

Universidad Nacional Agraria
La Molina

Facultad de Agronomía



Trichoderma viride Pers.: Fr. y
fungicidas sistémicos en el control
de *Sclerotium rolfsii* Sacc. en
maní (*Arachis hypogaea* L.) bajo
condiciones de invernadero.

Tesis para optar el Título de
INGENIERO AGRONOMO

Alfredo Rivera Romero

19200

LIMA - PERU

1995

A MIS PADRES EN HOMENAJE A SU SACRIFICIO CONSTANTE
EN LA BUSQUEDA DE LA SUPERACION
DE CADA UNO DE SUS HIJOS.

A MIS HERMANOS CON CARINO.

AGRADECIMIENTO

El autor expresa su sincero agradecimiento a las siguientes personas quienes, con su apoyo, hicieron posible que esta obra culminara en forma exitosa:

Al Ing° M.Sc. Leonor Mattos Calderón, por su invalorable orientación durante la ejecución y culminación del presente trabajo.

Al Ing° Ulises Osorio, por su valioso apoyo y colaboración en la ejecución del presente trabajo.

Al personal del laboratorio del Departamento de Fipopatología de la UNALM, en especial al Biólogo Juan Flores por sus invalorable sugerencias, y al Sr. Francisco Mendoza por su colaboración.

A mis amigos que de una forma u otra contribuyeron y me apoyaron en la culminación del presente trabajo, en especial a Joe Donet, Antonio Atauje y Pedro Navarro.

CONTENIDO

	Página
Relación de cuadros	iv
Relación de figuras	v
I. INTRODUCCION	1
II. REVISION DE LITERATURA	3
2.1 - Antecedentes y distribución de <u>S. rolfsii</u>	5
2.2 - Daños económicos	7
2.3 - Rango de hospedantes	8
2.4 - Características del agente causal	9
2.5 - Variabilidad	11
2.6 - Interacción Hospedero-Patógeno	12
2.7 - Sintomatología de la enfermedad	14
2.8 - Diseminación	15
2.9 - Medios de control	15
2.10- Control biológico	17
III. MATERIALES Y METODOS	26
Fase de Laboratorio:	
3.1 -Aislamiento de <u>S. rolfsii</u>	26
3.2 -Prueba de fungicidas usando el método del alimento envenenado para <u>S. rolfsii</u> y <u>T. viride</u>	27
3.3 -Efecto de los fungicidas y <u>T. viride</u> sobre la germinación de los esclerotes de <u>S. rolfsii</u>	29
3.4 -Prueba del alimento envenenado para <u>T. viride</u> , usando diferentes dosis de Moncut.....	31
3.5 -Fase de Invernadero	32
IV. RESULTADOS	38
V. DISCUSION	69
VI. CONCLUSIONES	79
VII. RECOMENDACIONES	80
VIII. RESUMEN	81
IX. LITERATURA CITADA	84
X. ANEXO	89

	Página
1. Diámetro de desarrollo micelial (cm) de <u>S. rolfsii</u> a 30° C, en la prueba in vitro del alimento envenenado.	40
2. Análisis de variancia en DCA para datos del tercer día de desarrollo micelial de <u>S. rolfsii</u>	42
3. Prueba de Tukey para los promedios de desarrollo micelial de <u>S. rolfsii</u>	42
4. Diámetro de desarrollo micelial (cm) de <u>T. viride</u> a 30° C, en la prueba in vitro del alimento envenenado.....	44
5. Análisis de variancia en DCA para datos del tercer día de desarrollo micelial de <u>T. viride</u>	46
6. Prueba de Tukey para los promedios de desarrollo micelial de <u>T. viride</u>	46
7. Porcentaje de germinación de esclerotes de <u>S. rolfsii</u> tratados con fungicidas sistémicos y <u>T. viride</u>	49
8. Análisis de variancia en DCA para el porcentaje de germinación de esclerotes de <u>S. rolfsii</u>	51
9. Prueba de Tukey para promedios del porcentaje de germinación de esclerotes de <u>S. rolfsii</u>	51
10 Diámetro de desarrollo micelial de <u>T. viride</u> a 30° C, a diferentes dosis de Moncut	54
11 ANVA y Prueba de Tukey para datos del tercer día de desarrollo micelial de <u>T. viride</u> a diferentes dosis de Moncut.	54
12 Control químico y biológico de <u>S. rolfsii</u> en maní bajo condiciones de invernadero con aplicación de <u>T. viride</u> en "pullado".....	57
13 Análisis de variancia en DCA para el total de plantas afectadas por <u>S. rolfsii</u> con aplicación de <u>T. viride</u> en "pullado".....	59
14 Prueba de Tukey para el método "pullado".....	59
15 Control químico y biológico de <u>S. rolfsii</u> en maní bajo condiciones de invernadero con aplicación de <u>T. viride</u> en "mezcla".....	61
16 Análisis de variancia en DCA para el total de plantas afectadas por <u>S. rolfsii</u> con aplicación de <u>T. viride</u> en "mezcla".....	63
17 Prueba de Tukey para el método "mezcla".....	63
18 ANVA de la regresión lineal para el total de plantas afectadas aplicando <u>T. viride</u> en pullado y mezcla.....	65
19 ANCOVA para la aplicación de <u>T. viride</u> en "pullado" y en "mezcla"	65

v
RELACION DE FIGURAS

	Página
1. Curva de desarrollo micelial (cm/día) de <u>S. rolfsii</u> a 30° C, en la prueba del alimento envenenado.	41
2. Curva de desarrollo micelial (cm/día) de <u>T. viride</u> a 30° C, en la prueba del alimento envenenado.....	45
3. Curvas del porcentaje de germinación de esclerotes de <u>S. rolfsii</u> tratados con fungicidas al 0,1% y <u>T. viride</u>	50
4. Efecto de diferentes dosis de Moncut sobre el desarrollo micelial de <u>T. viride</u> a 30° C, en la prueba del alimento envenenado.....	55
5. Porcentaje de plantas de maní afectadas por <u>S. rolfsii</u> en invernadero, con aplicación de fungicidas sistémicos al 0,1% y <u>T. viride</u> por el método del "pullado".....	58
6. Porcentaje de plantas de maní afectadas por <u>S. rolfsii</u> en invernadero, con aplicación de fungicidas sistémicos al 0,1% y <u>T. viride</u> por el método "mezcla".....	62
7. Fluctuaciones de temperatura mínima, media y máxima para los meses de diciembre de 1992 y enero de 1993, durante las pruebas en invernadero	68

I. INTRODUCCION

El maní, es una planta oleaginosa que pertenece a la familia leguminosae cuyos granos contienen aproximadamente 45% de aceite y 25% de proteínas. Se le cultiva intensivamente, pues de sus semillas se extrae una de las mayores cantidades de aceite que se produce en el mundo.

En el Perú, el cultivo del maní ocupa aproximadamente 3,000 ha, llegando a una producción de 5,000 tm (21).

El maní variedad "Italiano Casma" es ampliamente cultivado en la Provincia de Casma, Dpto. de Ancash. La variedad mencionada, está ampliamente difundida por sus buenas características agronómicas: crecimiento arbustivo, grano con alto porcentaje de aceite, grano suave y de agradable sabor; en la alimentación es ampliamente utilizada ya sea en la preparación de platos típicos y en la industria para la fabricación de chocolates, helados y aceite.

En la actualidad son pocos los campos maniceros libres del problema del cáncer (denominación local), enfermedad que es causada por *Sclerotium rolfsii* Sacc. y que llega a afectar el 80 a 100% de plantas en fructificación. Un campo virgen rinde muy bien en la primera campaña, pero en la tercera campaña la cosecha es poca o nula, por lo cual el agricultor prefiere abandonar el campo y va en busca de un campo virgen u opta por sembrar otro cultivo, pero como el clima de la zona favorece al hongo polífago (ataca 189

especies diferentes de plantas) puede mantenerse viable en el suelo por muchos años bajo la forma de esclerotes.

El patógeno esta ampliamente distribuido a nivel mundial en climas tropicales y subtropicales, es un parásito facultativo que sobrevive en el suelo en restos de cultivos y malezas, lo cual dificulta el control del patógeno; se suma a esto el desconocimiento de las formas de control por parte del agricultor y la escasa eficacia de estos.

En los últimos años se han desarrollado técnicas para el uso de microorganismos antagónicos a S. rolfsii. Especies del genero Trichoderma spp. han dado resultados promisorios favorables al actuar como micoparásito afectando micelio y esclerotes de S. rolfsii (32, 38, 52).

Por la importancia que representa S. rolfsii para diversos cultivos y ante la falta de literatura nacional sobre el control de S. rolfsii con Trichoderma viride Pers.: Fr., se propuso desarrollar el presente trabajo, con el objetivo siguiente:

- Determinar el(los) fungicida(s) que aplicado(s) simultáneamente con Trichoderma viride actúen controlando a Sclerotium rolfsii.

II. REVISION DE LITERATURA:

El maní (Arachis hypogaea L.) tiene como posible centro de origen la región comprendida entre Brasil y el centro del Paraguay; otros lo consideran originario de China y Africa. El cultivo posiblemente se difundió a México y posteriormente a las zonas tropicales de Asia y Africa. Por otro lado, existen reportes de hallazgos de granos en tumbas precolombinas (14).

Según estadísticas de la FAO (21) para 1990, los mayores productores fueron la India, China, EE.UU., con un promedio mundial de 1,157 kg/ha de maní en cáscara. En el Perú, se cultivaron 3,000 ha con un rendimiento promedio de 1,438 kg/ha, totalizando una producción de maní en cáscara de 5,000 tm representando el 0,24% de la producción total mundial.

El maní se cultiva en zonas tropicales, adaptándose a climas subtropicales y regiones templadas (30° de latitud N y S), desde el nivel del mar hasta los 1,000 m.s.n.m. Requiere de 400-600 mm de agua, temperatura mayor a 22° C y abundante iluminación. No tolera heladas, no resiste sequias, el exceso de humedad produce abundante desarrollo vegetativo y escasa fructificación. El cultivo requiere suelo con buen drenaje, riegos ligeros, suelos francos a franco arenoso, materia orgánica y fertilización de calcio.

El maní es una leguminosa que presenta formas diploides y tetraploides en las variedades comerciales. La caracte-

rística principal de la planta es la fructificación, las flores luego de la fecundación desarrollan el ginóforo, el cual crece hacia arriba y luego aceleradamente hacia el suelo. Este pedúnculo floral o "clavo" penetra al suelo llevando el ovario fecundado a unos 15 cm de profundidad donde el fruto incrementa su volumen. El fruto es una vaina de 1-6 cm de longitud, con determinado número de semillas, la forma, tamaño y color depende de las variedades.

El maní en nuestro país se cultiva en la costa en: San Lorenzo (Piura), Virú, Santa, Chimbote, Casma, Huaura, Cañete, Chincha e Ica, y en la selva en: Tarapoto, Aucayacu, Rio Apurimac, Quillabamba, Pucallpa e Iquitos. Las variedades más cultivadas son: Blanco Tarapoto, Nor Carolina 126, Nor Carolina 2, Tarapoto e Italiano Casma. La variedad "Italiano Casma" se caracteriza por su precocidad, madura a los 100-120 días de la siembra, con un rendimiento de 1,970 a 2,740 kg/ha de semilla, y con 48,6 a 50% de grasa (14).

Los principales problemas sanitarios lo constituyen insectos de suelo (Agrotis sp., Feltia sp., Spodoptera sp., Elasmopalpus lignosellus), comedores de follaje (Anticarsia gemmatalis), barrenadores de brotes (Epinotia aporema, Stegasta bosquella), picadores chupadores (Trips sp.) y acaros (Tetranychus sp.). Entre las enfermedades, la chupadera fungosa (Rhizoctonia sp.), pudrición radicular (Fusarium sp.), podredumbre del tallo (Sclerotium rolfsii),

podredumbre del cuello (Diplodia sp., Rhizopus sp.), roya (Puccinia arachidis), manchas foliares (Cercospora sp., Alternaria sp.) y "virosis". S. rolfsii es el mayor problema fitosanitario por su sobrevivencia y falta de control químico.

En maní, S. rolfsii causa la enfermedad denominada moho blanco, pudrición de pié, pudrición del tallo, pudrición del cuello ó pudrición basal, causando pérdidas que pueden llegar al 80% del rendimiento (4, 35).

2.1 ANTECEDENTES Y DISTRIBUCION DE S. rolfsii

S. rolfsii es considerado un patógeno serio en muchos cultivos de importancia económica en regiones tropicales y subtropicales del mundo (4, 10, 11, 15), infesta todo tipo de suelo y en cualquier época del año.

S. rolfsii es la especie más común de hongos de suelo, puede causar pérdidas económicas de consideración en zonas donde prevalecen temperaturas altas durante las estaciones de lluvias y presencia de plantas susceptibles (4).

Este patógeno es común en el sur de los Estados Unidos, América Central, la región del Caribe, América del Sur, Africa, Asia, Filipinas y varios países europeos (4, 46).

En América Latina es considerada como enfermedad importante en Brasil, Chile, Colombia, México, Perú, Uruguay y Venezuela. En Chile, durante 1987 S. rolfsii estuvo

afectando 150 ha de cultivos de frijol provocando daños de alta magnitud, anteriormente había sido detectada en otros cultivos (37).

En 1892 Rolfs observó al hongo causando el tizón del tomate en Florida (37).

En el Perú, en 1929 Abbott, lo reportó como uno de los causantes de pudriciones radiculares de frijol (51). En 1933, García Rada lo reporta afectando Capsicum frutescens L. (37).

S. rolfsii fue observado en plantaciones de cebada en las localidades de Piura, Ayacucho y La Molina durante las Campañas 1971-72 y 1977-78, con una incidencia del 50-60% (38). En Lambayeque a partir de 1974 ha sido observado en el cultivo de frijol (38), en 1980 la presencia de la pudrición del cuello se ha hecho más notoria debido a que se ha ido incrementando el área sembrada, convirtiéndose en una amenaza potencial para el cultivo (51).

Según Olivos (37), en el Perú se continúa registrando su presencia en cultivos de cebada, frijol, arroz, papa, etc. Durante 1987 en los meses de Mayo a Junio, afectó hasta un 30% de plantas de cebada al estado de macollamiento y encañado en la zona de Carhuaz.

2.2 DAÑOS ECONOMICOS

Según Aycock (4), Rolfs reportó en Italia pérdidas de un siete a 70% en plantas de tomate, en pimienta fué observada causando 100% de la mortalidad de plantas; mientras que en California se registraron pérdidas de 500 tm de remolacha azucarera, en Louisiana (EEUU) causaron pérdidas del 50 al 70%, y en Israel del 50 al 60% .

S. rolfsii en Uruguay durante la campaña 1978-79, afectó en un 23% la producción de remolacha azucarera (7).

En Nigeria para 1989, se registró un ataque de 40% en plantas de soya (Glicine max L.) con una reducción de 59% de la cosecha (2). En Kansas (1990), para el mismo cultivo se registro una incidencia de 10-50% (3).

En Queensland (Australia), en árboles jóvenes de manzano la pudrición del cuello fue más destructiva causando un 60% de pérdidas. En los Estados Unidos, donde se hacían rotaciones de maní con soya, se reportó del 20-30% de pérdidas en tabaco (4, 37).

En Venezuela se reportan pérdidas del 60-90% en el cultivo de papa, pero no se tienen estimados de los costos por daño de S. rolfsii. En Uruguay ocurrió algo semejante, donde la pérdida durante la campaña 1978-79 fue de 23% (37).

En Kampur-India, para maní se reporta pérdidas del 27% y en Transvaal al norte de Africa más del 70% (4). En Georgia para el mismo cultivo se reportan pérdidas monetarias que exceden los \$8,000,000.

Montero (33) cita a Mitidieri, quien registró daños para plantaciones comerciales de Cynara scolymus L. hasta de un 60%, en tanto Frezzi dice que en algunas zonas maniseras de la Provincia de Córdoba (Argentina), las pérdidas fueron entre un 5 y 10%, llegando en algunos casos al 30% .

2.3 RANGO DE HOSPEDANTES

Frezzi citado por Montero (33), señala que S. rolfsii se ha registrado en 189 hospedantes diferentes correspondientes a ocho familias de monocotiledóneas y 42 dicotiledóneas , destacando que la enfermedad se presenta con bastante gravedad sobre maní. Se incluye a: cereales, frutales, forrajes, flores, plantas hortícolas y malezas, ataca especies pertenecientes a briófitas, pteridófitas y gimnospermas. La enfermedad es observada durante el cultivo, transporte y almacenamiento, afecta diversas partes de las plantas como tallos, raíces, tubérculos, bulbos, órganos carnosos, frutos y hojas, de allí su sintomatología diferencial (1, 12, 22, 46, 48).

Sclerotium rolfsii Sacc., infecta plantas cultivadas y silvestres: Lycopersicum esculentum Mill. , Arachis

hypogaea L., Triticum vulgare, Orvza sativa L., Saccharum officinarum L., Hordeum vulgare, Gossypium barbadense L., Ipomoea batatas Lam., Allium sativum L., Allium cepa L., Phaseolus vulgaris L., Elais guinensis Jacq., Solanum tuberosum L., Glycine max Mer, Malus pumila Mill., Coffea arabica L., Citrus sp., Nicotiana tabacum L., Theobroma cacao L., Persea americana Mill., Manihot esculenta Pohl., Citrullus vulgaris Schrad., Lactuca sativa L., Daucus carota L., Iris pumila L., Gladiolus sp., Narcissus sp., leguminosas forrajeras, etc.(4). El hongo es de importancia en regiones tropicales y subtropicales y pueden causar pérdidas económicas de consideración (4).

2.4 CARACTERISTICAS DEL AGENTE CAUSAL

S. rolfsii se caracteriza por presentar micelio blanco y sedoso con abundante micelio aéreo, crece sobre substratos conteniendo azúcares simples. Las colonias crecen radialmente y el micelio se presenta denso y disperso en manojos concéntricos. El micelio en algunos aislamientos se presenta como cordones rizomórficos (4). Las hifas son hialinas, de pared delgada cuando jóvenes, septadas y con dos clampas de conexión en los bordes, a veces desarrollan ramas.

Los esclerotes constituyen un conjunto de hifas que se unen en forma paralela en número de tres a doce, luego toman la forma esférica (4). Estas estructuras pueden desarrollarse en cuatro días, pero los esclerotes se forman

sólo cuando el medio está completamente cubierto por el hongo o cuando el desarrollo se encuentra limitado.(4)

El color del esclerote al comienzo es blanco, luego mostaza o marrón claro para tornarse marrón oscuro a la madurez. Según Aycock (4), Curzi observó durante la madurez de los esclerotes gotas de agua o exudados de color ámbar conteniendo azúcares y aminoácidos los cuales promueven a su vez la descomposición de los esclerotes en el suelo. En ciertas condiciones estas estructuras de conservación pueden juntarse presentándose irregulares en forma y tamaño para algunos biotipos (42, 44, 45).

Los esclerotes maduros están compuestos de un anillo externo melanizado constituido por dos a cuatro capas. El número y tamaño de los esclerotes está influenciado por la fuente de carbono, nitrógeno, potasio y por el pH. Las paredes contienen quitina y laminarina que es un B-1,3 glucan. El almacenamiento de reserva lo constituyen los carbohidratos, proteínas, lípidos y ácido oxálico (44, 45).

Dependiendo de las condiciones del medio ambiente los esclerotes presentan una germinación hifal (proceso gradual) y otra eruptiva con alta densidad de crecimiento micelial. La germinación eruptiva puede ser inducido exponiéndolos a compuestos volátiles (27, 43). La conducta infectiva y el crecimiento micelial se diferencian grandemente en la forma de germinación y tiene un aspecto

significativo en la epidemiología de la enfermedad (43).

Beaute y Rodríguez-Kabana (10) demuestran que la germinación de los esclerotes en el campo, es inducido primariamente por presencia de factores estimulantes emanados de residuos de cosecha o de plantas muertas y senescentes.

El estado basidial: Aethalia rolfsii (Curzi) Tu & Kimbr., produce basidias clavadas, hialinas, basidiosporas piriformes de 1,0-1,7 x 6-12 um, este estado es raramente visto en campo o en cultivo (4, 8). La fase anamorfa de S. rolfsii no produce esporas asexuales, puede estar considerado en el orden Mycelia sterilia (Deuteromycetes) o en el orden Agonomycetales (Hyphomycetes) (9).

Mordue citado por Montealegre (32), refiere que el desarrollo de S. rolfsii se ve favorecido por temperaturas entre 30-35° C, creciendo entre los 8 y los 40° C, del mismo modo crece en un rango de pH entre 1,4-8,6 siendo su óptimo de 3,0-6,5. Este microorganismo se encuentra como parásito facultativo, pudiendo desarrollarse saprofíticamente en el suelo persistiendo en restos de cultivos y malezas hospedantes.

2.5 VARIABILIDAD

Varios autores intentaron separar razas en base a la aversión de ciertos aislamientos a unirse. Diferencias en

morfología y patogenicidad se reportan de aislamientos procedentes de Carolina del Norte y Arkansas (4). Se notaron diferentes razas, cuando los aislamientos de arroz y pimiento se obtuvieron por inoculación cruzada. A pesar de esto, algunos investigadores han reportado en leguminosas aislamientos similares tanto morfológica como patogénicamente (4).

Cooper según Aycock (4), reportó que los aislamientos de maní fueron débiles y fuertemente patogénicos; asimismo, se obtuvieron razas de *S. rolfsii* tolerantes a PCNB y a nitrobenzenos clorinados.

Goto según Aycock (4) observó que cuando varios aislamientos basidiospóricos son pareados en todas las combinaciones posibles se logran razas de diversas características incluyendo las paternas, concluyendo que los cultivos de basidiosporas son heterotálicos. En base a esto sugiere que razas naturales de los hongos son clones heterozygotos y que las recombinaciones son factores hereditarios en la reproducción sexual y se constituyen en fuentes de variabilidad en la naturaleza.

2.6 INTERACCION HOSPEDERO-PATÓGENO

El hongo produce apresorios o masas hifales que causan la muerte de células parenquimáticas del hospedero antes de la penetración (4, 53).

Van Etten y Bateman, citados por Krupa (28), explican que S. rolfsii produce enzimas que degradan xilano, galactanos y galactomanosas presentes en hipocotilo de frijol infectado, pero están ausentes en plantas sanas. Tseng y Bateman, citados por el mismo autor, indican que S. rolfsii produce fosfatidasa B durante la patogénesis en frijol. La fosfatidasa representa un grupo de enzimas que son capaces de hidrolizar uniones éster en lecitinas y fosfolípidos; los mismos autores establecen que las enzimas macerativas secretadas por el patógeno son la endopoligalacturonasa y las endopectinilasa.

Papavizas (40) y Punja (45) encuentran que S. rolfsii produce celulasa en las plantas infectadas. Varios investigadores (4, 5, 13, 22, 28) sostienen que el patógeno produce ácido oxálico tanto en tejido infectado como "in vitro", éste compuesto daña las células del hospedante por el bajo pH e impide la formación de calcio en pectato de calcio en la lámina media; similar acción es obtenida con la poligaracturonasa (44, 45).

Aycock (4) y Bolkan (13) señalan que el hongo infecta directamente por medio de una masa micelial con secreción de ácido oxálico, protopectinasa, celulasa, entre otras enzimas, que desintegran y matan el tejido antes de penetrar al hospedante. Una vez que se establece, avanza e inicia la formación de esclerotes, siendo la enfermedad favorecida por alta humedad y temperatura de 30° C (4, 22).

S. rolfsii produce grandes cantidades de ácido oxálico, una fitotoxina que produce un color púrpura sobre las semillas de maní y también es responsable de la clorosis y necrosis de las hojas en los estados iniciales de la enfermedad (4, 35), el hongo produce ácido oxálico tanto en tejido infectado como "in vitro" (5, 22).

2.7 SINTOMATOLOGIA DE LA ENFERMEDAD

La planta de maní afectada por S. rolfsii se caracteriza por presentar el amarillamiento y marchitez de una rama, tallo principal o toda la planta. En el cuello puede observarse un micelio blanco, el cual se desarrolla rápidamente bajo adecuadas condiciones ambientales, extendiéndose a otras partes de la planta. Sobre las partes afectadas y la superficie del suelo, se desarrollan esclerotes esféricos de color blanco al comienzo y posteriormente se tornan marrón oscuro. Inicialmente las lesiones sobre el hospedante son de color marrón suave, llegando a marrón oscuro en estados avanzados. Las vainas son usualmente podridas y puede ocurrir sobre plantas sin síntomas visibles en la parte aérea. Las plantas afectadas ocasionalmente, pueden desarrollar raíces adventicias (10, 47).

La enfermedad es favorecida por el calor y la humedad, su inicio coincide con la etapa de fructificación es decir la formación de vainas subterráneas (10, 36).

En frijol, los síntomas de la pudrición radicular se presentan inicialmente en el tallo o hipocótilo, debajo de la superficie del suelo en forma de lesión oscura que se extiende hasta la raíz principal, pudiendo llegar a destruir la corteza. Los síntomas del follaje consisten en un amarillamiento de las hojas, defoliación y marchitez. Los esclerotes se encuentran adheridos a la base del tallo (10, 11).

2.8 DISEMINACIÓN

La enfermedad se disemina en el campo por medio de micelio, esclerotes, basidiosporas, dispersión de rastros con estructuras del hongo, por suelo infestado, por agua de riego contaminada, partículas de suelo adheridas a los implementos agrícolas, los animales o a través de la semilla (45). La diseminación es lenta y la incidencia es por focos (4, 45).

La sobrevivencia de S. rolfsii en forma de esclerotes se realiza por largos períodos si se presentan condiciones favorables de temperatura, aireación y materia orgánica (4, 13, 15, 45).

2.9 MEDIOS DE CONTROL

Para el control cultural de la enfermedad en maní, se recomienda la rotación con maíz, riegos ligeros, la

solarización (el suelo húmedo es cubierto con plástico transparente por 21 días, obteniéndose una mortalidad de los esclerotes de 100% y 80% a cinco y 20 cm de profundidad) (34).

Entre los compuestos químicos que inhiben completamente el crecimiento micelial se tiene al naftaleno, derivados del cloro y bromo. El benceno y sus derivados son letales al micelio. El vapam es tóxico para *S. rolfsii*. Se ha encontrado que varios fungicidas como Campogram, Calixin 75, Captafol y Benomil dan protección efectiva a semillas de trigo y frijol (4, 12, 45).

Cooper citado por Aycock (4) reporta que el PCNB, Captan y Thiram son efectivos en cantidad de 6,8-13,6 kg/ha.

El control químico con PCNB y Carboxin, durante el inicio de fructificación, es recomendado para aplicaciones al suelo o durante el riego (4). El PCNB Etridiazole (terrachlor, super x-quintozene 20 y 75% de ingrediente activo) a razón de 17-22 kg/ha, es efectivo cuando se aplica a la semilla o suelo circundante al surco. El PCNB requiere que se incorpore uniformemente en la capa superior del suelo (1-2 pulgadas) a fin de tener éxito en el control (4), es efectivo aplicado a la siembra e incrementa los rendimientos, su uso es impráctico por: 1) Costo, 2) No se puede predecir la ocurrencia del patógeno, 3) Las condiciones estacionales inciertas, 4) Por la complejidad

de S. rolfsii, al coexistir con nemátodos y otros hongos dan lugar a que los fungicidas no tengan buena eficiencia (4, 25).

"In vitro", Vitavax WP es el fungicida más efectivo para controlar la germinación de esclerotes del hongo, pero en pruebas de macetas para controlar la infección de plantas de papa resultó mejor el Terrazole a 300 ppm (15).

EPTC, tiolcarbamato de etil N, N dipropilo, Fluometuron y Diuron reducen la producción de esclerotes de S. rolfsii, y en los cultivos la reducción es proporcional a la concentración usada. La mayor reducción en la producción de esclerotes se logra a la dosis de 20 ug/g de EPTC y la acción inhibitoria de fluometuron a la dosis de 10-20 ug/g (18, 41).

Mont (34), manifiesta que S. rolfsii presenta resistencia a los fungicidas Difenil, reportado por Georgopoulos & Vomvoyanni en 1963, y a PCNB reportado por Georgopoulos en 1964.

2.10 CONTROL BIOLÓGICO

Baker y Cook, citados por Mont (34), definen el control biológico como la reducción de la densidad de inóculo o actividad productora de enfermedad de un patógeno o parásito en su estado activo o latente, por uno o más organismos antagónicos, en forma natural o por manejo del

ambiente, hospedero o de los propios microorganismos.

En el control biológico, se utiliza las esporas o los filtrados de cultivos que actúan por medio de productos metabólicos que ejercen acción sobre la pared celular, membrana y ácidos nucleicos de sus hospederos o por micoparasitismo matando las estructuras invadidas directamente, reduciendo de esta manera la concentración de esporas o la densidad poblacional, y por ende el ataque de muchos hongos fitopatógenos de importancia económica (19, 26, 48, 49, 52).

Darpoux citado por Aycock (4) observó que el filtrado fresco de Alternaria solani contenía alternarina como sustancia antibiótica, así como el extracto seco incorporado a 100 mg/l en agar papa detuvo el crecimiento de las colonias de S. rolfsii.

En el control biológico se recomienda y reporta a Trichoderma harzianum Rifai, hongo habitante natural en el suelo, parasita hongos fitopatógenos y controla enfermedades causadas por S. rolfsii, R. solani y Fusarium oxysporum (13), su uso comercial como biofungicida está siendo investigado (14, 34). Además Trichoderma spp. controla a Phytophthora parasitica, Pythium sp. (35), S. cepivorum, Verticillium dahliae, y otros (4, 8, 17, 50).

Las especies de T. lignorum (Tode) Harz, T. koningue oudams y T. viride Pers.: Fr. , se diferencian por el

color, tamaño de las colonias y conidias; sin embargo, cuando se examina un gran número de aislamientos las diferencias son mínimas considerándose a T. viride como la especie tipo (49). Cook y Baker (17) distinguen varias especies de Trichoderma: T. hamatum, T. viride, T. harzianum, T. koningue, T. polyspermun, etc. en el control de hongos fitopatógenos.

Se ha podido observar que las especies de Trichoderma se comportan como hiperparásitos frente a diversos patógenos, al atacar directamente y producir la lisis de micelios y también de esclerocios de hongos (19). Elad, citado por Montealegre (32), manifiesta que estas especies son capaces de secretar diversos niveles de enzimas hidrolíticas como quitinasas y B-1,3 gluconasas que degradan la quitina y laminarina respectivamente, componentes estructurales de las paredes celulares de los hongos. También se cita a Dennis, quien ha demostrado que estas especies producen antibióticos que inhiben el crecimiento de otros hongos, además diferentes cepas compiten activamente por el mismo sustrato alimenticio con patógenos que presentan una fase saprofítica (32).

Barrón (9), ubica a T. viride en la clase Hypomycetes, y Saccardo en el orden Moniliales, su estado perfecto es Hypocrea rufa Pers. ex Fr., un ascomiceto.

T. viride, parasita micelio de S. rolfsii actuando por medio de clavijas alrededor de la hifa de su hospedero y luego penetra por lisis enzimática de la pared celular, parasitando internamente las células hifales o invadiendo la capa melánica y el tejido pseudoparenquimático del esclerote por medio de la B-(1-3) gluconasa y quitinasa (11, 15, 30) o por aglutininas (lecitinas) presentes en S. rolfsii y que se consideran como posibles sustancias para el reconocimiento de la interacción del fenómeno del micoparasitismo entre Trichoderma y S. rolfsii (8).

Wesbters y Lomas citados por Agrawal et al. (1), han reportado que el hongo produce gliotoxina y viridina causante de la lisis de las paredes celulares de sus hospederos, posteriormente se ha reportado que la viridina es producido por Gliocladium virens.

Punja (45) reporta recientemente la tricodermina, como causante de la lisis de las paredes celulares de los hongos que parasita Trichoderma.

Sañudo et al. (48), utilizando dos cepas de Trichoderma, Bacillus cereus y B. subtilis encuentra que Trichoderma sp. ejerce antagonismo hacia S. rolfsii. En campos de frijol comprueban que Trichoderma tiene mayor efectividad y permite un alto porcentaje de germinación y mayor número de plantas vivas.

T. harzianum y B. subtilis en filtrados a bajas diluciones detienen tanto el crecimiento de S. rolfsii en medio de cultivo, como la mortalidad de plantas de lenteja en condiciones de campo (1).

Paéz (39) señala cierto control de Mycena citricolor "ojo de gallo del café" con Trichoderma sp.. Pruebas de campo, usando los aislamientos "común" y "claro" de Trichoderma dieron como resultado una disminución en el número de lesiones totales, número de basidiocarpos por lesión y número total de basidiocarpos. Pruebas de capacidad de colonización indican que el hongo es capaz de establecerse naturalmente en las lesiones necróticas del ojo de gallo, a partir de suelo y materia orgánica infestados artificialmente. Trabajos de laboratorio indican que: a) el aislamiento claro es favorecido en su parasitismo por una relación C:N bajo; mientras que, el común por una relación alta. b) el efecto del pH puede ser mayor sobre la germinación de la espora o desarrollo del tubo germinativo que sobre producción de toxinas. c) el efecto de edad en el hiperparasitismo de cultivo está muy ligado al pH del medio.

Olivos (38), reporta que T. viride ejerció mayor biocontrol sobre S. rolfsii, caracterizándose por su fácil cultivo "in vitro", alta densidad reproductiva, por parasitar internamente micelio y esclerotes mediante estaquillas o clavijas que matan al patógeno.

T. harzianum Rifai para ser utilizado como controlador biológico bajo condiciones de campo, es incrementado sobre gránulos conteniendo melaza y lecitinas presentes en S. rolfsii y que se consideran como posibles sustancias para el reconocimiento de la interacción del fenómeno de micoparasitismo entre Trichoderma y S. rolfsii (8, 30, 35).

Las especies de Trichoderma son altamente eficientes como antagonistas de hongos fitopatógenos (19). Se ha reportado el antagonismo de T. lignorum Harz en R. solani y bajo condiciones de campo se ha demostrado el efecto de T. harzianum en Lolium sp. (52), T. harzianum tiene efecto directo sobre el micelio de R. solani, cultivos de éste hongo antagónico agregado al suelo en invernadero redujeron la muerte de plántulas de frijol, tomate y fresa (23).

T. harzianum produce poca cantidad de antibióticos comparado con otras especies de Trichoderma, se sabe que razas de este hongo producen sustancias diferencialmente selectivas contra diferentes hongos. Aislamientos de T. harzianum producen B-(1-3) gluconasa y quitinasa extracelulares, enzimas claves en la lisis de la pared celular del hongo Rhizoctonia (23).

Weindling citado por Aycock (4), indica que las hifas de Trichoderma viride secretan una sustancia letal para S. rolfsii llamada gliotoxina (6, 9, 19, 20, 49), cuando se usa filtrado de este hongo se inhibe la germinación

esclerotial de S. rolfsii (35). Recientemente se ha reportado a la tricotodermina, como causante de la lisis de las paredes celulares de los hongos que parasita *Trichoderma* (45).

Mont (34) manifiesta que el uso del hongo T. viride en el control de las enfermedades de plántulas no resulta exitoso debido a que no es dominante en la superficie del suelo, pues requiere de humedad muy alta y tiene una rápida autólisis.

Mont (34) cita a Weindling y Faucett, quienes en 1936 mostraron que la protección de plántulas de cítricos contra R. solani por medio de la inoculación de T. viride al suelo, fue lograda más fácilmente acidificando el suelo y creando condiciones aparentes para el establecimiento de T. viride a niveles más altos de población. El control de la enfermedad en plántula se incrementó a diferencia del tratamiento en la cual no se efectuó la acidificación previa del suelo, y con aplicación de una alta cantidad del biocontrolador.

T. harzianum controla a S. rolfsii en maní, en tomate y *Lupinus* azul. Una a tres aplicaciones de T. harzianum en condiciones de campo sobre plantas de tomate al trasplante y en la superficie de suelo, son altamente efectivas y reducen el daño (52).

Se ha comprobado que aplicar T. harzianum a semillas de rabanito y arveja es más efectivo que otros agentes de biocontrol y resulta tan efectivo como cuando se aplican productos químicos a semillas (24).

En una prueba simultánea con fungicidas, T. harzianum presentó una mayor tolerancia a los fungicidas Mepronil, Oxicarboxin y Tolclofos-metil. Los resultados indican que Sclerotium rolfsii podría ser controlado en forma efectiva mediante un sistema de control integrado, utilizando cepas del género Trichoderma y fungicidas (32).

Las formulaciones en granulados ("pellets"), representan una posibilidad para aplicar microorganismos biocontroladores de patógenos habitantes del suelo, así como la aplicación de afrecho infestado con micelio de Trichoderma spp. . Se ha comprobado que hubo una mayor reducción de R. solani cuando se utilizó granulados ("pellets") de Trichoderma y afrecho (29).

Actualmente en Israel, en condiciones experimentales se utiliza T. harzianum, aislamiento No. 35 (MTR-35) (30). Es aplicado como un fungicida biológico protectante antes o durante la siembra resultando compatible con fungicidas químicos, insecticida, herbicidas, fertilizantes líquidos y con Rhizobium sp.. Semillas cubiertas con Trichoderma MTR-35 a 12 g/kg dan como resultado en maní, sembrado en suelo infestado con S. rolfsii, un rendimiento de 7,952.5 kg/ha.

El PCNB es fungistático e inhibe "in vitro" el crecimiento micelial y esclerocial por 2 a 3 meses pero no llega a matar a S. rolfsii; el fungicida a 400 ppm con esporas de T. viride en concentración de 10 x 10/ml, ejerce buen control del patógeno "in vitro" e invernadero (37).

Olivos (38), en un estudio con los fungicidas Captan, Difolatan, Pentacloronitrobenceno y del biocontrolador T. viride sobre control S. rolfsii "in vitro" e invernadero, sobre plántulas de cebada y frijol, encontró el mejor control con PCNB y T. viride, que se comportaron en forma similar y permitieron desarrollar nódulos bacterianos.

Montealegre (32) plantea considerar la posibilidad de manejar el problema de S. rolfsii mediante un control integrado que aproveche la agresividad de Trichoderma, en conjunto con tratamientos químicos que resulten efectivos y considerar medidas de control cultural y físico.

III. MATERIALES Y METODOS

El presente trabajo se realizó en el laboratorio e invernadero del Dpto. de Fitopatología de la Universidad Nacional Agraria La Molina, durante los meses de Mayo 1992 a Enero 1993.

FASE DE LABORATORIO:

3.1 Aislamiento de S. rolfsii

A partir de esclerotes ubicados sobre plantas afectadas de maní y de suelo infestado provenientes del campo "Chacarilla" de la UNALM (campaña 91-92), se logró obtener el aislamiento de Sclerotium rolfsii Sacc.. Los esclerotes del suelo fueron extraídos por el método de flotamiento y se desinfestaron con clorox al 1% por 10 minutos. Se preparó medio PDAO (Papa-Dextrosa-Agar-Oxitetraciclina) estéril, luego de plaqueado y solidificado se colocaron simétricamente 3 esclerotes por placa. Las placas sembradas se mantuvieron en incubación a 30° C durante 5-10 días, luego según las características de la colonia se procedió a repicar, purificar y entubar, para finalmente conservarlos en refrigeración.

El aislamiento correspondiente a Trichoderma viride Pers.: Fr., se obtuvo de cepas de la micoteca del laboratorio de Fitopatología de la UNALM.

3.2 Prueba de fungicidas usando el método del alimento envenenado para S. rolfsii y T. viride.

Con la finalidad de determinar aquellos fungicidas que tuvieran acción contra S. rolfsii, se empleó el método del alimento envenenado. Los fungicidas utilizados fueron:

- Bayletón PM 25% (Triadimefon); Del grupo químico de los Triazoles, afecta la membrana protoplásmica (inhibe la síntesis de esteroides). Actúa contra Erysiphales (Oidium), Uredinales (royas) y ciertos hongos imperfectos, no tienen acción sobre hongos Oomicetos y Zygomycetos.

- Tilt 250 CE (Propiconazol); Pertenece al grupo de los Triazoles al igual que Bayletón, controla oidiosis y royas.

- Fitoraz PM 76% (Cimoxanil 6% + Propineb 70%); el primero pertenece al grupo de las Acetamidas y es efectivo para controlar Oomicetos (P. infestans) y hongos que causan mildius.

- Moncut PM (Flutolanil); Pertenece al grupo de los fenoles aromáticos y actúan fungistáticamente sobre la fosforilación oxidativa de Rhizoctonia spp., Sclerotium spp.

La efectividad "in vitro" de dichos fungicidas fue determinada en estudio previo (16).

El aislamiento de S. rolfsii se desarrolló en cuatro placas petri conteniendo medio PDAO estéril e incubados a 30° C durante 5 días, y después se extrajeron rodajas de

micelio de 0,5 cm .

Se prepararon cinco erlenmeyers conteniendo 100 ml. de medio PDA estéril, separadamente se añadió y mezcló 0,1 g de cada fungicida (0,1%) y se procedió a verter cada mezcla en cuatro placas petri estériles, una vez solidificados se colocó al centro de cada placa un disco de 0,5 cm de diámetro conteniendo PDA y micelio del hongo, las placas sembradas se incubaron a temperatura de 30° C por cinco días. Por tratamiento se tuvo cuatro placas, considerándose cinco tratamientos:

- T 1. PDA + Bayletón 0,1% + S. rolfsii
- T 2. PDA + Fitoraz 0,1% + S. rolfsii
- T 3. PDA + Tilt 0,1% + S. rolfsii
- T 4. PDA + Moncut 0,1% + S. rolfsii
- T 5. PDA + S. rolfsii (testigo)

La evaluación consistió en registrar el diámetro de desarrollo micelial hasta el quinto día de la siembra y al décimo día el número de esclerotes.

En la prueba del alimento envenenado para T. viride se procedió en forma similar que para S. rolfsii, excepto que el aislamiento del biocontrolador se incubó por tres días a 30° C. Los tratamientos fueron :

- T 1. PDA + Bayletón 0,1% + T. viride
- T 2. PDA + Fitoraz 0,1% + T. viride
- T 3. PDA + Tilt 0,1% + T. viride
- T 4. PDA + Moncut 0,1% + T. viride
- T 5. PDA + T. viride (testigo)

La incubación de las placas sembradas fue a una temperatura de 30° C. La lectura de diámetro de desarrollo de T. viride se realizó durante cinco días. Los datos correspondientes al tercer día, donde el testigo desarrolló en un 100%, fueron analizados a través de un Análisis de Variancia en un Diseño Completamente al Azar (DCA) y mediante la prueba de comparación de medias de Tukey a un nivel 0,05 .

Estas pruebas permitieron comprobar el efecto de los fungicidas sobre el desarrollo micelial de S. rolfsii y sobre T. viride.

3.3 Efecto de los fungicidas y T. viride sobre la "germinación" de los esclerotes de S. rolfsii.

El aislamiento de S. rolfsii fue incrementado en cinco placas con medio PDAO estéril e incubados a 30° C durante 10 días, los esclerotes maduros fueron extraídos con una pinza para su secado y conservación en tubos de ensayo. Para la prueba se dispuso de 240 esclerotes.

T. viride fue incrementado en cinco placas con medio PDAO estéril e incubados a 30° C durante doce días, luego las esporas fueron extraídas con un hisopo de algodón raspando la superficie del medio de cultivo, las esporas se colocaron en papel manteca para su pesado y uso posterior.

Se preparará una suspensión de cada uno de los

fungicidas al 0,1% en cuatro erlenmeyers de 100 ml; en cada uno se procedió a verter 0,05 g de cada fungicida más 50 ml de agua destilada y 0,025 ml de Tween 60, mezclándose en forma homogénea. En cada solución fungicida se colocaron 50 esclerotes manteniéndolos en inmersión durante 30 minutos, luego dentro de un Microvoid con una pinza estéril se procedió a retirar los esclerotes colocándolos sobre papel toalla, se dejó orear por 30 minutos. Posteriormente y según tratamiento se procedió a la siembra equidistante de 10 esclerotes por placa, incubándose durante cinco días a 30° C y anotando el porcentaje de germinación de los esclerotes. Cada tratamiento tuvo cuatro repeticiones.

La suspensión correspondiente a T. viride al 0,1%, se preparó con 0,1 gr de esporas del hongo (polvo seco), vertidas en 100 ml de agua destilada más 0,05 ml de Tween 60, utilizando un recipiente de pyrex de 200 ml, luego de agitar la suspensión se colocaron 50 esclerotes de S. rolfsii por 30 minutos, procediendo a sembrar en forma similar al tratamiento de esclerotes con fungicidas. Por tratamiento se tuvo cuatro repeticiones, considerándose seis tratamientos:

T 1.	10 Esclerotes	+	Bayletón	0,1%	sobre	PDA
T 2.	10 Esclerotes	+	Fitoraz	0,1%	sobre	PDA
T 3.	10 Esclerotes	+	Tilt	0,1%	sobre	PDA
T 4.	10 Esclerotes	+	Moncut	0,1%	sobre	PDA
T 5.	10 Esclerotes	+	<u>T. viride</u>	0,1%	sobre	PDA
T 6.	10 Esclerotes		sobre		PDA	(testigo)

Para el tratamiento testigo (T-6) los esclerotes fueron desinfectados en una solución de Clorox al 1% durante 10 minutos, la siembra fue realizada en forma similar al resto de tratamientos.

Las lecturas se registraron al tercer día de acuerdo al desarrollo del tratamiento testigo, anotando el porcentaje de germinación de los esclerotes por placa y tratamiento. Los datos fueron analizados a través de un Análisis de Variancia y mediante la prueba de comparación de medias de Tukey.

Los tratamientos en los cuales se observó que no permitían la germinación de los esclerotes de S. rolfsii fueron seleccionados para pruebas posteriores.

3.4 Prueba del alimento envenenado para T. viride, usando diferentes dosis de Moncut.

Esta prueba se realizó posterior a la fase de invernadero, en base a los resultados favorables y promisorios de la aplicación de T. viride y Moncut en el control de S. rolfsii, y con la finalidad de determinar si las dosis mayores de Moncut no afectaban significativamente al biocontrolador y que permitirían mayor control del patógeno.

El aislamiento de T. viride se desarrollo en cuatro placas petri conteniendo medio PDAO estéril e incubados a 30° C durante 5 días. Se prepararon cuatro erlenmeyers

conteniendo 100 ml. de medio PDA estéril, se procedió al pesado de las dosis de Moncut para cada tratamiento; se añadió y mezcló para el primero 0,1 g de Moncut (0,1%), al segundo 0,2 g de Moncut (0,2%), al tercero 0,3 g de Moncut (0,3%) y al cuarto sin fungicida (testigo). Se procedió a verter cada mezcla en cuatro placas estériles; una vez solidificado se colocó al centro de cada placa un disco de 0,5 cm de diámetro conteniendo PDA y micelio del hongo, las placas sembradas se incubaron a temperatura de 30° C por cinco días, evaluándose el diámetro de desarrollo micelial.

Los datos correspondientes al tercer día de desarrollo se analizaron a través de un Análisis de Variancia en un D.C.A. y mediante la prueba de Tukey. Se consideró cuatro tratamientos, cada tratamiento tuvo cuatro placas.

- T 1. PDA + T. viride (testigo)
- T 2. PDA + Moncut 0,1% + T. viride
- T 3. PDA + Moncut 0,2% + T. viride
- T 4. PDA + Moncut 0,3% + T. viride

3.5 FASE DE INVERNADERO

En laboratorio se procedió al incremento de los esclerotes de S. rolfsii, para ello el hongo fue cultivado en cuarenta placas petrí conteniendo medio PDAO estéril e incubados durante 12 días a 30° C, luego se procedió a la extracción, secado y conservación de los esclerotes maduros en tubos de ensayo. Grupos de 50 esclerotes fueron contabilizados y empaquetados en papel manteca .

T. viride fue cultivado en 5 placas conteniendo medio PDAO estéril e incubados a 30° C por 7 días. De estas placas se procedió a la extracción de rodajas de agar de 0,5 cm de diámetro conteniendo micelio y esporas del hongo, las que se colocaron dentro de bolsas de polipropileno (7 x 10 cm) conteniendo 100 g de cebada cocida y estéril.

La cebada embolsada y estéril fue preparada de la siguiente manera: 500 g de cebada fueron escogidos, lavados y remojados por 24 horas; luego, se puso a hervir hasta su cocción (15 minutos), se escurrió y dejó orear, inmediatamente se distribuyó 100 g de cebada en bolsas de polipropileno (7 x 10 cm); en la abertura se colocó algodón a manera de tapón sujetado con una liga y encima se puso una capucha de papel. Las bolsas conteniendo granos de cebada se esterilizó en autoclave durante una hora por dos días consecutivos, al día siguiente dentro de un Microvoid se procedió a la siembra de T. viride sobre los granos de cebada, para ello con una pinza estéril se colocó cinco rodajas de medio PDA de 0,5 cm de diámetro conteniendo micelio de T. viride (7 días de desarrollo) en cada bolsa de polipropileno.

Las bolsas sembradas con T. viride se incubaron a 30° C durante 3 días, para luego colocarlas a temperatura del medio ambiente y bajo luz artificial (fluorescente de 40 watts) durante siete días, quedando así listo para su uso en las pruebas de invernadero.

Macetas de arcilla de un kg de capacidad luego de ser desinfectadas en una solución de hipoclorito de sodio al 2% fueron llenadas con una mezcla desinfectada (al vapor durante dos horas) de 50% suelo, 25% arena y 25% materia orgánica; posteriormente y de acuerdo al tratamiento se colocaron en forma homogénea 50 esclerotes de S. rolfsii por maceta a 2 cm de profundidad.

El biocontrolador previamente multiplicado en granos de cebada cocida fue aplicado bajo dos formas: por el método del pullado y por el método de mezcla.

a) Aplicación de T. viride por el Método del Pullado.

Se adicionó y colocó al centro de cada maceta 5 g de cebada conteniendo T. viride, en los primeros 4 cm de profundidad a manera de "golpe" o "pullado" y a su alrededor cinco semillas de maní variedad "Italiano Casma" tratadas con o sin fungicidas. Por cada tratamiento se dispuso un total de 10 macetas (repetición), los tratamientos considerados fueron :

- T 1. Suelo desinfectado + 5 semillas sin tratamiento (testigo).
- T 2. Suelo desinfectado + 50 esclerotes de S. rolfsii + 5 semillas sin tratamiento (testigo de la enfermedad).
- T 3. Suelo desinfectado + 5 g de T. viride + 5 semillas sin tratamiento de fungicidas.
- T 4. Suelo desinfectado + 50 esclerotes + 5 semillas tratadas con Bayletón al 0,1% .

- T 5. Suelo desinfestado + 50 esclerotes + 5 semillas tratadas con Fitoraz al 0,1% .
- T 6. Suelo desinfestado + 50 esclerotes + 5 semillas tratadas con Moncut al 0,1% .
- T 7. Suelo desinfestado + 50 esclerotes + 5 semillas tratadas con Bayletón al 0,1% + 5 g de T. viride.
- T 8. Suelo desinfestado + 50 esclerotes + 5 semillas tratadas con Fitoraz al 0,1% + 5 g de T. viride.
- T 9. Suelo desinfestado + 50 esclerotes + 5 semillas tratadas con Moncut al 0,1% + 5 g de T. viride.
- T 10. Suelo desinfestado + 50 esclerotes + 5 semillas sin tratamiento + 5 g de T. viride.

b) Aplicación T. viride de por el Método Mezcla.

Se incorporó 5 g de Trichoderma y se mezcló homogéneamente con el suelo contenido en la maceta. Cinco semillas de maní variedad "Italiano Casma" tratadas con o sin fungicidas fueron colocados en forma equidistante y a 1 cm de profundidad. Por cada tratamiento se dispuso un total de 10 macetas (repetición), los tratamientos considerados fueron :

- T 1. Suelo desinfestado + 5 semillas sin tratamiento (testigo).
- T 2. Suelo desinfestado + 50 esclerotes de S. rolfsii + 5 semillas sin tratamiento (testigo de la enfermedad).
- T 3. Suelo desinfestado + 5 g de T. viride + 5 semillas sin tratamiento de fungicidas.
- T 4. Suelo desinfestado + 50 esclerotes + 5 semillas tratadas con Bayletón al 0,1% .

- T 5. Suelo desinfestado + 50 esclerotes + 5 semillas tratadas con Fitoraz al 0,1% .
- T 6. Suelo desinfestado + 50 esclerotes + 5 semillas tratadas con Moncut al 0,1% .
- T 7. Suelo desinfestado + 50 esclerotes + 5 semillas tratadas con Bayletón al 0,1% + 5 g de T. viride.
- T 8. Suelo desinfestado + 50 esclerotes + 5 semillas tratadas con Fitoraz al 0,1% + 5 g de T. viride.
- T 9. Suelo desinfestado + 50 esclerotes + 5 semillas tratadas con Moncut al 0,1% + 5 g de T. viride.
- T 10. Suelo desinfestado + 50 esclerotes + 5 semillas sin tratamiento + 5 g de T. viride.

Estos tratamientos permitirán determinar si existe diferencia entre una u otra forma de aplicación del biocontrolador, para el control de S. rolfsii.

Para tratar las semillas de maní con fungicidas al 0.1%, se procedió al pesado de 150 semillas de maní (85 g) y 85 mg de cada producto fungicida (Bayletón, Fitoraz, Moncut) por grupo de tratamiento, para luego ser mezclado en seco e individualmente en bolsas de polipropileno. De cada preparado se dispusieron tres grupos de 50 semillas de maní necesarias para cada tratamiento con fungicidas (5 semillas por maceta y 10 macetas por tratamiento).

Una vez tratadas las semillas incluyendo las del testigo, se sembraron en las macetas ubicadas en invernadero cuya temperatura promedio fue 25° C. Las macetas sembradas fueron regadas diariamente. La primera observación se realizó a los 15 días de la siembra, anotando el porcentaje

de germinación y la segunda observación se realizó a los 60 días anotando el porcentaje de plantas muertas y plantas afectadas por S. rolfsii. La escala de daño considero los siguientes grados:

Grado 1: plantas sin infección radicular y sin síntomas.

Grado 2: plantas con hojas ligeramente cloróticas .

Grado 3: plantas con amarillamiento de hojas, manchas color marrón oscuras entre nervaduras de los foliolos, lesión húndida a nivel de cuello color marrón oscura.

Grado 4: plantas con marchitez ó plantas muertas, y lesión a nivel de cuello color marrón oscura.

Finalmente porciones de tejido afectadas por S. rolfsii fueron sembrados en medio PDAO con la finalidad de reaislar al patógeno y comprobar su presencia en dichos tejidos.

IV. RESULTADOS

FASE DE LABORATORIO

4.1 Características culturales de Sclerotium rolfsii y Trichoderma viride.

Los aislamientos de S. rolfsii, obtenidos de plantas enfermas de maní y de suelo infestado presentaron características similares.

Los esclerotes se caracterizaron por su forma redondeada, color marrón y con un tamaño de 0,8 a 2,5 mm. Se observó menor tamaño en aquellos esclerotes que provenían del suelo, respecto a los procedentes de la superficie del tejido vegetal.

Los esclerotes cultivados en medio PDA estéril e incubados a 30° C iniciaron la germinación a las 24 horas, el micelio desarrolló radialmente sobre el medio de cultivo y al cuarto día cubrió toda la superficie del medio contenido en la placa. Al cuarto día se comenzaron a formar los primeros esclerotes presentando un tamaño pequeño y un color blanco y a partir del octavo día se observó los primeros esclerotes maduros (de mayor tamaño y color marrón oscuro), cesando la formación de nuevos esclerotes. Al décimo quinto día se contabilizó el número de esclerotes llegando a obtenerse de 160 a 290 por placa.

A temperaturas inferiores a 25° C se observó un lento desarrollo micelial y una disminución en el número de esclerotes formados. Se comprobó que la temperatura óptima

de desarrollo fue de 30° C.

El aislamiento correspondiente a T. viride presentó en medio PDA a 30° C un rápido desarrollo radial del micelio, las colonias hialinas se van tornando de verde claro a un color más intenso en zonas concéntricas bien definidas, cubriendo los 9 cm del diámetro de la placa a las 72 horas de la siembra e iniciando la fructificación y producción de esporas (fialosporas). Las características del hongo correspondieron a lo descrito por Barrón (9). El hongo fue fácilmente cultivado, tuvo reproducción rápida y desarrollo denso, como lo reportó Olivos (36) y Montealegre (32). La temperatura menor a 20° C no afectó el desarrollo del biocontrolador.

4.2 Prueba del alimento envenenado para S. rolfsii.

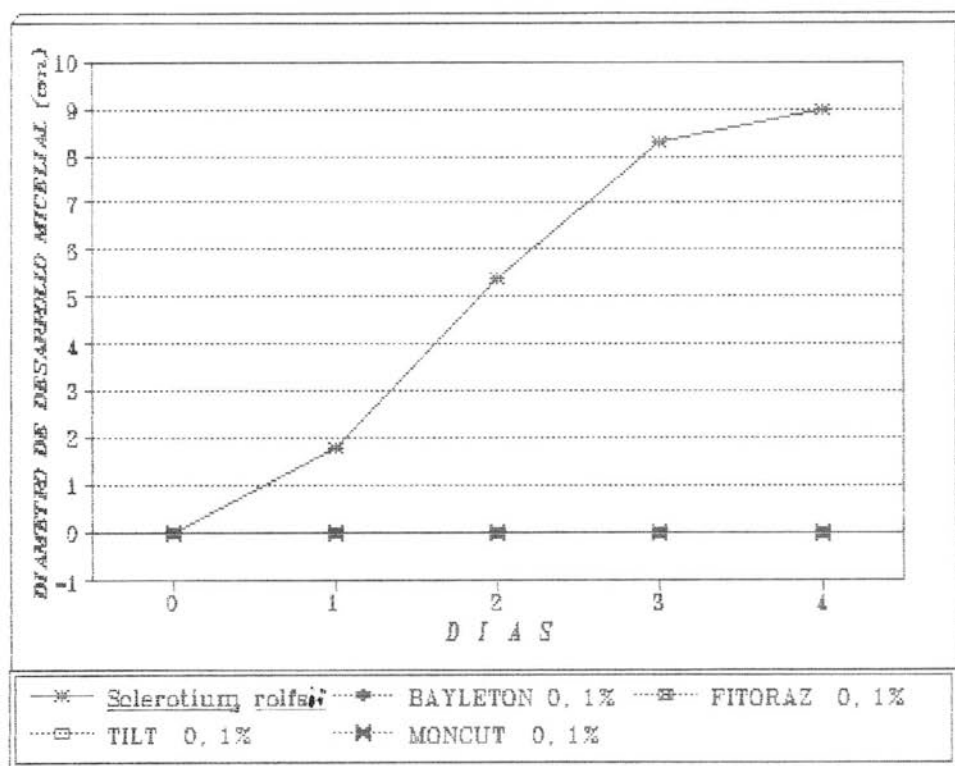
Los resultados en el cuadro 1, indican que todos los fungicidas utilizados, Bayletón (T-1), Fitoraz (T-2), Tilt (T-3) y Moncut (T-4), inhibieron el desarrollo micelial de S. rolfsii. Se observó un rápido desarrollo radial del tratamiento testigo (T-5), al cuarto día el micelio había cubierto toda la superficie de la placa a diferencia del resto de tratamientos donde no se observó desarrolló de S. rolfsii (Fig. 1). Los resultados del análisis de variancia (Cuadro 2) indican diferencias significativas entre los promedios de estos tratamientos. Todos los fungicidas

Cuadro 1. Diámetro de desarrollo micelial (cm) de Sclerotium rolfsii a 30° C en la prueba “in vitro” del alimento envenenado.

TRATAMIENTOS	FUNGICIDAS	Desarrollo micelial (cm) ^{1/}			
		DIAS			
		1	2	3	4
T 1	Bayleton 0,1%	0	0	0	0
T 2	Fitoraz 0,1%	0	0	0	0
T 3	Tilt 0,1%	0	0	0	0
T 4	Moncut 0,1%	0	0	0	0
T 5	<u>S. rolfsii</u>	1,8	5,4	8,3	9,0

^{1/} Datos promedio de cuatro repeticiones

Figura 1. Curva de desarrollo micelial (cm/día) de *S. rolfsii* a 30° C, en la prueba del alimento envenenado.



Cuadro 2. Análisis de variancia en D.C.A. para datos del tercer día de desarrollo micelial de S. rolfsii.

FUENTE VARIABILIDAD	G.L.	S.C.	C.M.	F.C.	F.T. 0,05	N.S.
Tratamiento	4	280,56	70,14	38 258,5	3,06	*
E. Experimental	15	0,03	0,0018			
Total	19	280,59				

* Existe diferencias significativas a nivel 0,05 entre los promedios de los tratamientos

Cuadro 3. Prueba de Tuckey para los promedios de desarrollo micelial de S. rolfsii.

TRATAMIENTO	FUNGICIDA	PROMEDIO	Nivel de Singificación
T 1	Bayletón 0,1%	0	a ^{2/}
T 2	Fitoraz 0,1%	0	a
T 3	Tilt 0,1%	0	a
T 4	Moncult 0,1%	0	a
T 5	<u>S. rolfsii</u>	8,4	b

^{2/} Letras iguales indican diferencias no significativas.

fueron igualmente tóxicos y según la prueba de Tukey (Cuadro 3) no existen diferencias significativas en el desarrollo micelial entre los promedios de estos tratamientos a un nivel 0,05.

Las placas de los diferentes tratamientos se mantuvieron por dos semanas más, a fin de observar si se producía desarrollo micelial de S. rolfsii.

4.3 Prueba del alimento envenenado para T. viride.

En el Cuadro 4 y Fig. 2 se observan los resultados de la prueba del alimento envenenado para T. viride. El análisis de variancia (cuadro 5) indican diferencias significativas entre promedios de tratamientos (a un nivel 0,05), esto es que dependiendo del fungicida, el desarrollo micelial de T. viride es afectado en una mayor o menor proporción, como se observa en los resultados de la prueba de Tukey del Cuadro 6.

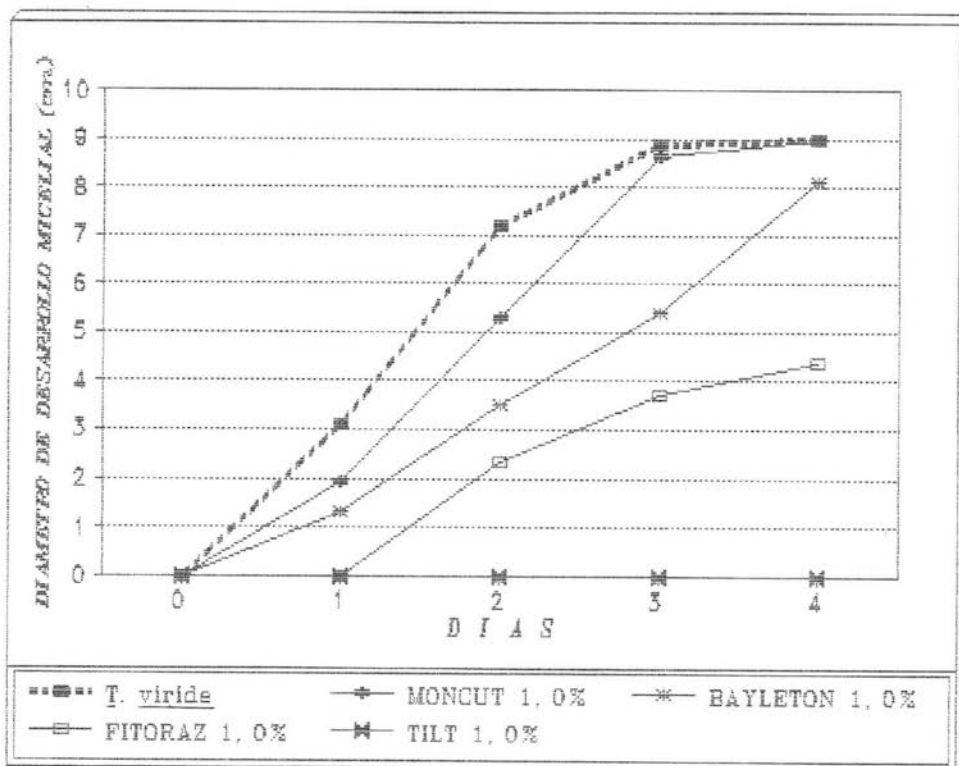
Las colonias de T. viride, durante la prueba del alimento envenenado, inicialmente se mostraron hialinas y posteriormente fueron adquiriendo tonalidad de verde intenso sobre todo en zonas concéntricas bien marcadas, tal como lo reportó Olivos (37). El tratamiento testigo (T-5) de T. viride desarrolló rápidamente cubriendo la placa al cuarto día. Moncut (T-4) no afectó significativamente el desarrollo del biocontrolador, sólo durante las primeras 48

Cuadro 4. Diámetro de desarrollo micelial (cm) de T. viride a 30° C, en la prueba in vitro del alimento envenenado.

TRATAMIENTO	FUNGICIDA	Desarrollo micelial (cm) ^{1/}			
		D I A S			
		1	2	3	4
T 3	Tilt 0,1%	0	0	0	0
T 2	Fitoraz 0,1%	0	2,3	3,7	4,4
T 1	Bayleton 0,1%	1,3	3,5	5,4	8,1
T 4	Moncut 0,1%	1,9	5,3	8,6	9,0
T 5	<u>T.viride</u>	3,1	7,2	8,9	9,0

^{1/} Datos promedio de cuatro repeticiones.

Figura 2. Curva de desarrollo micelial (cm/día) de *T. viride* a 30° C, en la prueba del alimento envenenado.



Cuadro 5. Análisis de variancia en D.C.A. para datos del tercer día de desarrollo micelial de T. viride.

FUENTE DE VARIABILIDAD						F.T.	
	G.L.	S.C.	C.M.	F.C.	0,05	N. S.	
Tratamiento	4	217,25	54,31	880,76	3,06	*	
E. Experimental	15	0,93	0,06				
Total	19	218,18					

* Existe diferencias significativas a nivel 0,05, entre los promedios de los tratamientos.

Cuadro 6. Prueba de Tuckey para los promedios de desarrollo micelial de T. viride.

TRATAMIENTO	FUNGICIDA	PROMEDIO	Nivel de Signif.
T 3	Tilt 0,1%	0	a ^{1/2}
T 2	Fitoraz 0,1%	3,70	b
T 1	Bayleton 0,1%	5,38	c
T 4	Moncut 0,1%	8,63	d
T 5	<u>T. viride</u>	8,85	d

^{1/2} Letras iguales indican diferencias no significativas.

horas retrazo el desarrollo del hongo, decreciendo de un 40% a un 25%, pero al tercer día y al cuarto día el desarrollo fue similar (cuadro 4 y Fig. 2). Según los resultados de la prueba de Tukey para el diámetro de desarrollo micelial de *T. viride* a las 72 horas (Cuadro 6), el tratamiento testigo (T 5) y Moncut (T 4) tuvieron igual nivel de significación (letra "d"). Cualitativamente se observó una semejanza en el desarrollo del biocontrolador en dichos tratamientos; un color verde intenso del micelio y la alta densidad de esporas, a diferencia de los demás tratamientos fungicidas.

Llevando a porcentajes los diámetros de desarrollo micelial de *T. viride* (considerando 100% el desarrollo del tratamiento testigo T-5 para cada evaluación), realizando la diferencia entre el desarrollo del testigo (100%) y el tratamiento fungicida, podemos obtener el efecto de este sobre el desarrollo del biocontrolador. Los demás tratamientos fungicidas presentaron diferencias a 72 horas del desarrollo de *Trichoderma*; así, Bayletón (T-1) afectó el desarrollo de *Trichoderma* respecto al testigo (T-5) en un 39,3% , mientras que el tratamiento con Fitoraz (T-2) afectó en un 58,2% respecto al alcanzado por el testigo (T-5) y además presentó características cualitativas diferentes respecto al testigo pues el biocontrolador mostró coloración verde pálido o amarillento y borde irregular en el radio de desarrollo del micelio. Con

Bayletón, *Trichoderma* tuvo coloración verde claro y zonas hialinas en los bordes del desarrollo micelial.

El tratamiento correspondiente a Tilt (T-3) impidió el desarrollo de *Trichoderma*; al final de la evaluación no se observó desarrollo micelial y además presentó una decoloración del micelio contenido en el disco de agar, por lo cual el producto fue descartado para su uso en forma simultánea con *Trichoderma* en invernadero.

4.4 Efecto de los fungicidas y *T. viride* sobre la germinación de los esclerotes de *S. rolfsii*.

Los resultados correspondientes a esta prueba se observan en el Cuadro 7 y Figura 3. El análisis de variancia (cuadro 8), para datos del tercer día (72 horas), indica diferencias significativas entre promedios de esclerotes germinados, como se observa en los resultados de la prueba de Tukey en el cuadro 9.

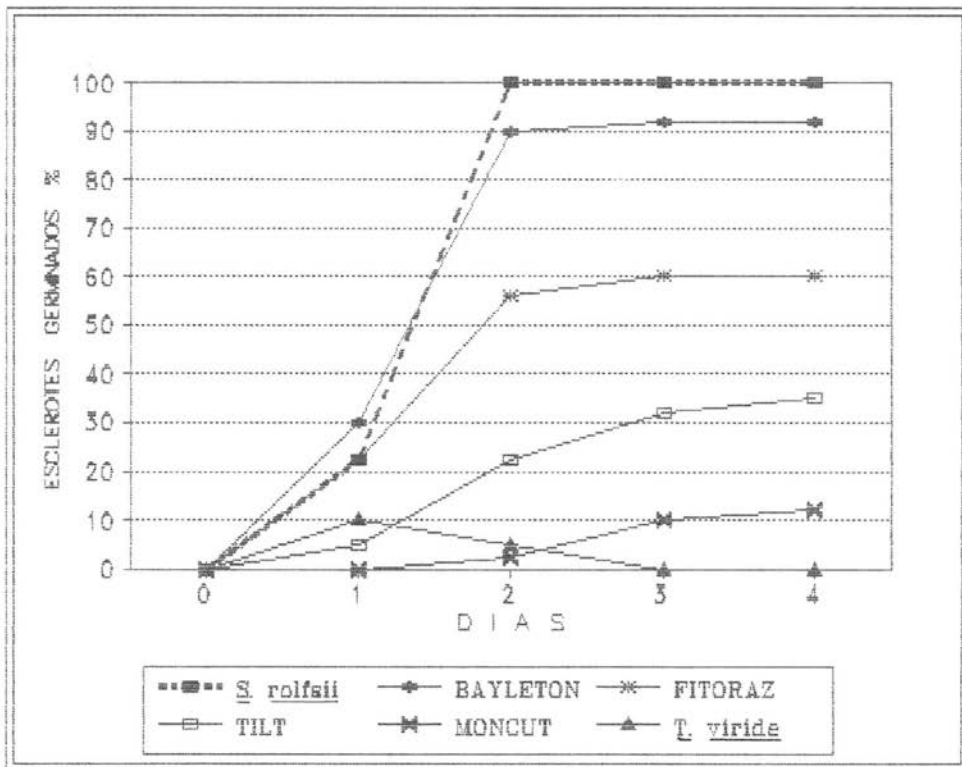
El tratamiento testigo (T-6) a las 48 horas después de la siembra presentó 100% de germinación, seguido por el tratamiento correspondiente a Bayletón (T-1) con un 92,5%, el fungicida no impidió la germinación de los esclerotes, a las 24 horas se observó un mayor porcentaje de germinación respecto al testigo. Según la prueba de Tukey ambos tratamientos no difieren en el número de esclerotes germinados pues presentan el mismo nivel de significación (letra "d").

Cuadro 7. Porcentaje de Germinación de esclerotes de S. rolfsii tratados con fungicidas sistémicos y T. viride.

TRATAMIENTO	FUNGICIDA	Germinación de esclerotes (%) ^{1/}			
		D I A S			
		1	2	3	4
T 5	<u>T. viride</u>	10	5	0	0
T 4	Moncut 0,1%	0	2	10	12
T 3	Tilt 0,1%	5	22	32	35
T 2	Fitoraz 0,1%	22	56	60	60
T 1	Bayleton 0,1%	30	90	92	92
T 6	<u>S. rolfsii</u>	22	100	100	100

^{1/} Porcentaje en base al promedio de cuatro repeticiones y de 10 esclerotes por repetición.

Figura 3. Curvas del porcentaje de germinación de esclerotes de *S. rolfsii* tratados con fungicidas al 0,1% y *T. viride*.



Cuadro 8. Análisis de variancia en D.C.A. para el porcentaje de germinación de esclerotes de S. rolfsii para datos del tercer día.

FUENTE DE VARIABILIDAD					F.T.	
	G.L.	S.C.	C.M.	F.C.	0,05	N. S.
Tratamiento	5	344,7	68,94	87,67	2,77	*
E. Experimental	18	14,25	0,79			
Total	23	358,95				

* Existe diferencias significativas a nivel 0,05, entre los promedios de los tratamientos.

Cuadro 9. Prueba de Tuckey para promedios de porcentaje de germinación de esclerotes de S. rolfsii al tercer día.

TRATAMIENTO	FUNGICIDA	PROMEDIO	Nivel de Signif.
T 5	<u>T.viride</u>	0	a ^{1/}
T 4	Tilt 0,1%	3,25	b
T 3	Moncut 0,1%	1,25	a
T 2	Fitoraz 0,1%	6,00	c
T 1	Bayleton 0,1%	9,25	d
T 6	<u>S. rolfsii</u>	10,0	d

^{1/} Letras iguales indican diferencias no significativas.

Los esclerotes tratados con Fitoraz (T-3) fueron afectados en un 40% , se observó menor desarrollo del micelio respecto al testigo donde el micelio fue uniforme y más denso. Tilt (T-3) afectó la germinación de los esclerotes en un 67,5% , observándose micelio de crecimiento irregular.

En el caso de Moncut (T-4) los esclerotes tratados no germinaron en las primeras 24 horas, a las 48 horas se registró un 2,5% de esclerotes germinados y a las 72 horas un 12,5% ; además, se observó un escaso desarrollo micelial. El producto afectó la germinación en forma significativa aunque no lo impidió totalmente; Moncut fue el segundo tratamiento con menor porcentaje de esclerotes germinados y cuyo promedio no difiere estadísticamente del tratamiento con Trichoderma (T-5).

Los esclerotes tratados con esporas de T. viride (T-5) presentaron en las primeras 24 horas un 10% de germinación, porcentaje que representa a la mitad obtenida en el testigo, el micelio se caracterizó por ser corto e irregular. A las 48 horas se observó la presencia de micelio de Trichoderma alrededor del esclerote, limitando así el desarrollo de S. rolfsii. A las 72 horas Trichoderma cubrió micelio y esclerotes de S. rolfsii y todo el PDA libre.

4.5 Prueba del alimento envenenado para T. viride, usando diferentes dosis de Moncut.

Los resultados se observan en el cuadro 10 y figura 4. El análisis de variancia (Cuadro 11) indica diferencias significativas entre promedios de tratamientos, observándose que el desarrollo de T. viride es inverso a la concentración del Moncut en el medio PDA, sin embargo el biocontrolador no es afectado significativamente a dosis de 0.1% (tratamiento T 2), como se observa en los resultados de la prueba de Tukey (Cuadro 11), donde su promedio de desarrollo al tercer día no difiere del tratamiento testigo (T 1). Su curva de desarrollo es casi similar al tratamiento testigo (Figura 4).

Moncut a dosis de 0,2% (T 3) y 0,3% (T 4) afecta en forma leve el desarrollo del biocontrolador; cualitativamente en los primeros días se observa zonas concéntricas marcadas y de color verde claro a diferencia del tratamiento testigo (T 1) y a dosis del 0,1% (T 2) donde la coloración verde es más intensa, pero al cuarto día no se observa mayores diferencias. Moncut a dosis de 0,3%, afecta el desarrollo de T. viride en menos del 50% en el primer día y menos del 30% al cuarto día, a partir del quinto día el desarrollo es similar al testigo.

Cuadro 10. Diámetro de desarrollo micelial (cm) de T. viride a 30° C a diferentes dosis de Moncut en la prueba del alimento envenenado.

TRATAMIENTO FUNGICIDA	Desarrollo micelial (cm) ^{1/}			
	D I A S			
	1	2	3	4
T 1 <u>T. viride</u>	3,1	7,2	8,8	9,0
T 2 Moncut 0,1%	2,0	5,3	8,7	9,0
T 3 Moncut 0,2%	1,8	4,7	7,3	8,4
T 4 Moncut 0,3%	1,6	3,5	5,1	6,7

^{1/} Datos promedio de cuatro repeticiones.

Cuadro 11. ANVA y Prueba de Tukey para datos del tercer día del desarrollo micelial de T. viride a diferentes dosis de Moncut.

ANALISIS DE VARIANCIA

FUENTE DE VARIABILIDAD	G.L.	S.C.	C.M.	F.C.	F.T. 0,05	N. S.
Tratamiento	3	36,91	12,30	937,3	3,06	*
E. Experimental	12	0,156	0,013			
Total	15	37,06				

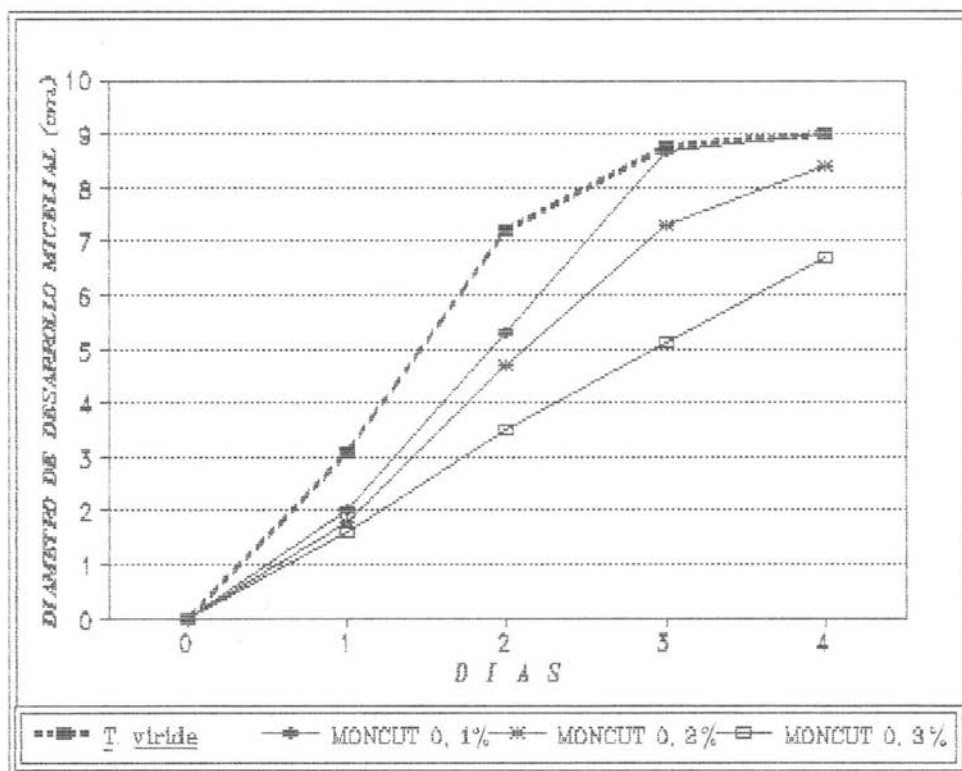
* Existe diferencias significativas a nivel 0,05, entre los promedios de los tratamientos.

PRUEBA DE TUKEY

TRATAMIENTO	PROMEDIO	Nivel de Signif.
T 4 Moncut 0,3%	5,05	a ^{2/}
T 3 Moncut 0,2%	7,35	b
T 2 Moncut 0,1%	8,63	c
T 1 <u>T. viride</u>	8,85	c

^{2/} Letras iguales indican diferencias no significativas a nivel 0,05

Figura 4. Efecto de diferentes dosis de Moncut sobre el desarrollo micelial de *T. viride* a 30° C, en la prueba del alimento envenenado.



4.6 FASE DE INVERNADERO

Para esta fase no se consideró a *Tilt* porque en la prueba del alimento envenenado impidió el desarrollo de *Trichoderma*.

La pudrición causada por *S. rolfsii* se presentó tempranamente, impidiendo la germinación y causando la muerte de las semillas, los cuales mostraron una coloración violeta oscura y una pudrición húmeda. En plantas, se pudo observar a nivel del cuello la presencia de esclerotes superficiales, igualmente en las hojas basales en contacto con el suelo.

En algunos tratamientos, *T. viride* desarrolló y cubrió la superficie del suelo como una alfombra verde e impidió la germinación de esclerotes de *S. rolfsii*.

Los resultados en la prueba de *T. viride* aplicado por el método "pullado" se pueden observar en el cuadro 12 y en el gráfico 5. El análisis de variancia (cuadro 13) indica diferencias significativas entre promedios de tratamientos lo cual se observa en los resultados de la prueba de Tukey (Cuadro 14).

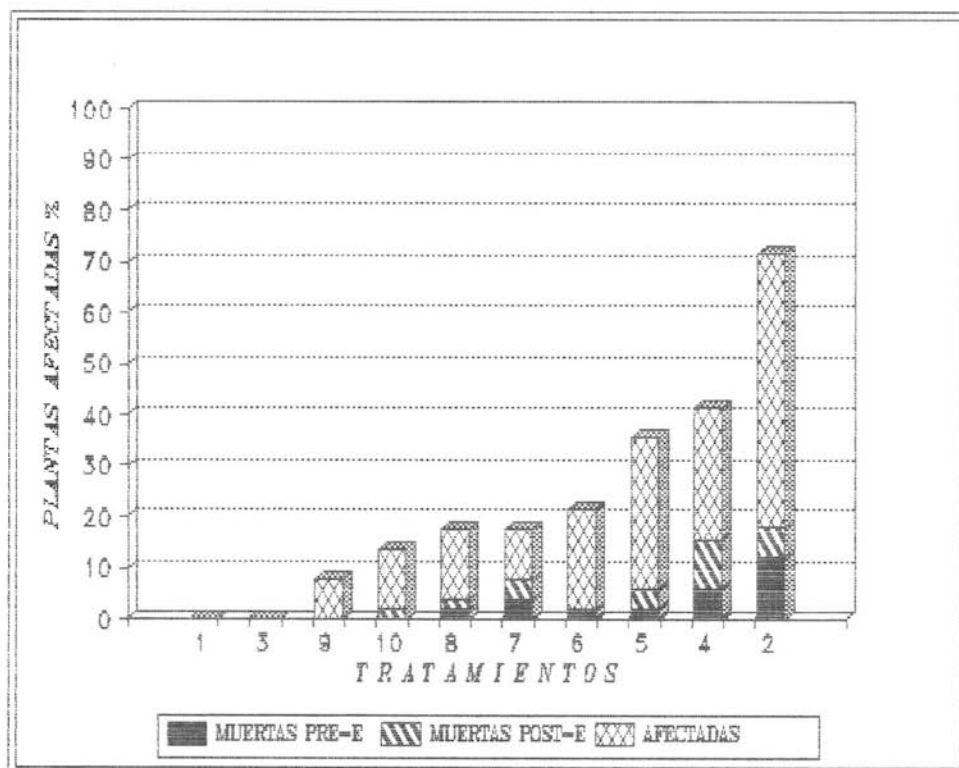
Analizando estos resultados se observa que el tratamiento testigo de la enfermedad (T-2), presenta el mayor porcentaje de plantas afectadas (72%). Dentro del grupo de tratamientos con aplicación sólo de fungicidas,

Cuadro 12. Control químico y biológico de S. rolfsii en mani bajo condiciones de invernadero con aplicación de T. viride en "pullado".

TRATAMIENTOS	Porcentaje de plantas afectadas ^{1/}				TOTAL PLANTAS AFECTADAS
	MUERTAS		Enfermas		
	Pre-emergencia	Post-emergencia	Post-emergencia		
T 1 testigo	0	0	0	0	0
T 3 <u>T. viride</u> solo	0	0	0	0	0
T 9 Moncut 0,1% + <u>T. viride</u> + <u>S. rolfsii</u>	0	0	8	8	8
T 10 <u>T. viride</u> + <u>S. rolfsii</u>	0	2	12	14	14
T 8 Fitoraz 0,1% + <u>T. viride</u> + <u>S. rolfsii</u>	2	2	14	18	18
T 7 Bayleton 0,1% + <u>T. viride</u> + <u>S. rolfsii</u>	4	4	10	18	18
T 6 Moncut 0,1% + <u>S. rolfsii</u>	2	0	20	22	22
T 5 Fitoraz 0,1% + <u>S. rolfsii</u>	2	4	30	36	36
T 4 Bayleton 0,1% + <u>S. rolfsii</u>	6	10	26	42	42
T 2 <u>S. rolfsii</u>	12	6	54	72	72

^{1/} Porcentaje del promedio de cinco plantas por maceta y de diez macetas por tratamiento.

Figura 5. Porcentaje de plantas de mani afectadas por *S. rolfsii* en invernadero, con aplicación de fungicidas sistémicos al 0,1% y *T. viride* por el método pullado.



Cuadro 13. Análisis de variancia en D.C.A. para el total de plantas afectadas por S. rolfsii con aplicación de T. viride por el método “pullado”.

FUENTE DE VARIABILIDAD	G.L.	S.C.	C.M.	F.C.	F.T. 0,05	
						N. S.
Tratamiento	9	108,65	12,07	41,62	1,98	*
E. Experimental	90	26,10	0,29			
Total	99	134,04				

* Existe diferencias significativas a nivel 0,05, entre los promedios de los tratamientos.

Cuadro 14. Prueba de Tuckey para el total de plantas afectadas por S. rolfsii con aplicación de T. viride por el método “pullado”.

TRATAMIENTO	PROMEDIO	Nivel de Signif.
T 1 Testigo	0	a ^{1/}
T 3 <u>T. viride</u>	0	a
T 9 Moncut 0,1% + <u>T. viride</u> + <u>S. rolfsii</u>	0,4	a b
T 10 <u>T. viride</u> + <u>S. rolfsii</u>	0,7	a b
T 8 Fitoraz 0,1% + <u>T. viride</u> + <u>S. rolfsii</u>	0,9	b
T 7 Bayleton 0,1% + <u>T. viride</u> + <u>S. rolfsii</u>	0,9	b
T 6 Moncut 0,1% + <u>S. rolfsii</u>	1,1	b c
T 5 Fitoraz 0,1% + <u>S. rolfsii</u>	1,8	c d
T 4 Bayleton 0,1% + <u>S. rolfsii</u>	2,1	d
T 2 <u>S. rolfsii</u>	3,6	e

^{1/} Letras iguales indican diferencias no significativas a nivel 0,05

Bayletón (T-4) presenta un 42% de plantas afectadas, la eficiencia en el control de la enfermedad es menor. Fitoraz (T-5) presenta 36% de plantas afectadas, el nivel de significación es igual al tratamiento anterior (letra d). Entre estos tratamientos destaca Moncut (T-6), con 22% de plantas afectadas y además su porcentaje no difiere estadísticamente del grupo de tratamientos con aplicación de fungicidas más *Trichoderma* (nivel significación b), el cual presenta menor número de plantas afectadas.

Todos los tratamientos con aplicación conjunta de fungicida y *T. viride* por pullado (T-8, T-7, T-9, T-10) no presentaron diferencias estadísticas significativas en el control de la enfermedad (nivel significación b). Destacando la aplicación de *Trichoderma* (T-10) con 14% de plantas afectadas y la aplicación de Moncut más *Trichoderma* (T-9) con solo 8% de plantas afectadas; además, estos porcentajes no difieren estadísticamente (nivel significación a) de los tratamientos testigos sin plantas afectadas (T-1 y T-3).

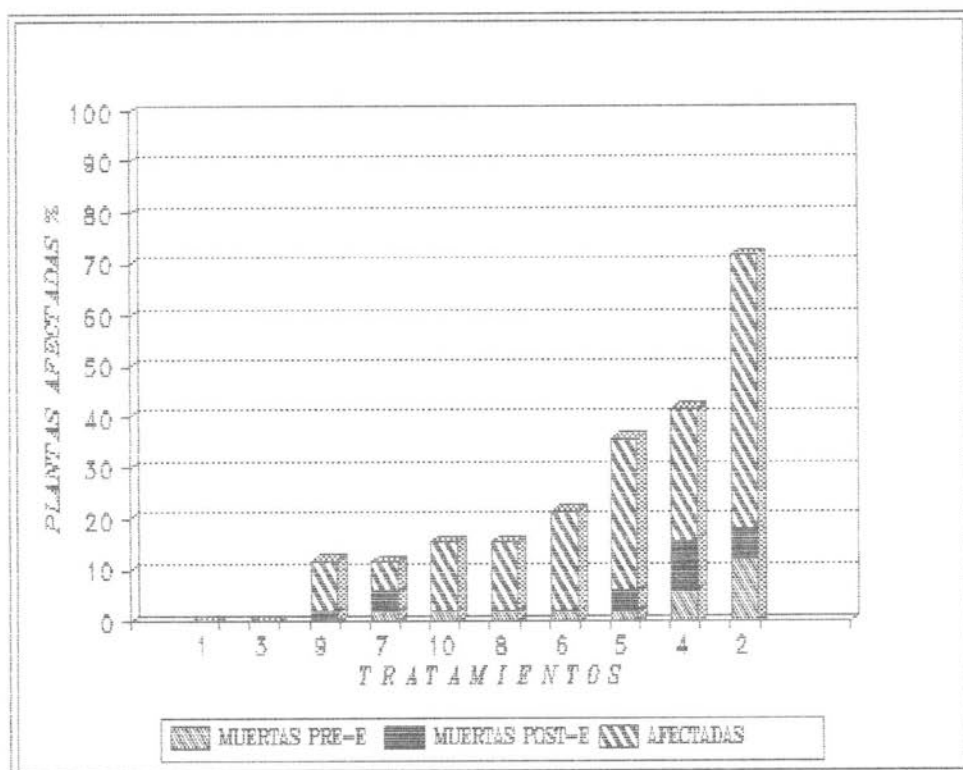
Los resultados correspondientes a la aplicación de *T. viride* por el método de "mezcla" se observan en el cuadro 15 y en el gráfico 6, cuyo análisis de variancia (cuadro 16) indican diferencias significativas entre promedios de plantas afectadas de los tratamientos estudiados.

Cuadro 15. Control químico y biológico de S. rolfsii en maní bajo condiciones de invernadero con aplicación de T. viride en "mezcla".

TRATAMIENTOS	Porcentaje de plantas afectadas ^{1/}				TOTAL PLANTAS AFECTADAS
	MUERTAS		Enfermas		
	Pre-emergencia	Post-emergencia	Post-emergencia		
T 1 testigo	0	0	0	0	0
T 3 <u>T. viride</u> solo	0	0	0	0	0
T 9 Moncut 0,1% + <u>T. viride</u> + <u>S. rolfsii</u>	0	2	10	12	12
T 7 Bayleton 0,1% + <u>T. viride</u> + <u>S. rolfsii</u>	2	4	6	12	12
T 10 <u>T. viride</u> + <u>S. rolfsii</u>	2	0	14	16	16
T 8 Fitoraz 0,1% + <u>T. viride</u> + <u>S. rolfsii</u>	2	2	14	16	16
T 6 Moncut 0,1% + <u>S. rolfsii</u>	2	0	20	22	22
T 5 Fitoraz 0,1% + <u>S. rolfsii</u>	2	4	30	36	36
T 4 Bayleton 0,1% + <u>S. rolfsii</u>	6	10	26	42	42
T 2 <u>S. rolfsii</u>	12	6	54	72	72

^{1/} Porcentaje del promedio de cinco plantas por maceta y de diez macetas por tratamiento.

Figura 6. Porcentaje de plantas de maní afectadas por *S. rolfsii* en invernadero, con aplicación de fungicidas sistémicos al 0,1% y *T. viride* por el método "mezcla".



Cuadro 16. Análisis de variancia en D.C.A. para el total de plantas afectadas por S. rolfsii con aplicación de T. viride por el método "mezcla".

FUENTE VARIABILIDAD	G.L.	S.C.	C.M.	F.C.	F.T. 0,05	N.S.
Tratamiento	9	108,24	12,03	36,32	1,98	*
E. Experimental	90	29,8	0,33			
Total	99	138,04				

* Existe diferencias significativas a nivel 0,05 entre los promedios de los tratamientos

Cuadro 17. Prueba de Tuckey para el total de plantas afectadas por S. rolfsii con aplicación de T. viride por el método del "mezcla".

TRATAMIENTO	PROMEDIO	Nivel de Singificación
T 1 Testigo	0	a
T 3 <u>T. viride</u>	0	a
T 9 Moncut 0,1% + <u>T. viride</u> + <u>S. rolfsii</u>	0,6	a b
T 7 Bayleton + <u>T. viride</u> + <u>S. rolfsii</u>	0,6	a b
T 10 <u>T. viride</u> + <u>S. rolfsii</u>	0,8	a b
T 8 Fitoraz 0,1% + <u>T. viride</u> + <u>S. rolfsii</u>	0,8	a b
T 6 Moncut 0,1% + <u>S. rolfsii</u>	1,1	b c
T 5 Fitoraz 0,1% + <u>S. rolfsii</u>	1,8	c d
T 4 Bayleton 0,1% + <u>S. rolfsii</u>	2,1	d
T 2 <u>S. rolfsii</u>	3,6	e

^{2/} Letras iguales indican diferencias no significativas a nivel 0,05.

Analizando los resultados y la prueba de Tukey del cuadro 17, se observa que el testigo de la enfermedad (T-2) presenta el mayor porcentaje de plantas afectadas (72%). De los tratamientos con aplicación sólo de fungicida, Bayletón (T-4) presenta 42% de plantas afectadas por lo tanto es el menos efectivo en el control de la enfermedad, le sigue Fitoraz (T-5) con 36% de plantas afectadas. Destaca Moncut (T-6) con el menor porcentaje de plantas afectadas (22%), además su promedio no difiere estadísticamente de los tratamientos con aplicación de fungicidas más Trichoderma por el método mezcla (nivel significación b).

Todos los tratamientos con aplicación de fungicida más Trichoderma en "mezcla" (T-8, T-10, T-7 y T-9) presentan igual nivel de significación (b y a), lo cual indica que son igualmente efectivos en el control de la enfermedad y además no difieren de los tratamientos testigos sin enfermedad (T-1 y T-3). Destacó la aplicación combinada de Trichoderma más Moncut (T-9) y más Bayletón (T-7) ambos con menores porcentajes de plantas afectadas (12%).

Los resultados correspondientes a ambos métodos de aplicación del biocontrolador se analizaron a través de un análisis de regresión lineal (cuadro 18), la prueba resultó significativa, existiendo una regresión lineal entre estos datos. Se concluye que no existe diferencias significativas para la aplicación por "pullado" o por "mezcla" del biocontrolador, para las condiciones del estudio. El

Cuadro 18. ANVA del análisis de regresión lineal para el total de plantas afectadas aplicando T. viride por el método “pullado” y por el método “mezcla”.

FUENTE VARIABILIDAD	G.L.	S.C.	C.M.	F.C.	F.T. 0,05	N.S.
REGRESION	1	11,33	11,33	54,56	3,95	*
RESIDUAL	89	18,46	0,21			
Total	90	29,8				
Coeficiente de regresión B = 0,57						

* Existe una regresión lineal de Y (mezla) en función de X (pullado), a nivel significativo 0,05.

Cuadro 19. Análisis de Covariancia para la aplicación de T. viride por el método “pullado” y el método “mezcla”.

FUENTE VARIABILIDAD	G.L.	S.C.´	C.M.´	F.C.	F.T. 0,05	N.S.
TRAT. AJUST.´	8	3,80	0,475			
ERROR EXP.´	89	18,46	0,207			
TRAT.´ + E.E.´	98	22,27		2,29	1,98	*

* Existe diferencias significativas a nivel 0,05 entre promedios de tratamientos para ambos métodos de aplicación de T. viride .

Análisis de Covariancia respectivo (Cuadro 19) indica diferencias entre promedios de los tratamientos esto se puede observar en el cuadro 14 y 17.

En los tratamientos correspondientes a la aplicación de Bayletón sólo y asociado con *Trichoderma* (pullado y mezcla), las plantas de maní germinaron con un retraso de 3-5 días y desarrollaron plantas 50% más pequeñas respecto a las plantas del testigo limpio (T-1) y al resto de tratamientos.

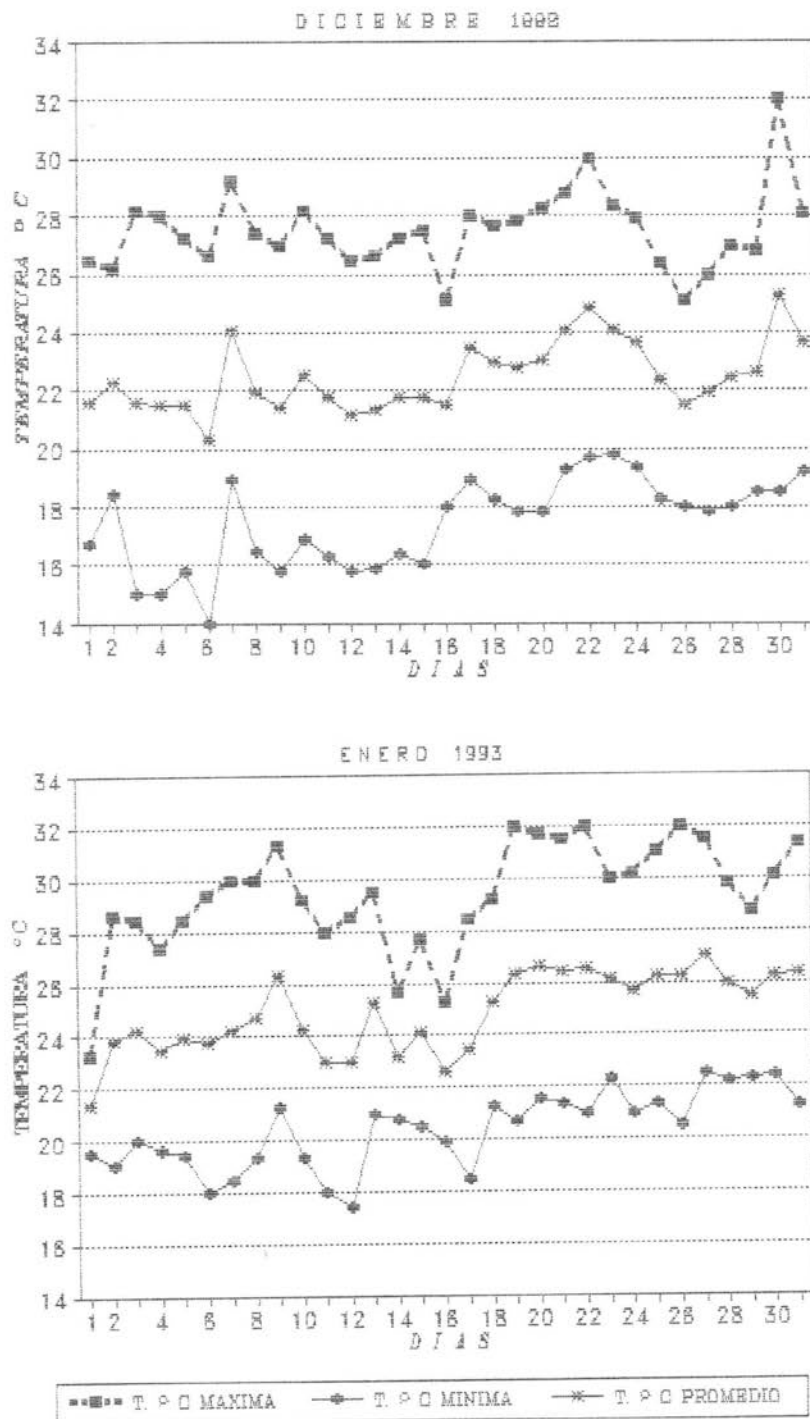
Según los resultados de laboratorio e invernadero, la mejor combinación para el control de *S. rolfsii* es la aplicación de combinada de *T. viride* y Moncut.

En cuanto a la sintomatología de la enfermedad causada por *S. rolfsii*, en las plantas de maní afectadas no se observaron mayores diferencias cualitativas entre los diferentes tratamientos. Inicialmente las plantas afectadas mostraron una decoloración de las hojas; posteriormente, se observó en los folíolos manchas necróticas de color marrón a gris. Las plantas empezaron a marchitarse a partir de las puntas para finalmente secarse y morir, lo cual coincide con los reportes de Beute y Rodríguez-Kabana (10), Rogriguez-Kabana (47), y Morris (35), entre otros. Los síntomas fueron más evidentes a medida que la temperatura se incrementaba moderadamente (26°C). Al extraer las plantas afectadas del tratamiento testigo, se pudo observar

en el tejido del cuello una lesión hundida chancrosa de color marrón oscuro, en algunos casos se observó micelio y esclerotes alrededor de las lesiones, estos resultados han sido reportados por Aycock (4). La siembra de estos tejidos en medio PDAO confirmó la presencia de S. rolfsii y de T. viride en otros tratamientos.

Las temperaturas registradas en el invernadero de Fitopatología de la UNALM, durante las pruebas en macetas, se pueden observar en la Figura 7. El rango de temperatura fue variable, el promedio estuvo alrededor de los 25°C. La variación de temperatura condicionó un desarrollo desuniforme del patógeno y la enfermedad.

Figura 7. Fluctuaciones de temperatura mínima, media y máxima para los meses de diciembre de 1992 y enero de 1993, en condiciones de invernadero.



V. DISCUSION

S. rolfsii en condiciones "in vitro", mostró un rápido desarrollo micelial y abundante producción de esclerotes a temperaturas de 30°C, coincidiendo con las descripciones dadas para este hongo por Aycock (4) y otros (32, 43). Montealegre (33), indica que el hongo es favorecido por temperaturas de 30 a 35° C. Temperaturas comprendidas entre 25 a 20° C afectarán el desarrollo y la producción de esclerotes. Las gotas de agua observadas durante la madurez de los esclerotes, son descritas por Curzi, citado por Aycock (4), como exudados que contienen azúcares y aminoácidos que promueven la descomposición de los esclerotes en el suelo.

En invernadero S. rolfsii afectó la germinación de maní. Los esclerotes posiblemente en contacto o próximos a las semillas de maní germinaron y las cubrieron micelialmente, impidiendo su germinación y causando la muerte de éstas. Las semillas mostraban coloración violeta oscura y aspecto semiacuoso; los síntomas observados probablemente fueron una consecuencia de la producción de enzimas y ácido oxálico que ejercen acción durante la patógenesis, como lo reporta Aycock (4), y otros investigadores (5, 22, 35, 37, 40, 43, 45).

En la parte aérea de las plantas de maní se observaron síntomas como: clorosis en las hojas, amarillamiento, manchas marrón oscuro, marchitez foliar, secado y muerte de

plantas, lo cual coincide con los reportes de Beaute y R. K. (10), (47, 35). Aycock (4) y Bolkan (13) señalan que el hongo infecta por medio de una masa micelial con secreción de ácido oxálico, protopectinasa, celulasa, entre otras enzimas que desintegran y matan el tejido antes de penetrar al hospedante (5, 13, 22, 28, 40, 44, 45). El ácido oxálico produce un color púrpura sobre las semillas de maní y es responsable de la clorosis y necrosis de las hojas (4, 36). Al extraer plantas afectadas se observó a nivel del cuello una lesión hundida chancrosa color café y en algunos casos micelio y esclerotes, reportados también para maní y otros cultivos por Aycock (4) y otros investigadores (4, 37, 44, 51).

En invernadero los resultados para ambos métodos de aplicación del biocontrolador indican que los mejores tratamientos para el control de *S. rolfsii* corresponde a la aplicación conjunta de fungicidas y Trichoderma, destacando la aplicación asociada de Moncut más Trichoderma (T-9) en ambos métodos. En los tratamientos donde interviene Trichoderma hay reducción de la enfermedad a niveles inferiores comparado con el uso de sólo fungicidas. En los tratamientos usando únicamente fungicida, Moncut (T-6) resulta ser el mejor tratamiento. Bayletón en todos los tratamientos afectó la germinación y el tamaño de las plantas (50% más pequeñas) por un posible efecto fitotóxico para el maní.

Si bien Moncut (T-6) sobresalió entre los fungicidas al reducir la infección a un 22%, la reducción en forma asociada con *Trichoderma* se debe en mayor medida a este último al reducir el porcentaje de plantas afectadas respecto a la aplicación de fungicida sólo, debido probablemente a su eficiente acción micoparásita, como lo manifiestan diversos estudios (6, 8, 20, 32, 36, 37, 39, 52). Lo cual se ha constatado por los resultados obtenidos "in vitro", donde *Trichoderma* resultó ser el mejor tratamiento al impedir el desarrollo micelial y la germinación de los esclerotes de *S. rolfsii*. El Moncut es un fungicida sistémico que actúa curando y protegiendo a la planta tratada.

Los resultados obtenidos en invernadero, permiten corroborar las informaciones que describen la acción de *T. viride* (1, 9, 19, 34), como parásito micelial de *S. rolfsii*. Este actúa por medio de clavijas, penetrando por lisis enzimática de la pared celular, parasita internamente las células hifales e invade la capa melánica y el tejido pseudoparenquimático del esclerote por medio de la B-(1-3) gluconasa y quitinasa (11, 15, 30) o lecitinas (8). Además compiten por el mismo sustrato alimenticio con patógenos que presentan una fase saprofítica (32). Así en la prueba "in vitro" de germinación de esclerotes, se observó inicialmente la germinación micelial de algunos esclerotes y posteriormente la germinación de las esporas de *T. viride*, cuyo micelio cubrió progresivamente a los

esclerotes de S. rolfsii no permitiendo su desarrollo, probablemente debido a la acción micoparasita del biocontrolador.

"In vitro", todos los fungicidas inhibieron el desarrollo micelial del patógeno durante la prueba del alimento envenenado, lo cual indica que son igualmente efectivos e impiden el desarrollo micelial del patógeno. Para la misma prueba los fungicidas afectan el desarrollo de T. viride en mayor o menor intensidad, destacando Moncut con menor efecto inhibitorio sobre el desarrollo del biocontrolador y estadísticamente el desarrollo es similar al testigo. Los demás fungicidas afectan el desarrollo inicial del biocontrolador, posteriormente el desarrollo es casi similar al testigo. A nivel de invernadero estos fungicidas probablemente no impiden significativamente el desarrollo final de Trichoderma, posiblemente porque solo las semillas de maní fueron tratadas con los fungicidas.

Según informe del CIP (15), el Vitavax WP fue el fungicida más efectivo "in vitro" para controlar la germinación de esclerotes del hongo, pero en pruebas en macetas para controlar la infección de plantas de papa resultó mejor el Terrazole a 300ppm. Esto indica que no siempre los resultados "in vitro" son los resultados finales, porque a nivel de invernadero y campo influyen muchos factores ambientales.

La diferencia en la eficiencia de los fungicidas se debe al control de la germinación de los esclerotes, pues sobreviven en condiciones adversas del ambiente y son los más difíciles de controlar (4, 38). En el presente trabajo se observó (cuadro 7 y el gráfico 3) que Moncut redujo significativamente la germinación, aunque no lo impidió totalmente, a diferencia de los otros fungicidas donde se observó una mayor germinación de los esclerotes, incluso aumentaba ligeramente con el tiempo, tal es el caso de Bayletón, el cual no impidió la germinación en forma significativa. Aycock (4) reporta que el control de la germinación de los esclerotes tiene importancia pues al impedir su germinación no se produce la infección. Con *Trichoderma*, se ha podido observar que realmente impide la germinación de los esclerotes (11, 15, 30) y posiblemente al sumarse la acción del Moncut se logran mayores resultados como los obtenidos.

Moncut es un fungicida sistémico derivado del grupo de los fenoles aromáticos, que actúan fungistáticamente sobre la fosforilación oxidativa de hongos como *Rhizoctonia* spp., *Sclerotium* spp. y es inefectivo para *Trichoderma* spp. (31, 34). La acción de Moncut se da al interior de la planta impidiendo la infección y el posterior desarrollo del patógeno. *Trichoderma* actúa externamente impidiendo un mayor desarrollo del patógeno en el suelo y que pueda llegar a la planta, además disminuye la fuente de inóculo

por su acción micoparasita. Podría decirse que el biocontrolador actúa como un buen fungicida de contacto y sumada a la acción sistémica del Moncut permite controlar mejor a S. rolfsii

En una prueba adicional "in vitro", Moncut resultó ser inefectivo para T. viride a dosis de 0,2 - 0,3 % (Figura 4). Reportes técnicos de los fabricantes (31) indican que Moncut no inhibe el desarrollo de Trichoderma en dosis de 0,1% hasta 10%, inhibiendo el desarrollo de S. rolfsii en un 67% a dosis de 0,1% ; mientras que, a dosis de uno a 10% causó 100% de inhibición, lo cual indicaría que el fungicida podría ser usado a mayores dosis, sin afectar significativamente el desarrollo del biocontrolador y permitiéndole un mayor tiempo de viabilidad y acción contra el patógeno.

Fitoraz no tuvo destacado efecto en el control del patógeno, no obstante en la prueba "in vitro" logró reducir casi al 50% el porcentaje de germinación de S. rolfsii, posiblemente por la acción de sus ingredientes activos y porque se aplicó a la semilla de maní, quedando los esclerotes fuera de la acción del fungicida.

Bayletón pertenece al grupo químico de los Triazoles, tiene acción fungitóxica sobre la membrana protoplásmica al inhibir la síntesis de esteroides (Ergosterol), causando pérdidas de los constituyentes citoplasmáticos esenciales.

El posible efecto fitotóxico del producto podría deberse a la dosis utilizada de 0,1% en la prueba de invernadero, es recomendado por los fabricantes en el control de *Oidium* a dosis de 0,05% en leguminosas y hortalizas, a 0,25% en frutales y para royas 0,25% de producto comercial. También podría deberse al modo de acción del fungicida (inhibe la síntesis de esteroides), que podría afectar algún mecanismo de la fisiología del maní, que es una oleaginosa.

Tilt tiene acción similar a Bayletón y pertenecen al mismo grupo químico, tienen acción contra algunos Ascomycetes y afectan a *Trichoderma* (34), esto podría explicar su efecto negativo sobre este último.

La eficiencia del control químico puede llegar al 100%, pero se tiene que tener presente el desarrollo de resistencia del patógeno. Mont (34) cita a Georgopoulos, quién reporta que *S. rolfsii* presenta resistencia a Difenil (1963) y a PCNB (1964). Aycock (4), cita a Cooper, quién obtuvo razas del hongo tolerantes a PCNB y a nitrobenzenos clorinados. Estos antecedentes hacen pensar que la eficiencia inicial del producto puede ser disminuída o ser nula por el desarrollo de algún mecanismo de resistencia del patógeno; por lo cual, sería más efectivo el control biológico o una mayor proporción de este en un control integrado. Diversos trabajos reportan la eficiencia de *Trichoderma* en el control de *S. rolfsii* tales como Sañudo *et al.* (48) en campos de frijol; Agrawal (1) en campos de

lenteja; Wells et al. (52) en maní, tomate y lupinus azul; Harman et al. (24) en semillas de rabanito y arveja e indican que resulta tan efectivo como cuando se aplican productos químicos a las semillas. Recientemente Olivos (38), encontró que PCNB y T. viride tuvieron similar comportamiento en la protección de plantas de cebada y frijol al ataque de S. rolfsii. En Israel, se utiliza T. harzianun (MTR-35) como fungicida biológico aplicado al suelo y tiene la ventaja de ser compatible con diversos productos químicos (30).

Recientemente Montealegre (32) ha reportado que T. harzianun presentó mayor tolerancia a los fungicidas Mepronil, Oxicarboxin y Tolclofos metil. Estos resultados indican que S. rolfsii podría ser controlado en forma efectiva mediante un sistema de control integrado, utilizando cepas del género Trichoderma y fungicidas. Esto confirmaría la posibilidad del uso de Trichoderma más fungicidas en el control de S. rolfsii. Sin embargo deberían evaluarse los factores que afectan o permitan una mayor eficiencia del control en el campo, como la producción y aplicación de las cepas de Trichoderma, así como dosis de los fungicidas y su efecto sobre el medio ambiente y sobre el organismo biocontrolador (temperatura, materia orgánica en el suelo, humedad, etc.).

En lo referente a la forma de aplicación del biocontrolador, los resultados del análisis de regresión (cuadro 17)

indican que no existe diferencia en aplicar por "pullado" alrededor de la semilla o en "mezcla" homogénea al suelo para las condiciones de estudio. En ambos métodos cuando el inóculo estuvo presente en la superficie, se pudo observar que *Trichoderma* desarrolló como una alfombra verde, cubriendo rápidamente toda la masa de suelo, por ello posiblemente se obtuvo eficiencia en ambos métodos de aplicación.

A nivel de campo podría ocurrir que al ser aplicado en pullado, *Trichoderma* desarrollaría alrededor de la semilla como una masa compacta, impidiendo el avance del micelio infectivo o la germinación esclerocial de *S. rolfsii*, pero cuando la planta crece y la raíz principal desarrolla en longitud (en promedio 1 m de profundidad), puede ser que los extremos radiculares no esten protegidos pudiendo ocurrir la infección. Pero si *Trichoderma* se aplicara en mezcla con el suelo, podría proteger un área mayor el cual abarcaría hasta las raíces, aunque la semilla podría quedar menos protegida por una menor cantidad del biocontrolador. Se podría utilizar Moncut para el tratamiento a la semilla, lo cual permitiría proteger los primeros estadios de la planta, pudiendo obtenerse un control efectivo del patógeno. El uso de una u otra forma de aplicación del biocontrolador debe ser estudiada a nivel de campo.

En invernadero los factores ambientales afectaron el desarrollo de la enfermedad. La temperatura influyó en el

desarrollo e infección micelial de S. rolfsii y en la manifestación de los síntomas en la planta (Figura 7), la temperatura promedio estuvo cerca a los 25° C (fluctuó de 17 a 32° C), inicialmente promovieron la germinación y el desarrollo vigoroso del patógeno, posteriormente los días nublados determinaron un desarrollo alternado del patógeno. La fluctuación y el descenso de la temperatura (figura 7) afectó el comportamiento del patógeno, finalmente con el incremento de la temperatura se favoreció a S. rolfsii. En los resultados (cuadro 12 y 15), se observa mayor porcentaje de plantas muertas durante el período de pre-emergencia, a diferencia del período de post-emergencia donde hubieron plantas afectadas pero que no llegaron a morir durante el tiempo que duró el estudio. La incidencia de los factores ambientales (como la temperatura), predisponen y favorecen la presencia de la enfermedad, esto fue destacado y reportado por Aycock (4), Olivos (38), Punja (44) entre otros. Montealegre (32) reporta que temperaturas menores a 20° C no afectan significativamente el desarrollo de T. viride, pero considera ideal una temperatura de 27° C.

VI. CONCLUSIONES

Bajo las condiciones en que se efectuó el presente estudio y de acuerdo a los resultados obtenidos se concluye que :

- El mejor tratamiento en invernadero fue la aplicación de de Trichoderma viride (aplicado al suelo) y Moncut (aplicado la semilla).
- La aplicación de T. viride sólo y en forma simultánea con fungicidas (Moncut, Fitoraz, Bayletón) permite disminuir significativamente el ataque de S. rolfsii con respecto a la aplicación sólo de fungicidas.
- Moncut es el mejor tratamiento fungicida para controlar la enfermedad.
- No hay diferencia entre la aplicación de Trichoderma en mezcla al suelo o en pullado alrededor de la semilla de maní al momento de la siembra.
- Bayletón a la dosis 0,1% resultó ser fitotóxico para las plantas de maní, causó retraso en la germinación y redujo en más del 50% el tamaño de las plantas.
- T. viride "in vitro" impide la germinación de los esclerotes y el desarrollo micelial de S. rolfsii .
- "In vitro", Moncut al 0,1% resultó ser el mejor tratamiento fungicida al impedir el desarrollo de S. rolfsii, y fue inócuo al desarrollo de T. viride .
- Tilt al 0.1% en prueba "in vitro" resultó tóxico para T. viride .

VII. RECOMENDACIONES

- Realizar pruebas a nivel de campo usando Moncut a mayores dosis y probando momentos de aplicación, asociado al biocontrolador.
- Realizar trabajos a nivel de campo utilizando T. viride y fungicidas en el control de S. rolfsii, para determinar el nivel de eficiencia y la persistencia del biocontrolador, así como el efecto del medio ambiente.
- Efectuar mayores pruebas de control biológico de S. rolfsii utilizando diferentes especies de biocontroladores.
- Estudiar el efecto de la aplicación de diversas fuentes y cantidad de materia orgánica sobre el desarrollo, persistencia y eficiencia de T. viride a nivel de invernadero y campo.
- Realizar estudios para determinar otros sustratos para la propagación de Trichoderma y determinar la metodología más práctica de aplicación económica y eficiente, que permita producir en gran escala inóculo de T. viride para su aplicación en campo.
- Desarrollar una metodología para realizar un control integrado de S. rolfsii en base a las informaciones existentes y los trabajos realizados.

VIII. RESUMEN

En instalaciones de la Universidad Nacional Agraria La Molina, entre Mayo de 1992 a Enero de 1993, se estudió la acción individual y combinada de los fungicidas: Bayletón, Fitoraz, Tilt, Moncut a la dosis del 0,1% y del biocontrolador Trichoderma viride Pers.: Fr. en el control de Sclerotium rolfsii Sacc. bajo condiciones de laboratorio e invernadero; en este último se utilizó plantas de maní (Arachis hypogaea L.) variedad "Italiano de casma".

Para determinar "in vitro" el efecto de los fungicidas sobre S. rolfsii se empleó el método del alimento envenenado. Cada fungicida se mezcló con medio PDA a la dosis de 0,1% , posteriormente fueron vertidas en placas petri; una vez solidificado, en el centro de cada placa se sembró un disco de agar (5 mm) conteniendo micelio del patógeno, para el tratamiento testigo el medio PDA no tuvo fungicida. Cada tratamiento tuvo cuatro repeticiones, se incubaron a 30° C y se evaluó el radio de desarrollo micelial. Los resultados fueron analizados en un Diseño Completo al Azar y los promedios mediante la prueba de Tukey. Todos los fungicidas impidieron el desarrollo micelial del patógeno.

Con la finalidad de determinar el efecto de los fungicidas sobre el desarrollo del biocontrolador, se procedió en forma similar a la prueba anterior con la prueba del alimento envenenado para T. viride. Moncut

resultó ser casi inocuo para el desarrollo de T. viride , solo causo 5% de inhibición al tercer día de desarrollo de Trichoderma; Bayletón inhibió un 39% ; Fitoraz el 58% y Tilt resultó ser nocivo para T. viride, pues no permitió su desarrollo.

Esclerotes del patógeno tratados "in vitro" con los fungicidas mencionados y esporas de T. viride en solución al 0,1% y sembrados en medio PDAO, fueron afectados durante su germinación. Bayletón no afectó significativamente la germinación de los esclerotes, Fitoraz afectó en un 40%, Tilt el 68%, Moncut el 88% y T. virde colonizó e inhibió los esclerotes germinados inicialmente.

En invernadero se realizó las pruebas de control químico y biológico, mediante dos métodos para la aplicación del biocontrolador: en "pullado" o golpe alrededor de las semillas de maní y en "mezcla" homogénea con todo el suelo. En macetas de un kg de capacidad, conteniendo una mezcla de suelo (50% suelo, 25% arena, 25% materia orgánica), fueron incorporados 50 esclerotes de S. rolfsii como fuente de inóculo. Cinco gramos de Trichoderma (desarrollados sobre granos de cebada) se aplicó en "mezcla" o "pullado" de acuerdo a los tratamientos. Cinco semillas de maní tratadas o no con los fungicidas al 0,1% fueron sembradas, las plántulas fueron regadas y observadas por 60 días a una temperatura promedio de 25° C. Los datos se analizaron mediante un análisis de variancia en un D.C.A. y mediante

la prueba de Tukey, los dos métodos de aplicación del *Trichoderma* fueron comparados mediante un análisis de regresión lineal.

Bajo las condiciones realizadas no se encontró diferencias estadísticas entre la aplicación de *T. viride* al suelo en "pullado" o en "mezcla". El mejor tratamiento para la protección de las plantas de maní resultó ser la aplicación conjunta de fungicidas y *Trichoderma*, destacando la aplicación de Moncut más *Trichoderma* con 8% de infección ; mientras que, la aplicación sólo del biocontrolador o con fungicidas disminuyeron el ataque en un 12 a 18% . Moncut aplicado sólo, tuvo un 22% de plantas afectadas, el testigo presentó 72% de infección.

Bayletón a la dosis 0,1% resultó ser fitotóxico para las plantas de maní, al retrasar la germinación de estos por 3-5 días y producir enanismo en las plantas.

El desarrollo del biocontrolador sobre granos de cebada facilita su manejo y aplicación, posibilita obtener grandes volúmenes para su uso en campo.

Los resultados indican la posibilidad de usar el fungicida Moncut, aún a dosis mayores y asociado con *T. viride* en el control de *S. rolfsii* en maní. Estos resultados deben ser verificados pero a nivel de campo. Los resultados obtenidos podrían funcionar dentro de un control integrado para *S. rolfsii* .

IX. LITERATURA CITADA

1. Agrawal, S.C., M.N. Khare, and P.S. Agrawal. 1977. Biological control of Sclerotium rolfsii causing collar rot of lentil. Indian Phytopathol. 30: 177-179.
2. Aken, C.N. and K.E. Dastielli. 1991. First report of Southern Blight caused by Sclerotium rolfsii on soybeans in Nigeria. Plant Disease 75 : 537.
3. Appel, J. A. y D. J. Jardine. 1992. First report of Sclerotium (Southern) Bligh and Rhizoctonia Aerial Blight of Soybeans in Kansas. Plant Disease 76: 539.
4. Aycock, R. 1966. Stem rot and other diseases by S. rolfsii. Nort Carolina Agricultural Experiment Station. Tech. Bull. 202 pp.
5. Backman, P.A., R. Rodrigez-Kabana, and J.C. Williams. 1975. The effect of peanut leaf spot fungicides on the nontarget pathogen, Sclerotium rolfsii. Phytopathology 65: 773-776.
6. Backman, P.A. and R. Rodriguez-Kabana. 1975. A systems for the growth and delivery of biological control agents to the soil. Phytopathology 65: 819-821.
7. Backman, P. A., E. Beltramini, M. Caulin and N. Ziliani. 1990. Prediction of Sclerotium rolfsii damage in sugar beets, and management of the disease in Uruguay. Fitopatología 25 (2): 20.
8. Barak, R., Y. Elad, D. Mirelman, and I. Chet. 1985. lectins ; A possible basis for specific regognition in the interaction of Trichoderma and Sclerotium rolfsii. Phytopathology 75: 458-462.
9. Barron, G.L. 1972. The genera of Hyphomycetes from soil. Ed. Robert E. Krieger Publishing Company. New York. 364 pp.
10. Beaute, M. K. and R. Rodriguez-Kabana. 1981. Effect of soil moisture, temperature and field enviroment on survival of Sclerotium rolfsii in Alabama an North Carolina. Phytopathology 71: 1293-1296.
11. Beebe, S. 1981. Pudriciones radicales de frijol y su control. Centro Intrernacional de Agricultura Tropical. Colombia. 52 pp.

12. Bhardwaj, C.L., K.R. Shyam, and B.M. Singh. 1983. Evaluation of fungicide for the control of seedling blight of rice caused by Sclerotium rolfsii. Indian J. Mycol. and Plant Pathol. 13:256-261.
13. Bolkan, H. A. 1980. Problemas de pudrición de Frijol, enfermedades, insectos, limitaciones edáficas de Phaseolus vulgaris. CIAT, Cali, Colombia. 424 pp.
14. Camarena, F. y R. Montalvo. 1992. Oleaginosas diagnóstico y cultivo (maní, ajonjolí y girasol). Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima-Perú. 95 pp.
15. CIP. 1983. Control de enfermedades fungosas de importancia. Pp. 33-41. Informe Anual del CIP. 1982. Lima, Perú.
16. Colonia Fitzcarrald, John. 1994. Control Biológico y Químico de S. rolfsii Sacc. en frijol (Phaseolus vulgaris L.). Tesis para optar el grado de Ing. Agrónomo. UNALM. Lima-Perú. 98 pp.
17. Cook, R.J. and K.F. Baker. 1983. The nature and practice of biological control of plant pathogens. The American Phytopathological Society, Minesota, USA. 539 pp.
18. Curl, E. A., y R. Rodriguez-Kabana. 1972. Efectos de los herbicidas Diuron, Fluometuron, Paraquat, Prometryne, y Trifluralin en la producción de esclerotes por Sclerotium rolfsii y el Sclerotinia triflororum. Fitopatología 5: 10-14.
19. Elad, Y., I. Chet., and J. Katan. 1980. Trichoderma harzianum: A biocontrol agent affective aganst Sclerotium rolfsii and Rhizoctonia solani. Phytopathology 70: 119
20. Elad, Y., I. Chet, P. Boyle and Y. Henis. 1983. Parasitism of Trichoderma spp. on Rhizoctonia solani and Sclerotium rolfsii. Scannig electron microscopy and frluorescence microscopy. Phytopathology 73: 85-88.
21. FAO. 1990. Anuario de producción. Vol. 44. Roma. 345p.
22. Garren, K. 1961. Control of Sclerotium rolfsii through cultural practices. Phytopathology 51: 120-124.

23. Hadar, Y., I. Chet., and Henis. 1979. Biological control of Rhizoctonia solani damping off with wheat bran culture of Trichoderma harzianum. *Phytopathology* 69: 64-68.
24. Harman, G.E., I. Chet., and R. Baker. 1980. Trichoderma harzianum effects on seed and seedling disease induced in radish and pea by Pythium spp. or Rhizoctonia solani. *Phytopathology* 70 : 1167-1172
25. Harrison, A. 1961. Control of Sclerotium rolfsii with chemical. *Phytopathology* 51: 124-127.
26. Henis, Y., P. B. Adams, J. A. Lewis, and G. C. Papavizas. 1983. Penetration of sclerotia of Sclerotium rolfsii by Trichoderma spp. *Phytopathology* 73: 1043-1046.
27. Henis, Y., and G. C. Papavizas. 1983. Factores affecting germinability and susceptibility to attack of sclerotia of Sclerotium rolfsii by Trichoderma harzianum in field soil. *Phytopathology* 73: 1468-1474.
28. Krupa, S.V., and Y. R. Domingues. 1979. Ecology of root pathogens. Elsevier Scientific Publishing Company. The Netherlands. 281 pp.
29. Lewis, J., and G. Papavizas. 1985. Effect of mycelial preparations of Trichoderma and Gliocladium on populations of Rhizoctonia solani and the incidence of damping off. *Phytopathology* 75: 812-817.
30. Makhteshim Chemical Work Ltd. 1987. Trichoderma MTR-35 biofungicide. Israel. 13 pp.
31. Moncut (flutolanil). 1990. The Intelligent Chemical; The intelligent choice for your crop protection. Technical Information. Nihon Nohyaku Co.,Ltd. 31 pp.
32. Montealegre, J. and J. Henriquez. 1990. Posibilidades de control integrado de Sclerotium rolfsii Sacc. mediante hongos del género Trichoderma y fungicidas. *Fitopatología* 25 (2): 68-74.
33. Montero, J. C. 1979. Predisposición al Marchitamiento de la Soja (Glacine max l. Merrill) causado por Sclerotium rolfsii Sacc. *Fitopatologia* 14 (2) : 54-64.

34. Mont Koc, R. 1993. Principios del control de enfermedades de las plantas. UNALM. Lima-Perú. 287 pp.
35. Morris, D., D. Smith and R. Rodriguez-Kabana. 1984. Compendium of peanut diseases. The American Phytopathological Society, Minesota, USA. 15-16 p.
36. Olivos, M. y R. Mont. 1985. Control de Sclerotium rolfsii con enmiendas orgánicas y microorganismos antagonicos. Resúmenes de los trabajos presentados en el IX Congreso Peruano de Fitopatología. Fitopatología 21: 9.
37. Olivos, M. 1989. Antagonismo microbiano para Sclerotium rolfsii causante de la pudrición basal en Hordeum vulgare. Tesis para optar Grado Magister Scientiae. UNALM. Lima-Perú 77p.
38. Olivos, M. y R. Mont. 1993. Uso de Fungicidas y Trichoderma viride en el control de Sclerotium rolfsii. Fitopatología 28 (1) : 16-21.
39. Paez, C.A. y E. Vargas. 1975. Control Biológico de Mycena citricolor con Trichoderma sp. En resúmenes de los trabajos presentados en el primer Seminario Costarricense de Fitopatología. Fitopatología 10 (2) :68-69.
40. Papavizas, G. C. 1985. Trichoderma and Gliocladium: Biology, Ecology and potential for biocontrol. Ann. Rev. Phytopathol. 23: 23-54
41. Peeples, J. L., E. A. Curl, and R. Rodriguez-Kabana. 1976. Effect of the herbicide EPTC on the biocontrol activity of Trichoderma viride against Sclerotium rolfsii. Plant Disease Reporter 60: 1050-1054.
42. Punja, Z. K. and R. G. Grogan. 1981. Eruptive germination of sclerotia of Sclerotium rolfsii. Phytopathology 71 : 1092-1099.
43. Punja, Z.K. and S.F. Jenkis. 1984. Influence of temperature, moisture, modified gaseous atmosphere, and depth in soil on eruptive sclerotial germination of Sclerotium rolfsii. Phytopathology 74: 749-754.

14. Punja, Z. C. and S. F. Jenkins. 1984. Influence of medium composition on mycelial growth and oxalic acid production in Sclerotium rolfsii. Mycologia 76 : 947-950.
15. Punja, Z. K. 1985. The biology, ecology and control of Sclerotium rolfsii. Ann. Rev. Phytopathol. 23: 97-127.
16. Punter, D., J. Reid, and A. Hopkin. 1984. Notes on Sclerotium rolfsii forming fungi from Zizania aquatica (Wild rice) and othert host. Mycologia: 76:722-732.
47. Rodriguez-Kabana, R. Beckman, P. A. and Williams, J. C. 1975. Determination of yield to Sclerotium rolsii in peanut fields. Plants Dis. Rep. 59; 855-858.
48. Sañudo, B., B. Martínez, y A. Cáceres. 1976. Efecto de algunos microorganismos antagónicos sobre Sclerotium rolfsii patógeno del frijol en el departamento de Nariño. Fitopatología 11: 39-40.
49. Smith, G. 1960. An introduction to industrial mycology. Fifty edition. Edit. Edward Arnold Publisher Ltd. Great Britain. 399 pp.
50. Smith, V. L., Z. C. Punja, and S. F. Jenkins. 1986. A histological study of infection of host tissue by Sclerotium rolfsii . Phytopathology 76: 755-759.
51. Vallejos, O. V. 1988. Efecto de Rhizoctonia solani y Sclerotium rolfsii sobre 10 cultivares y líneas de frijol en Lambayeque, Perú. Fitopatología 23 (1) : 22-25.
52. Wells, H.D., D.K. Bell and C.A. Jaworski. 1972. Efficacy of Trichoderma harzianum as a biocontrol for Sclerotium rolfsii. Phytopathology 62: 442-447.
53. West. E. 1961. Sclerotium rolfsii, history, taxonomy, host range, and distribution. Phytopathology 51: 108-109

X. A N E X O

Anexo 1. Resultados in vitro de la prueba del alimento envenenado para el diámetro de desarrollo micelial de S. rolfsii a 30° C.

TRATAMIENTO	DIA	DESARROLLO MICELIAL ^{a/.} (Repeticiones)				PROMED
		1	2	3	4	
T 1 Bayleton 0,1%	1	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0
	4	0	0	0	0	0
T 2 Fitoraz 0,1%	1	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0
	4	0	0	0	0	0
T 3 Tilt 0,1%	1	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0
	4	0	0	0	0	0
T 4 Moncut 0,1%	1	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0
	4	0	0	0	0	0
T 5 <u>S. rolfsii</u>	1	1,9	1,9	1,6	1,5	1,73
	2	5,0	5,2	5,3	5,9	5,35
	3	8,5	8,3	8,3	8,3	8,38
	4	9,0	9,0	9,0	9,0	9,0

a/. Diámetro de desarrollo de S. rolfsii en centímetros.

Anexo 2. Resultados in vitro de la prueba del alimento envenenado para el diámetro de desarrollo micelial de *T. viride* a 30° C.

TRATAMIENTO	DIA	DESARROLLO MICELIAL a/.				PROMED
		(Repeticiones)				
		1	2	3	4	
T 1 Bayleton 0,1%	1	1,5	1,3	1,2	1,2	1,3
	2	3,8	3,4	3,3	3,4	3,5
	3	5,3	5,0	5,9	5,9	5,4
	4	7,6	7,9	7,5	8,1	7,8
T 2 Fitoraz 0,1%	1	0	0	0	0	0
	2	1,9	2,2	2,4	2,4	2,2
	3	3,4	3,7	3,9	3,8	3,7
	4	4,6	4,3	4,3	4,2	4,4
T 4 Moncut 0,1%	1	1,6	2,3	2,1	1,6	1,9
	2	5,8	4,8	5,3	5,5	5,4
	3	8,8	8,9	8,9	8,9	8,9
	4	9,0	9,0	9,0	9,0	9,0
T 3 Tilt 0,1%	1	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0
	4	0	0	0	0	0
T 5 <i>S. rolfsii</i>	1	3,2	3,0	3,0	3,1	3,1
	2	6,8	7,7	7,3	7,1	7,2
	3	8,8	8,9	8,8	8,9	8,9
	4	9,0	9,0	9,0	9,0	9,0

a/. Diámetro de desarrollo de *T. viride* en centímetros.

Anexo 3. Efecto de fungicidas al 0,1% v *T. viride* sobre la germinación de los esclerotes de *S. rolfsii* a 30° C.

TRATAMIENTO	DIA	GERMINACION ESCLEROTIAL ^{a/} (Repeticiones)				PROMED
		1	2	3	4	
T 1 Bayleton 0,1%	1	1	2	4	5	3,0
	2	7	9	10	10	9,0
	3	7	10	10	10	9,3
	4	7	10	10	10	9,3
T 2 Fitoraz 0,1%	1	1	5	3	0	2,3
	2	7	6	5	5	5,8
	3	7	7	5	5	6,0
	4	7	7	5	5	6,0
T 3 Tilt 0,1%	1	1	1	0	0	0,5
	2	2	3	2	2	2,3
	3	3	4	2	4	3,3
	4	3	4	3	4	3,5
T 4 Moncut 0,1%	1	0	0	0	0	0
	2	1	0	0	0	0,25
	3	2	1	0	1	1,0
	4	3	1	0	1	1,5
T 5 <i>T. viride</i>	1	1	1	0	2	1,0
	2	1	0	0	1	0,5
	3	0	0	0	0	0
	4	0	0	0	0	0
T 6 <i>S. rolfsii</i>	1	1	4	4	0	2,3
	2	10	10	10	10	10
	3	10	10	10	10	10
	4	10	10	10	10	10

a/. Número de esclerotes germinados de un total de 10 esclerotes por placa o repetición.

Anexo 4. Resultados in vitro de la prueba del alimento envenenado para el desarrollo micelial de T. viride, a diferentes dosis de Moncut.

TRATAMIENTO	DIA	DESARROLLO MICELIAL a/.				PROMED
		(Repeticiones)				
		1	2	3	4	
T 1 <u>T. viride</u>	1	3,2	3,0	3,0	3,1	3,1
	2	6,8	7,7	7,3	7,1	7,2
	3	8,8	8,9	8,8	8,9	8,9
	4	9,0	9,0	9,0	9,0	9,0
T 2 Moncut 0.1%	1	1,9	2,1	2,2	1,8	2,0
	2	5,4	5,2	5,5	5,3	5,4
	3	8,5	8,7	8,8	8,7	8,7
	4	9,0	9,0	9,0	9,0	9,0
T 3 Moncut 0.2%	1	1,9	1,8	1,8	1,9	1,9
	2	4,7	4,9	4,5	4,6	4,7
	3	7,5	7,3	7,2	7,4	7,4
	4	8,5	8,4	8,4	8,5	8,5
T 4 Moncut 0.3%	1	1,7	1,5	1,6	1,7	1,6
	2	3,4	3,6	3,3	3,6	3,5
	3	5,0	5,2	4,9	5,1	5,1
	4	6,8	6,8	6,6	6,5	6,7

a/. Diámetro de desarrollo de T. viride en centímetros.

Anexo 5. Número total de plantas de maní afectadas por S. rolfsii en invernadero, aplicando T. viride por el método del pullado.

TRATAM.	R E P E T I C I O N a/.										PROM	%
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
T 1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T 3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T 2	4	3	4	3	4	5	3	4	3	3	3,6	72
T 4	2	2	2	1	2	2	3	2	3	2	2,1	42
T 5	2	2	2	3	1	1	2	2	1	2	1,8	36
T 6	1	2	1	0	1	2	1	2	0	1	1,1	22
T 7	1	0	1	1	0	1	2	1	1	1	0,9	18
T 8	1	1	2	0	1	1	0	1	1	1	0,9	18
T 9	1	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0,4	8
T 10	1	0	1	1	1	0	1	0	1	1	0,7	14

a/. Número de plantas afectadas de un total de 5 plantas por maceta o repetición.

donde:

- T 1 Testigo (macetas sin S. rolfsii)
- T 2 S. rolfsii
- T 3 T. viride solo
- T 4 S. rolfsii + Bayleton 0,1%
- T 5 S. rolfsii + Fitoraz 0,1%
- T 6 S. rolfsii + Moncut 0,1%
- T 7 S. rolfsii + Bayleton 0,1% + T. viride
- T 8 S. rolfsii + Fitoraz 0,1% + T. viride
- T 9 S. rolfsii + Moncut 0,1% + T. viride
- T 10 S. rolfsii + T. viride

Anexo 6. Número total de plantas de maní afectadas por S. rolfsii en invernadero, aplicando T. viride por el método mezcla.

TRATAM.	REPETICION a/.										PROM	%
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
T 1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T 3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T 2	4	3	4	3	4	5	3	4	3	3	3,6	72
T 4	2	2	2	1	2	2	3	2	3	2	2,1	42
T 5	2	2	2	3	1	1	2	2	1	2	1,8	36
T 6	1	2	1	0	1	2	1	2	0	1	1,1	22
T 7	1	1	0	0	2	0	1	2	0	1	0,6	12
T 8	1	1	1	0	1	1	0	2	1	0	0,8	16
T 9	1	1	0	1	1	0	0	1	0	1	0,6	12
T 10	1	0	1	1	0	0	1	2	1	1	0,8	16

a/. Número de plantas afectadas de un total de 5 plantas por maceta o repetición.

donde:

- T 1 Testigo (macetas sin S. rolfsii)
- T 2 S. rolfsii
- T 3 T. viride solo
- T 4 S. rolfsii + Bayleton 0,1%
- T 5 S. rolfsii + Fitoraz 0,1%
- T 6 S. rolfsii + Moncut 0,1%
- T 7 S. rolfsii + Bayleton 0,1% + T. viride
- T 8 S. rolfsii + Fitoraz 0,1% + T. viride
- T 9 S. rolfsii + Moncut 0,1% + T. viride
- T 10 S. rolfsii + T. viride

Anexo 7. Tabla de temperaturas máxima, mínima y media en invernadero para los meses de diciembre de 1992 y enero de 1994.

DIA	DICIEMBRE 1992			ENERO 1993		
	MAX.	MIN.	PROM. *	MAX	MIN.	PROM.
1	26.5	16.7	21.4	23.3	19.5	21.4
2	26.2	18.4	21.2	28.6	19.1	23.4
3	28.2	15.0	20.9	28.4	20.0	24.2
4	28.0	15.0	21.6	27.4	19.6	23.5
5	27.2	15.8	21.2	28.4	19.4	23.9
6	26.7	14.0	21.5	29.4	18.0	23.7
7	29.2	19.0	22.9	30.0	18.5	24.3
8	27.4	16.5	21.4	30.0	19.3	24.7
9	27.0	15.8	21.5	31.3	21.3	26.3
10	28.2	16.9	20.4	29.2	19.3	24.3
11	27.2	16.3	22.0	28.0	18.0	23.0
12	26.5	15.8	21.1	28.5	17.4	23.0
13	26.7	15.9	21.0	29.5	21.0	25.3
14	27.2	16.4	21.6	25.6	20.8	23.2
15	27.5	16.0	21.1	27.7	20.5	24.5
16	25.1	18.0	20.6	25.3	19.9	22.6
17	28.0	19.0	21.5	28.4	18.5	23.5
18	27.7	18.3	23.0	29.4	21.3	25.4
19	27.8	17.8	22.7	32.0	20.5	26.4
20	28.3	17.8	23.0	31.7	21.5	26.6
21	28.8	19.3	22.8	31.7	21.4	26.5
22	30.0	19.7	21.9	32.0	21.0	26.5
23	28.4	19.8	23.6	30.0	22.3	26.2
24	27.9	19.4	22.7	30.2	21.0	25.6
25	26.4	18.3	22.9	31.0	21.4	26.2
26	25.1	18.0	21.9	32.0	20.5	26.3
27	26.0	17.8	22.2	31.5	22.5	27.0
28	26.8	18.0	21.4	21.8	22.2	26.0
29	32.0	18.5	23.9	28.7	22.3	25.5
30	28.1	18.5	22.7	30.1	22.4	26.3
31				31.3	21.3	26.3
PROMEDIO	27.4	17.4	21.9	29.4	20.4	24.9
PROMEDIO DICIEMBRE - ENERO						
MAXIMA : 28.4		MINIMA : 18.9		MEDIA : 23.7		

* Temperatura en grados centigrados.