



“Por un Desarrollo
Agrario
Integral y Sostenible”

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

FACULTAD DE AGRONOMÍA

Trabajo de Tesis

**Capacidad antagonica *in vitro* de *Trichoderma* spp
frente a *Sclerotium* spp y promotor del crecimiento
vegetal en plantulas de frijol (*Phaseolus Vulgaris* L.)
UNA, Managua 2021**

Autores

Br. Franier Leobardo Ruiz López
Br. Azael Antonio Blandón Jarquín

Asesores

MSc. Markelyn José Rodríguez Zamora
PhD. Jorge Ulises Blandón Díaz
Ing. Rudy Javier Cáceres Murillo

**Managua, Nicaragua
Abril, 2022**



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA FACULTAD DE AGRONOMÍA

Trabajo de Tesis

Capacidad antagonica *in vitro* de *Trichoderma* spp frente a *Sclerotium* spp y promotor del crecimiento vegetal en plantulas de frijol (*Phaseolus Vulgaris* L.) UNA, Managua 2021

Autores

Br. Franier Leobardo Ruiz López

Br. Azael Antonio Blandón Jarquín

Asesores

MSc. Markelyn José Rodríguez Zamora

PhD. Jorge Ulises Blandón Díaz

Ing. Rudy Javier Cáceres Murillo

Presentado a la consideración del Honorable Comité
Evaluador como requisito final para optar al grado de
ingeniero en sanidad vegetal.

Managua, Nicaragua

Abril, 2022

Hoja de aprobación del Tribunal Examinador

Este trabajo de graduación fue evaluado y aprobado por el Honorable Comité Evaluador designado por el Decanato de la Facultad de Agronomía como requisito final para optar al título profesional de:

Ingeniero en Sanidad Vegetal

Miembros del Tribunal Examinador

Presidente (MSc. María del Rosario Chavarría Sánchez)

Secretario (MSc. Eliezer Hazael Lanuza Rodríguez)

Vocal (MSc. Isaías Ezequiel Sánchez Gómez)

DEDICATORIA

A DIOS padre celestial, por regalarme el don de la vida y brindarme coraje para la culminación de mis estudios Universitarios.

A MIS IRREMPLAZABLES PADRES León Francisco Ruiz Mendoza y Sonia Patricia López Aguilar que con mucho amor y sacrificio fueron la clave para cumplir mis metas académicas.

A MIS HERMANOS Helen Abigail Ruiz López y Leoner Asdrúbal Ruiz López, gracias por apoyarme siempre y formar parte de este excelente trabajo.

A MI PADRINO Durlin Salvador Ruiz Moreno por siempre apoyarme e instruirme y nunca tener una respuesta negativa hacia mi persona.

A MI HONORABLE PRIMO Franklin Dubalit Ruiz Moreno (Q.E.P.D.) Gracias por aquellas fuertes críticas y consejos de horas que me formaron de manera íntegra para lograr lo que hoy en realidad soy. Hasta el cielo te dedico lo que un día en mente estuvo.

A MI NOVIA Francela Márquez por la paciencia y amor durante este caminar.

A MI FAMILIA EN GENERAL, Y AMIGOS, que de una u otra manera colaboraron para lograr mis metas.

Br. Franier Leobardo Ruiz López

DEDICATORIA

Este trabajo de tesis lo dedico primeramente a **Dios y a Siervo Fray Odorico D´ Andrea** por darme fuerza, perseverancia, salud, sabiduría, paciencia y confianza desde siempre para culminar mi carrera, por la vida y el entendimiento para hacer posible este logro.

A mis padres **Sr. Adalberto De Jesús Blandón Mairena y Lic. Laura Elena Jarquín Méndez**, quienes me dieron su apoyo incondicional, esfuerzo y dedicación para ayudarme en todo momento y seguir por el buen camino para culminar con éxito esta meta.

A cada uno de los docentes, por su abnegación, esfuerzo y sobre todo por regalarnos el pan de la enseñanza con todo amor para poder consolidar mi aprendizaje y lograr mi formación profesional.

A mi apreciado amigo y compañero de tesis **Br. Franier Leobardo Ruiz López** por dedicar un tiempo ilimitado en nuestro trabajo de tesis y por su apoyo incondicional en el transcurso de nuestra carrera.

Br. Azael Antonio Blandón Jarquín.

AGRADECIMIENTOS

A **Dios** padre redentor del mundo, por nunca desampararme y ser mi mejor maestro.

A mi asesor en especial **MSc: Markelyn José Rodríguez Zamora** por la confianza, paciencia y sobre todo por la increíble amistad cultivada en este lapso estudiantil.

Al **PhD Jorge Ulises Blandón Díaz** por brindarme su apoyo y calidez para la ejecución de este proyecto.

Al **Ing. Rudy Javier Cáceres Murillo** por brindarme su apoyo, paciencia y practica microbiológica para este trabajo.

A mi amigo en especial **Azael Antonio Blandón Jarquín**, por albergar una infinidad de deseos constructivos y de superación. Por brindarme más que una amistad y ser partícipe de este excelente proyecto.

A la **Familia Benavides Peña** agradezco de todo corazón por su enorme amabilidad, tolerancia y confianza durante este lapso académico.

Br. Franier Leobardo Ruiz López

AGRADECIMIENTO

Agradezco a **Dios** por permitirme dar un paso adelante en mi formación académica, por haberme dado conocimientos para que esta investigación sea una realidad, por el regalo de la vida y la salud para poder concluir este trabajo.

A mis asesores **MSc. Markelyn José Rodríguez Zamora, PhD. Jorge Ulises Blandón Díaz, Ing. Rudy Javier Cáceres Murillo** por ser parte esencial, por brindarnos sus conocimientos y orientaciones, tiempo para atendernos, por ser muy pacientes y apoyarnos siempre ya que sus enseñanzas han calado fuerte en mí.

A la Universidad Nacional Agraria (UNA), Facultad de Agronomía (FAGRO), Departamento de protección agrícola y forestal (DPAF) y a cada uno de los docentes de la facultad que en el transcurso de la carrera contribuyeron para alcanzar nuestras metas y haber sido una luz en nuestros caminos, ya que sin las oportunidades brindadas no hubiese sido posible la culminación de esta investigación.

Br. Azael Antonio Blandón Jarquín.

ÍNDICE DE CONTENIDO

| SECCIÓN | PÁGINA |
|---|-------------|
| DEDICATORIA | i |
| DEDICATORIA | ii |
| AGRADECIMIENTO | iv |
| ÍNDICE DE CUADROS | vii |
| ÍNDICE DE FIGURAS | viii |
| ÍNDICE DE ANEXOS | ix |
| RESUMEN | xi |
| ABSTRACT | xii |
| I. INTRODUCCIÓN | 1 |
| II. OBJETIVOS | 3 |
| 2.1. Objetivo general | 3 |
| 2.2. Objetivos específicos | 3 |
| III. MARCO DE REFERENCIA | 4 |
| 3.1. Generalidades del cultivo de frijol | 4 |
| 3.2. Importancia del frijol en el mundo | 4 |
| 3.3. Importancia del frijol en nicaragua | 4 |
| 3.4. Producción de frijol en Nicaragua | 5 |
| 3.4.1. Exportación de frijol | 5 |
| 3.5. Problemática del cultivo de frijol | 5 |
| 3.6 Enfermedades del cultivo del frijol | 6 |
| 3.6.1 Antracnosis | 6 |
| 3.6.2.Sintomatología | 6 |
| 3.6.3 Mancha Angular | 7 |
| 3.6.4 Sintomatología | 7 |
| 3.6.5 Mustia Hilachosa | 7 |
| 3.6.6 Sintomatología | 7 |
| 3.6.7 Añublo sureño | 8 |
| 3.6.8 Sintomatología | 8 |
| 3.7. Tipos de control | 8 |
| 3.7.1. Control cultural | 8 |
| 3.7.2. Control biológico | 9 |
| 3.7.3. Control químico | 9 |
| 3.8. <i>Trichoderma</i> spp como agente de control biológico | 9 |
| IV. MATERIALES Y MÉTODOS | 10 |
| 4.1 Ubicación del estudio | 10 |
| 4.2 Diseño metodológico | 10 |
| 4.3 Material biológico | 11 |
| 4.4 Material Vegetal | 11 |
| 4.5. Multiplicación y cultivo de <i>Sclerotium</i> spp | 11 |
| 4.6. Multiplicación y cultivo de <i>Trichoderma</i> spp | 12 |
| 4.7. Ensayo del ritmo de crecimiento radial de aislados del hongo <i>Trichoderma</i> spp | 12 |
| 4.8. Ensayo del ritmo de crecimiento radial de aislados del hongo <i>Sclerotium</i> spp | 13 |
| 4.9. Ensayo de inhibición micelial sobre los cuatro aislamientos de <i>Sclerotium</i> spp | 13 |

| | |
|---|-----------|
| 4.10. Efecto de <i>Trichoderma</i> spp en plántulas de frijol variedad INTA Rojo | 14 |
| 4.11. Variables evaluadas | 14 |
| 4.12. Análisis de datos | 15 |
| V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 16 |
| 5.1. Crecimiento radial de <i>Trichoderma</i> spp | 16 |
| 5.2. Crecimiento radial del patógeno <i>Sclerotium</i> spp | 18 |
| 5.3. Ensayo de antagonismo <i>in vitro</i> | 20 |
| 5.4. Ensayo del efecto de <i>Trichoderma</i> spp., sobre el crecimiento y numero de hojas de plantas de frijol <i>P vulgaris</i> L en condiciones controladas | 24 |
| VI. CONCLUSIONES | 27 |
| VII. RECOMENDACIONES | 28 |
| VIII. LITERATURA CITADA | 29 |
| IV. ANEXOS | 33 |

ÍNDICE DE CUADROS

| CUADRO | PÁGINA |
|---|--------|
| 1. Aislados de <i>Trichoderma</i> spp evaluados en el estudio | 11 |
| 2. Aislados de <i>Sclerotium</i> spp evaluados en el estudio | 11 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| FIGURA | PÁGINA |
|---|--------|
| 1. Metodología descrita por (French y Hebert, 1980) para medir el ritmo de crecimiento de los aislado de <i>Trichoderma</i> spp y de los aislados del patógeno <i>Sclerotium</i> sp | 12 |
| 2. Crecimiento radial de los aislados de <i>Trichoderma</i> spp en medios de cultivo PDA | 16 |
| 3. Ritmo de crecimiento de cuatro cepas de <i>Sclerotium</i> spp en medio de cultivo PDA | 17 |
| 4. Crecimiento radial del patógeno <i>Sclerotium</i> spp en medios de cultivo PDA | 18 |
| 5. Ritmo de crecimiento de cuatro cepas de <i>Sclerotium</i> spp en medio de cultivo PDA | 19 |
| 6. Cultivos duales de <i>Trichoderma</i> spp sobre <i>Sclerotium</i> spp. (a) confrontación a las 24, horas, (b) confrontación a las 48 horas, (c) confrontación a las 72 horas. | 19 |
| 7. Porcentaje de inhibición (PICR) de aislados de <i>Sclerotium</i> spp (SCLT, SCLP, SCLAJ, SCLF) en confrontación directa con asilado de <i>Trichoderma</i> spp (RFIII, CHR, T301 Y THR) | 21 |
| 8. Porcentaje de inhibición (PICR) de aislados de <i>Sclerotium</i> spp (SCLT, SCLP, SCLAJ, SCLF) en confrontación directa con asilado de <i>Trichoderma</i> spp (RFIII, CHR, T301 Y THR) | 22 |
| 9. Efecto de los aislados nativos de <i>Trichoderma</i> spp sobre la altura de plántulas de frijol de la Variedad INTA rojo en invernadero | 23 |
| 10. Efecto de los aislados nativos de <i>Trichoderma</i> spp sobre número de hoja trifoliadas de plántulas de frijol de la Variedad INTA rojo en invernadero | 24 |

ÍNDICE DE ANEXOS

| ANEXO | PÁGINA |
|---|--------|
| 1. Análisis de varianza del ritmo de crecimiento radial de los aislados de <i>Trichoderma</i> spp | 32 |
| 2. Separación de medias del ritmo de crecimiento radial de aislados de <i>Trichoderma</i> spp en PDA | 32 |
| 3. Análisis de varianza del ritmo de crecimiento radial del patógeno <i>Sclerotium</i> spp | 33 |
| 4. Separación de medias del ritmo de crecimiento radial de los aislados <i>Sclerotium</i> spp | 33 |
| 5. Análisis de varianza del porcentaje de Inhibición del crecimiento radial del aislado SclAJ | 34 |
| 6. Separación de medias por tiempo de evaluación en el aislado AclAJ | 34 |
| 7. Análisis de varianza del Porcentaje de Inhibición del crecimiento radial (PICR) en el aislado ScIF | 35 |
| 8. Separación de medias según el tiempo de evaluación en el aislado ScIF | 35 |
| 9. Análisis de varianza del Porcentaje de Inhibición del crecimiento radial del Aislado ScIP | 36 |
| 10. Separación de medias según el tiempo de evaluación en el aislado ScIP | 36 |
| 11. Análisis de varianza del Porcentaje de Inhibición del crecimiento radial del Aislado ScIT | 37 |
| 12. Separación de medias según el tiempo de evaluación en el aislado ScIT | 37 |
| 13. Separación de medias de la variable altura de la planta (cm) en el aislado <i>Trichoderma</i> spp de codificación CHR según las fechas de evaluación | 38 |
| 14. Separación de medias da la variable altura de la planta (cm) en el aislado <i>Trichoderma</i> spp de codificación RF III según las fechas de evaluación | 38 |
| 15. Separación de medias da la variable altura de la planta (cm) en el aislado <i>Trichoderma</i> spp de codificación T301 según las fechas de evaluación | 39 |
| 16. Separación de medias da la variable altura de la planta (cm) en el aislado <i>Trichoderma</i> spp de codificación THR según las fechas de evaluación | 39 |
| 17. Separación de medias da la variable altura de la planta (cm) para el testigo según las fechas de evaluación | 40 |

| | | |
|-----|--|----|
| 18. | Separación de medias da la variable número de hojas trifoliadas en el aislado <i>Trichoderma</i> spp de codificación CHR según las fechas de evaluación | 40 |
| 19. | Separación de medias da la variable número de hojas trifoliadas en el aislado <i>Trichoderma</i> spp de codificación RF III según las fechas de evaluación | 41 |
| 20. | Separación de medias da la variable número de hojas trifoliadas en el aislado <i>Trichoderma</i> spp de codificación T301 según las fechas de evaluación | 41 |
| 21. | Separación de medias da la variable número de hojas trifoliadas en el aislado <i>Trichoderma</i> spp de codificación THR según las fechas de evaluación | 42 |
| 22. | Separación de medias da la variable número de hojas trifoliadas para el testigo según las fechas de evaluación | 42 |

RESUMEN

El cultivo de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), es uno de los cultivos de importancia económica en Nicaragua, representado por pequeños y medianos productores de los cuales consumen un 96 % toda la población nicaragüense. los pequeños productores de frijol tienen grandes limitaciones entre estas los problemas fitosanitarios siendo *Sclerotium* spp una de las enfermedades del frijol que ha venido en aumento y manejada principalmente con un uso indiscriminado de funguicida por lo que es necesario la búsqueda de alternativas de control. Asimismo, la razón principal de nuestro estudio es generar información del efecto antagónico de *Trichoderma* spp sobre agente causal de la pata prieta *Sclerotium* spp en el cultivo de frijol bajo condiciones *In vitro* e invernadero. Los datos obtenidos fueron analizados mediante análisis de varianza y separación de medias según Tukey. a las 18 horas se registró el menor ritmo de crecimiento con 1 mm y el mayor ritmo de crecimiento se presentó a las 84 horas con 12 mm cubriendo completamente el plato Petri, para el patógeno se registró el menor ritmo de crecimiento con el aislado SCLPP con 3.25 mm y el crecimiento radial para todo los aislados se presentó variable siendo el mayor ritmo de crecimiento a las 45 horas con 10.95 mm. Para los aislados de *Sclerotium* spp (SCLAJ, SCLF) mostraron los PICR inhibición más alto con (96.79 y 98.69 porciento) a las 84 y 98 horas siendo enfrentado a las cepas antagonista resultando con un promedio de 53.24 y 63.3 con el aislado antagonista RFIII. El aislado THR incremento la altura de la planta con 66.83 cm y aumento el número de hojas trifoliadas con 6.83 hojas.

Palabras clave: Control, biológico, antibiosis, porcentaje de inhibición del crecimiento.

ABSTRACT

Beans is one of the crops of most importance in Nicaragua (*Phaseolus vulgaris* L.), represented by small and medium beans grown of which the entire Nicaragua population consumes 96%. Small beans grown have great limitations among these phytosanitary problems, being *Sclerotium* spp one of the bean diseases that has been increasing and managed mainly with an indiscriminate use of fungicides, which is why it is necessary to search for control alternatives. For this reason, the main objective of this study was to generate information on the antagonistic effect of *Trichoderma* spp on the causal agent of black led *Sclerotium* spp in bean cultivation under in vitro and greenhouse conditions. Samples of plants that presented sclerotia were connected and taken to the agricultural microbiology laboratory where they were placed in PDA culture media. The mycelial inhibition test or co-culture, growth rate and the effect of *Trichoderma* spp on red INTA bean seedlings were performed. The data obtained were analyzed by analysis of variance and separation of means according to Tukey. At 18 hours, the lowest growth rate was recorded with a mm and the highest growth rate occurred at 84 hours with 12 mm completely covering the Petri dish, For the pathogen, the lowest growth rate was recorded with the SCLPP isolate with 3.25 mm and radial growth for all isolates was variable, with the highest growth rate at 45 hours with 10.95 mm. For the isolates of *Sclerotium* spp (SCLA, SCLF) they showed the highest PICR inhibition with (96.79 and 98.68 percent) at 84 hours being faced with the antagonistic strains, resulting with an average of 53.24 and 63.3 with the antagonistic isolate RFIII. The THR isolate increased the height of the plant with 66.86 cm and increased the number of trifoliate leaves with 6.83 leaves.

Key word: Biological, control, Antibiosis, Growth inhibition percentage.

I. INTRODUCCIÓN

El frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), es una leguminosa de consumo humano básico para millones de persona de América latina y sur América (Beebe *et al.*, 2013). Asimismo, es reconocido como un valioso componente de la dieta humana como fuente de proteína para las familias.

En latino América el consumo per cápita de frijol es entre 12 y 18 kilogramos por año, en las zonas rurales de Nicaragua el consumo per cápita es de 36 kilogramos anuales (Broughton *et al.*, 2003). En un análisis de situación actual de la agricultura de nicaragua indica que hay un incremento de áreas sembradas del 76 %, registrándose en el 2019 un 53 % de áreas dedicadas al cultivo de frijol y maíz. También afirman en una última revisión de los últimos ciclos productivos (1970-2020) que el cultivo de frijol mostro que las áreas se han sextuplicado alcanzando, su máximo pico en el ciclo 2005-2006 con 553,756 del área sembrada (Mz) (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, 2020).

El agente causal del tizón sureño *Sclerotium* spp. Tiene una amplia gama de huéspedes que comprende 500 especies entre ellas el frijol, manifestándose los síntomas en la base del tallo con lesiones de color oscuro en la base del tallo, vainas como consecuente la producción abundante de hifas y esclerocios como estructura de sobrevivencias del patógeno en ausencia del huésped (Mullen 2001).

La enfermedad de Tizón sureño del frijol genera cuantiosas pérdidas del cultivo hasta un 25% durante épocas secas y calientes. El control químico de *Sclerotium* spp mediante el tratamiento de semillas como Carboxin (Ferrufino y Araya, 2008). Fungicida como Azoxystrobin es conocido comercialmente como AVATAR 25 SC con modo de acción sistémico (Ferrufino y Araya, 2008).

Este patógeno afecta a la planta en todas las etapas de desarrollo. El ataque tanto en la germinación como en el estado de plántula reduce la población. En el estado de plántulas, el ataque puede causar un marchitamiento completo, sin embargo, si la disminución de la población no es muy grande, las plántulas sobrevivientes pueden compensar las pérdidas en producción, y el daño total no será significativo (Guardado, 2018).

Dada la importancia que representa el cultivo de frijol para Nicaragua y la problemática de manejo del añublo sureño mediante este estudio se pretende evaluar el efecto antagónico de *Trichoderma* spp sobre el agente causal de la pata prieta (*Sclerotium* spp.) en plántulas de frijol en ambientes protegidos que contribuyan al desarrollo de opciones de manejo agroecológicas con el ambiente (Guardado, 2018).

II. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

- Generar información del efecto antagónico *in vitro* de *Trichoderma* spp frente *Sclerotium* spp y promotor de crecimiento en plántulas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.).

2.2. Objetivos específicos

- Evaluar mediante pruebas de antagonismo *in vitro* la capacidad inhibitoria del hongo *Trichoderma* spp sobre *Sclerotium* spp.
- Evaluar el efecto de los aislamientos de *Trichoderma* spp sobre el número de hojas trifoliadas y altura de plantas *in vitro*.

III. MARCO DE REFERENCIA

3.1.Generalidades del cultivo de frijol

Para el ingeniero (Flores, 2020), El frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) es originario de América e introducido al resto del mundo a inicio del siglo XVI. Actualmente es un cultivo de gran importancia a nivel mundial, por su alto contenido de proteínas, hierro, fibra y ácido fólico. La domesticación se inició aproximadamente hace 4000 años en Mesoamérica y en regiones de los Andes en América del sur. Dentro del grupo de las leguminosas que poseen semillas comestibles, el frijol común (*P vulgaris* L.) corresponde a una de las más importantes y distribuido en los cinco continentes. (Ulloa *et al.*, 2011)

3.2.Importancia del frijol en el mundo

El frijol, es la leguminosa alimenticia más importante para el consumo humano en el mundo. América Latina es el principal consumidor y productor de este grano, ya que los frijoles forman una gran parte de la dieta en la población. sin embargo, es un alimento tradicional en muchos países, mientras que en África se cultiva el frijol para sobrevivir debido a que este continente prevalece en una pobreza extrema y este cultivo cuenta con muchos nutrientes y proteínas necesarias para suplir al cuerpo humano. (Chàvez,2020)

3.3. Importancia del frijol en nicaragua

En Nicaragua los cultivares de frijol son de gran importancia para la economía campesina en específico para los pequeños y medianos productores, según el Instituto Nacional Tecnológico, (2020) se genera más de 200 mil empleos directos e indirectos, siendo los departamentos de Matagalpa, Jinotega, Rio san juan, Estelí, León y Chinandega los departamentos con mayor taza de producción.

Es un cultivo indispensable en la dieta alimenticia para por su alto contenido de proteína, carbohidratos, vitaminas y minerales. El consumo promedio por persona se estima entre los 30.4 kg por año. Previo a la salud humana el frijol ayuda a reducir los riesgos de cáncer de colon, próstata y senos, así como en la reducción de la diabetes y el colesterol. (Espinoza, 2017)

3.4. Producción de frijol en Nicaragua

En Nicaragua se siembran alrededor de 250 mil hectáreas por año, con una producción de cuatro millones de quintales anualmente y es el mayor productor de frijol en América Central. Su producción mayoritaria proviene de pequeños y medianos productores que utilizan baja tecnología y carecen de apoyo financiero, Estos frijoles son producidos predominantemente en la región noroeste y pacífico del país entre los meses de mayo a julio (primera), sin embargo, gran parte de los productores prefieren hacerlo entre los meses de agosto a octubre a lo que se le conoce como época de (postrera). Otra época de producción se deriva una vez el invierno ha finalizado entre los meses de enero a marzo (apante) (Gutierrez, 2014).

3.4.1. Exportación de frijol

Consejo Superior de la Empresa Privada (COSEP, 2021) cita que hasta julio 2021:

Nicaragua había exportado unas 62,681 toneladas de frijoles, un 17.8% más que el año pasado lo que generó ingresos de 75.36 millones de dólares, un 20% más que en el mismo lapso del año pasado. Nicaragua es el principal productor de frijol en la región centroamericana, tras la salida de la cosecha en época de primera los costos de estos han bajado significativamente (p. 1).

3.5. Problemática del cultivo de frijol

Mayoritariamente las regiones tropicales productoras de frijol y de manera especial en Centroamérica, constituyen la principal limitante fúngica sostenible en la producción de frijol. En comparación con las regiones templadas en América Latina y África existe una mayor cantidad de patógenos que atacan a este cultivo (Ezpinoza, 2017).

De la misma forma Ezpinoza,(2017) Indica que:

La incidencia y la importancia de cada enfermedad varían considerablemente con la localidad, la época de cultivo, el año y variedad. En cambio, algunos patógenos como los que causan la antracnosis, la mancha angular y la roya están ampliamente distribuidos y son económicamente importantes. (p 19).

3.6 Enfermedades del cultivo del frijol

El valor representativo de una enfermedad en un cultivo está determinado por la denominación en el rendimiento, calidad o inocuidad, pero esencialmente en el costo de producción, las estadísticas año a año varían enlazados a los factores abióticos y diseminación fúngica por hongos patogénicos. Bien señala (Flores, 2020), afirma que:

Es necesario conocer el agente causal, la epidemiología de la enfermedad y la identificación asintomática. A si mismo se hace necesario evaluar métodos de control biológico que conduzca a una producción sostenible y reducir los altos costos de manejo a enfermedades fungosas. (p. 18).

3.6.1 Antracnosis

La antracnosis cuyo agente etiológico es (*Colletotrichum spp*) (Sacc. Y Mag.) es una enfermedad destructiva y responsable de pérdidas significativas de rendimiento en leguminosas, los tallos y vainas infectadas de frijol pueden sobrevivir de nueve a dieciocho meses en el suelo, por lo que es importante eliminar los restos de tejido infectado y realizar rotación de cultivos con gramíneas (Aguilar *et al.*, 2021, p.4).

3.6.2. Sintomatología

Este hongo provoca lesiones necróticas inmersas de color gris con borde oscuro, ataca desde la emergencia de las plantas hasta su etapa de producción, incrementan de tamaño a medida que la lesión avanza, y si desarrollan acérvulos generalmente se ven como anillos concéntricos principalmente en hojas y vainas (Salazar, 2020, p. 23).

3.6.3 Mancha Angular

La mancha angular es una de las enfermedades foliares más comunes del cultivo de frijol y es causado por el hongo (*Pseudocercospora griseola*). La mancha angular ataca el follaje, las vainas y las semillas de frijol. En las hojas la enfermedad se inicia como pequeñas manchas de color gris brillante, que aumentan de tamaño y toman la forma de los ángulos de las venas, puede reducir hasta un 70 % sobre todo por la defoliación masiva y su delimitación en la actividad fotosintética de las plantas, debido a las condiciones favorables del inóculo del patógeno en los cultivos de frijol, la mancha angular es una de las más importantes que afectan el rendimiento de granos en esta leguminosa (Araya, 2006).

3.6.4 Sintomatología

Para Martínez y Pañeta, (2015) los síntomas iniciales aparecen en el envés de las hojas primarias muy rara vez en hojas trifoliadas en forma de pequeños puntos grises. Una vez las lesiones se han establecido en el follaje, presentan formas angulares que cubren ambos lados de las hojas delimitadas por las nervaduras de las mismas. Estas lesiones de color gris pueden estar rodeadas de un halo clorótico que posteriormente se torna a necrótico. (p.1)

3.6.5 Mustia Hilachosa

La mustia hilachosa es causada por el hongo (*Thanatephorus cucumeris*). Es una de las principales limitantes en la producción de frijol, ocasiona grandes pérdidas en la calidad de la semilla y es responsable de hasta el 90% en afectaciones anuales (Beaver *et al.*, 2002).

3.6.6 Sintomatología

Estudios realizados con el fin de determinar alternativas de manejo a enfermedades del frijol describen a (*T. cucumeris*) de la siguiente manera:

Para Flores, (2020). Afirma que en las hojas aparecen pequeñas manchas de aspecto acuoso y color café claro, rodeadas de borde oscuro. Las manchas crecen, se unen y forman manchas más grandes, más oscuras, con fino borde oscuro. En las manchas aparecen pequeños hilos blancos o café claro,

que pegan las hojas entre sí. en invierno se observan pequeños granitos café claro alrededor de las manchas. En vainas causa lesiones oscuras y acuosas. (p. 20)

3.6.7 Añublo sureño

El Añublo sureño es una de las enfermedades fungosas de suelo más importantes del frijol. Su agente causal es *Sclerotium* spp patógeno de más de 180 especies de plantas, ataca diversas fases del desarrollo de sus hospederos desde la semilla hasta los productos agrícolas a nivel de postcosecha, penetra en los tejidos vegetales produciendo una masa considerable de micelio en la superficie de la planta. Esto se traduce en deterioro de los tejidos, la producción de más micelio y la formación de esclerocios (Abascal, 2013).

3.6.8 Sintomatología

Se manifiesta con síntomas de ahogamiento y pudrición de raíz, es uno de los principales problemas que ataca al cultivo de frijol. Esta enfermedad sobre todo en las primeras etapas de desarrollo, se da con mayor severidad en regiones cálidas promedio 25-35° C o en lugares donde ocurre un año extremadamente seco. Lluvias esporádicas, suelos arenosos, bien drenados y ácidos. Estos favorecen la infección de la planta es atacada durante todo su ciclo de vida. El hongo sobrevive en residuos de siembras anteriores de frijol u otras plantas y en el suelo por lo menos un año (Gutierrez, 2014).

3.7. Tipos de control

3.7.1. Control cultural

Se debe utilizar semilla sana y nueva, según Ferrufino y Araya, (2008), preferiblemente certificada, eliminar los restos vegetales de cosechas anteriores. En suelos muy contaminados que no tengan problema de erosión, arar a 20 cm de profundidad, Para América Central no se tienen variedades de frijol tolerantes a *Sclerotium* spp.

3.7.2. Control biológico

Trichoderma spp ha sido reconocido durante mucho tiempo como un agente de control biológico para patógenos fúngicos, la aplicación de *Trichoderma* spp ha recibido una gran atención, debido a sus excelentes capacidades de colonización de raíces, producción de metabolitos antifúngicos y lisis de Esclerocios (Ali *et al.*, 2020).

El especialista Ali *et al.*, (2020) establece que:

además de contar con un mecanismo que les permite suprimir el crecimiento de patógenos fúngicos, la producción de enzimas que como respuesta positiva degradan las paredes celulares del patógeno, la antibiosis y la competencia de nutrientes. A pesar del potencial antagonístico todavía existe la necesidad de evaluar a fondo nuevas cepas de *Trichoderma* spp que colaboren a un control satisfactorio. (p.4)

3.7.3. Control químico

Los agricultores suelen manejar a las enfermedades patógenas mediante aspersión con fungicidas. Resulta en ocasiones una efectividad negativa, debido a que no se utilizan los productos adecuados a la enfermedad, son aplicados con una mala cobertura. Por otro lado, percute una iniciativa de resistencia y daños a la salud humana y el medio ambiente. No obstante, los fungicidas más comunes como pyraclostrobin, carbendazim y fludioxonil a dosis recomendadas ejercen un control notorio a patógenos de suelo y foliares (Palacios *et al.*, 2015).

3.8. *Trichoderma* spp como agente de control biológico

Palacios *et al.*, (2015) evidenció que un estudio realizado en el uso de cepas nativas de *Trichoderma* spp como promotor de crecimiento e inhibidoras de crecimiento a patógenos como *Sclerotium* spp y describen que los aislamientos de *Trichoderma* spp encontradas en suelos de la zona productora de berenjena tienen capacidad biocontroladora sobre *S. spp in vitro*, *Trichoderma* spp promueve la germinación de semillas y el crecimiento de plántulas a nivel de invernadero (p. 1).

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Ubicación del estudio

La investigación se realizó en el laboratorio de Microbiología agrícola de la Universidad Nacional Agraria en los meses de julio 2021 a marzo 2022, ubicado en la carretera norte de la ciudad de Managua en el km 12 ½ carretera Norte, con coordenadas 12°08'52" Latitud Norte y 86° 09'41" longitud Oeste.

4.2 Diseño metodológico

Para el ensayo de crecimiento radial y de antibiosis o cultivo dual se realizó un diseño completamente al azar (DCA) con cuatro tratamientos y cinco repeticiones. Cada unidad experimental consistió en un plato Petri de 90 mm conteniendo 20 ml de medio de cultivo patata dextrosa agar acidificado con ácido láctico al 50 %. El testigo consistió en la colocación de un disco de *Trichoderma* spp en un plato Petri el cual se midió el crecimiento radial.

Posteriormente se realizó una evaluación de los aislados nativos de *Trichoderma* spp como promotor de crecimiento. se estableció un diseño completamente al azar (DCA) con cuatro tratamientos y cinco repeticiones. Los tratamientos consistieron en colocar una concentración de conidios de 1×10^8 conidios/ml por cada aislado en estudio. Cada unidad experimental consistió en cinco plantas puestas en maceteras con 200 gramos de suelo estéril. El testigo consistió en la aplicación de agua destilada estéril.

4.3 Material biológico

Los aislados de *Trichoderma* spp codificados (THR, RFIII, CHR) (Cuadro 1) y *Sclerotium* spp (Cuadro 1) fueron suministrado por el laboratorio de microbiología vegetal y el aislado Código (T0301) fue suministrado por el laboratorio de hongos entomopatógenos la Universidad Nacional Agraria (Cuadro 1 y 2).

Cuadro. 1 Aislados de *Trichoderma* spp evaluados en el estudio.

| Código | Departamento | Cultivo | Muestra |
|---------------|---------------------|------------------------------|----------------|
| T0301 | Chinandega | <i>Saccharum officinarum</i> | Suelo |
| RFIII | Managua | <i>Ananas comosus</i> | Raíz |
| THR | Rama | <i>Coffea canephora</i> | Suelo |
| CHR | Rivas | <i>Musa × paradisiaca</i> | Suelo |

Cuadro. 2 Aislados de *Sclerotium* spp evaluados en el estudio

| Código | Departamento | Cultivo | Muestra |
|---------------|---------------------|-----------------------------|----------------|
| SCLAJ | Chinandega | <i>Sesamum indicum</i> | tallos |
| SCLP | Estelí | <i>Solanum tuberosum</i> | Raíz |
| SCLF | Managua | <i>Phaseolus vulgaris L</i> | Raíz |
| SCLT | Managua | <i>Solanum lycopersicum</i> | Raíz |

4.4 Material Vegetal

Se utilizo la variedad Inta rojo, las que fueron donadas por el Instituto Nicaragüense de Tecnología Agropecuaria (INTA).

4.5. Multiplicación y cultivo de *Sclerotium* spp

Un disco de PDA de 0.5 cm de diámetro conteniendo micelio, con una semana de crecimiento fue colocado en un plato Petri conteniendo PDA Acidificado al 50 % a temperatura ambiente por 7 días. Cada aislado fue identificado mediante la clave taxonómica de Barnett y Hunter (1998). Cada aislado fue identificado, sellado con papel Parafilm en condiciones asépticas en una cámara de flujo laminar horizontal. para luego ser usado en el ensayo del ritmo del crecimiento radial y cultivo dual.

4.6. Multiplicación y cultivo de *Trichoderma* spp

Las colonias puras de *Trichoderma* spp, se transfirieron a platos Petri conteniendo PDA acidificado con ácido láctico al 50%. Rotulando cada plato y sellado en Parafilm en condiciones asépticas en una cámara de flujo laminar horizontal y almacenado a temperatura promedio de 24 ± 28 °C por siete días para luego ser usado en el ensayo del ritmo del crecimiento radial y cultivo dual.

4.7. Ensayo del ritmo de crecimiento radial de aislados del hongo *Trichoderma* spp

El ritmo de crecimiento de cada asilado de *Trichoderma* spp se realizó en placas Petri de nueve mm a los cuales se le adicionara 20 ml de medio PDA acidificado con ácido láctico al 50% y se encubaron a temperatura promedio de 24 ± 28 °C. El levantamiento de los datos se realizó cada 24 horas transcurrido ese tiempo se realizó el primer levantamiento de datos, utilizando una regla transparente milimétrica de 10 cm.

Las mediciones se realizaron siguiendo la metodología descrita por French y Hebert (1980) que reflejamos en la (Figura 1.) esta consistió en dibujar una cruz en la cara posterior del plato Petri, indicando cuatro radios de 45 mm, a los cuales se les nombró con letras minúsculas (a, b, c y d) y sobre los que se medirá el avance o crecimiento del hongo a intervalos de tiempo iguales. Se inoculo un disco de cinco mm en el centro de la cruz se incubo hasta observar el avance de crecimiento y a partir de ese momento se inició la toma de datos a intervalos de 24 horas. Las mediciones se dejaban de realizar en cada plato, cuando el crecimiento del hongo alcanzaba el borde del plato Petri, en al menos uno de los cuatro radios

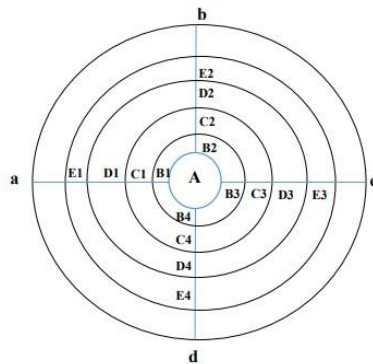


Figura 1. Metodología descrita por (French y Hebert, 1980) para medir el ritmo de crecimiento de los aislado de *Trichoderma* spp y de los aislados del patógeno *Sclerotium* spp

4.8. Ensayo del ritmo de crecimiento radial de aislados del hongo *Sclerotium* spp

Se determinó el crecimiento radial de los patógenos siguiendo el mismo procedimiento empleado para *Trichoderma* spp. (French y Hebert, 1980).

El levantamiento de los datos se realizó cada 24 horas, transcurrido ese tiempo se realizó el primer levantamiento de datos, utilizando una regla transparente milimétrica de 10 cm. Las mediciones se dejaban de realizar en cada plato, cuando el crecimiento del hongo alcanzaba el borde del plato Petri, en al menos uno de los cuatro radios (Figura 1.).

4.9. Ensayo de inhibición micelial sobre los cuatro aislamientos de *Sclerotium* spp

Para el ensayo de inhibición micelial o cultivo dual se utilizaron cuatro aislados nativos de *Trichoderma* spp y cuatro aislados del patógeno *Sclerotium* spp. Para determinar la capacidad de inhibición y de colonización de los diferentes aislados de *Trichoderma* spp. Se vertió en una caja Petri 20 ml de medio PDA acidificado con ácido láctico al 50%, luego con la ayuda de un sacabocado de 0.5 mm, se colocaron en unos de los extremos del plato un disco de PDA de 0.5 cm de diámetro conteniendo micelio de *Sclerotium* spp, con una semana de crecimiento en condiciones aséptica en una cámara de flujo laminar horizontal, así mismo en el otro extremo se colocó un disco de medio PDA conteniendo esporas de *Trichoderma* spp, con una semana de crecimiento.

En un arreglo factorial 4x4 (cuatro aislados del patógeno y cuatro aislados nativos de *Trichoderma* spp). Cada unidad experimental estuvo compuesta por un plato Petri.

Cada plato Petri se incubo a temperatura promedio de 24 ± 28 °C. Evaluando su capacidad de inhibición, se midió el ritmo de crecimiento de las zonas de inhibición de cada uno de los aislados a las 24, 48, 72, 96 horas según la metodología propuesta por Matroudi el cual reduce el crecimiento radial del patógeno en presencia del antagonista en relación con el crecimiento del patógeno en el plato control (testigo), que se calculó mediante la fórmula usada por (Matroudi, 2009)

$$\text{PICR}(\%) = \frac{C - T}{C} \times 100$$

PICR = Porcentaje de inhibición del crecimiento radial del micelio del patógeno

C= Crecimiento radial del patógeno en el plato control

T= Crecimiento radial del patógeno en presencia de *Trichoderma* spp

4.10. Efecto de *Trichoderma* spp en plántulas de frijol variedad INTA Rojo

Para el ensayo se utilizó vasos de protoplasto de 11 ml los cuales se utilizó como sustrato comercial KeKKlia ®52, luego se preparó una suspensión de esporas de *Trichoderma* spp, de una semana de crecimiento en medio de cultivo PDA, calculando la concentración de conidias usando la metodología descrita por Monzón, (2001). Se utilizó la cámara Neubauer para el conteo de conidias y la suspensión se preparó a una concentración de 1×10^8 conidias por ml de agua.

Para este experimento se inocularon los cuatro aislados de *Trichoderma* spp, el experimento consistió en evaluar el efecto de los *Trichoderma* spp como promotor de crecimiento y aumento en el área foliar de la planta. Los resultados se compararon con plantas de testigo absoluto referencial aplicándose a esta agua estéril.

4.11. Variables evaluadas

- a) Crecimiento radial (CRA) del antagonista *Trichoderma*.
- b) Crecimiento radial del patógeno *Sclerotium* spp (CRP) en el plato control
- c) Porcentaje de la inhibición del crecimiento radial (PICR) del patógeno *Sclerotium* spp
- d) Altura de la planta
- e) Número de hojas trifoliadas

4.12. Análisis de datos

Los datos fueron organizados en una base de datos usando el software Microsoft Excel y luego fueron analizadas mediante el programa estadístico Infostat Versión 2016.

Los datos de crecimiento radial del antagonista (CRA), del patógeno (CRP), número de hojas trifoliadas y altura de planta fueron analizados mediante un análisis de varianza (ANDEVA) con un nivel de significancia de $p \leq 0,05$, para la separación de medias se utilizó la prueba de Tukey ($p= 0,05$).

Los datos del porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) del micelio del patógeno en presencia del antagonista fueron analizados a través de un análisis de varianza (ANDEVA) como un diseño completamente al azar (DCA)

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Crecimiento radial de *Trichoderma* spp

Los cuatro aislados de *Trichoderma* spp en medio de cultivo PDA (Patata dextrosa agar) presentaron un ritmo de crecimiento de 10 a 12 mm. a las 18 horas se registró el menor ritmo de crecimiento menor a 1 mm (Figura 2) y el mayor ritmo de crecimiento se presentó a las 84 horas con 12 mm cubriendo completamente el plato.

El análisis de varianza realizado al ritmo de crecimiento en medio de cultivo PDA se encontró diferencias significativas en las horas de incubación ($P=0.0001$) y entre aislados de *Trichoderma* ($P=0.0001$) y la interacción horas de incubación y aislado ($P=0.0001$), indicando que los aislados presentaron ritmo de crecimiento diferente durante las horas evaluadas (Anexo 1).

A las 18 horas posteriormente a la inoculación en el medio de cultivo PDA el aislado CHR presento el menor ritmo de crecimiento con 0.45 mm y a las 64 horas el mayor ritmo de crecimiento con 7.7 mm, en comparación con el aislado RFIII, T301, THR que presentaron mayor ritmo de crecimiento promedio de 1.1 mm a 3.5 mm y un mayor ritmo de crecimiento con 12.15 mm a 12.55 mm lo que los caracteriza por presentar diferentes ritmo de crecimiento sobre los cuatro radios, considerando que el tiempo promedio de crecimiento fue a la 18 horas.

El tiempo de crecimiento promedio de los aislado RFIII, T301 fue similar a las 41 horas con un radio de crecimiento promedio de 10.75 mm a 11.45 mm, alcanzando el mayor ritmo de crecimiento a las 60 horas con promedio de 12.15 a 12.65 mm siendo diferente para los aislados CHR y THR que presentaron ritmos de crecimiento a las 41 horas con promedios de 6 a 6.41 mm presentando el mayor ritmo de crecimiento la THR con 12.55 mm (Figura 2).

Todos los aislados presentaron patrones similares de crecimiento a través del tiempo a las 18, 23, 26 horas, los aislados registraron promedios de crecimiento 0.45 mm a 1.3 mm, sin embargo, a las 60 horas los aislados RFII y THR registraron un mayor ritmo de crecimiento con 12.15 mm a 12.65 mm. El género *Trichoderma* se caracterizan por competir por nutriente, espacio y la producción de metabolitos secundarios inhibiendo crecimiento de los patógenos. (Vinale *et al.*, 2014)

Una cepa *Trichoderma* spp se caracteriza como buen controlador biológico, a aquellas que presentan un mayor ritmo de crecimiento en menor tiempo de incubación, así mismo Matroudi, (2009) refiere que una alta tasa de crecimiento micelial de aislados de *Trichoderma* spp está asociada con su habilidad para controlar patógenos. Los resultados de este estudio demuestran que los aislados RFIII y THR cumplen con las características para ser usado en estudios de control biológicos de patógenos, caracterizándose por presentar un ritmo de crecimiento de 12.65 mm a las 60 horas y una alta esporulación (Figura 2).

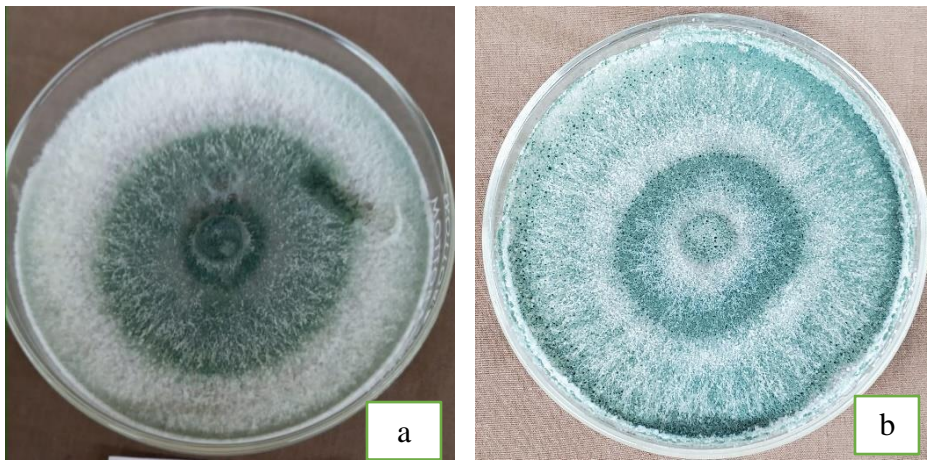


Figura 2. Crecimiento radial de los aislados de *Trichoderma* spp en medios de cultivo PDA. (a) cultivo de PDA a los 4 días de crecimiento, (b) 7 días de crecimiento con esporulación

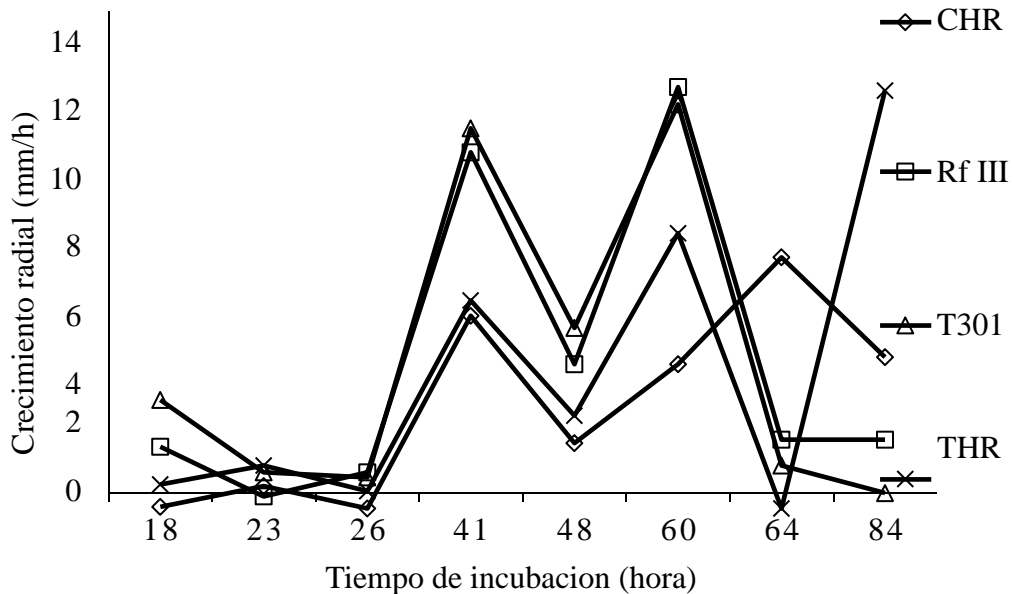


Figura 3. Crecimiento radial de aislados de *Trichoderma* spp en medio de cultivo PDA.

5.2. Crecimiento radial del patógeno *Sclerotium* spp

En general presentaron un ritmo de crecimiento en el medio de cultivo PDA con una alta tasa de producción de esclerocios, a las 18 horas presentaron ritmo de crecimiento de 3.25 mm a 6.65 mm siendo la mayor tasa de crecimiento de 10.95 mm.

El análisis de varianza realizado al ritmo de crecimiento en medio de cultivo PDA se encontró diferencias significativas en las horas de incubación ($P=0.0001$) entre aislados de *Sclerotium* spp ($P=0.0002$) la interacción horas de incubación y aislado ($P=0.0013$), indicando que los aislados presentaron ritmo de crecimiento diferente durante las horas evaluadas (Anexo 2). Así mismo se realizó una separación de medias Tukey el aislado que obtuvo el mayor crecimiento radial fue el aislado SCLAJ con una media de 3.85 mm y mostro diferencias en cuanto a los aislados SCLT, SCLP, SCLF con medias de 3.41 mm a 2.41 mm. La menor media de crecimiento la obtuvo el aislado SCLF con 2.41mm.

Para el tiempo de crecimiento promedio se realizó una separación de medias Tukey agrupándose en cuatro categorías fue similar para todo los aislados a las 18 horas con un ritmo de crecimiento promedio de 5.13 mm, el mayor ritmo de crecimiento se obtuvo a las 68 horas con 9.20 mm de crecimiento (Anexo 2).

En general los aislamientos presentaron un patrón de crecimiento similar a través del tiempo. Registrándose el menor ritmo de crecimiento con el aislado SCLPP con 3.25 mm y el mayor ritmo de crecimiento a las 45 horas con 10.95 mm, seguido del aislado SCLF con un ritmo de crecimiento 8.45 mm.

Un estudio realizado por Kushwaha *et al.*, (2018) *Sclerotium* spp mostró un mayor crecimiento a las 72 horas con 8.33 mm confirmando este hallazgo con los encontrado en el estudio siendo a las 72 horas de incubación los aislados SCLT mostró un promedio de 9.2 mm de crecimiento. De la misma forma Chávez, (2020) comparando diferentes medios de cultivo, encontró que la mayor velocidad de crecimiento para aislados de *Lecanicillium* spp se presentó en el medio PDA. Encontrando la misma particularidad en este estudio usando medio PDA (Figura 4).



Figura 4. Crecimiento radial del patógeno *Sclerotium* spp con 7 días de crecimiento en medios de cultivo PDA. (a) aislado de cultivo papa, (b) aislado de cultivo ajonjolí

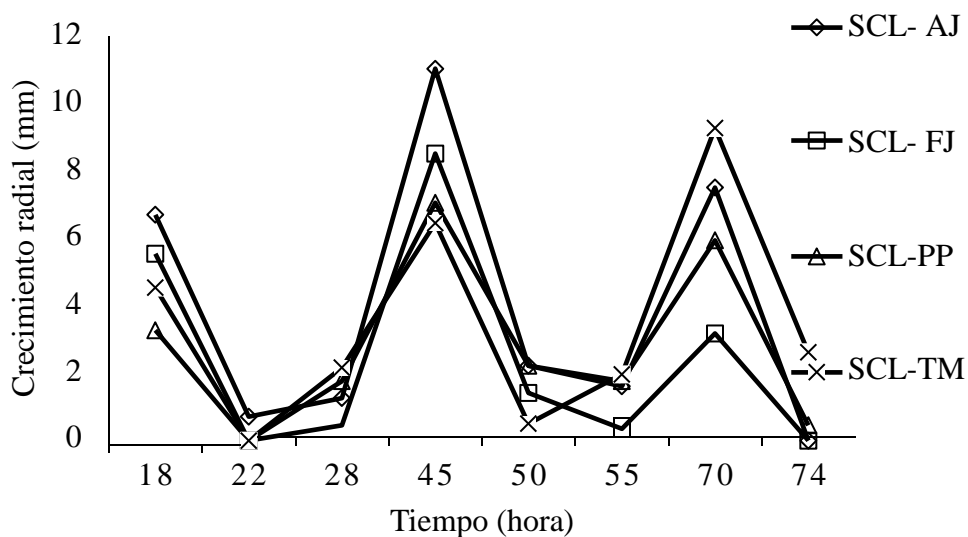


Figura 5. Crecimiento radial de *Sclerotium* spp.

5.3. Ensayo de antagonismo *in vitro*

En las pruebas de antagonismo *in vitro* se encontró que los cuatro aislados de *Trichoderma* spp inhibieron el crecimiento de los cuatro aislados de *Sclerotium* spp (Figura 6). Mostrando el mayor porcentaje de inhibición entre las 98 y 84 horas con un PICR de 96.99 % a 87.22 %.



Figura 6. Cultivos duales de *Trichoderma* spp sobre *Sclerotium* spp. (a) confrontación a las 24, horas, (b) confrontación a las 48 horas, (c) confrontación a las 72 horas.

El análisis de varianza mostró diferencias significativas entre los aislados antagonista *Trichoderma* spp ($P=0.0001$) y entre los aislados de *Sclerotium* spp y la interacción tiempo y aislados de

Trichoderma spp (P=0.0001), indicando que el grado de inhibición es diferente para cada cepa, solamente para el aislado SCLP no mostro diferencia significativa entre los aislados (Anexo 3).

El mayor PICR se encontró a las 98 horas con un 98.69% enfrentado al aislamiento SCLF, y el aislado de *Trichoderma* spp codificada RFIII con un promedio de 53.24 por ciento de inhibición y el menor PICR se registró a las 54 horas con 3.54 % enfrentado al aislamiento SCLP. En general los resultados obtenidos del porcentaje de inhibición presentaron diferencias significativas para todo los aislados patógenos y antagonista (Figura 7).

Los aislados de *Sclerotium* spp (SCLAJ, SCLF) mostraron los PICR inhibición más alto con (96.79 y 98.69 por ciento a las 84 y 98 horas siendo enfrentado a las cepas antagonista resultando con un promedio de 53.24 y 63.3 con el aislado antagonista RFIII para los dos casos enfrentado. sin embargo, los aislados (SCLT, SCLP) presentaron PICR similares a las 98 horas de 87.22 y 85.27 %, por el contrario, el aislado SCLP a las 54 horas presento el menor PICR con 3.54% en contraste con los demás aislados en el estudio (Figura 7).

(Arzar *et al.*, (2006) refiere que los patógenos de suelo (*Rhizoctonia solani* y *Sclerotium* spp entran en contacto entre uno y tres días de inoculación siendo similar en el estudio cuando los aislados entraron en contacto a las 54 horas con un PICR de 47.96 % y 3.54 %. (Figura 6). Un tiempo de contacto corto es una característica deseable que debe poseer un antagonista ya que entre menor sea este, implicaría mayor virulencia en la inhibición PICR (Aceves, 2001).

De la misma forma se observó que en los aislados utilizados en el estudio inhibieron el crecimiento de *Sclerotium* spp a las 54 horas con el aislado antagonista RFIII.

Así mismo Tyskiewicz *et al.*, (2022) refiere que entre menor sea el tiempo de inhibición la efectividad de *Trichoderma* spp se verá en la actividad metabólica para la producción de metabolitos secundario como enzimas que degradan la pared celular, antibióticos y compuesto volátiles y no volátiles lo que lo hará un buen controlado biológico de patógenos.

Las especies perteneciente al género *Trichoderma* spp como agentes de control biológico se han propuesto por sus características de crecimiento rápido en una gran variedad de sustratos y producir

enzimas y metabolitos secundarios que degradan las paredes celulares de los patógenos y su resistencia a muchos tóxicos químicos incluidos los fungicidas y otros contaminantes orgánicos (Tyskiewicz *et al.*, 2022).

En el control biológico de *Sclerotium* spp se han utilizados cepas de *Trichoderma* spp para su control por ejemplo en investigaciones realizadas indicaron un coeficiente de inhibición más alto del 92.88% de *Sclerotium* spp evidenció mayor heterocigosidad y flujo de genes evidenciando una alta variabilidad en sus genes (Hirpara *et al.*, (2019).

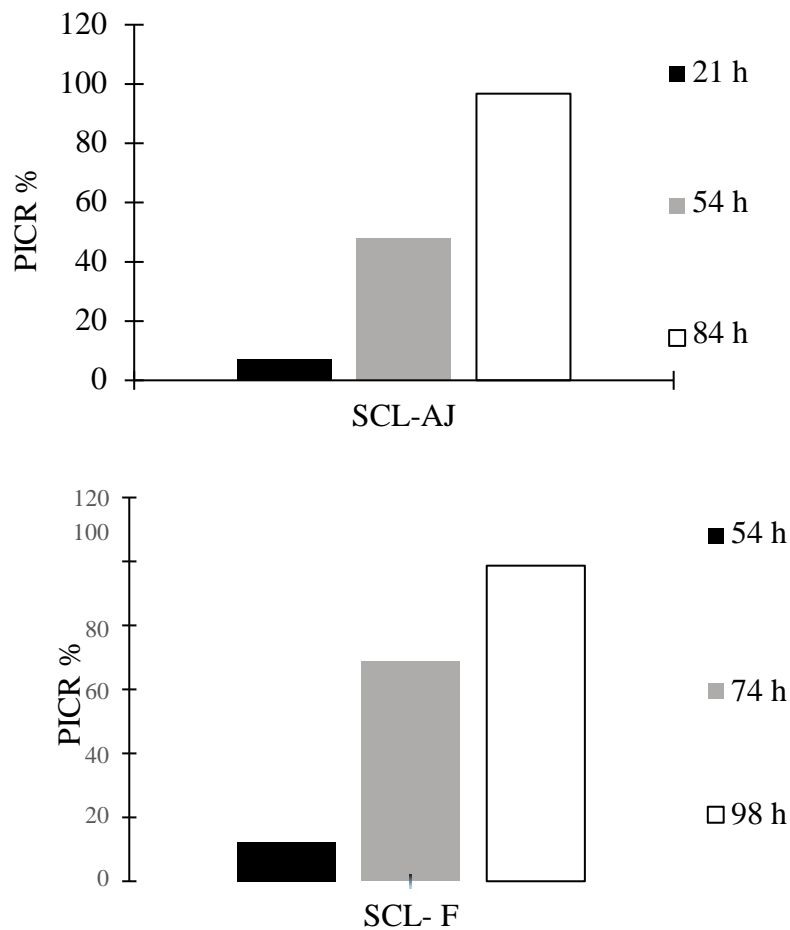


Figura 7. Porcentaje de inhibición (PICR) de aislados de *Sclerotium* spp (SCLAJ, SCLF) en confrontación directa con asilado de *Trichoderma* spp (RFIII, CHR, T301 Y THR)

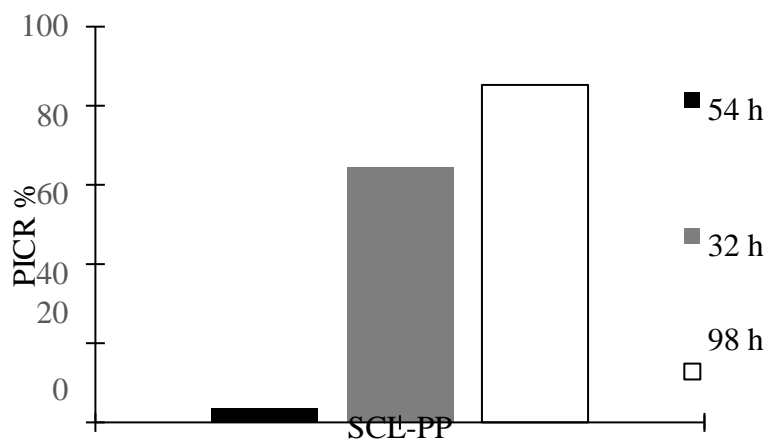
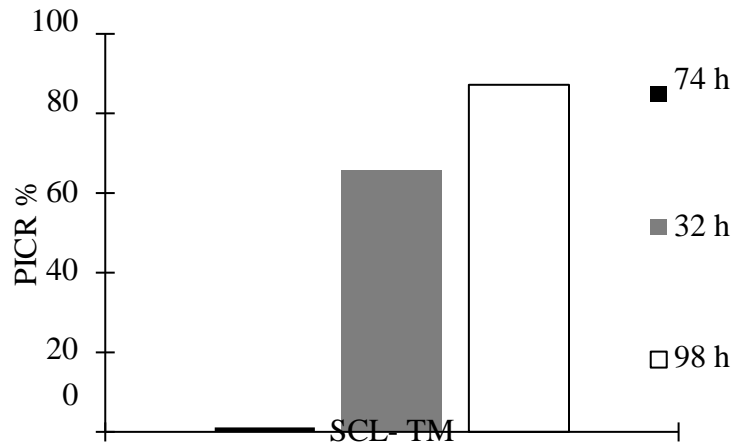


Figura 8. Porcentaje de inhibición (PICR) de aislados de *Sclerotium* spp (SCLT, SCLP) en confrontación directa con asilado de *Trichoderma* spp (RFIII, CHR, T301 Y THR)

5.4. Ensayo del efecto de *Trichoderma* spp., sobre el crecimiento y numero de hojas de plantas de frijol *P vulgaris* L en condiciones controladas

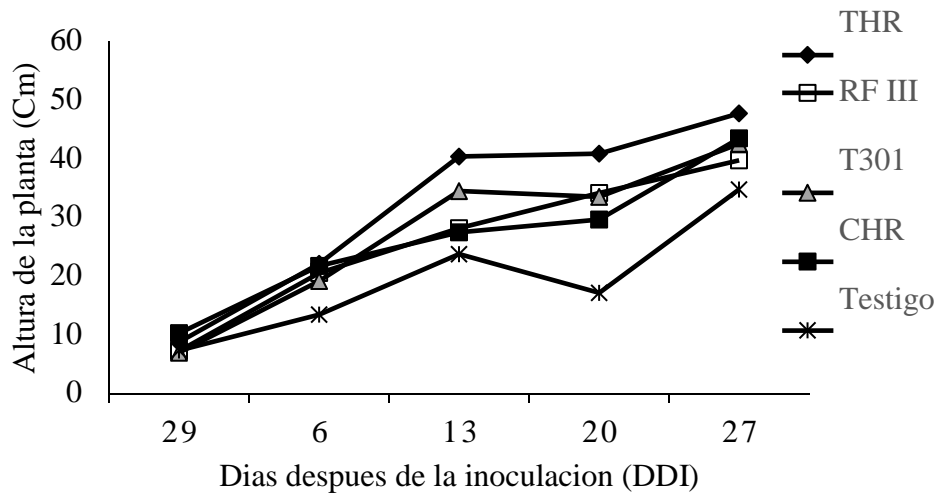


Figura 9. Efecto de los aislados nativos de *Trichoderma* spp sobre la altura de plántulas de frijol de la Variedad INTA rojo en invernadero

Se mostro diferencias significativas en la variable altura a los 29 días y 27 días de inoculación con los aislados de *Trichoderma* spp, la mayor altura se presentó a los 27 días después de la evaluación con el aislado THR con 47.71 cm y la menor altura se presentó con 27 cm con aislado T301 (anexo 16).

A los 29 días después de la inoculación fue de 10.23 cm a 7.31 siendo similares para todo los aislados en estudio (figura 9), a los 13 días el aislados THR registró un incremento en la altura de 40.38 cm seguido del aislado T301 con 34.50. a los 27 días se presentó el mayor crecimiento en la altura con el aislado THR con 47.71 seguido del aislado CHR con 43.46 cm (Anexo 13)

En un estudio realizado con la cepa *T. asperellum* se produjeron cambios en la altura de las plantas inoculadas durante el primer momento de la siembra (Leal *et al.*, 2021). lo cual no fue evidente en el estudio mostrando diferencias significativas a los 13 días después de la evaluación, pero esto puede ser debido a que no todas las cepas tienen la capacidad de presentar metabolitos secundarios que promuevan el crecimiento vegetal, se he evidenció que al aplicar las esporas de *Trichoderma* spp en los vasos conteniendo sustrato la germinación aumento un 90 %.

Las especies de *Trichoderma* son ampliamente utilizadas como agentes de control biológico y promotores de crecimiento en las plantas por poseer beneficios como: un mejor crecimiento, resistencia a enfermedades y tolerancia al estrés abiótico, por producir la fitohormona auxina ácido indol-3-acético (IAA) que es la encargada de promoción del crecimiento vegetal y radicular que a su vez todo este efecto es multivariables y se ven afectados por las condiciones ambientales (Nieto-Jacobo *et al.*, 2017).

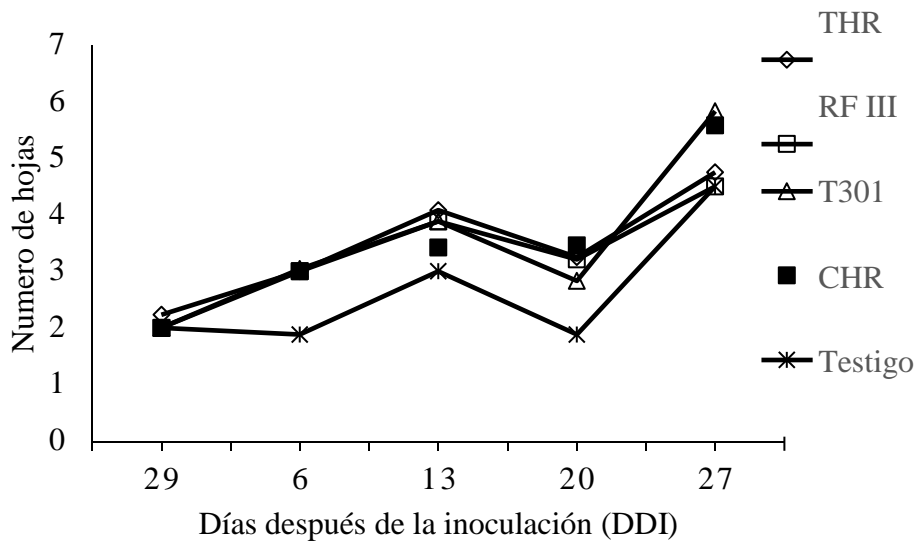


Figura 10. Efecto de los aislados nativos de *Trichoderma* spp sobre número de hoja trifoliadas de plántulas de frijol de la Variedad INTA rojo en invernadero.

El efecto de los cuatro aislados de *Trichoderma* spp sobre el número de hojas trifoliadas, resultó en un rango de 5.83 y 2 hojas trifoliadas, siendo significativas a los 13 días con 4.8 hojas trifoliadas con el aislado THR seguido de los aislado RFIII y T301 con 3.88 hojas trifoliadas. El mayor número de hojas trifoliadas se encontró a los 27 días con el aislado CHR con 5.58 hojas trifoliadas (Figura 10, Anexo 18).

Se encontró diferencias significativas en el número de hojas trifoliadas en los 27,20,13 días, a los 27 días se encontró el mayor número de hojas trifoliadas con el aislado con 5.58 hojas y el menor número de hojas se encontró con el testigo 1.88 hojas. No hubo diferencias significativas a los 29 días con los cuatro aislados evaluados (Figura 10).

En estudio realizados con *Trichoderma harzianum* refiere que las especies a través de la descomposición de materia orgánica libera nutriente los cuales los hace disponible por medio de la actividad solubilizadora de fosfato lo cual da como resultado la producción de metabolitos secundarios que promueven el crecimiento vegetal (Vera *et al.*, 2002).

Los microorganismos tienen la capacidad de sintetizar ácido indol-3-acético (IAA) atributo que presentan algunas especies de *Trichoderma* IAA en las raíces de las plantas modifican la arquitectura de la raíz lo que resulta en el aumento de la biomasa foliar y radicular lo cual facilita mayor colonización y absorción de nutrientes (Ducan *et al.*, 2014).

En un estudio realizado proporciona la evidencia de la asociación entre las plantas y las especies *Trichoderma* que implica en el reconocimiento de las auxinas esta comunicación depende en gran medida del ambiente y los factores abióticos donde particularmente se ve afectada la comunicación de la correlación complejas de estas moléculas en el crecimiento vegetal (Nieto Jacobo *et al.*, 2017).

VI. CONCLUSIONES

Los aislados THR y RFIII mostraron el mayor ritmo de crecimiento frente a los aislados *Sclerotium* spp.

El aislado RFIII a las 98 horas presento el mayor porcentaje de inhibición con 98.69 % cuando fue enfrentada a los diferentes aislado de *Sclerotium* spp.

El aislado THR incremento la altura de la planta con 47.71 cm y el número de hojas trifoliadas se encontró con el aislado CHR con 5.58 hojas trifoliadas.

VII. RECOMENDACIONES

- Realizar análisis de la identificación molecular de los aislados RFIII, CHR y T301 para su identificación y estudios posteriores de sus genes y metabolitos secundarios.
- Realizar estudios de campo que conduzcan a la caracterización de estos aislados.
- Realizar estudios en campo para evaluar la promoción del crecimiento vegetal de los aislados RFIII, CHR y T301.

VIII. LITERATURA CITADA

- Abascal, G.C. (2013). Selección de resistencia a *sclerotium rolfsii* en material silvestre de *Solanum lycopersicum* Var. {Tesis Ingeniero, Universidad de Guadalajara Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias}. Sitio Web. Recuperado el 23 marzo de 2022. http://repositorio.cucba.udg.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/5739/Cisneros_Abascal_Gabriela.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Aceves, M. (2001). Cepas nativas de trichoderma(Euascomycetes Hypovreales), su antibiosis y micoparasitismo sobre fusarium subglutinans y F. o Oxysporum (Hyphomycetes: Hypales).
- Aguilar, R., Rafael-Rutte, R., Martínez-Santos, H., y Apaza-Apaza, S. (2021). Agente causal de la antracnosis en el cultivo de arveja (*Pisum sativum* L.) en el norte de Perú: Sintomatología, aislamiento e identificación, patogenicidad y control. *Scientia Agropecuaria*, 12(1), 7–14. <https://doi.org/10.17268/SCI.AGROPECU.2021.001>
- Ali, A., Javid, A., Shoaib, A., & Khan, I. H. (2020). Effect of soil amendment with *Chenopodium album* dry biomass and two *Trichoderma* species on growth of chickpea var. Noor 2009 in *Sclerotium rolfsii* contaminated soil. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 30(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/s41938-020-00305-1>
- Araya Fernández., C.M. (2008). Guía para la identificación de las enfermedades del frijol más comunes en Costa Rica. <http://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/H20-5247.pdf>
- Arzar, J., Michel, A., Domínguez, V., & Santos, O. (2006). Antagonismo de *Trichoderma* spp. sobre *Mycosphaerella fijiensis* Morelet, Agente Causal de la Sigatoka Negra del Plátano (*Musa* sp.) in vitro e Invernadero. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 24(2), 8.
- Ayala Armenta, Q. A., Cortez Mondaca, E., Apodaca Sánchez M. A., Leal León V. M., Valenzuela Escoboza, F. A., y Palacios Mondaca, C. A. (2018). Efectividad de fungicidas convencionales y biorracionales sobre *Sclerotinia sclerotiorum* in vitro. *Revista Mexicana De Ciencias Agrícolas*, (11), 2149–2156. <https://doi.org/10.29312/remexca.v0i11.784>
- Beaver, J. S., Godoy, G., Rosas, J. C., y Steadman, J. (2002). Estrategias para seleccionar frijol común con mayor resistencia a mustia hilachosa. *Agronomía Mesoamericana*, 13(1), 67. <https://doi.org/10.15517/am.v13i1.13563>
- Beebe S.E., Rao I.M., Blair MW., y Acosta-Gallegos J.A (2013) Fenotipado de frijoles comunes para la adaptación a la sequía. Parte delantera. *Fisiol_* doi: 10.3389/fphys.2013.00035
- Broughton. W. J. Hernández. G. Blair. M. Beebe. S. Gepts. P. & Vanderleyden. J. (2003). Beans (*Phaseolus* spp.) – model food legumes. *Plant Soil*, 252(1), 55–128. doi:10.1023/A:1024146710611

- Centro Interamericano de Administraciones Tributarias{CIAT}. (1987). informe ciat. https://www.ciat.org/Biblioteca/DocumentosTecnicos/Espanol/2006_Manual_CIAT_sobre_Inteligencia_Fiscal.pdf
- Companioni González, B., Domínguez Arizmendi, G., y García Velasco, R. (diciembre, 2019). Trichoderma: su potencial en el desarrollo sostenible de la agricultura. *Biotecnología Vegetal*, 19(4), 237 – 248. <http://scielo.sld.cu/pdf/bvg/v19n4/2074-8647-bvg-19-04-237.pdf>
- Consejo Superior de la Empresa Privada [COSEP] (2021). Monitoreo de noticias empresariales Nicaragua y Centroamerica. Consejo superior de la empresa privada (cosep). Recuperado el 22 de marzo de 2022. <https://cosep.org.ni/fuerte-crecimiento-en-las-exportaciones-de-frijoles-de-nicaragua-a-medida-que-sale-la-cosecha-de-primera/>
- Estefania, A. A. M. (2021). Aislamiento e identificación de bacterias endófitas productoras de ácido indolacético a partir de plantas de lenteja de agua del género *Spirodela*”.
- Ezpinoza, A. J. S. (2017). Análisis Económico del Cultivo del Frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en Nicaragua, 1980 – 2014 {Tesis de Ingeniería, Universidad Nacional Agraria}. Repositorio UNA. <https://repositorio.una.edu.ni/3622/1/tne10s687.pdf>
- Ferrufino, A., y Araya, C. M. (2008). Guía de identificación y manejo integrado de enfermedades del frijol en América Central. IICA, San José (Costa Rica), 38. <http://repiica.iica.int/docs/B0891E/B0891E.pdf>
- Flores Gómez., R.E. (2020). Uso potencial de ácido acetyl salicílico para el manejo de enfermedades fungosas en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en Catacamas, Honduras, 2017. <https://repositorio.una.edu.ni/4227/1/tnh20f634.pdf>
- French, E., & Hebert, T. (1980). Métodos de investigación fitopatológica. In Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas.
- González-Marquetti, I. Infante-Martínez, D., Arias-Vargas, Y., Gorrita-Ramírez, S., Hernández-García, Tomás, de la Noval-Pons, Blanca M., Martínez-Coca, B., y Peteira, B. (2019).
- Guardado Torres Y.M., y Ramirez Segovia, D.A. (2018). Control biológico del añublo sureño (*Sclerotium rolfsii* L.) en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) con *Trichoderma harzianum* R. y tres biopreparados como enmienda al suelo y tratamiento a la semilla. <https://ri.ues.edu.sv/id/eprint/16507/1/13101668.pdf>
- Gutierrez Lopez, R.D., y Huerta Palacios., H.R (2014) Evaluación de cuatro fungicidas en el control de enfermedades del cultivo de frijol (*Phaseolus vulgaris*) y su rendimiento en época de postera en El Cerro el Calvario, Matagalpa, 2013 {Tesis de Ingeniería, Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua}. Repositorio UNAN. <https://repositorio.unan.edu.ni/6985/1/6516.pdf>

- Hirpara, D.C., Patel, A.K., y Katakpara, B.G. (2019). Conocimientos moleculares sobre el desarrollo de interfusores de *Trichoderma* para la tolerancia al estrés múltiple que mejoran el antagonismo contra *Sclerotium rolfsii* Sacc.
- Infante, Danay, Martínez, B, González, N., y Reyes, Y. (2009). Mecanismos de acción de trichoderma frente a hongos fitopatógenos. *Revista de Protección Vegetal*, 24(1), 14-21. Recuperado en 09 de marzo de 2022. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522009000100002&lng=es&tlng=es
- Instituto Nacional Tecnológico {INATEC}. (2020). manual del protagonista granos basicos (p. 80). https://www.tecnacional.edu.ni/media/Manual_Granos_B%C3%A1sicos_opt.pdf
- Kushwaha, S. K., Kumar, S., y Chaudhary, B. (2018). Efficacy of *Trichoderma* against *Sclerotium rolfsii* causing collar rot disease of lentil under in vitro conditions. *Journal of Applied and Natural Science*, 10(1), 6. <https://doi.org/10.31018/jans.v10i1.1622>
- La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura {FAO}. (2020). El reto de tener un Sistema Nacional de Semillas funcional para el incremento de la productividad en la agricultura de Nicaragua. Recuperado el 09 de marzo de 2022. <https://www.fao.org/nicaragua/noticias/detail-events/ru/c/1297237/>
- Leal, Y.D., Infante Martinez., D. y Martinez., B. (2021a). Biocontrol de cepas de *Trichoderma* spp. frente a aislados de *Fusarium* spp. procedentes de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). *Revista de Protección Vegetal*, 36(2), 1–5. <http://revistas.censa.edu.cu/index.php/RPV/article/view/1150>
- Martínez de la Ossa, K.J. y Vargas Ávila M. (2021). identificación de cepas nativas de trichoderma spp. biocontroladoras de *sclerotium* sp. y promotoras de crecimiento en plantulas de berenjena (*solanum melongena* l.) en córdoba. universidad de córdoba. Repositorio IN. <https://repositorio.unicordoba.edu.co/bitstream/handle/ucordoba/4172/vargasavilamarislea-martinezdelaossakeyla.pdf?sequence=3&isAllowed=y>
- Martinez Herrera., J.M., y Peñate Ascencio., L.A. (2015). Variabilidad patogénica de *Pseudocercospora griseola* causante de la mancha angular del frijol común en Honduras. <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/4600/1/CPA-2015-053.pdf>
- Matroudi S, Zamani M.R y Motallebi M. (2009). Antagonistic effects of three species of *Trichoderma* sp. on *Sclerotinia sclerotiorum*, the causal agent of canola stem rot Matroudi S, Zamani MR y Motallebi M. *Egyptian British Biological Society*, 11(8), 37-44. <https://www.ajol.info/index.php/ejb/article/download/56560/44985>
- Mullen, J. (2001). Tizón del sur, tizón del tallo del sur, moho blanco, Instructor Sanidad Vegetal. [Doi.org/10.1094/PHI-I-2001-0104-01](https://doi.org/10.1094/PHI-I-2001-0104-01)
- Nieto-Jacobo, M. F., Steyaert, J. M., Salazar-Badillo, F. B., Vi Nguyen, D., Rostás, M., Braithwaite, M., De Souza, J. T., Jimenez-Bremont, J. F., Ohkura, M., Stewart, A., y

- Mendoza-Mendoza, A. (2017). Environmental growth conditions of trichoderma spp. Affects indole acetic acid derivatives, volatile organic compounds, and plant growth promotion. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1–18. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00102>
- Orduz S., (2009). Estimulación del crecimiento en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) por *Trichoderma*.
- Quezada Palacios, N. J. (2017). Importancia alimenticia del cultivo del frijol negro en Nicaragua. *Revista Universidad Y Ciencia*, 8(13), 60–65. <https://doi.org/10.5377/uyc.v8i13.4539>
- Salazar, K. A. (2020). Identificación de *Colletotrichum* spp. como agente causante de la antracnosis en hojas de uvilla (*Physalis peruviana* L.) en el centro de la región interandina del Ecuador. Sitio web. Recuperado el 23 de marzo de 2022. http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/18535/Trabajo%20de%20titulaci%C3%B3n%20Final%20Anabeliza_Cajas%20%281%29.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Tyskiewicz, R., Nowak, A., & Ozimek, E. (2022). *Trichoderma*: The Current Status of Its Application in Agriculture for the Biocontrol of Fungal Phytopathogens and Stimulation of Plant Growth. 28, 28.
- Ulloa., J.A., Ulloa, P.R Ramírez Ramírez. J.C., y Ulloa Rangel, B.E (2011). El frijol (*Phaseolus vulgaris*): su importancia nutricional y como fuente de fitoquímicos. *Revista Fuente*, 3(8), 5-9. <http://fuente.uan.edu.mx/publicaciones/03-08/1.pdf>
- Vera, D. F., Pérez, H., y Valencia, H. (2002). Aislamiento de hongos solubilizadores de fosfatos de la rizosfera de arazá (*Eugenia stipitata*, Myrtaceae). *Acta Biológica Colombiana*, 7(1), 33-40.
- Vinale, F., Sivasithamparam, K., Ghisalberti, E. L., Woo, S. L., Nigro, M., Marra, R., Lombardi, N., Pascale, A., Ruocco, M., Lanzuise, S., Manganiello, G., & Lorito, M. (2014). *Trichoderma* Secondary Metabolites Active on Plants and Fungal Pathogens. *The Open Mycology Journal*, 8(1), 127–139. <https://doi.org/10.2174/1874437001408010127>

IV. ANEXOS

Anexo 1. Análisis de varianza del ritmo de crecimiento radial de los aislados de *Trichoderma* spp

| Variable | N | R ² | R ² AJ | CV |
|-------------|-----|----------------|-------------------|-------|
| Crecimiento | 160 | 0.74 | 0.67 | 55.75 |

| F.V. | S.C | GL | CM | F | P- valor |
|-------------|---------|-----|--------|-------|----------|
| Modelo | 2009.51 | 31 | 64.82 | 11.60 | < 0.0001 |
| Cepa | 1154.16 | 3 | 388.05 | 69.42 | < 0.0001 |
| Tiempo | 496.37 | 7 | 70.91 | 12.69 | < 0.0001 |
| Cepa*Tiempo | 348.98 | 21 | 16.62 | 2.97 | |
| Error | 715.48 | 128 | 5.59 | | |
| Total | 2724.99 | 159 | | | |

Anexo 2. Separación de medias del ritmo de crecimiento radial de aislados de *Trichoderma* spp en PDA

| Variable | N | R ² | R ² AJ | CV |
|-------------|-----|----------------|-------------------|-------|
| Crecimiento | 160 | 0.74 | 0.67 | 55.75 |

| Tratamientos | Medias | Grupo |
|--------------|--------|-------|
| THR | 8.69 | A |
| T301 | 4.08 | B |
| CHR | 2.26 | C |
| RF III | 1.93 | C |

Medias con letras en común, dentro de una misma columna no difieren significativamente según Tukey($p \leq 0,05$).

Anexo 3. Análisis de varianza del ritmo de crecimiento radial del patógeno *Sclerotium* spp

| Variable | N | R ² | R ² AJ | CV |
|-------------|-----|----------------|-------------------|-------|
| Crecimiento | 160 | 0.84 | 0.80 | 48.18 |

| | SC | gl | CM | F | P- valor |
|-------------|----------|-----|-------|-------|----------|
| Modelo | 14.95.69 | 31 | 48.25 | 21.41 | < 0.0001 |
| Cepa | 49.18 | 3 | 16.39 | 7.28 | 0.0002 |
| Tiempo | 1359.08 | 14 | 97.08 | 43.08 | < 0.0001 |
| Cepa*Tiempo | 87.43 | 14 | 6.24 | 2.77 | 0.0013 |
| Error | 288.42 | 128 | 2.25 | | |
| Total | 1784.11 | 159 | | | |

Anexo 4. Separación de medias del ritmo de crecimiento radial de los aislados *Sclerotium* spp

| Cepa | Medias | N | E. E | |
|-------|--------|----|------|-----|
| SclAJ | 3.85 | 40 | 0.24 | A |
| SclT | 3.41 | 40 | 0.24 | A B |
| SclP | 2.79 | 40 | 0.24 | B C |
| SclF | 2.41 | 40 | 0.24 | C |

Medias con letras en común, dentro de una misma columna no difieren significativamente según Tukey($p \leq 0,05$).

Anexo 5. Análisis de varianza del porcentaje de Inhibición del crecimiento radial del aislado SclAJ

| Variable | N | R ² | R ² AJ | CV |
|----------|-----|----------------|-------------------|-------|
| (PICR%) | 160 | 0.74 | 0.67 | 71.23 |

| | SC | gl | CM | F | P- valor |
|-------------|-----------|-----|----------|-------|----------|
| Modelo | 418259.64 | 31 | 13492.25 | 11.47 | < 0.0001 |
| Cepa | 18971.33 | 3 | 6323.78 | 5.38 | 0.0016 |
| Tiempo | 314856.47 | 7 | 38.24 | 38.24 | < 0.0001 |
| Cepa*Tiempo | 84431.84 | 21 | 3.42 | 3.42 | < 0.0001 |
| Error | 150560.66 | 128 | | | |
| Total | 568820.30 | 159 | | | |

Anexo 6. Separación de medias por tiempo de evaluación en el aislado AclAJ

| Tiempo | Medias | N | E. E | | |
|--------|--------|----|------|---|-----|
| 3 | -18.24 | 20 | 7.67 | A | |
| 1 | -6.97 | 20 | 7.67 | A | |
| 2 | 9.24 | 20 | 7.67 | A | |
| 4 | 47.96 | 20 | 7.67 | | B |
| 5 | 72.94 | 20 | 7.67 | | B C |
| 7 | 91.52 | 20 | 7.67 | | C |
| 8 | 91.99 | 20 | 7.67 | | C |
| 6 | 96.79 | 20 | 7.67 | | C |

Medias con letras en común, dentro de una misma columna no difieren significativamente según Tukey($p \leq 0,05$).

Anexo 7. Análisis de varianza del Porcentaje de Inhibición del crecimiento radial (PICR) en el aislado ScIF

| Variable | N | R ² | R ² AJ | CV |
|----------|-----|----------------|-------------------|-------|
| (PICR%) | 160 | 0.94 | 0.93 | 57.70 |

| | SC | gl | CM | F | P- valor |
|-------------|-----------|-----|----------|--------|----------|
| Modelo | 814276.06 | 31 | 26266.97 | 65.04 | < 0.0001 |
| Cepa | 66654.23 | 3 | 22218.08 | 55.01 | < 0.0001 |
| Tiempo | 548423.45 | 7 | 78346.21 | 193.98 | < 0.0001 |
| Cepa*Tiempo | 199198.38 | 21 | 9485.64 | 23.49 | < 0.0001 |
| Error | 51697.20 | 128 | 403.88 | | |
| Total | 865973.26 | 159 | | | |

Anexo 8. Separación de medias según el tiempo de evaluación en el aislado ScIF

| Tiempo | Medias | N | E. E | |
|--------|--------|----|------|---|
| 3 | -58.58 | 20 | 4.49 | A |
| 1 | -40.62 | 20 | 4.49 | A |
| 4 | -12.33 | 20 | 4.49 | B |
| 2 | 53.88 | 20 | 4.49 | C |
| 5 | 68.81 | 20 | 4.49 | C |
| 6 | 72.69 | 20 | 4.49 | C |
| 8 | 96.09 | 20 | 4.49 | D |
| 7 | 98.69 | 20 | 4.49 | D |

Medias con letras en común, dentro de una misma columna no difieren significativamente según Tukey($p \leq 0,05$).

Anexo 9. Análisis de varianza del Porcentaje de Inhibición del crecimiento radial del Aislado ScIP

| Variable | N | R ² | R ² AJ | CV |
|----------|-----|----------------|-------------------|-------|
| (PICR%) | 160 | 0.78 | 0.72 | 71.86 |

| | SC | gl | CM | F | P- valor |
|-------------|-----------|-----|----------|-------|----------|
| Modelo | 383749.74 | 31 | 12379.02 | 14.39 | < 0.0001 |
| Cepa | 7313.68 | 3 | 2437.89 | 2.83 | 0.0001 |
| Tiempo | 271317.66 | 7 | 38759.67 | 45.04 | < 0.0001 |
| Cepa*Tiempo | 105118.41 | 21 | 5005.64 | 5.82 | < 0.0001 |
| Error | 110141.30 | 128 | 860.48 | | |
| Total | 493891.04 | 159 | | | |

Anexo 10. Separación de medias según el tiempo de evaluación en el aislado ScIP

| Tiempo | Medias | N | E. E | | | |
|--------|--------|----|------|---|---|-----|
| 3 | -42.78 | 20 | 6.56 | A | | |
| 4 | 3.54 | 20 | 6.56 | | B | |
| 1 | 21.99 | 20 | 6.56 | | B | |
| 5 | 51.79 | 20 | 6.56 | | | C |
| 6 | 58.14 | 20 | 6.56 | | | C D |
| 2 | 64.46 | 20 | 6.56 | | | C D |
| 8 | 84.17 | 20 | 6.56 | | | D |
| 7 | 85.27 | 20 | | | | D |

Medias con letras en común, dentro de una misma columna no difieren significativamente según Tukey($p \leq 0,05$).

Anexo 11. Análisis de varianza del Porcentaje de Inhibición del crecimiento radial del Aislado ScIT

| Variable | N | R ² | R ² AJ | CV |
|----------|-----|----------------|-------------------|-------|
| (PICR%) | 160 | 0.91 | 0.89 | 40.13 |

| | SC | gl | CM | F | P- valor |
|-------------|-----------|-----|----------|--------|----------|
| Modelo | 396723.34 | 31 | 12797.53 | 40.78 | < 0.0001 |
| Cepa | 51519.96 | 3 | 17173.32 | 54.72 | < 0.0001 |
| Tiempo | 252388.47 | 7 | 36055.50 | 114.88 | < 0.0001 |
| Cepa*Tiempo | 92814.91 | 21 | 4419.76 | 14.08 | < 0.0001 |
| Error | 40172.50 | 128 | 313.85 | | |
| Total | 436895.84 | 159 | | | |

Anexo 12. Separación de medias según el tiempo de evaluación en el aislado ScIT

| Tiempo | Medias | N | E. E | | | |
|--------|--------|----|------|---|---|-----|
| 3 | -24.63 | 20 | 3.96 | A | | |
| 5 | 1.11 | 20 | 3.96 | | B | |
| 4 | 9.74 | 20 | 3.96 | | B | |
| 1 | 58.75 | 20 | 3.96 | | | C |
| 2 | 65.72 | 20 | 3.96 | | | C |
| 6 | 71.39 | 20 | 3.96 | | | C D |
| 8 | 83.88 | 20 | 3.96 | | | D |
| 7 | 87.22 | 20 | | | | D |

Medias con letras en común, dentro de una misma columna no difieren significativamente según Tukey($p \leq 0,05$).

Anexo 13. Separación de medias de la variable altura de la planta (cm) en el aislado *Trichoderma* spp de codificación CHR según las fechas de evaluación.

| Variable | N | R ² | R ² AJ | CV |
|--------------------------|-----|----------------|-------------------|-------|
| Altura de la planta (cm) | 120 | 0.35 | 0.32 | 57.26 |

| Fecha | Medias | N | E. E | |
|------------|--------|----|------|-----|
| 29/11/2021 | 10.23 | 24 | 3.10 | A |
| 06/12/2021 | 21.73 | 24 | 3.10 | A B |
| 13/12/2021 | 27.44 | 24 | 3.10 | B |
| 20/12/2021 | 29.63 | 24 | 3.10 | B |
| 27/12/2021 | 43.46 | 24 | 3.10 | C |

Medias con letras en común, dentro de una misma columna no difieren significativamente según Tukey($p \leq 0,05$).

Anexo 14. Separación de medias da la variable altura de la planta (cm) en el aislado *Trichoderma* spp de codificación RF III según las fechas de evaluación

| Variable | N | R ² | R ² AJ | CV |
|--------------------------|-----|----------------|-------------------|-------|
| Altura de la planta (cm) | 120 | 0.38 | 0.36 | 56.96 |

| Fecha | Medias | N | E. E | |
|------------|--------|----|------|-----|
| 29/11/2021 | 7.20 | 24 | 3.02 | A |
| 06/12/2021 | 20.50 | 24 | 3.02 | B |
| 13/12/2021 | 34.17 | 24 | 3.02 | B C |
| 20/12/2021 | 28.13 | 24 | 3.02 | C |
| 27/12/2021 | 39.71 | 24 | 3.02 | C |

Medias con letras en común, dentro de una misma columna no difieren significativamente según Tukey($p \leq 0,05$).

Anexo 15. Separación de medias da la variable altura de la planta (cm) en el aislado *Trichoderma* spp de codificación T301 según las fechas de evaluación

| Variable | N | R ² | R ² AJ | CV |
|--------------------------|-----|----------------|-------------------|-------|
| Altura de la planta (cm) | 120 | 0.40 | 0.38 | 58.42 |

| Fecha | Medias | N | E. E | |
|------------|--------|----|------|---|
| 29/11/2021 | 6.94 | 24 | 3.26 | A |
| 06/12/2021 | 19.13 | 24 | 3.26 | A |
| 13/12/2021 | 34.50 | 24 | 3.26 | B |
| 20/12/2021 | 33.50 | 24 | 3.26 | B |
| 27/12/2021 | 42.54 | 24 | 3.26 | B |

Medias con letras en común, dentro de una misma columna no difieren significativamente según Tukey($p \leq 0,05$).

Anexo 16. Separación de medias da la variable altura de la planta (cm) en el aislado *Trichoderma* spp de codificación THR según las fechas de evaluación

| Variable | N | R ² | R ² AJ | CV |
|--------------------------|-----|----------------|-------------------|-------|
| Altura de la planta (cm) | 120 | 0.47 | 0.45 | 49.10 |

| Fecha | Medias | N | E. E | |
|------------|--------|----|------|---|
| 29/11/2021 | 8.74 | 24 | 3.20 | A |
| 06/12/2021 | 22.08 | 24 | 3.20 | B |
| 13/12/2021 | 40.38 | 24 | 3.20 | C |
| 20/12/2021 | 40.88 | 24 | 3.20 | C |
| 27/12/2021 | 47.71 | 24 | 3.20 | C |

Medias con letras en común, dentro de una misma columna no difieren significativamente según Tukey($p \leq 0,05$).

Anexo 17. Separación de medias da la variable altura de la planta (cm) para el testigo según las fechas de evaluación

| Variable | N | R ² | R ² AJ | CV |
|--------------------------|----|----------------|-------------------|-------|
| Altura de la planta (cm) | 40 | 0.23 | 0.14 | 95.93 |

| Fecha | Medias | N | E. E | | |
|------------|--------|---|------|---|---|
| 29/11/2021 | 7.31 | 8 | 6.54 | A | |
| 06/12/2021 | 13.44 | 8 | 6.54 | A | B |
| 13/12/2021 | 23.75 | 8 | 6.54 | A | B |
| 20/12/2021 | 17.13 | 8 | 6.54 | A | B |
| 27/12/2021 | 34.75 | 8 | 6.54 | | B |

Medias con letras en común, dentro de una misma columna no difieren significativamente según Tukey($p \leq 0,05$).

Anexo 18. Separación de medias da la variable número de hojas trifoliadas en el aislado *Trichoderma* spp de codificación CHR según las fechas de evaluación

| Variable | N | R ² | R ² AJ | CV |
|-----------------|-----|----------------|-------------------|-------|
| Numero de hojas | 120 | 0.53 | 0.51 | 32.23 |

| Fecha | Medias | N | E. E | | |
|------------|--------|----|------|---|---|
| 29/11/2021 | 2.00 | 24 | 0.23 | A | |
| 06/12/2021 | 3.00 | 24 | 0.23 | | B |
| 13/12/2021 | 3.42 | 24 | 0.23 | | B |
| 20/12/2021 | 3.46 | 24 | 0.23 | | B |
| 27/12/2021 | 5.58 | 24 | 0.23 | | C |

Medias con letras en común, dentro de una misma columna no difieren significativamente según Tukey($p \leq 0,05$).

Anexo 19. Separación de medias da la variable número de hojas trifoliadas en el aislado *Trichoderma* spp de codificación RF III según las fechas de evaluación

| Variable | N | R ² | R ² AJ | CV |
|-----------------|-----|----------------|-------------------|-------|
| Numero de hojas | 120 | 0.31 | 0.29 | 38.40 |

| Fecha | Medias | N | E. E | | |
|------------|--------|----|------|---|---|
| 29/11/2021 | 2.00 | 24 | 0.26 | A | |
| 06/12/2021 | 3.00 | 24 | 0.26 | A | B |
| 13/12/2021 | 3.88 | 24 | 0.26 | | B |
| 20/12/2021 | 3.21 | 24 | 0.26 | | B |
| 27/12/2021 | 4.50 | 24 | 0.26 | | C |

Medias con letras en común, dentro de una misma columna no difieren significativamente según Tukey($p \leq 0,05$).

Anexo 20. Separación de medias da la variable número de hojas trifoliadas en el aislado *Trichoderma* spp de codificación T301 según las fechas de evaluación

| Variable | N | R ² | R ² AJ | CV |
|-----------------|-----|----------------|-------------------|-------|
| Numero de hojas | 120 | 0.57 | 0.56 | 29.92 |

| Fecha | Medias | N | E. E | | |
|------------|--------|----|------|---|---|
| 29/11/2021 | 2.00 | 24 | 0.23 | A | |
| 06/12/2021 | 3.04 | 24 | 0.23 | | B |
| 13/12/2021 | 3.88 | 24 | 0.23 | | B |
| 20/12/2021 | 3.83 | 24 | 0.23 | | B |
| 27/12/2021 | 5.83 | 24 | 0.23 | | C |

Medias con letras en común, dentro de una misma columna no difieren significativamente según Tukey($p \leq 0,05$).

Anexo 21. Separación de medias da la variable número de hojas trifoliadas en el aislado *Trichoderma* spp de codificación THR según las fechas de evaluación

| Variable | N | R ² | R ² AJ | CV |
|-----------------|-----|----------------|-------------------|-------|
| Numero de hojas | 120 | 0.29 | 0.27 | 40.11 |

| Fecha | Medias | N | E. E | | |
|------------|--------|----|------|---|-----|
| 29/11/2021 | 2.23 | 24 | 0.28 | A | |
| 06/12/2021 | 3.00 | 24 | 0.28 | A | B |
| 13/12/2021 | 3.25 | 24 | 0.28 | A | B |
| 20/12/2021 | 4.08 | 24 | 0.28 | | B C |
| 27/12/2021 | 4.75 | 24 | 0.28 | | C |

Medias con letras en común, dentro de una misma columna no difieren significativamente según Tukey($p \leq 0,05$).

Anexo 22. Separación de medias da la variable número de hojas trifoliadas para el testigo según las fechas de evaluación

| Variable | N | R ² | R ² AJ | CV |
|-----------------|----|----------------|-------------------|-------|
| Numero de hojas | 40 | 0.21 | 0.11 | 80.62 |

| Fecha | Medias | N | E. E | |
|------------|--------|---|------|---|
| 29/11/2021 | 2.00 | 8 | 0.76 | A |
| 06/12/2021 | 1.88 | 8 | 0.76 | A |
| 13/12/2021 | 3.00 | 8 | 0.76 | A |
| 20/12/2021 | 1.88 | 8 | 0.76 | A |
| 27/12/2021 | 4.50 | 8 | 0.76 | A |

Medias con letras en común, dentro de una misma columna no difieren significativamente según Tukey($p \leq 0,05$).