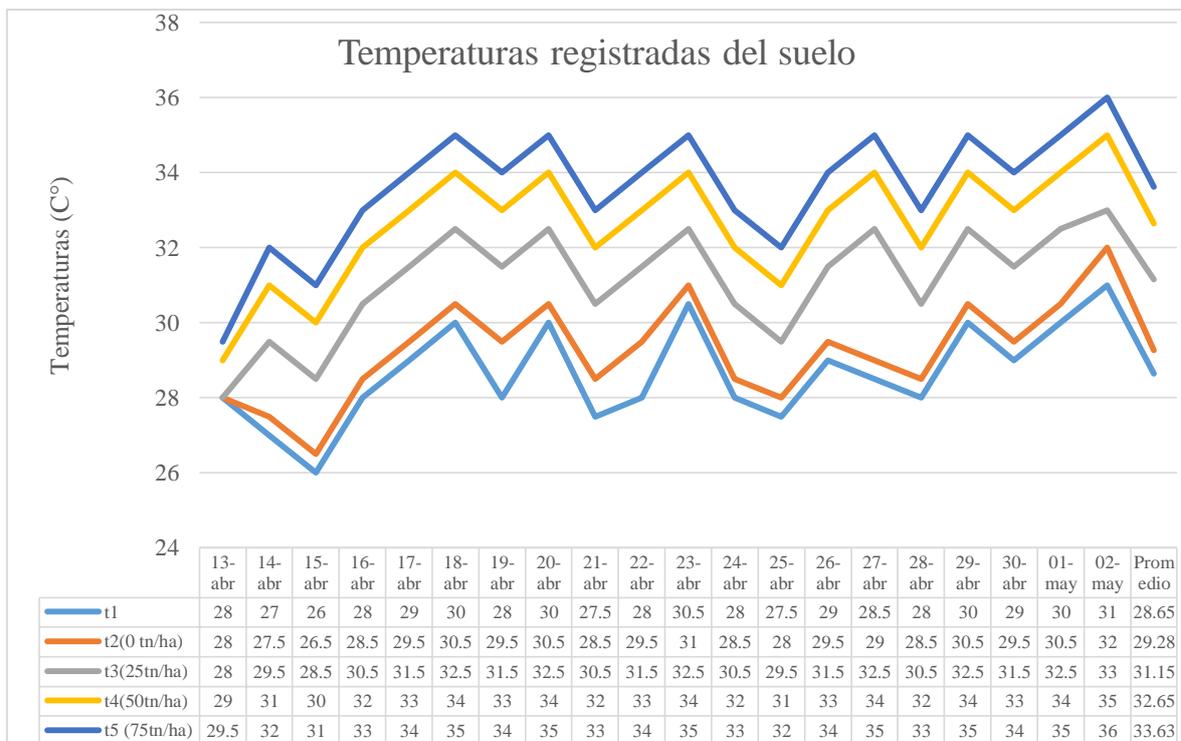


Figura 10. Temperaturas registradas del suelo en los diferentes tratamientos.

En el anexo 2 se muestra el análisis de variancia para la variable temperatura del suelo, el cual nos da como resultado que la interacción entre los tratamientos: Sustrato con

Rhizoctonia solani sin incorporación de *L. minor*, sustrato con *R. solani* con incorporación de diferentes dosis de *L. minor*, sustrato estéril sin incorporar es altamente significativo (nivel de significación del 5 %), por lo tanto existe suficiente evidencia estadística para concluir que existe interacción entre estos factores en estudio, lo cual indica que cada uno de ellos son de efectos dependientes entre sí.

A pesar de que se aprecia interacción en la temperatura del sustrato con los tratamientos donde se incorporó *Lemna minor*, ninguno de éstos pudo alcanzar la temperatura de 47 °C, que es la mínima reportada en la cual se eliminan las diferentes estructuras propagativas de los patógenos del suelo (Coello *et al.*, 2010).

Otro factor importante que pudo haber repercutido en la baja elevación de la temperatura del sustrato fue el sombreado de la malla del tinglado, la cual absorbió parte de la

radiación solar necesaria para que ocurra la transformación de la onda radiante en ondas de calor en el sustrato.

4.2.2. Análisis de fertilidad de suelo

Los resultados de los análisis de fertilidad de los sustratos de cada uno de los tratamientos que se realizaron se muestran en el Cuadro 6. Aquí podemos observar que en todos los tratamientos se tiene un pH ligeramente alcalino y un nivel alto de fósforo y de potasio.

Cuadro 6. Análisis de fertilidad de suelo en todos los tratamientos después transcurrido 30 días después de la enmienda de *Lemna minor*.

Suelo	pH (1:1)	C.E. (1:1) dS/m	CaCO ₃ %	M.O. %	P (ppm)	K (ppm)	*Nitrógeno mineralizado calculado (g)
Tratamiento 1	7.57	7.9	1.79	7.48	159.7	2790	0.02805
Tratamiento 2	7.57	7.10	1.80	7.37	168.7	2890	0.0276375
Tratamiento 3	7.91	8.80	2.00	8.88	235.6	4470	0.0333
Tratamiento 4	7.51	7.49	1.90	13.59	228.0	3180	0.0509625
Tratamiento 5	7.73	8.1	2.00	14.65	269	5370	0.0549375

*Se obtuvo el nitrógeno mineralizado estimado (Rice, *et al.*, 1994)

En el Cuadro 6 se observa también un incremento en el nivel de salinidad en los sustratos donde se incorporó la enmienda de *Lemna minor*; estos tratamientos muestra un suelo moderadamente salino a excepción del tratamiento 3 y 5 que tiende a ser un suelo fuertemente salino. Este aumento puede ser debido a la descomposición de la *Lemna minor* por altas temperaturas, el cual al descomponerse libera una cantidad de sales al sustrato considerables que la lenteja de agua absorbió del medio en su etapa de crecimiento. (Cuadro 7)

Cuadro 7. Análisis de agua proveniente la UNALM.

Parámetro	Valor
pH	7.63
C. (dS/m)	5.37
Calcio (meq/l)	19.25
Magnesio (meq/l)	7.25
Potasio (meq/l)	2.33
Sodio (meq/l)	28.48
SUMA DE CATIONES	57.31
Nitratos (meq/l)	2.82
Carbonatos (meq/l)	0.00
Bicarbonato (meq/l)	3.19
Sulfatos (meq/l)	5.63
SUMA DE ANIONES	57.14
RAS	7.82
Boro (mg/L)	2.04
Clasificación	Fuera de clasificación

Fuente: LASPAF- UNALM (Laboratorio de análisis de suelo, plantas agua y fertilizantes)

El incremento del nitrógeno, fósforo y del potasio en los tratamientos en donde se hizo una enmienda de *Lemna minor* mayor a 25 tn/ha puede ser debido a que la lenteja de agua tiene gran capacidad de asimilar los nutrientes del agua, ya que crecen en aguas ricas especialmente en fósforo y nitrógeno (Cook y Gut, 1974) y al ser descompuesto, éstos se han liberado al sustrato.

Se puede también apreciar que no se observan diferencias en las propiedades químicas entre sustrato estéril sin inoculación y sin enmienda, y del sustrato con inoculación de *R. solani* y sin enmienda. Esto se debe a que no recibieron incorporación de la enmienda *L. minor*.

Incidencia de enfermedades causados por *R. solani*

Los síntomas que se apreciaron en las plantas de frijol fueron pudriciones de la semilla,

una ligera pudrición de las raicillas, muerte de la plántula a los pocos días que esta emergió del suelo, y en menor porcentaje se encontraron plántulas con el síntoma característico de esta enfermedad que es una pudrición hundida y limitada en el tallo cerca de la superficie del suelo.

Al realizar la comparación de medias mediante la prueba de Tukey al 0.05 de probabilidad (Cuadro 8) se puede observar que en el tratamiento 2, donde hubo inoculación de *R. solani* sin incorporación de *Lemna minor* se obtuvo la incidencia más alta y es estadísticamente diferente en los tratamientos 3, 4 y 5, donde se incorporaron 25, 50 y 75 t/ha de *L. minor* respectivamente, y al tratamiento 1 que fue el sustrato sin inocular. Los tratamientos 1, 4 y 5 fueron iguales estadísticamente pero numéricamente diferentes y por último, el tratamiento 3, donde se incorporaron 25 t/ha con inoculación de *R. solani*, se obtuvo un promedio de incidencia de 30.83 %, estadísticamente diferente a todos los demás tratamientos.

Cuadro 8. Promedios de incidencia ocasionada por *Rhizoctonia solani* en los diferentes tratamientos a los 22 días después de la siembra y prueba de comparación de Tukey al 0.05 de probabilidad.

Tratamientos	Promedios
T1	0.00 c
T2	82.90 a
T3	30.80 b
T4	8.10 c
T5	5.40 c

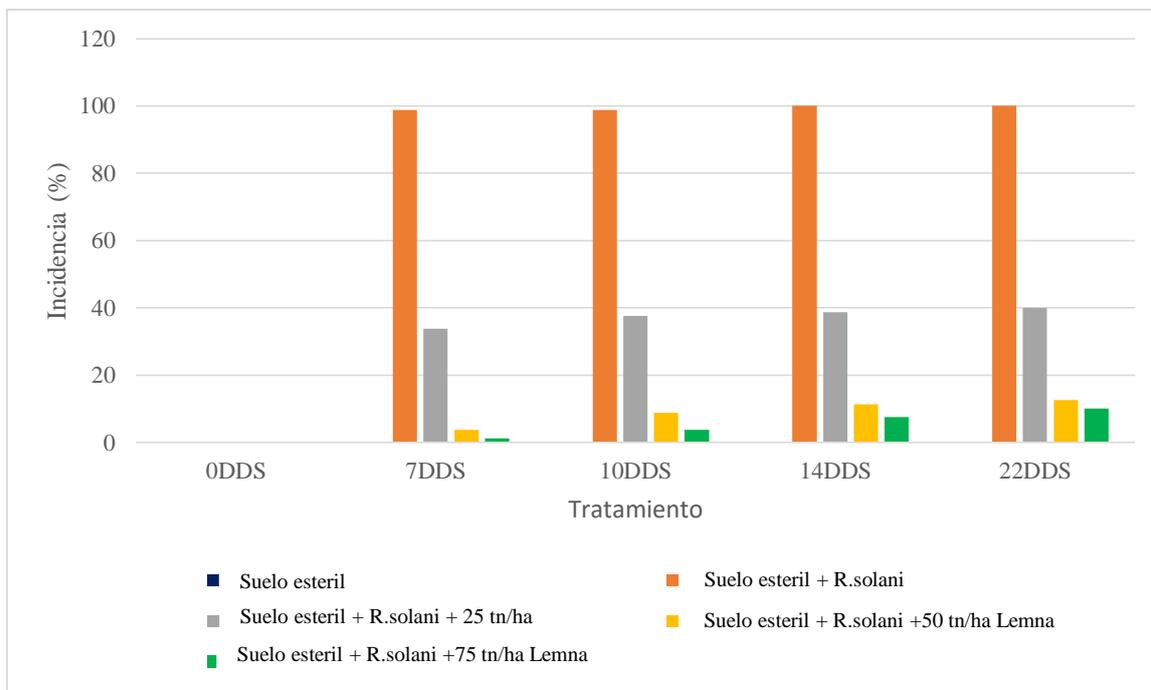


Figura 11. Incidencia de *R. solani* en el cultivo de frijol en cada uno de los cinco tratamientos.

Por otra parte, al observar el progreso de la enfermedad de este patógeno en los tratamientos (figura 11) se puede apreciar en general un incremento progresivo de la enfermedad hasta el día 7 después de la siembra en los tratamientos donde se inoculó *Rhizoctonia solani*, a partir del cual se mantiene constante el porcentaje de incidencia de plantas muertas a causa de algún patógeno radicular. En el caso del tratamiento donde hubo inoculación de *R. solani* sin enmienda se observa una incidencia del 82.90 % de esta enfermedad a los 22 días después de la siembra. Por último, en el tratamiento testigo no existe incidencia de este patógeno por lo cual se diferencia drásticamente con respecto al avance de la enfermedad de los otros tratamientos.

4.2.3. Obtención del área bajo la curva de progreso de la enfermedad

Los promedios del área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE) en frijol a los 22 días después de la siembra se muestran en el Cuadro 9 y figura 12, donde podemos apreciar que en el tratamiento 1, donde no fue inoculado *R. solani*, no existe un progreso de enfermedad causado por *R. solani*. En el caso del tratamiento 2, en donde se inoculo y

no se realizó ninguna enmienda, se observó un progreso de 306.56 la cual fue la más alta obtenida entre los tratamientos. Entre todos los tratamientos con inoculación de *R. solani* y enmiendas de *Lemna minor*, el tratamiento 5 fue el que tuvo menor progreso de enfermedad causado por *R.solani* con 18.23

Cuadro 9. Promedios del área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE) del factor incorporación de *Lemna minor* en diferente dosis y prueba de Tukey al 0.05 de probabilidad.

Tratamientos	Promedios
T1	0.00 c
T2	306.56 a
T3	112.92 b
T4	28.23 c
T5	18.23 c

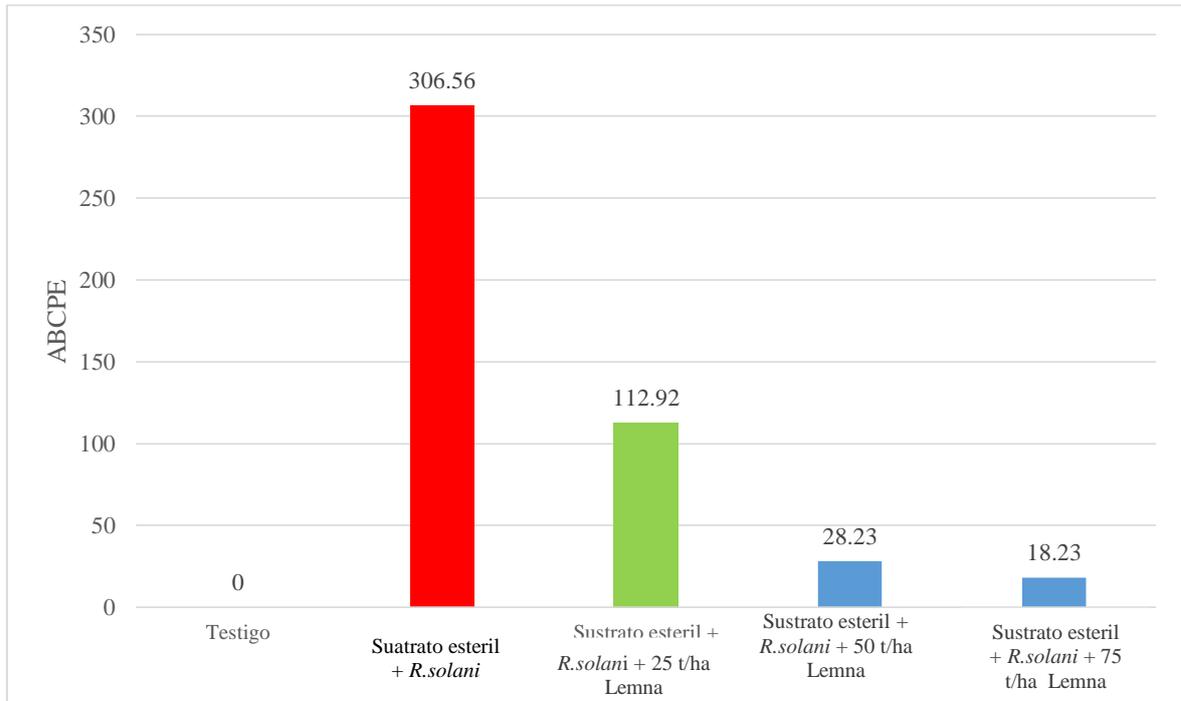


Figura 12. Promedios del área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE) del factor incorporación de *Lemna minor* en diferente dosis y prueba de Tukey ($\alpha=0.05$).

Para poder comparar estadísticamente los tratamientos se realizó un análisis de variancia del Área Bajo la Curva del Progreso de la Enfermedad (ABCPE) de las enfermedades fungosas (Anexo 6), en el cual nos indica que existen diferencias significativas entre los tratamientos en cuanto al desarrollo de la misma, por lo tanto, existe suficiente evidencia estadística para concluir que existe efecto entre el progreso de la enfermedad con los tratamientos en estudio.

Al realizar la comparación de medias del ABCPE mediante la prueba de Tukey al 0.05 de probabilidad (cuadro 9), se puede observar que en el tratamiento donde hubo inoculación de *R. solani* sin incorporación de *Lemna minor* se obtuvo un ABCPE de 306.56, y es estadísticamente diferente al ABCPE cuando se incorporaron 50 t/ha, 75 t/ha y al sustrato estéril. Por último, se puede apreciar que en el tratamiento donde se incorporaron 25 t /ha con inoculación de *R. solani* se obtuvo un ABCPE de 112.92 y es estadísticamente diferente al ABCPE a los otros tratamientos tal como se aprecia en la Figura 12.

Los resultados mostraron que las dosis 50 y 75 t/ha de *Lemna minor* resultaron ser significativos con la variable incidencia de *R. solani*.

En el presente trabajo experimental si se obtuvo una reducción en el nivel de incidencia de enfermedades causadas por *R. solani* en el suelo. La menor incidencia de enfermedades por *R. solani* obtenida a mayor dosis de *L. minor*, puede deberse a que algunas macrofitas acuáticas poseen compuesto fitotóxicos que son antifúngicos como lo reportan algunos autores (Muraleedharan nair *et al.*, 2011; Abraham y Vidhu, 2012. Abraham, 2013).

Por otra parte, el menor promedio de la incidencia de enfermedades fungosas cuando se incorporó 75 t/ha de *Lemna minor* respecto a las otras dosis, se pudo deber a que las comunidades microbianas varían después de incorporar alguna enmienda al suelo, siendo beneficiados los microorganismos supresores o antagonicos de los patógenos del suelo (De Boer *et al*, 2003, Garbeva *et al.* 2011).

Entre todos los tratamientos en donde se inoculo *R. solani* y hubo enmiendas de *Lemna minor*, en el tratamiento 3 se aprecia un incremento considerado de sales en el sustrato.

Este incremento es negativo para el crecimiento de plantas de frijol, ya que la absorción excesiva de los iones de las sales inducen toxicidad y afecta la absorción de nutrientes esenciales (Tester y Davenport, 2003), causando un debilitamiento en las plantas y favoreciendo la incidencia de *R. solani* (Ventura, 2010), pero por otra parte un incremento considerable de sales inorgánicas puede afectar beneficiosamente en las plantas como se observa en el tratamiento 5. Las sales como los bicarbonatos de sodio, bicarbonato de amonio, bicarbonato de potasio y sulfato de cobre son tóxicos en la estructura del patógeno, reduce la susceptibilidad del hospedante y modifica el pH del sustrato y la rizosfera donde se encuentra el patógeno (Homma *et al.*, 1981)

4.2.4. Reaislamiento e identificación de *R. solani* de las plantas de frijol proveniente del experimento

Se reaisló identificó a *R. solani* en todas las plantas muestreadas de los tratamiento donde se inoculó este hongo; con esto se corrobora que las evaluaciones de los síntomas si correspondieron al patógeno en estudio.

4.2.5. Rendimiento

a. Peso seco

Peso seco de la raíz

Los promedios de peso seco de la raíz en frijol a los 22 días después de la siembra se muestran en el Cuadro 10 y figura 13. En donde se puede observar que el tratamiento 1 acumuló mayor contenido de peso seco promedio en la raíz con 3.23 g a diferencia del tratamiento 2 donde el peso seco promedio acumulada fue de 0.30 g. Entre los tratamientos en donde se inoculó *R. solani* y se hizo una enmienda de biomasa de *Lemna minor*, el tratamiento 5 (75 t/ha) fue el que obtuvo mayor acumulación promedio de peso seca con 3.78 g.

En el Cuadro 10 y Figura 13 se presentan también la comparación *de* medias del rendimiento acumulado mediante la prueba de Tukey al 0.05 de probabilidad, donde se observa que el tratamiento 1, sustrato estéril sin inocular, ocupó el primer lugar con 3.23

g, y es similar estadísticamente al tratamiento 4 (50 t/ha) y al tratamiento 5 (75 t/ha). El tratamiento 3, suelo con *Rhizoctonia solani* e incorporación de 25 t/ha de *Lemna minor*, fue estadísticamente similar a los tratamientos 4 y 5; y el tratamiento 2, suelo con *Rhizoctonia solani* sin incorporación de *Lemna minor*, fue diferente a todos los demás.

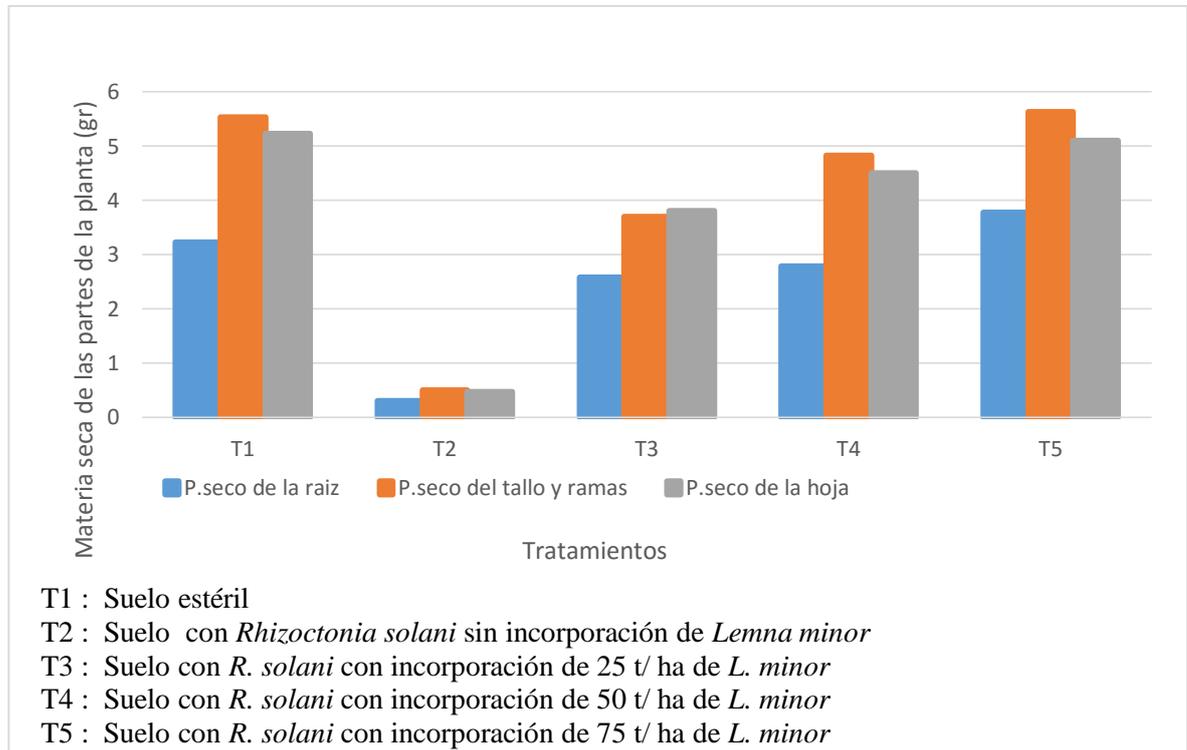


Figura 13. Promedio del peso seco de la planta de frijol por tratamiento.

Cuadro 10. Promedios de peso seco y de la altura de planta del cultivo de frijol por cada tratamiento y prueba de Tukey al 0.05 de probabilidad.

Tratamiento		Peso seco (g)			Altura de planta (cm)
Numero	Factores	Raíz	Tallo y ramas	Hoja	
I	Suelo estéril	3.23 ab	5.53 a	5.23 a	16.967 a
II	Suelo con <i>Rhizoctonia solani</i> sin incorporación de <i>Lemna minor</i>	0.30 d	0.50 c	0.47 c	3.268 b
III	Suelo con <i>R. solani</i> con incorporación de 25 t/ ha de <i>L. minor</i>	2.58 c	3.70 b	3.80 b	17.183 a
IV	Suelo con <i>R. solani</i> con incorporación de 50 t/ ha de <i>L. minor</i>	2.78 cb	4.83 ab	4.50 ab	14.353 a
V	Suelo con <i>R. solani</i> con incorporación de 50 t/ ha de <i>L. minor</i>	3.78 a	5.63 a	5.1 a	20.3 a

Materia seca del tallo principal y ramas.

Los promedios de peso seco del tallo principal y ramas en frijol a los 22 días después de la siembra se muestran en el Cuadro 11 y figura 14. En donde se puede observar que el tratamiento 1 acumuló mayor contenido de peso seco promedio en la tallo con 5.53 g a diferencia en el tratamiento 2 donde el peso seco promedio acumulada fue de 0.50 g. Entre los tratamientos en donde se inoculó *R. solani* y se

hizo una enmienda de biomasa de *Lemna minor*, el tratamiento 5 fue el que obtuvo mayor acumulación promedio de peso seco fue de 5.63 g.

En el Cuadro 11 y Figura 14 se presentan también la comparación de medias del rendimiento acumulado mediante la prueba de Tukey al 0.05 de probabilidad, donde se observa que el tratamiento 1, sustrato estéril sin inocular, ocupó el primer lugar con 5.53 g, y es similar estadísticamente al tratamiento 4 (50 t/ha) y al tratamiento 5 (75 t/ha). El tratamiento 3, suelo con *Rhizoctonia solani* e incorporación de 25 t/ha de *Lemna minor*, fue estadísticamente similar a los tratamientos 4 y 5; y el tratamiento 2, suelo con *Rhizoctonia solani* sin incorporación de biomasa de *Lemna minor*, fue diferente a todos los demás.

Materia seca de la hoja

Los promedios de peso seco de la hoja en frijol a los 22 días después de la siembra se muestran en el Cuadro 12 y figura 15. En donde se puede observar que el tratamiento 1 acumuló mayor contenido de peso seco promedio en la hoja con 5.23 g a diferencia en el tratamiento 2 donde el peso seco promedio acumulada fue de 0.50 g. Entre los tratamientos en donde se inoculó *R. solani* y se hizo una enmienda de *L.minor*, el tratamiento 5 fue el que obtuvo mayor acumulación promedio de peso seco con 5.10 g.

En el Cuadro 10 y Figura 13 se presentan también la comparación de medias del rendimiento acumulado mediante la prueba de Tukey al 0.05 de probabilidad, donde se observa que el tratamiento 1, ocupó el primer lugar con 5.23 g, y es similar estadísticamente al tratamiento 4 (50 t/ha) y al tratamiento 5 (75 t/ha). El tratamiento 3, suelo con *Rhizoctonia solani* e incorporación de 25 t/ha de *Lemna minor*, fue estadísticamente similar a los tratamientos 4 y 5; y el tratamiento 2, suelo con *Rhizoctonia solani* sin incorporación de biomasa de *Lemna minor*, fue diferente a todos los demás

En los anexos 7, 8 y 9 se muestra el análisis de variancia para la variable de peso seco de la raíz, del tallo, ramas y de la hoja respectivamente, en el cual nos da como resultado que existen diferencia significativas entre los tratamientos, por lo

tanto, existe suficiente evidencia estadística para concluir que existe un efecto entre la interacción dosis de *L. minor* y la acumulación de peso seco.

En los resultados de peso seco de hoja, tallo y raíz se observa un incremento de peso seco en las plantas que recibieron los tratamientos T4 y tratamientos T5 con respecto al T2. Esto se puede deber a que las sustancias húmicas pueden afectar directamente o indirectamente a los procesos fisiológicos de la plantas en su etapa de crecimiento y provocar múltiples efectos benéficos en el crecimiento de las plantas, como son el aumento de la masa seca y la acumulación de elementos minerales (Katkat *et al.*, 2009) y el efecto que puede provocar las sustancias biocidas liberados en la descomposición de la materia verde en reducir la incidencia de *R. solani* (Brown y Morra, 1997).

Los valores obtenidos de materia seca de partes de las plantas de frijol en los tratamientos T4 y tratamientos T5 son similares alcanzados por Hernandez del valle *et al.* (2012) en rendimientos de frijol con aplicaciones foliares de extracto líquidos de vermicompost y en Morales *et al.* (2008), en frijol asociados con girasol (*Helianthus annuum*)

b. Altura de planta

Los promedios de altura en frijol a los 22 días después de la siembra se muestran en el Cuadro 13 y figura 16. En donde se puede observar que el tratamiento 5 tiene un crecimiento mayor con 20.32 cm que los demás tratamientos. El tratamiento 2 ocupó menor tamaño de crecimiento con un promedio de 3.26 cm.

En el Cuadro 13 y Figura 16 se presentan también la comparación de medias del rendimiento acumulado mediante la prueba de Tukey al 0.05 de probabilidad, donde se observa que el tratamiento 5, sustrato con *Rhizoctonia solani* e incorporación de 75 tn/ha de *Lemna minor*, ocupó el primer lugar con 20.23 cm, y es similar estadísticamente al tratamiento 1 (sustrato estéril sin inocular), al tratamiento 4 (50 t/ha) y al tratamiento 5 (75 t/ha). El tratamiento 2, suelo con *Rhizoctonia solani* sin incorporación de *Lemna minor*, fue diferente a todos los demás

Cuadro 11. Comparación significativa de altura de plantas entre tratamientos y prueba de tukey al 0.005 de probabilidad.

Tratamientos	Altura de planta (cm)
T1	17 a
T2	3.3 b
T3	17.2 a
T4	14.4 a
T5	20.3 a

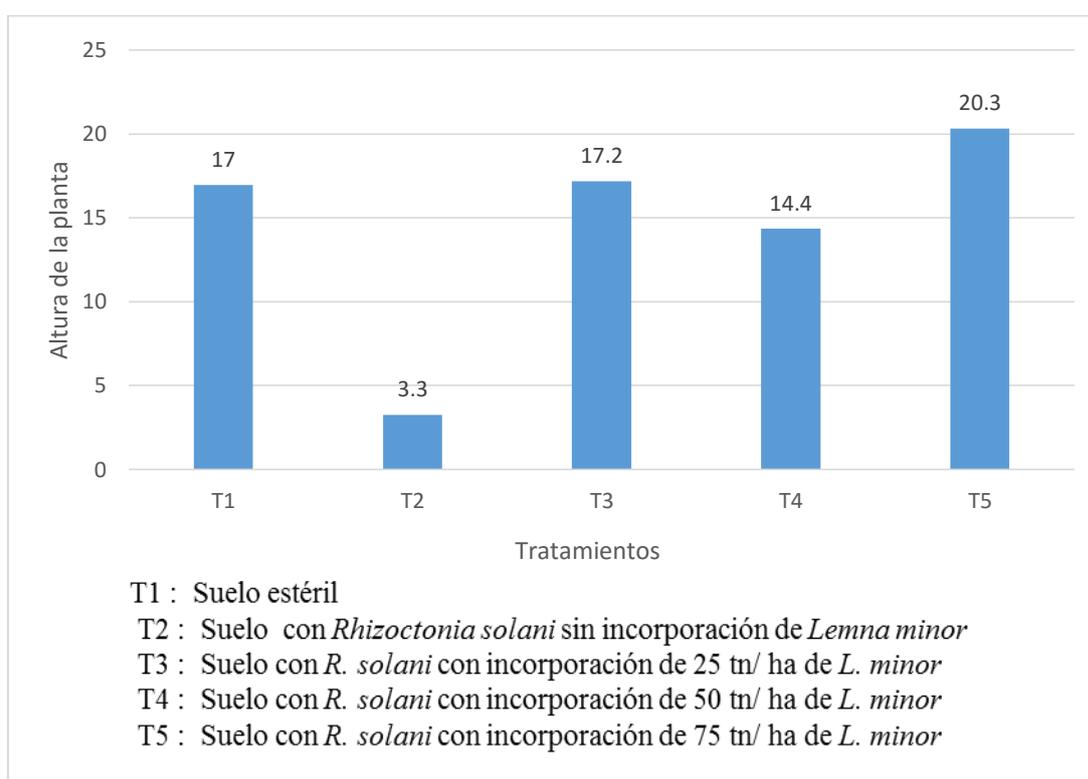


Figura 14. Promedio de la altura total del cultivo de frijol por tratamiento.

En el anexo 10 se muestra el análisis de variancia para la variable de la altura de planta, en el cual nos da como resultado que existen diferencia significativas entre los tratamientos, por lo tanto, existe suficiente evidencia estadística para concluir que existe un efecto entre la interacción dosis de *L. minor* y altura de planta.

El indicador altura mostro diferencias significativas entre las plantas tratadas con enmiendas de *L. minor* y el tratamiento 2 que fueron plantas con *Rhizoctonia solani* sin incorporación de *L. minor*. Esto puede explicarse por el poder de los reguladores de crecimiento (Auxinas, Giberelinas y Citoquininas), las proteínas de baja masa molecular y las sustancias húmicas presentes en la materia verde incorporado al sustrato en la actividad bioquímica y fisiológica de las plantas de frijol. (Muscolo *et al.*, 2009) y su efecto inhibidor en *Rhizoctonia solani* (Bello *et al.*, 2000). Los valores alcanzados por las plantas tratadas con incorporación de *Lemna minor* están dentro de los reportados por Vélez *et al.* (2007) en estudios ecofisiológicos de cultivo de frijol asociado con maíz (*Zea mays*).

V. CONCLUSIONES

1. De acuerdo a los resultado se comprobó la hipótesis que el tratamiento con sustrato inoculado con *R. solani* y con incorporación de 75 t/ha de *Lemna minor*, resultó el mejor en la prevención de las enfermedades causadas por *R. solani* con una incidencia promedio de 5.4 %, siendo estadísticamente igual al tratamiento testigo sin inoculación (0 % de incidencia) y al tratamiento 4: sustrato inoculado con *R. solani* y con incorporación de 50 t/ha de *Lemna minor* (8.1 % de incidencia).
2. La dosis de 75 t/ha de *Lemna minor* obtuvo la mayor acumulación de materia seca en raíz, hoja y tallo entre los tratamiento con incorporación de lenteja de agua y fue estadísticamente similar a los tratamientos 1 y 4.
3. La dosis de 75 t/ha de *Lemna minor*, obtuvo el mayor promedio de altura de planta con 20.3 cm, siendo estadísticamente similar a los tratamientos 1, 3 y 4.
4. Existe interacción positiva entre la incorporación de lenteja de agua en el rendimiento del cultivo de frijol.
5. Existe una interacción positiva entre las diferentes dosis de incorporación de *L. minor* con la temperatura en su proceso de descomposición.
6. La dosis de 75 t/ha de *L. minor* obtuvo la mayor temperatura durante el proceso de descomposición de *L. minor* con 33.6 °C, siendo estadísticamente similar a la dosis de 50 t/ha.

VI. RECOMENDACIONES

- Aislar y analizar los diversos compuestos bioactivos que presenta *Lemna minor* y su efecto deletéreo sobre los microorganismos del suelo.
- Estudiar la relación actinomicetos/hongos en el suelo que se obtiene con la incorporación de diversas enmiendas orgánicas y así tener un mejor parámetro del efecto supresivo contra los patógenos del suelo.
- Realizar investigaciones en las cuales se interaccione la incorporación de *Lemna minor* donde han sido cultivado en diferentes tipos de fuentes de agua.
- Realizar investigaciones sobre enmiendas orgánicas con otras especies de plantas acuáticas y su efecto biofumigante.
- Probar tratamientos con dosis de incorporación mayores a 75 t/ha de *L.minor* para observar su efecto en la temperatura de descomposición

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abraham, G. 2013. Evaluation of microbial of antimicrobial activity of methanolic extracts of the aquatic pteridophyte *Azolla microphylla*. *Vegetos -An International Journal of Plant Research* 26: 200 – 204.

Abraham, G. & Vidhu, A. 2012. A preliminary examination of the phytochemical profile of *Azolla microphylla* with respect to Seasons. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. (3, Supplement):S1392 – S1395.

Arias, J., Rengifo, T. y Jaramillo, M. 2007. Buenas prácticas agrícolas en la producción de frijol voluble. Ed. Seguridad alimentaria y nutricional, FAO, Gobernación de Antioquia, MANA, CORPOICA, Centro de Investigación La Selva. 23 -116

Abawi, G. S. y Pastor-Corrales, M. A. 1990. Root rots of beans in Latin America: Diagnosis, research, methodologies and management strategies. Centro Internacional de Agricultura Tropical. Cali, Colombia 114 p.

Agrios, G.N., 1997. *Plant Pathology*. 4th ed., Academic Press, San Diego, pp. 635

Angus JF, Gardner PA, Kirkegaard JA, Desmarchelier JM. 1994. Biofumigation: Isothiocyanates released from *Brassica* roots inhibit growth of the take-all fungus. *Plant and Soil*. ;162:107–112

Baker R. 1988. Improved *Trichoderma* spp. for promoting crops productivity. *Trends In Biotechnology* 7:34-38.

Barnett, H. and Hunter, B. 1978. Illustrated genera of imperfect fungi. Fourth edition. Burgess publishing company. Minneapolis. USA. 218 p

Barnes, J. and Csinos, A. 1990. Effects of fungicides, cultivars, irrigation, and environment on *Rhizoctonia* limb rot of peanut. Plant disease 74:671-676.

Bello, A., González, J. y Arias, M. 1998. Alternatives to Methyl Bromide for the Southern European Countries. Phytoma España, DG XI EU, CSIC, Valencia, Spain, 99-126

Bello, A., López J., Díaz, L., Sanz, R. and Arias, M. 1999. Bio-fumigation and local resources as methyl bromide alternatives. Abstracts 3rd International Workshop "Alternatives to Methyl Bromide for the Southern European Countries, 7-10 December, Heraclion, Creta, Grecia, 17 p

Bello, A., López J., Díaz, L., Sanz, R., Arias M. y Herrero, J. 2000. Biofumigation and organic amendments. Regional Workshop on Methyl Bromide Alternatives for North Africa and Southern European Countries, United Nations Environment Programme (UNEP), Francia, 113-141

Benson, D. y Baker, R. 1974. Epidemiology of *Rhizoctonia solani* preemergence damping-off or radish: inoculum potential and disease potential interaction. Journal of Phytopathology. 64:957-962.

Bellostas, N., Sorensen, J. C. y Sorensen, H. 2004. Qualitative and quantitative evaluation of glucosinolates in cruciferous plants during their life cycles. Agroindustria 3(3): 5-10.

Brown, P. y Morra, M. 1997. Control of soil-borne plant pests using glucosinolate-containing plants. In D.I. Sparks (Ed) .Advances in Agronomy. Academic Press. San Diego, CA, pp. 167-231.

Caicedo, J. 1995. Effects of ammonia, ph and organic matter on growth of *Spirodela polyrrhiza*. International Institute for Hydraulic Infrastructural and Environmental Eng, IHE, Holanda. 15-21.

Candole, L. y Rothrock, C. 1997. Characterization of the supressiveness of hairy vetch-amplended soils to *Thielaviopsis basicola*. Journal of Phytopathology.87, 197-202.

Camarena, M. F.; Huaranga, J. A., Mostacero, N. E., 2010. Mejoramiento Genético de especies del genero *Phaseolus* mediante Metodologías convencionales e innovadoras con el fin de incrementar la producción y la oferta exportable del frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.). Primera Edición. Universidad Nacional Agraria La Molina – Consejo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación Tecnológica. 298 p

Campbell, C.L. y Pennypacker, S.P. 1980. Distribution of hypocotyl rot caused in snapbeans by *Rhizoctonia solani*. Journal of Phytopathology. 70: 521–525.

Campbell, C. L., y L. V. Madden. 1990. Introduction to Plant Disease Epidemiology. Wiley & Sons. USA. 532 p.

Campos, A.J. 1991. Enfermedades del frijol. Trillas. México. p. 154–167.

Castellanos, J.Z., Guzmán, H., Jiménez, C., Mejía, J., Muñoz, A., Acosta, G., Hoyos, E., López, S., González, E., Salinas, P. y González, J. A. 1997. Hábitos preferenciales de los consumidores de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) en Mexico. 47(2): 163 - 167

Cedeño, L., Carrero, C., Quintero, K., Araujo, Y., Pino, H. y García, R. 2001. Identificación y virulencia de grupos de anastomosis de *Rhizoctonia solani* Kühn asociados con papa en Mérida, Venezuela: Interciencia 26(7):296-300.

Chan M.Y.K. y Close R.C. 1987. Aphanomyces root rot of peas. 3. Control by the use of *cruciferous amendments*. New Zealand Journal of Agricultural Research. 30, 225-233.

Chará, J. 1998. El potencial de las excretas porcinas para uso múltiple y los sistemas de descontaminación productiva. 214- 221.

Chirinos, D., Marín, M., Román, Z., Vielma, J. y Castro, C. 1999. Dinámica de acumulación de materia seca en la planta de tomate (*Lycopersicon esculentum* Miller). Cv Río Grande, en la zona noroccidental del estado de Zulia, Venezuela. Revista Facultad de Agronomía (LUZ). 16(2):141-151.

CIAT. 1984. Morfología de la planta de frijol común. CIAT, Cali, Colombia, Serie 04SB – 09. 01 pp 47.

Coello A, Trujillo L. y Perera S. 2010. Informe de la parcela demostrativa sobre distintos métodos de biodesinfección de suelos. Servicio de Agricultura del Cabildo de Tenerife. España. 8 p.

Cohen, M., Yamasaki, H., y Mazzola, M. 2005. Brassica napus seed meal soil amendment modifies microbial community structure, nitric oxide production and incidence of *Rhizoctonia* root rot. Soil Biology and Biochemistry 37(1): 1215 – 1227.

Cook, C.D. y Gut, B.J. 1974. Water plants of the world: A manual for the identification of the general of freshwater macrophytes. The Hague: Junk, 560 p.

Culley, D., Rejmankova, E., Kvet, J. and Frye, J. 1981. Production, chemical quality and use of duckweeds (*Lemnaceae*) in aquaculture, waste management, and animal feeds. J. World Maricult. Soc., 12: 27-49

Debouck, D. e Hidalgo, R. 1985. Morfología de la planta de frijol común. In: Frijol: Investigación y Producción. López, M., Fernández, F., Schoonhoven, A. (eds). CIAT, Cali, Colombia. pp:7-47.

De Boer, W. P., Verheggen, P. J., Klein, G., Kowalchuk, A. y Van Veen, J. 2003. Microbial Community Composition Affects Soil Fungistasis. *Applied and Environmental Microbiology* 69(2): 835-844.

Diatloff, A. 1970. The effects of some pesticides on root nodule bacteria and subsequent nodulation. *Australian journal of experimental agriculture and animal husbandry* . 10:562-567

Fahey, J. W., Zalcmann, A. T., y Talalay, P. 2001. The Chemical Diversity and Distribution of Glucosinolates and Isothiocyanates Among Plants. *Phytochemistry* 56(1): 5 – 51.

Falcón, J. 2001. Efecto de la densidad de Siembra y de la Fertilización NPK en el Cultivo de Frijol Canario Molinero bajo un sistema de riego por goteo. Tesis Ing. Agron. Lima, Perú. UNALM. Lima- Perú. 99p.

FAO. IIBPGR. 2007. *Plant Genetic Resources Newsletter* 67: 2-8.

Fernández, F., Gepts, P. y López, M. 1985. Etapas de desarrollo en la planta de fríjol (*Phaseolus vulgaris* L.) p. 61-78 En: López, M. F. Fernández y A. Shoonhoven (eds). En *Fríjol: Investigación y producción*. CIAT. Cali, Colombia. p. 61-78.

Garbeva, P., Hol, W. H. G., Termorshuizen, A. J., Kowalchuk, G. A., & de Boer, W. 2011 . Fungistasis and general soil biostasis - A new synthesis. *Soil Biology and Biochemistry*. 43, 469-477

García, M., Alvarez, M. y Treto, E. 2001. Estudio comparativo de diferentes especies de abonos verdes y su influencia en el cultivo del maíz. *Cultivos Tropicales*. Vol. 23, no. 3, p. 13-30

Gijzen, H. 2000. Lenteja de agua: Planta para las aguas residuales. Universidad del Valle, Agencia AUPEC, Colombia. [Documento en línea]. En: <http://aupec.univalle.edu.co/Agencia/agenciabor.html> [Consulta: enero 13, 2003].

Gimsing, A. L. y Kirkegaard, J. A. 2009. Glucosinolates and Biofumigation: Fate of glucosinolates and their hydrolysis products in soil. *Phytochemistry Reviews*. 8(1): 299-310.

Goodman, R.N., Király, Z., Wood, K.R., 1999. The biochemistry and physiology of disease. In: Stangarlin, J.R., Atividade de ribulose-1,5-bifosfato carboxilase (Rubisco), clorofilase, B- 1,3 glucanase e quitinase, e conteúdo de clorofila em cultivares de feijoeiro infectados com *U. appendiculatus* ou *P. griseola*. Piracicaba, Tese (Doutorado), Escola Sup. de Agr. "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, pp. 1-119

Hernandez, X., Ramos, R. y Martínez, A. 1991. Contribuciones al conocimiento de frijól (*Phaseolus*) en México, Colegio de Postgraduados, Chapingo, Mex. México.: 113–138.

Hernández del valle, G., Hernandez, O., Guridi, Fernando. y Arbelo, N. 2012. Influencia de la siembra directa y las aplicaciones foliares de extractos líquidos de Vermicompost en el crecimiento y rendimiento del frijól (*Phaseolus vulgaris* L.): 25-9.

Hirai, N. 2003. Application of Allelochemicals to Agriculture. *Biological Science in Space* 17 (1): 4 – 5.

Hoitink, H. A. 1988. Basis for the control of soilborne plant pathogens with composts. *Annual Review of Phytopathology* 24, 93-114.

Homma, Y., Arimoto, Y. y Porte, L.L. 1992. Effect of sodium bicarbonate and oils on the control of powdery mildew and black spot of rose. *Plant disease* 76:247 – 251.

Tello, J.C., Palmero, D. A. y García, M. 2001. Biodesinfección del suelo para el control de micosis de origen edáfico, corrección de la “fatiga” y efecto sobre las propiedades físico-químicas del suelo. 81 -115

Katkat, A.V., Celik, H. y Bulet, B. 2009. Effects of soil and foliar applications of hummic substances on dry weight and mineral nutrients uptakes of wheat under calcareous soil conditions. Australian of Basic and Applied Sciences. 3(2): 1266 - 1273

Kirkegaard JA, Sarwar M. 1998. Biofumigation potential of brassicas. Plant and Soil. 1998;201:71–89.

Kissen, R., Rossiter J.T. y Bones A.M. 2009. The mustard oil bom: not so easy to assemble. Localization, expression and distribution of the components of the myrosinase enzyme system. Phytochemistry reviews 8(1): 69-86.

Kostecka, J. y Kaniuczak, J. 2008. Vermicomposting of duckweed (*Lemna minor* L.) biomass by *Eisenia foetida* (SAV.) earthworm. J. Elementol. 13(4), 571-579.

Laing, D.1979. Adaptación del frijol común (*Phaseolus vulgaris* L), curso intensivo de adestramiento en producción de frijol para las investigaciones en América latina. CIAT – Colombia. 36 p.

Lazzeri, L., Curto, G., Leoni, O. y Dallavalle, E. 2004. Effects of glucosinolates and their enzymatic hydrolysis products via myrosinase on the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* (Kofold et White) Chitw. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 52(22); 6703–6707

Lifshitz, R., Lifshitz, S. y Baker, R. 1985. Decrease in incidence of *Rhizoctonia* preemergence damping-off by use of integrated chemical an biological controls. Plant Disease 69:431-434

Macías, F. A.; Galindo, J. C. y Molinillo, J. M. G. 2003. Plant Biocommunicators: application of allelopathic studies. Phytoconsult. Agency for research into plant compounds. Netherlands.

MBTOC. 1998. Report of the Methyl Bromide Technical Options Committee. 1998 Assessment of Alternatives to Methyl Bromide, UNEP, Nairobi, Kenia, 354 pp

Mian, I., Godoy, G., Rodríguez, R. y Morgah, G. 1982. Chitin amendments for control of *Meloidogyne arenaria* in infested soil. Nematropica. 12, 71-84.

Ministerio de Agricultura. 2003. Rendimiento y Superficie del cultivo de frijol grano seco a nivel nacional. Lima –Perú

Morales, R. y Escalante, J.A. 2008. Crecimiento, índice de cosecha y rendimiento de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en unicultivo y asociado a girasol (*Helianthus annuus* L.), Universidad y Ciencia. 1-10.

Mojtahedi, H., Santo, S. y Wilson, J. 1991. Suppression of root-knot nematode populations with selected rapeseed cultivars as green manure. Journal of Nematology. 23, 170-174.

Muñoz, V., Fernández, H. y Cáceres, B. 1997. Hábitos preferenciales de los consumidores de fríjol común (*Phaseolus vulgaris* L.) en México. Rev. Archivos Latinoamericanos de Nutrición. Órgano Oficial de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición. 47 (2): 163– 167.

Muraleedharannair, J., Johnson, M., Mony, M., Zacariah, M. y Solomon, J. 2011. Phytochemical studies on *Azolla pinnata*, R. Br., *Marsilea minuta* L. and *Salvinia molesta* Mitch. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. S26 – S29.

Muscolo, A., Sidari, M. y Attina, E. 2007. Biological activity of humminic substance is related to their chemical structure, Soil chemistry. 71: 75 – 83.

Ortega, M.L. 1991. Bioquímica; en E. Mark Engleman (Editor), Contribuciones al conocimiento de frijol (*Phaseolus vulgaris*) en México. Colegio de Postgraduados, Chapingo, México. 101–112.

Papavizas, G.C.; C.B. Davey. 1960. *Rhizoctonia* disease of bean as affected by decomposing green plant materials and associated microfloras. *Journal of Phytopathology*. 60, 516-522.

Padilla, V., Castillo, T., Ramírez, A., Armenta, C., Cabrera, C. y Madrid, C. 2009. Manual para la producción de frijol en el sur de Sonora. Folleto Técnico No. 69. Campo Experimental Valle del Yaqui. CIRNO -INIFAP: 122.

Peters, G.A. y Calvert, H.E. 1983. The azolla – *Anabaena azollae* Simbiosis. In *Algal Simbiosis* (New York, Cambridge): 109 –145.

Pereira, A., Madalena, M., Margarida Oliveira, M., y Carrapico, F. 2011. Morphological and genetic diversity of the family *Azollaceae* inferred from vegetative characters and RAPD markers. *Plant Systematics and Evolution*. 297: 213 – 226.

Pérez H.P., Esquivel E.G., Rosales S.R. y Acosta G.J.A. 2002. Caracterización física, culinaria y nutricional de fríjol del altiplano sub-húmedo de México. *Revista de Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 52 (2): 172–180

Pinto, S. L. 2000. Producción de las plantas acuáticas *Lemna minor* y *Azolla filiculoides* y su uso conjuntamente con la harina de pescado en raciones para cerdos. Tesis de grado de Ingeniero Agrónomo, UCV, Maracay, Venezuela.

Poulsen, J. L., Gimsing, A. L., Halkier, B. A., Bjarnholt, N., y Bruun, H. C. 2008. Mineralization of benzyl glucosinolate and its hydrolysis product the biofumigant benzyl isothiocyanate in soil. *Soil Biology and Biochemistry* 40(1): 135-141.

Rice, C. y Havlin, J.L. 1994. Integrating mineralizable nitrogen indices into fertilizer nitrogen recommendations. En: Havlin JL, Jacobsen, J (eds) Soil testing: Prospects for improving nutrient recommendations. SSSA Sp. Pub. 40. Soil Science Society of America: 1-13.

Reddy, P.M. & Fisher, R.W. 1988. A novel method to produce *Anabaena* – free *Azolla* by in vitro fertilization of micromanipulated megasporocarps. Plant Cell Reports. 7: 430 – 433.

Rodríguez, W. 1951. El cultivo de frijol en la costa central y causas de los bajos rendimientos. Tesis Ing. Agrónomo. Escuela Nacional de Agricultura. Lima-Perú. 104 p.

Romero, P. 1993. El frijol y la alimentación»; en Cuauhtémoc González Pacheco y Felipe Torres Torres (Coord), Los retos de la soberanía alimentaria en México (pp. 53–67), Tomo I, Instituto de Investigaciones Económicas, UNAM–Juan Pablos, México.

Romero, C. S. 1988. Hongos fitopatógenos. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Estado de México, p. 309- 317.

Roldán, G. 1992. Fundamentos de limnología tropical. Medellín: Editorial Universidad de Antioquia. 529 p.

Rook, E. 2002. Flora, fauna, earth and sky. The natural history of the northwood: p. 29-75.

Rosa, E. A., Heaney, R. K., Fenwich, G. R. y Portas, C. A. 1997. Glucosinolates in crop plants. Horticultural Reviews 19(1): 99-21.

SAS Institute Inc. 2008. SAS/STAT User's Guide. Ver.9.2. Cary, NC. SAS Institute.

Siura S., Ugás R. 1993. Cultivo de hierbas aromáticas y medicinales. Folleto divulgativo. Proyecto TTA. UNALM. 36 p.

Schoonhoven, V. y Pastor, M. 1987. Sistema Estándar para la Evaluación de Germoplasma de frijol. (Centro Internacional de Agricultura Tropical). (Comps). Cali – Colombia. 56 p.

Serrano, J. y Goñi, I. 2004. Papel del frijol negro *Phaseolus vulgaris* en el estado nutricional de la población guatemalteca. Rev. Archivos Latinoamericanos de Nutrición, 54 (1): 36–46.

Smiley, R., Wilkins, D. y Klepper, E. 1990. Impact of fungicide seed treatments on Vanisre *Rhizoctonia* root rot, take-all, eyespot, and growth of winter wheat. Plant Disease. 4:782-787.

Sneh B., Burpee, Ogoshi A. 1992. Identification of *Rhizoctonia* species. APS. PRESS. USA. 39 – 42 p.

Tello, M. J. C., Palmero Ll. D., García, R. A y de Cara, G. M. 2010. Biodesinfección del Suelo para el Control de Micosis de Origen Edáfico, Corrección de la Fatiga y Efecto sobre las Propiedades Físico-químicas del Suelo. Cajamar, Almería, España. 401.

Tester, M. y Davenport, R. 2003. Na⁺ tolerance Na⁺ transport in higher plants. Ann. Bot. 91: 503 – 527.

Vanisree, M., Lee, C., Lo, S., Manohar, S., Yih Lin, C. y Tsay, C. 2004. Studies on the production of some important secondary metabolites from medicinal plants by plant tissue cultures. Botanical Bulletin of Academia Sinica. 45: 1-22.

Valladolid, Ch. A. 1993. El Cultivo de Frijol (*Phaseolus vulgaris* L) en la Costa Central del Perú. INIA. Lima- Perú. 116pp.

Velez, L., Clavijo, J. y Ligareto, G. 2007. Análisis ecofisiológico del cultivo asociado maíz (*Zea mays* L.) – Frijol voluble (*Phaseolus vulgaris* L.), Revista Facultad Nacional de Agronomía, 60(2): Medellín, Colombia

VIII. ANEXOS

Anexo 1. Prueba de germinación de las semillas de frijol

Porcentaje de germinación			
	R1	R2	R3
5DDS	25	24	23
7DDS	22	21	19
9DDS	0	1	2
10 DDS	0	0	1
12DDS	1	2	0
14DDS	0	0	0
Total	48	48	45
PORCENTAJE	96%	96%	90%

Anexo 2. Análisis de variancia de la temperatura del suelo en el período de instalación de los tratamientos en el campo

Fuente de variación	Grados de libertad	SC	CM	Fcal	Pr > F
Tratamientos	4	362.185	90.54	43.70	<0.001(**)
Error	95	196.825	2.07	7.57	
Total	99	559.0100		5.38	

C.V = 4.632731 **Promedio= 31.07000**

Anexo 3. Datos originales de la incidencia de *Rhizoctonia solani* del suelo en el cultivo de frejol

Tratamientos	Bloques	0 DDS	7DDS	10 DDS	14 DDS	18 DDS	22DDS
T1	B1	0	0	0	0	0	0
T1	B2	0	0	0	0	0	0
T1	B3	0	0	0	0	0	0
T1	B4	0	0	0	0	0	0
T2	B1	0	95	95	100	100	100
T2	B2	0	100	100	100	100	100
T2	B3	0	100	100	100	100	100
T2	B4	0	100	100	100	100	100
T3	B1	0	50	55	55	55	55
T3	B2	0	25	30	30	30	30
T3	B3	0	30	30	30	35	35
T3	B4	0	30	35	40	40	40
T4	B1	0	0	5	10	15	15
T4	B2	0	5	5	5	5	5
T4	B3	0	0	10	15	15	15
T4	B4	0	10	15	15	15	15
T5	B1	0	0	5	10	15	15
T5	B2	0	5	5	5	5	5
T5	B3	0	0	5	10	10	10
T5	B4	0	0	0	5	10	10

Anexo 4. Área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE) causada por *Rhizoctonia solani* en el cultivo de frejol.

Trata	Bloque	0 DDS	7DDS	10 DDS	14 DDS	18 DDS	22DDS	ABCPE
t1	b1	0	0	0	0	0	0	0
t1	b2	0	0	0	0	0	0	0
t1	b3	0	0	0	0	0	0	0
t1	b4	0	0	0	0	0	0	0
t2	b1	0	332.5	285	390	400	400	1807.5
t2	b2	0	350	300	400	400	400	1850
t2	b3	0	350	300	400	400	400	1850
t2	b4	0	350	300	400	400	400	1850
t3	b1	0	175	157.5	220	220	220	992.5
t3	b2	0	87.5	82.5	100	90	100	460
t3	b3	0	105	90	120	130	140	585
t3	b4	0	105	97.5	150	160	160	672.5
t4	b1	0	0	7.5	30	50	60	147.5
t4	b2	0	17.5	15	20	20	20	92.5
t4	b3	0	0	15	50	60	60	185
t4	b4	0	35	37.5	60	60	60	252.5
t5	b1	0	0	7.5	30	50	60	147.5
t5	b2	0	17.5	15	20	20	20	92.5
t5	b3	0	0	7.5	30	40	40	117.5
t5	b4	0	0	0	10	30	40	80

Anexo 5. Análisis de variancia para la incidencia causada por *Rhizoctonia solani* en el cultivo de frejol.

Fuente de variación	Grados de libertad	SC	CM	FVALUE	Pr >F
Bloque	3	525.62	175.21	0.75	0.52
Tratamiento	4	112334.17	28083.54	120.52	<.0001
Periodo	4	15822.92	3955.73	16.98	<.0001
Error	107	27166.16	253.89		
Total	119	154867.69			

Anexo 6. Análisis de variancia para el área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE) causada por *Rhizoctonia solani* en el cultivo de frejol.

Fuente de variación	Grados de libertad	SC	CM	F VALUE	Pr >F
Bloque	3	6230.156	2076.72	0.75	0.61
Tratamiento	4	1546569.06	386642.27	120.52	<.0001
Periodo	4	238749.84	59687.46	16.98	<.0001
Error	107	362900.47	3360.19		
Total	119	2154449.53			

C.V= 62.20485 **Promedio=93.18750**

Anexo 7. Análisis de variancia para el % promedio de materia seca de la hoja del cultivo de frejol.

Fuente de variación	G.L	SC	CM	F	P>F
Bloque	3	3.00	1.00	3.97	0.04
Tratamientos	4	61.32	15.33	60.89	<.0001
Error	12	3.02	0.25		
Total	19	67.34			

C.V = 13.12 **Promedio= 3.83**

Anexo 8. Análisis de variancia para el peso seco de la raíz del cultivo del frejol.

Fuente de variación	G.L	SC	CM	F	P>F
Bloque	3	0.41	0.14	0.25	0.8632
Tratamientos	4	71.92	17.98	32.61	<.0001
error	12	6.62	0.56		
	19	78.95			
C.V = 18.40			Promedio = 4.04		

Anexo 9. Análisis de variancia para el peso seco del tallo principal y ramas del cultivo de frejol.

Fuente de variación	G.L	SC	CM	F	P>F
Bloque	3	302.60	100.87	3.60	0.046
Tratamientos	4	2598.21	649.55	23.17	<.0001
Error	12	336.396767	28.033064		
Total	19	3237.21188			
		0			
C.V= 26.42327		Promedio= 20.037774			

Anexo 10. Análisis de variancia para el promedio de altura del cultivo de frejol.

Fuente de variación	G.L	SC	CM	F	P>F
Bloque	3	127.52	42.51	1.16	0.36
Tratamientos	4	767.02	191.75	5.25	0.0111*
Error	50	438.29	36.53		
Total	59	1332.83			

C. Variación = 39.25669 **Promedio = 15.39498**