

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA
Sistema de Estudios de Posgrado

**Desarrollo de un método de evaluación
de resistencia de cultivares de frijol
(Phaseolus vulgaris L.) a Mustia Hilachosa
en invernadero y campo**

Tesis sometida a la consideración del Programa Conjunto de Estudios
de Posgrado en Ciencias Agrícolas y Recursos Naturales de la Universidad
de Costa Rica y el Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza,
para optar al grado de

Magister Scientiae

por

LIONEL ISAAC

Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza
Departamento de Producción Vegetal
Turrialba, Costa Rica
1987

DEDICATORIA

A mi mamá Anna, a Papouche
y a mis hermanos por su cariño
y todo lo que me han dado.

A todo el pueblo haitiano, de manera
especial a los pequeños agricultores
que laboran para un mañana mejor.

A todos mis "Hermano-amigos",
particularmente: Michaël,
Robert y Tatou por su apoyo moral.

AGRADECIMIENTOS

Mi sincero agradecimiento a las siguientes instituciones y personas que de una u otra forma contribuyeron para llevar a cabo este estudio:

Al Dr. José J. Galindo por su guía en el desarrollo de este trabajo, por su ayuda y valioso consejo.

Al Dr. Elkin Bustamante, Dr. Ramón Lastra, Dr. Gustavo Enríquez, Dr. Rutilio Quesada, Dr. José Fargas, Dr. José F. DiStefano y Dr. Pedro Ferreira, por su ayuda en la revisión del manuscrito y por sus valiosas sugerencias.

Al Gobierno Británico, Ministerio de Agricultura de Haití, FAMV, por su apoyo económico que permitió la realización de mis estudios.

Al personal del Programa de Posgrado, a la Universidad de Costa Rica, al CATIE y en especial al Dr. José Luis Parisí, por permitirme la realización de mis estudios de maestría.

Al personal de la Biblioteca Conmemorativa Orton, de Producción Vegetal y del Comedor, por sus atenciones.

A todas las secretarias del CATIE, particularmente a María Mayela Alvarado por su eficiente labor mecanográfica.

A mis amigos Jean René, Werner, Josefina, Antonieta y Dora por sus muestras de amistad.

A mis compañeros de trabajo: Fernando López, Luis G. Salazar, Gustavo López, Arnoldo Barrantes y su equipo que laboran en el campo "La Montaña" por su cooperación para hacer efectiva la investigación,

BIOGRAFIA

El autor nació en Jacmel, Haití. Realizó sus estudios primarios en la escuela 'Frère Clement' de esta ciudad, y los secundarios en el Colegio 'Saint-Pierre' de Port-au-Prince.

En 1982, egresó de la Facultad de Agronomía y de Medicina Veterinaria (FAMV) de la Universidad del Estado de Haití.

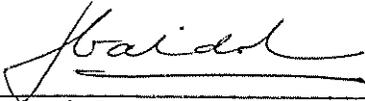
Desde 1983 y hasta la fecha forma parte del personal del Ministerio de Agricultura de Haití.

Ingresó en abril de 1985 al Programa de Estudios de Posgrado de la Universidad de Costa Rica y el Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (UCR-CATIE), donde obtuvo el título de *Magister Scientiae* en julio de 1987.

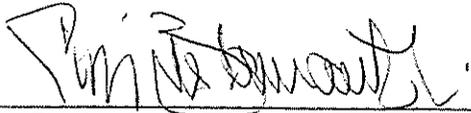
Esta tesis fue aceptada por la Comisión de Estudios de Posgrado del Programa Conjunto UCR-CATIE, como requisito parcial para optar al grado de:

Magister Scientiae

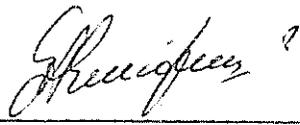
Comité Asesor



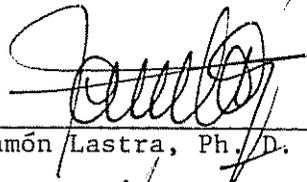
José J. Galindo, Ph. D. Profesor Consejero



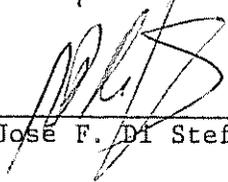
Elkin Bustamante, Ph. D. Miembro del Comité



Gustavo Enríquez, Ph. D. Miembro del Comité



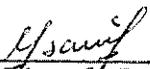
Ramón Lastra, Ph. D. Miembro del Comité



José F. Di Stefano, Ph. D. Director Programa Estudios de Posgrado en Ciencias Agrícolas y Recursos Naturales, UCR-CATIE



Luis Estrada N., Ph. D. Decano Sistema de Estudios de Posgrado de la Universidad de Costa Rica



Lionel Isaac
Candidato

CONTENIDO

	Página
RESUMEN.....	ix
SUMMARY.....	xii
LISTA DE CUADROS.....	xv
LISTA DE FIGURAS.....	xviii
1. INTRODUCCION.....	1
2. REVISION DE LITERATURA.....	4
2.1 Características de la enfermedad.....	4
2.1.1 Origen y distribución geográfica.....	4
2.1.2 Importancia económica.....	4
2.1.3 Sintomatología y signos.....	5
2.2 El organismo causal.....	7
2.2.1 Distribución y ámbito de hospederos.....	7
2.2.2 Etiología.....	7
2.3 Epidemiología.....	9
2.4 Medidas de combate.....	11
2.4.1 Por prácticas culturales.....	11
2.4.2 Por medio de resistencia.....	12
2.4.3 Por medio químico.....	13
2.4.4 Por medio biológico.....	14
2.5 Métodos para evaluar resistencia.....	15
2.5.1 Incidencia natural.....	15
2.5.2 Inoculación artificial.....	16
2.5.3 Cuantificación de la resistencia.....	18
3. MATERIALES Y METODOS.....	19
3.1 Localización del experimento.....	19
3.2 Material experimental.....	22
3.3 Metodología.....	23
3.3.1 Experimentos de laboratorio.....	23
3.3.1.1 Aislamiento del patógeno.....	23
3.3.1.2 Determinación de la tasa de crecimiento..	23

	Página
3.3.1.3 Determinación de la agresividad.....	24
3.3.1.4 Anastomosis entre los aislamientos.....	24
3.3.2 Experimento de invernadero.....	25
3.3.2.1 Procedimiento.....	25
3.3.2.2 Tratamientos.....	26
3.3.2.3 Unidad experimental.....	26
3.3.2.4 Diseño experimental.....	26
3.3.2.5 Variables evaluadas.....	27
3.3.3 Experimento de campo.....	27
3.3.3.1 Procedimiento.....	27
3.3.3.2 Tratamientos.....	28
3.3.3.3 Unidad experimental.....	28
3.3.3.4 Diseño experimental.....	28
3.3.3.5 Manejo del experimento.....	29
3.3.3.6 Variables que se midieron.....	30
3.4 Análisis estadístico.....	31
4. RESULTADOS.....	32
4.1 Identificación de los aislamientos.....	32
4.1.1 Tasa de crecimiento.....	32
4.1.2 Grupos de anastomosis.....	33
4.1.3 Agresividad de los tres aislamientos.....	33
4.2 Evaluación de la resistencia en invernadero.....	35
4.2.1 Incidencia de mustia.....	35
4.2.2 Severidad de mustia.....	38
4.2.3 Interacción entre cultivares y concentraciones de inóculo.....	42
4.2.4 Efecto de tipos de inóculo.....	49
4.3 Evaluación de la resistencia en campo.....	51
4.3.1 Incidencia en parcelas y severidad de mustia.....	53
4.3.2 Incidencia en la planta y plantas muertas por mustia.....	55
4.3.3 Efecto de las concentraciones de inóculo sobre los componentes de rendimiento.....	58
4.4 Relación invernadero - campo.....	69

	Página
5. DISCUSION.....	73
5.1 Evaluación de la resistencia a mustia hilachosa.....	73
5.2 Característica de los aislamientos.....	81
6. CONCLUSIONES.....	84
7. RECOMENDACIONES.....	85
8. LITERATURA CITADA.....	86
9. APENDICE.....	91
ANEXO 1.....	92

Desarrollo de un método de evaluación de resistencia de cultivares de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) a mustia hilachosa en invernadero y campo.

Palabras claves: mustia hilachosa, *Thanatephorus cucumeris*, concentración micelio, concentración basidiosporas, cultivares de frijol, *Phaseolus vulgaris*, resistencia genética.

RESUMEN

La mustia hilachosa, causada por *Thanatephorus cucumeris* (Frank) Donk, es considerada como la principal enfermedad que limita la producción de frijol en áreas del trópico húmedo. Su combate por medio de resistencia genética junto con el uso de prácticas culturales adecuadas, podría constituir un sistema de combate integrado de la enfermedad.

La presente investigación se desarrolló en las instalaciones del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), Turrialba, Costa Rica. Se evaluó el efecto de tipos de inóculo (micelio y basidiosporas) y concentraciones de éstos sobre la reacción de cultivares de frijol a mustia hilachosa.

La metodología consistió de tres etapas: a) en el laboratorio se estudió la variabilidad entre los aislamientos del hongo colectados en diferentes cultivares de frijol en campos cercanos a Turrialba; b) en el invernadero se determinó la reacción de seis cultivares de frijol a diferentes concentraciones de inóculo de micelio y basidiosporas. Se inoculó plantas de frijol de 30 días de edad con 1.000 (10^3), 5.000 (5×10^3), 10.000 (10^4), 50.000 (5×10^4) y 100.000 (10^5) propágulos de micelio/ml (prop/ml) y basidiosporas/ml (bas/ml), respectivamente. Estas plantas, después de la inoculación fueron incubadas en cámaras con paredes de plástico y por medio de un humidificador se crearon las condiciones de

humedad para el desarrollo de la enfermedad; c) en campo, se inoculó plantas de frijol de 30 días con 1.000, 10.000 y 100.000 prop/ml en la época en que las condiciones climáticas son favorables para el desarrollo de la enfermedad. Sin embargo, debido a cambios climáticos, fue necesario suplementar con aplicación de riego por aspersión.

Se encontró una gran variabilidad entre los aislamientos de *T. cucumeris*. Esta variabilidad ha sido asociada con variaciones en virulencia y agresividad. En este estudio se observó una correlación entre tasa de crecimiento de los aislamientos en cultivo y su agresividad siendo el aislamiento de mayor tasa de crecimiento (23,1 mm/24 horas), el que causó lesiones más grandes en hojas de cultivares de frijol con diferentes grados de susceptibilidad.

En el invernadero, se obtuvo diferencias significativas entre las concentraciones en los tipos de inóculo de micelio y basidiosporas en la incidencia y la severidad. Al realizar la inoculación con micelio se encontró alta incidencia y severidad en los diferentes cultivares usados. Hubo una correlación entre las diferentes concentraciones de los dos tipos de inóculo, y la incidencia y severidad de la enfermedad. En el campo, la inoculación de cultivares de frijol con niveles crecientes de micelio de *T. cucumeris* resultó en un incremento en incidencia y severidad.

La clasificación de los cultivares en resistencia intermedia y susceptibles se basó principalmente en la severidad, dado que éste expresa mejor el daño que causa el hongo a los cultivares. Hasta el nivel de inóculo de 10^4 prop/ml, los cv 'Porrillo-70', 'Talamanca', 'Porrillo-Sintético' y 'Turrialba-4' tuvieron las más bajas incidencias y severidad. Su

reacción se debe probablemente, a que poseen uno o varios genes de resistencia que les confieren mecanismos que impiden o retrasan el desarrollo de *T. cucumeris*. Los cv 'R-27' e 'ICA-Pijao' tuvieron los más altos valores de severidad e incidencia debido probablemente a la ausencia o en menor cantidad de genes de resistencia.

Los resultados obtenidos indican que la inoculación con fragmentos de micelio permitió alcanzar alta incidencia y severidad en las plantas de los diferentes cultivares estudiados y se considera que es un método de inoculación relativamente simple con respecto a la inoculación con basidiosporas. Este método de evaluar resistencia a mustia utilizando diferentes concentraciones de micelio permite separar cultivares con diferentes grados de susceptibilidad y la concentración de 10^4 prop/ml permite mejor esta separación. A mayores concentraciones no es posible distinguir claramente la diferencia en susceptibilidad entre los cultivares.

Development of a method for evaluating bean cultivars (*Phaseolus vulgaris* L.) for resistance to web-blight in greenhouse and field.

Key words: Web-blight, *Thanatephorus cucumeris*, mycelium concentration, basidiospore concentration, bean cultivars, *Phaseolus vulgaris*, disease resistance.

SUMMARY

Web-blight, caused by *Thanatephorus cucumeris* (Frank) Donk, is considered a limiting factor for bean production in the humid tropics. The use of genetic resistance together with adequate cultural practices, could constitute a system of integrated control of the disease.

The present research was carried out at CATIE (Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza), in Turrialba, Costa Rica. The effect of concentration and types of inoculum (mycelium and basidiospores) on reaction of bean cultivars to web-blight was evaluated.

The methodology consisted of three stages: a) in the laboratory was studied the variability among the isolates of *T. cucumeris* collected from several bean cultivars in fields around Turrialba; b) in the greenhouse was determined the reaction of six bean cultivars to several inoculum concentrations of mycelium and basidiospores. Thirty day-old bean plants were inoculated with suspensions of 10^3 , 5×10^3 , 10^4 , 5×10^4 and 10^5 per ml for both mycelium fragments (prop/ml) and basidiospores (bas/ml). These plants were incubated in humid chamber which permits to maintain the humidity for the development of the disease; c) in the field, thirty day-old bean plants were inoculated with 10^3 , 10^4 and 10^5 mycelium fragments/ml when climatic conditions were suitable for the development of the disease. However, because of climatic changes, it was necessary to apply

sprinkling irrigation.

Variability was found among the isolates of *T. cucumeris*. This variability has been associated with variation in virulence and aggressiveness. In this study, growth rate of the isolates in culture was associated with aggressiveness, being the isolate with the fast growth rate (23.1 mm/24 hr) caused severe necrosis on leaves of bean cultivars with different susceptibility degrees.

In the greenhouse, significant differences were found between the concentrations in the types of inoculum (mycelium and basidiospores) for the incidence and severity. High incidence and disease severity was found in the different cultivars by the inoculation with mycelium. Incidence and disease severity were correlated with the several concentrations of the types of inoculum. In the field, the inoculation of bean cultivars with several mycelium densities of *T. cucumeris* result in an increase of incidence and disease severity.

The cultivars were classified in intermediate resistant and susceptible, based principally on the severity, which best express the damage that the fungus can cause in the cultivars. Up to the 10^4 mycelium fragments/ml concentration, the cultivars 'Porrillo-70', 'Talamanca', 'Porrillo-Sintético' and 'Turrialba-4' had the lowest incidence and severity. Their reaction is probably due to the fact that possess one or various genes of resistance, which slow down the development of *T. cucumeris*. The cultivars 'R-27' and 'ICA-Pijao' had the highest values of severity and incidence, probably due to the absence or small quantity of resistant genes.

The results obtained indicate that the use of mycelium fragment permitted to reach high incidence and disease severity in the bean plants studied, and is a simple inoculation method with regard to inoculation with basidiospores. This method for evaluating resistance to web-blight permits to separate cultivars with different susceptibility degrees and the 10^4 prop/ml concentration being the best for this separation. At higher concentrations, it wasn't possible to distinguish the resistant and susceptible cultivars.

LISTA DE CUADROS

<u>En el texto</u>	Página	
Cuadro N°		
1	Tasa de crecimiento, grupos de anastomosis y agresividad de aislamientos de <i>Thanatephorus cucumeris</i>	34
2	Incidencia de mustia, causada por <i>Thanatephorus cucumeris</i> , en seis cultivares de frijol inoculados con cinco concentraciones de micelio (M) y basidiosporas (B) en el invernadero.....	37
3	Severidad de mustia en seis cultivares de frijol inoculados con cinco concentraciones de micelio (M) y basidiosporas (B) de <i>Thanatephorus cucumeris</i> en el invernadero.....	40
4	Peso de 100 granos (P. 100) en gramo y granos por vaina (G/v) en seis cultivares de frijol inoculados con tres concentraciones de micelio de <i>Thanatephorus cucumeris</i> . Promedio de cuatro repeticiones.....	64
<u>En el Apéndice</u>		
1A	Promedio de temperatura (°C) y humedad relativa (%) durante el período del experimento en invernadero...	94
2A	Datos meteorológicos promedios de varios años, en CATIE, Turrialba, Costa Rica.....	95
3A	Datos meteorológicos promedios durante el período del ensayo en campo, La Montaña.....	96
4A	Incidencia (porcentaje de la planta afectada) de mustia, causada por <i>Thanatephorus cucumeris</i> en seis cultivares de frijol inoculados con cinco concentraciones de micelio (M) y basidiosporas (B) en el Invernadero. Muestra 1.....	97
5A	Severidad de mustia, causada por <i>Thanatephorus cucumeris</i> , en seis cultivares de frijol inoculado con cinco concentraciones de micelio (M) y basidiosporas (B) en el invernadero. Muestra 1.....	98
6A	Incidencia (porcentaje de la planta) de mustia, causada por <i>Thanatephorus cucumeris</i> , en seis cultivares de frijol inoculados con cinco concentraciones de micelio (M) y basidiosporas (B) en el invernadero. Muestra 2.....	99

7A	Severidad de mustia, causada por <i>Thanatephorus cucumeris</i> , en seis cultivares de frijol inoculados con cinco concentraciones de micelio (M) y basidiosporas (B) en el invernadero. Muestra 2.....	100
8A	Incidencia (porcentaje de la planta afectada) de mustia, causada por <i>Thanatephorus cucumeris</i> , en seis cultivares de frijol inoculados con cinco concentraciones de micelio (M) y basidiosporas (B) en el invernadero. Muestra 3.....	101
9A	Severidad de mustia, causada por <i>Thanatephorus cucumeris</i> , en seis cultivares de frijol inoculados con cinco concentraciones de micelio (M) y basidiosporas (B) en el invernadero. Muestra 3.....	102
10A	Incidencias (IPA, IPL), severidad (S) y plantas muertas (PM) por mustia, causada por <i>Thanatephorus cucumeris</i> , en seis cultivares de frijol inoculados con tres concentraciones de micelio. Muestra 1.....	103
11A	Incidencias (IPA, IPL), severidad (S) y plantas muertas (PM) por mustia, causada por <i>Thanatephorus cucumeris</i> , en seis cultivares de frijol inoculados con tres concentraciones de micelio. Muestra 2.....	104
12A	Incidencia (IPA, IPL), severidad (S) y plantas muertas (PM) por mustia, causada por <i>Thanatephorus cucumeris</i> , en seis cultivares de frijol inoculados con tres concentraciones de micelio. Muestra 3.....	105
13A	Cuadrados medios de incidencia y severidad en seis cultivares de frijol inoculados con cinco concentraciones de micelio y basidiosporas de <i>Thanatephorus cucumeris</i> en el invernadero.....	106
14A	Matriz de correlación entre las variables evaluadas en seis cultivares de frijol inoculados con cinco concentraciones de micelio y basidiosporas de <i>Thanatephorus cucumeris</i> en el invernadero.....	107
15A	Cuadrados medios de incidencia, severidad y plantas muertas en seis cultivares de frijol inoculados con tres concentraciones de micelio de <i>Thanatephorus cucumeris</i>	108

16A	Incidencia (porcentaje de plantas/parcela, IPA) y severidad (S) de mustia, causada por <i>Thanatephorus cucumeris</i> , en seis cultivares de frijol inoculados con tres concentraciones de micelio. Promedio de cuatro repeticiones.....	109
17A	Incidencia (porcentaje de la planta afectada; IPL) y plantas muertas (PM) por mustia, causada por <i>Thanatephorus cucumeris</i> , en seis cultivares de frijol inoculados con tres concentraciones de micelio. Promedio de cuatro repeticiones.....	110
18A	Cuadrados medios de los componentes de rendimiento en seis cultivares de frijol inoculados con tres concentraciones de micelio de <i>Thanatephorus cucumeris</i>	111
19A	Rendimiento (REND) en kg/ha y vainas por planta (V/p) en seis cultivares de frijol inoculados con tres concentraciones de micelio de <i>Thanatephorus cucumeris</i> . Promedio de cuatro repeticiones.....	112
20A	Número de vainas con manchas (MV) y tamaño de manchas (TM) de mustia, causada por <i>Thanatephorus cucumeris</i> en seis cultivares de frijol inoculados con tres concentraciones de micelio. Promedio de cuatro repeticiones.....	113
21A	Matriz de correlación entre las variables evaluadas en seis cultivares de frijol inoculados con tres concentraciones de micelio de <i>Thanatephorus cucumeris</i> .	114

LISTA DE FIGURAS

Figura N°		Página
1	Temperatura y humedad relativa registradas en cámaras con plástico durante el período del experimento. 27 de diciembre de 1986 a 15 enero de 1987, en el invernadero.....	20
2	Humedad relativa, temperatura y precipitación registradas durante el experimento, en períodos de 10 días del 20 de setiembre al 30 de diciembre de 1986, en campo, La Montaña.....	21
3	Incidencia y severidad de mustia causada por <i>Thanatephorus cucumeris</i> en seis cultivares de frijol inoculados con micelio (M) y basidiosporas (B) a la concentración de 10^3 /ml en el invernadero. Promedio de cuatro repeticiones.....	43
4	Incidencia y severidad de mustia causada por <i>Thanatephorus cucumeris</i> en seis cultivares de frijol inoculados con micelio (M) y basidiosporas (B) a la concentración de 5×10^3 /ml en el invernadero. Promedio de cuatro repeticiones.....	45
5	Incidencia y severidad de mustia causada por <i>Thanatephorus cucumeris</i> en seis cultivares de frijol inoculados con micelio (M) y basidiosporas (B) a la concentración de 10^4 /ml en el invernadero. Promedio de cuatro repeticiones.....	46
6	Incidencia y severidad de mustia causada por <i>Thanatephorus cucumeris</i> en seis cultivares de frijol inoculados con micelio (M) y basidiosporas (B) a la concentración de 5×10^4 /ml en el invernadero. Promedio de cuatro repeticiones.....	48
7	Incidencia y severidad de mustia causada por <i>Thanatephorus cucumeris</i> en seis cultivares de frijol inoculados con micelio (M) y basidiosporas (B) a la concentración de 10^5 /ml en el invernadero. Promedio de cuatro repeticiones.....	50
8	Incidencia (A) y severidad (B), (en promedio) de mustia, causada por <i>Thanatephorus cucumeris</i> en los seis cultivares de frijol inoculados con cinco concentraciones de micelio y basidiosporas en el invernadero.....	52

Figura N°		Página
9	Incidencia (% planta/parcela) de mustia causada por <i>Thanatephorus cucumeris</i> en seis cultivares de frijol inoculados con tres concentraciones de micelio.....	54
10	Severidad de mustia causada por <i>Thanatephorus cucumeris</i> en seis cultivares de frijol inoculados con tres concentraciones de micelio.....	56
11	Incidencia (% de hojas afectadas/planta) por mustia causada por <i>Thanatephorus cucumeris</i> en seis cultivares de frijol inoculados con tres concentraciones de micelio. Promedio de cuatro repeticiones.....	57
12	Plantas muertas por mustia causada por <i>Thanatephorus cucumeris</i> en seis cultivares de frijol inoculados con tres concentraciones de micelio.	
13	Rendimiento en kg/ha en seis cultivares de frijol inoculados con tres concentraciones de micelio de <i>Thanatephorus cucumeris</i> . Promedio de cuatro repeticiones.....	61
14	Número de vainas por planta en seis cultivares de frijol inoculados con tres concentraciones de micelio de <i>Thanatephorus cucumeris</i> . Promedio de cuatro repeticiones.....	62
15	Número de vainas con manchas de mustia, causada por <i>Thanatephorus cucumeris</i> en seis cultivares de frijol inoculados con tres concentraciones de micelio. Promedio de cuatro repeticiones.....	65
16	Tamaño de manchas (%) de mustia en vainas, causada por <i>Thanatephorus cucumeris</i> en seis cultivares de frijol inoculados con tres concentraciones de micelio. Promedio de cuatro repeticiones.....	67
17	Incidencia (% de hojas afectada/planta) de mustia, causada por <i>Thanatephorus cucumeris</i> en seis cultivares de frijol inoculados con tres concentraciones de micelio en el invernadero y campo.....	70
18	Severidad (1-9) de mustia, causada por <i>Thanatephorus cucumeris</i> , en seis cultivares de frijol inoculados con tres concentraciones de micelio en invernadero y campo.....	71

1. INTRODUCCION

El frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) ha sido cultivado en América Latina y el Caribe desde hace muchos siglos bajo condiciones diversas, de lo cual ha resultado la selección y desarrollo de una enorme variedad de genotipos con características muy diferentes. Es un cultivo de importancia en la dieta humana por su contenido de proteína, especialmente para las familias de bajos ingresos en América Latina (26). En el período 1973-1975, la producción anual de este cultivo en América Latina promedió 4,705 millones de toneladas (12). Sin embargo, la producción no ha guardado ritmo con el crecimiento de la población. Como consecuencia, el consumo de frijol en la mayoría de los países latinoamericanos ha bajado vertiginosamente y los precios han aumentado marcadamente.

Entre los factores que afectan la producción de este cultivo, las enfermedades han sido consideradas de gran importancia. La mustia hila-chosa, causada por *Thanatephorus cucumeris* (Frank) Donk (estado perfecto de *Rhizoctonia solani* Kühn), es considerada como la principal enfermedad que limita la producción de frijol en áreas del trópico húmedo donde puede ocasionar la pérdida total del cultivo (24, 26).

Se han desarrollado varias investigaciones sobre el combate de la enfermedad. Las medidas de control incluyen prácticas culturales como rotación con cultivos no susceptibles, destrucción de los restos de cosecha y el uso de semilla libre del patógeno (26). Debido a que *T. cucumeris* es un patógeno agresivo, estas prácticas de combate no han sido efectivas. Las prácticas como cero labranza y/o el uso de coberturas, ayudan

a combatir la enfermedad al reducir el salpique sobre el follaje. Aplicaciones foliares de fungicidas sistémicos han sido recomendadas (34, 44, 49) pero han sido poco efectivas bajo condiciones favorables para el desarrollo de la enfermedad.

Una de las alternativas económicas de combate de la mustia es la siembra de materiales resistentes. Se han realizado varios estudios (14, 41) en los cuales se ha evaluado una serie de cultivares con el fin de determinar el grado de resistencia a la mustia. Estos trabajos llevados en campo bajo condiciones de inoculación natural podrían dar lugar a escapes pues no se conoce el nivel de inóculo bajo el cual se está trabajando. La severidad de la enfermedad aumenta con el incremento de la densidad de inóculo (6). Se han realizado trabajos para evaluar los efectos de concentración de inóculo sobre resistencia en algunos cultivos. Warren (58) encontró que densidades de inóculo de *R. solani* afecta la severidad de la pudrición de hipocótilo en cultivares susceptibles y resistentes de frijol. Por este motivo, es necesario desarrollar a nivel de campo e invernadero una metodología que permita evaluar en forma rápida y confiable la resistencia de algunos cultivares de frijol a *T. cucumeris* y conocer la estabilidad de la resistencia que se ha observado en algunos de los materiales evaluados en campo.

Por lo anterior, se desarrolló el presente estudio con el objetivo de:

- Desarrollar un método simple, rápido y confiable de inoculación para determinar las diferencias en susceptibilidad a *T. cucumeris* entre cultivares de frijol.

-Determinar el nivel de inóculo del patógeno adecuado en un programa de mejoramiento para resistencia a mustia hilachosa.

2. REVISION DE LITERATURA

2.1 Características de la enfermedad

La mustia hilachosa es una enfermedad considerada como uno de los principales factores limitantes de la producción de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en las zonas del trópico húmedo. Esta enfermedad se conoce también bajo otros nombres como telaraña, quema, chasparria, "rhizoctonia del follaje", "requema", "murcha de teia micelica", "podrido das vagens" y en países de habla inglesa recibe el nombre de "web-blight" (24, 26, 59).

2.1.1 Origen y distribución geográfica

Esta enfermedad fue observada por primera vez en 1921 en Puerto Rico y desde entonces, se ha identificado su presencia en los Estados Unidos, Japón, Filipinas, Birmania y Ceilan en las plantaciones de frijol común y otras especies de plantas (1, 59).

Posteriormente, su presencia ha sido señalada en otros países, entre ellos Brasil, Argentina, Costa Rica, Colombia, Ecuador, Guatemala, El Salvador, Méjico y Panamá (9, 15, 47).

2.1.2 Importancia económica

La mustia adquiere cada día mayor importancia económica debido al desplazamiento del cultivo de frijol en varios países a las zonas bajas húmedas y a que es una enfermedad epidémica durante las épocas

húmedas, de lluvias intensas y temperaturas altas, en las zonas tropicales de elevaciones bajas e intermedias (24, 26).

Las pérdidas producidas por esta enfermedad pueden ser cuantiosas en áreas con condiciones favorables para su desarrollo, por la defoliación severa que produce y por la rápida destrucción de las plantas atacadas en el término de una o dos semanas (15, 24, 26, 59). Por ejemplo, en el segundo semestre de 1980 ocurrieron pérdidas de 90 por ciento en una área aproximada de 2.240 hectáreas en la zona de Guanacaste, Costa Rica (24). También en Florida, Estados Unidos, se han observado durante varios años pérdidas del 90 por ciento en la cosecha de varios campos que han sido afectados por la mustia hilachosa (59).

2.1.3 Sintomatología y signos

Los síntomas iniciales de la enfermedad son indicados por la presencia de pequeñas manchas de apariencia acuosa de 1-3 cm de diámetro sobre cualquier porción de follaje. Estas lesiones, a medida que van creciendo se tornan café, delimitadas por un borde más oscuro. Posteriormente, las manchas coalescen y cubren grandes áreas de la hoja. En condiciones favorables, las hifas crecen de áreas infectadas a otras partes de la planta uniéndolas con una telaraña de micelio (15, 59).

Los síntomas pueden aparecer sobre las vainas en cualquier estado de desarrollo. La infección en las vainas jóvenes se manifiesta como manchas pequeñas de forma irregular y de color café claro, las cuales pueden coalescer causando la destrucción de la vaina. Cuando el hongo infecta vainas ya formadas, éstas pueden completar su desarrollo pero las

semillas pueden ser infectadas, convirtiéndose en una fuente importante de inóculo primario (24, 59).

Se ha observado la iniciación de infecciones en el frijol por medio de basidiosporas (17, 35, 56). Echandi (17) observó las lesiones causadas por basidiosporas de *T. cucumeris*, como pequeñas manchas necróticas, circulares y de color café con centro más claro. En condiciones de alta humedad, las manchas coalescen y forman lesiones grandes cubriendo la hoja entera y extendiéndose sobre otras partes de las plantas. Echandi (17) también sugirió que la diseminación rápida de la mustia del frijol en condiciones de altas temperaturas y humedad puede ser explicada por la eficiente producción y diseminación de basidiosporas.

Los signos de la mustia se caracterizan por la presencia de esclerocios pequeños de color café que se forman después de ocurrida la infección. Cuando el tiempo es húmedo, las hifas crecen rápidamente sobre tejido de hojas, pecíolos y vainas cubriendo gradualmente la planta con un micelio en forma de telaraña (42, 47, 59).

Los esclerocios germinan durante los períodos de condiciones ambientales favorables para el desarrollo del hongo, mediante la producción de hifas que se ramifican profusamente hasta entrar en contacto con el tejido del hospedero, donde forman un cojinete o estructura de infección, para después penetrar directamente o a través de los estomas (11, 16).

2.2 El organismo causal

2.2.1 Distribución y ámbito de hospederos

El hongo causal de la mustia hilachosa, *T. cucumeris*, es homotálico y en su fase imperfecta, conocida como *Rhizoctonia solani* Kühn, es un hongo habitante del suelo, responsable de "damping-off" y pudrición radical de muchas especies de plantas en las regiones templadas y tropicales del mundo (21, 59). El hongo ha recibido varios nombres, entre ellos, *Rhizoctonia microsclerotia*, *Corticium microsclerotia*, *Pellicularia filamentosa*. La denominación actualmente aceptada es *T. cucumeris* (17, 19, 35).

T. cucumeris es conocido por causar enfermedades severas en condiciones de altas temperaturas y humedad sobre una variedad de cultivos. Casi doscientas especies de plantas sirven como hospedero, entre ellas el frijol (*P. vulgaris*), la remolacha (*Beta vulgaris* L.), la soya (*Glycine max* L. Merr.), el algodón (*Gossypium hirsutum* L.) el tabaco (*Nicotiana tabacum* L.), el repollo (*Brassica oleracea* var. *Capita* L.), la higuera (*Ficus carica* L.) la papa (*Solanum tuberosum* L.), la lechuga (*Lactuca sativa* L.) y varios otros cultivos y malezas (1, 42, 60).

2.2.2 Etiología

El hongo *T. cucumeris* pertenece a la clase de los basidiomicetos. Para la identificación del hongo, se considera generalmente las características vegetativas de su estado imperfecto (*R. solani*) y la formación de las estructuras sexuales, las basidiosporas.

Bajo condiciones *in vitro*, el hongo crece en medios de cultivo desde bajo a alto contenido de nutrimentos (3, 32). Sobre agar, *R. solani* produce hifas de 6 - 12 μ de ancho, ramificando casi en ángulo recto y presenta un septo inmediatamente después del punto de ramificación. Las ramificaciones presentan una constricción en la base. El micelio, hialino al inicio, se torna café a medida que madura, desarrollando esclerocios sobre la superficie del agar que son irregulares en forma o pueden ser agrupados (25, 45). La presencia del aparato septal doliporo y células multinucleares en las hifas jóvenes, son condiciones para caracterizar el hongo donde el estado perfecto no puede ser obtenido (45).

El hongo crece rápidamente bajo luz continua, indirecta o intermitente y algunos aislamientos en 36 a 48 horas cubren la superficie de un plato de petri a una temperatura de incubación entre 26 - 30°C sobre la mayoría de los medios artificiales utilizados en laboratorio (54, 59).

La formación del estado perfecto se puede inducir *in vitro* (3, 19, 53). Los métodos involucran la transferencia del hongo de un medio nutritivo a otro de bajo contenido de nutrientes, con una temperatura entre 20 - 30°C, humedad relativa entre 40 - 60 por ciento, aireación adecuada y períodos variables de exposición a la luz. En condiciones de campo, el estado perfecto se forma cuando hay suficiente humedad y tiene el aspecto de un mildiú fino que se desarrolla sobre el suelo y sobre hojas y tallos infectados (54).

Los basidios tienen forma de barril, se forman sobre una capa membranosa de micelio y tienen cuatro esterigmas que llevan una basidiospora cada uno. Los basidios miden 12 - 18 μ de longitud por 8 - 10 μ de

ancho. Las basidiosporas son ovaladas, hialinas con paredes delgadas de 9 - 11 μ de longitud por 4 - 7 μ de ancho (19, 59).

Se presenta una gran variación patogénica entre los aislamientos de *T. cucumeris* obtenidos de cultivos específicos y se ha encontrado que algunos aislamientos son patogénicos a muchos cultivos, mientras otros solamente a algunos (21, 31). La anastomosis entre aislamientos de *R. solani* ha sido utilizado como una indicación de la relación entre los aislamientos del hongo. Se ha encontrado que los grupos de anastomosis (AG) difieren en apariencia del cultivo, tasa de crecimiento y patogenicidad (8, 46, 50). Siete grupos de anastomosis (AG) de *R. solani* han sido encontrados. Con la excepción de AG-B-₁, los grupos son genéticamente aislados y difieren uno de otro en patogenicidad y ámbito de hospederos (7, 46). Adams (2) informó que todos los grupos tienen varios antígenos en común y otros como AG-2, AG-3 y AG-5 tienen por lo menos un antígeno específico. Galindo (24) indicó que la mayoría de aislamientos que causan la mustia hilachosa en Costa Rica caen en el grupo AG-2.

2.3 Epidemiología

El hongo produce esclerocios, micelio y basidiosporas los cuales son estructuras que sirven como fuente de inóculo. Esclerocios y micelio sobre los restos de cosecha o libres en el suelo fueron encontrados como las principales fuentes de inóculo del hongo causando la mustia hilachosa en Costa Rica (24, 43).

El proceso de infección empieza cuando, por efecto de la lluvia, el suelo infestado de micelio o esclerocios del hongo es salpicado hacia

los tejidos de la planta, o cuando, por efecto del viento especialmente, las basidiosporas son depositadas sobre el follaje (24). El proceso de penetración del hongo varía según las estructuras en el cual se inicie la infección (pecíolos, tallos, hojas). Flentje (20) ha establecido la teoría que las hifas responden a un estímulo de contacto sobre la superficie para adherir al hospedero, se desarrollan en un cojín de infección y penetran el hospedero por presión mecánica. En otros estudios (16) se ha informado que las hifas del hongo penetran directamente el tejido o algunas veces por los estomas. Poco después de la penetración, los primeros síntomas de la enfermedad se hacen visibles.

De la infección primaria, la enfermedad puede incrementarse, cuando los esclerocios son producidos en grandes números en períodos cortos bajo condiciones favorables. En una misma planta, la enfermedad progresa por la infección de nuevos tejidos, sea por crecimiento de hifas de tejidos infectados o por inoculación adicional de salpicaduras de lluvia. La infección de planta a planta ocurre por crecimiento directo de hifas desde tejidos previamente infectados. Bajo condiciones de altas temperaturas y humedad, las basidiosporas constituyen inóculo secundario que provocan nuevas infecciones. La prevalencia de la enfermedad es afectada muy poco por la edad de las plantas (24, 59).

El viento, la lluvia, el agua de riego son los medios naturales de diseminación del hongo, sin embargo los esclerocios pueden ser también diseminados por medios mecánicos durante el cultivo, por animales y herramientas. En áreas con períodos prolongados de alta humedad y temperatura por encima de 23°C, se observó una mayor incidencia y severidad de la

mustia hilachosa. Las lluvias prolongadas proveen las condiciones de humedad que favorecen el desarrollo de la enfermedad y son la causa del salpicado del inóculo del suelo al follaje. Por el contrario, durante los períodos secos se restringe la incidencia y el desarrollo posterior de la enfermedad. La población del hongo se incrementa conforme se prolonga la estación lluviosa, durante el período con el cultivo del frijol en el campo y parece estar correlacionada con la incidencia y severidad de la enfermedad (24).

2.4 Medidas de combate

El control de la mustia hilachosa incluye varios métodos los cuales aplicados en forma separada no han podido controlar la enfermedad en forma efectiva debido a la agresividad del organismo causal, *T. cucumeris* (24).

2.4.1 Por prácticas culturales

Por ser el suelo infestado con esclerocios y/o micelio la fuente principal de inóculo, las medidas de combate han sido dirigidas a reducir la concentración de estas estructuras en el suelo. La incidencia y severidad de la mustia son más altas en sistemas de cultivos donde el frijol es sembrado en suelos infestados que están sueltos por efecto de la preparación del suelo.

Se ha utilizado con éxito el sistema de "cero labranza" y/o el uso de cobertura. Estas prácticas previenen el salpique de suelo infestado de esclerocios sobre el follaje, reduciendo la incidencia y severidad

de la enfermedad (24, 26). Galindo (26) observó que una capa de cascarrilla de arroz de aproximadamente 2,5 cm de espesor redujo en gran parte el salpique de inóculo y disminuyó la severidad de la enfermedad.

En Costa Rica, la práctica de producción denominada "frijol tapado", en la cual las semillas se distribuyen al voleo sobre el suelo con vegetación, la cual más tarde se corta y usa como cobertura, fue también efectiva en la reducción de incidencia y severidad de la enfermedad por reducir el salpique, pero los rendimientos obtenidos fueron muy bajos (54).

Otras prácticas de cultivo que se consideran efectivas para reducir la incidencia de la enfermedad son: a) la siembra de semillas libres de contaminación interna o externa; b) la eliminación de restos de cosecha infestados; c) la rotación con cultivos no hospedantes (gramíneas en general) pues el cultivo continuo en un mismo campo favorece un aumento considerable en el número de propágulos de *T. cucumeris*; d) la siembra del cultivo para evitar las épocas de mayor precipitación e) la siembra en surcos espaciados que aumenta la circulación del aire y evita ciertas condiciones microclimáticas favorables para el desarrollo del hongo.

2.4.2 Por medio de resistencia

La utilización de la resistencia genética constituye un componente importante en el sistema de combate de las enfermedades de plantas. Se entiende por resistencia "la cualidad congénita de ciertos individuos de limitar en mayor o menor grado los perjuicios debidos a la

invasión por determinados parásitos". Puede definirse también como "la habilidad de un organismo para resistir u oponerse a la acción del patógeno o disminuir e incluso prevenir sus efectos perjudiciales" (18).

Las variedades difieren en su respuesta a la infección ocasionada por el hongo causal de la mustia hilachosa, puesto que las variedades susceptibles secretan sustancias químicas que estimulan la formación de los cojinetes de infección. Las variedades resistentes aparentemente no producen estos compuestos (54).

Algunos cultivares o líneas como, 'Porrillo 1', 'Turrialba 1', 'BAT 1235', 'BAT 1061', 'BAT 1444', 'Talamanca' y 'S-6308' han sido destacados como cultivares promisorios (30).

En trabajos realizados en Esparza, Costa Rica (13) se ha identificado que las líneas 'HT 7716', 'BAT 1636', 'HT 7719' y el cv 'Porrillo-70' presentaron buenos niveles de resistencia a la mustia y este nivel de resistencia ha sido incorporado a varias líneas de frijol.

Sin embargo hasta el momento no se tiene conocimiento de variedades con un alto grado de resistencia o inmunidad (26).

2.4.3 Por medio químico

Las aplicaciones foliares de fungicidas han sido recomendadas para disminuir la incidencia de la enfermedad (36, 44, 49). Sin embargo, el uso de químicos, además de su costo y su efecto sobre el

ambiente, cuando los niveles de inóculo son altos y las condiciones del tiempo favorecen el desarrollo de la enfermedad, no han sido efectivos (26, 36).

Oyekan (44) encontró que la incidencia de la mustia en cowpea ha sido reducida efectivamente con aplicación foliar de captafol a una tasa de 1,64 kg de ingredientes activos por hectárea, o con oxycarboxin a 0,16 kg i.a. por hectárea. En otro estudio, Sánchez (49) indicó que el maneb brinda el mayor grado de protección cuando se aplica al follaje (0,45 kg por 100 gl de agua) dos veces a intervalos de quince días tan pronto se observaron los primeros síntomas.

Entre los fungicidas aplicados para el control del hongo en el suelo, pentacloro nitrobenzeno ha sido altamente efectivo en la reducción de "damping - off" aún en suelo severamente infestado por el patógeno (40). Benomyl ha sido también encontrado como capaz de dar protección contra la infección por *T. cucumeris* cuando fue aplicado en tratamiento de semillas y al follaje (36).

.

2.4.4 Por medio biológico

El control biológico involucra la reducción de una enfermedad por uno o más organismos vivos diferentes al hospedero (34). Las categorías de antagonismo son antibiosis, competición y explotación, siendo el último por predación o parasitismo directo. Recientemente, se ha renovado el interés en un sistema de control biológico, en el cual el hospedero es inoculado con una cepa no patogénica o de baja virulencia (10).

En el caso de la mustia hilachosa, trabajos específicos relacionados con el control biológico no han sido encontrados. Sin embargo, estudios (10, 29) han notado la supresión de "damping-off" causado por *R. solani* utilizando cepas no patogénicas e hipovirulentas.

Ichielevich-Auster (29) observó que un aislamiento no patogénico ha suprimido "damping-off" en algodón causado por cepas virulentas de *R. solani* de 76 al 94 por ciento.

Ensayos *in vitro* realizados por Castanho (10) utilizando semillas de repollo, han mostrado que la coinoculación con cepas hipovirulentas y virulentas de *R. solani* redujo el porcentaje de semillas muertas. También el uso del antagonista, *Trichoderma* sp. en el suelo, reduce la actividad y la cantidad de *R. solani* saprofítico del suelo (34).

2.5 Métodos para evaluar resistencia

2.5.1 Incidencia natural

En varios países donde apareció la enfermedad, se observó diferencia en susceptibilidad en los materiales genéticos sembrados. Es probable que la arquitectura de la planta de frijol sea un factor importante a considerar en la resistencia a la enfermedad (24, 26).

En trabajos realizados en años recientes (13, 22, 41) se encontraron diferencias en la respuesta de algunos cultivares a la mustia hilachosa.

Estudios realizados por el Ministerio de Agricultura y Ganadería de Costa Rica con la colaboración de CIAT, han señalado algunos cultivares resistentes (14). Quince conjuntos del Vivero Internacional de Mustia Hilachosa (VIM) con los mejores materiales resistentes, fueron evaluados en Costa Rica, México, Guatemala, El Salvador, Nicaragua, Panamá y Colombia. De la evaluación del VIM se destacaron el comportamiento de cultivares y líneas como 'Porrillo 70', 'Talamanca', 'BAT 1636', 'BAT 1544' (13, 14). También se ha encontrado que varias líneas identificadas como resistentes en Colombia donde el tipo de inóculo de basidiosporas es abundante, fueron también resistentes en Esparza, Costa Rica con inóculo de tipo esclerocios y/o micelio. Sin embargo, el comportamiento de las distintas líneas varía considerablemente de un año a otro o de una localidad a otra (20), probablemente porque las condiciones ambientales y de cantidad y calidad de inóculo no son uniformes a través de las pruebas.

La evaluación de la resistencia a nivel de campo con frecuencia se dificulta debido a la distribución irregular del inóculo o debido a la severidad de las infecciones tempranas que resultan en una cantidad excesiva del inóculo que supera a cualquier resistencia que puede estar presente en el germoplasma evaluado.

2.5.2 Inoculación artificial

Weber (59), utilizando trozos de agar con micelio, inoculó hojas y yemas terminales de varias plantas. Las plantas inoculadas fueron infectadas y observó poca variación en la expresión de síntomas de la enfermedad sobre plantas de una misma variedad. Sin embargo, notó

variación considerable en la expresión de síntomas entre cultivares.

Echandi (17) realizó experimentos inoculando yemas terminales y hojas de plantas de frijol con gotas de una suspensión de basidiosporas. De lo anterior, obtuvo diferencias en el número de lesiones en hojas primarias y secundarias por planta.

Galindo (24), inoculando hojas de frijol con discos de agar con micelio de diferentes aislamientos de *T. cucumeris*, encontró diferencias en la virulencia de los aislamientos.

En otros trabajos (37, 39, 48) se han evaluado la resistencia de cultivares de frijol a la infección del hipocótilo y de la raíz causada por *R. solani*.

Moody (39), inoculando hipocótilos de siete días de 149 cultivares de frijol con discos de micelio, obtuvo un promedio de lesiones de 3 mm^2 para el cultivar resistente, mientras que la lesión fue $64,4 \text{ mm}^2$ para el más susceptible.

Prasad (48) identificó cultivares de frijol con diferentes reacciones a "damping-off" y formación de lesiones sobre hipocótilo, inoculando semillas de frijol con una suspensión de micelio de *R. solani* en cámara húmeda y en plántulas que crecieron en suelo infestado con *R. solani*.

En estudios realizados para determinar el efecto de concentración de inóculo sobre la severidad de la pudrición de hipocótilo causada por *R. solani*, Mc Coy (38) encontró una relación lineal entre la severidad de la enfermedad, en plantas de arveja (*Pisum sativum* L.) y concentración de inóculo hasta 20 esclerocios por gramo de suelo. También Warren (58)

observó diferencias entre cultivares de frijol en la expresión de "damping-off" cuando fueron sembrados en suelo infestado con concentraciones crecientes de micelio de *R. solani*.

2.5.3 Cuantificación de la resistencia

Weber (59), para cuantificar la reacción a *R. solani* y tanto con inóculo natural como artificial, utilizó el criterio de incidencia. Sánchez (49) utilizó una escala de seis grados de 0 a 5, para indicar el porcentaje de hojas afectadas en una planta.

Sneh (52) consideró que el índice de enfermedad o severidad es más conveniente que el criterio de porcentaje de plantas enfermas debido a que este índice ilustra mejor el efecto del patógeno por integrar ambos la prevalencia y la virulencia del hongo.

Galindo (24), para medir la severidad de mustia en plantas de frijol, utilizó una escala de seis grados de 0 a 5. Una calificación de 0 refiere a hojas sanas mientras que el grado 5 indica 100 por ciento de tejido de hoja afectado.

Actualmente, se utiliza una escala internacional de nueve grados, 1 a 9, para medir la severidad de la enfermedad (54).

3. MATERIALES Y METODOS

3.1 Localización del experimento

El trabajo se llevó a cabo en el Laboratorio de Fitopatología del Departamento de Producción Vegetal del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, CATIE, y en el invernadero de la sección de Cultivo de Tejidos del Centro, en cámaras húmedas con plástico transparente.

Las temperaturas medias, máxima y mínima dentro de las cámaras durante el experimento fueron 28,9 y 24,3 °C, respectivamente, y la humedad relativa, media general y mínima fueron 84,4 y 68,7 por ciento (Figura 1, Cuadro 1A).

El trabajo de campo se llevó a cabo en la finca experimental "La Montaña" del CATIE, Turrialba, Costa Rica, ubicada a 602 m.s.n.m., con 9°53' de latitud Norte y 83°38' de longitud Oeste. La precipitación promedio anual es de 2.632 mm, las temperaturas medias, máxima y mínima de 27,0 y 17,8°C y la humedad relativa media general y mínima de 87,6 y 59,0 por ciento, respectivamente (Cuadro 2A). Los datos climáticos durante el período del ensayo en campo indican un promedio de temperatura de 23,5°C y 87,9 por ciento de humedad (Figura 2, Cuadro 3A).

La mayor parte del valle de Turrialba pertenece a la zona de vida llamada "Bosque Muy Húmedo Premontano", según la clasificación de zonas de vida de Holdridge (28), cuyas características principales están determinadas por una precipitación anual de 2.000 a 4.000 mm y una temperatura media anual comprendida entre 12 y 24°C.

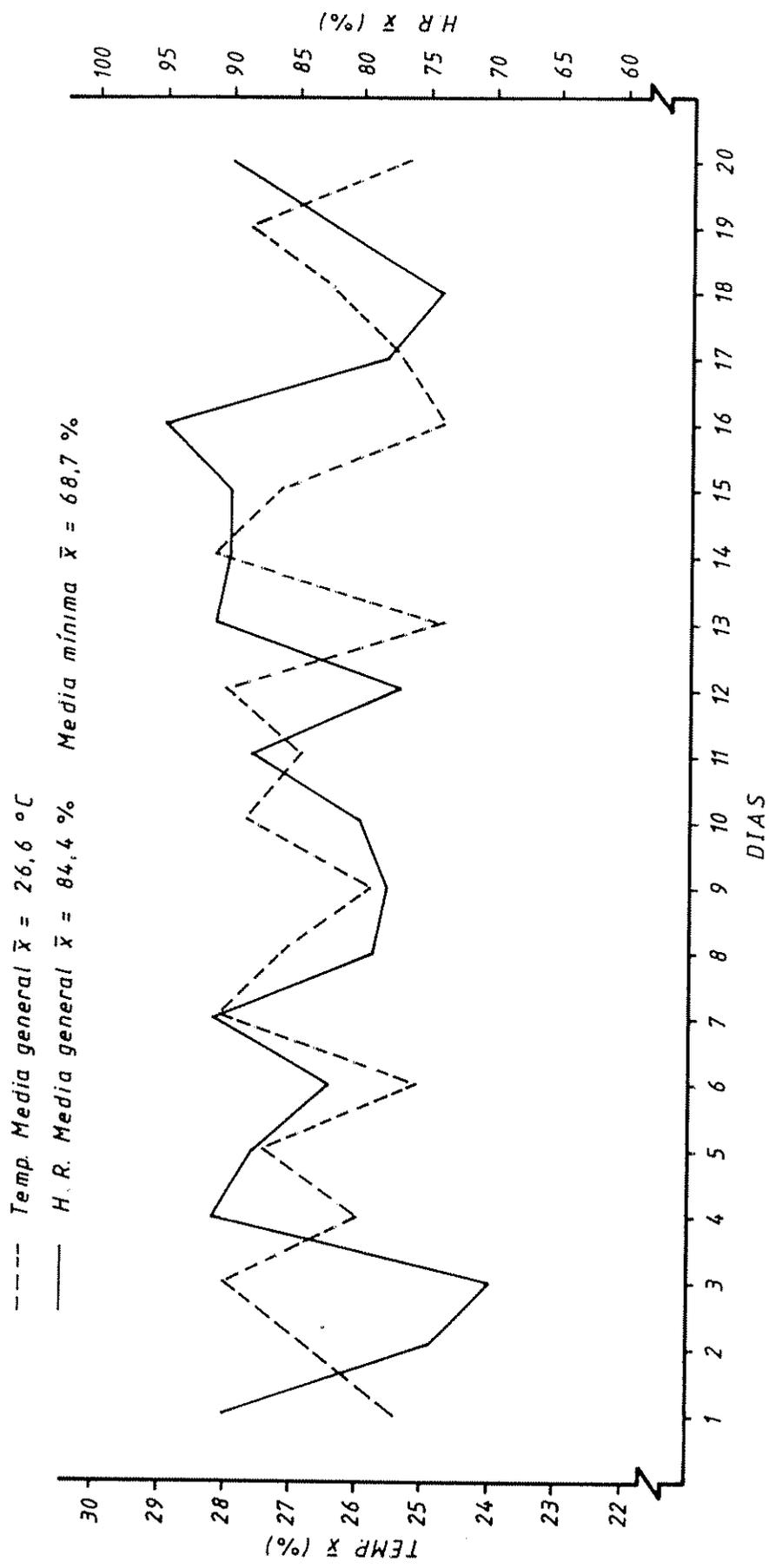


Figura 1. Temperatura y humedad relativa registradas en cámaras con plástico durante el período del experimento, 27 de diciembre de 1986 a 15 de enero de 1987, en el invernadero, CATIE.

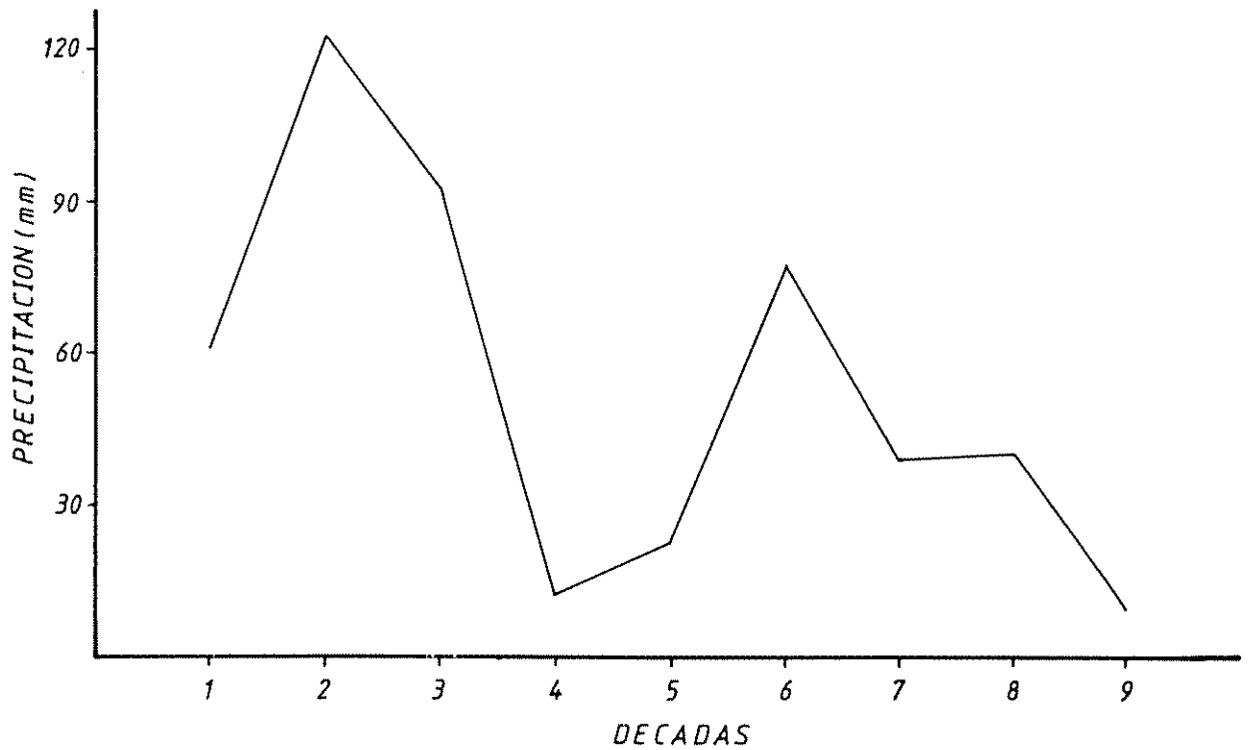
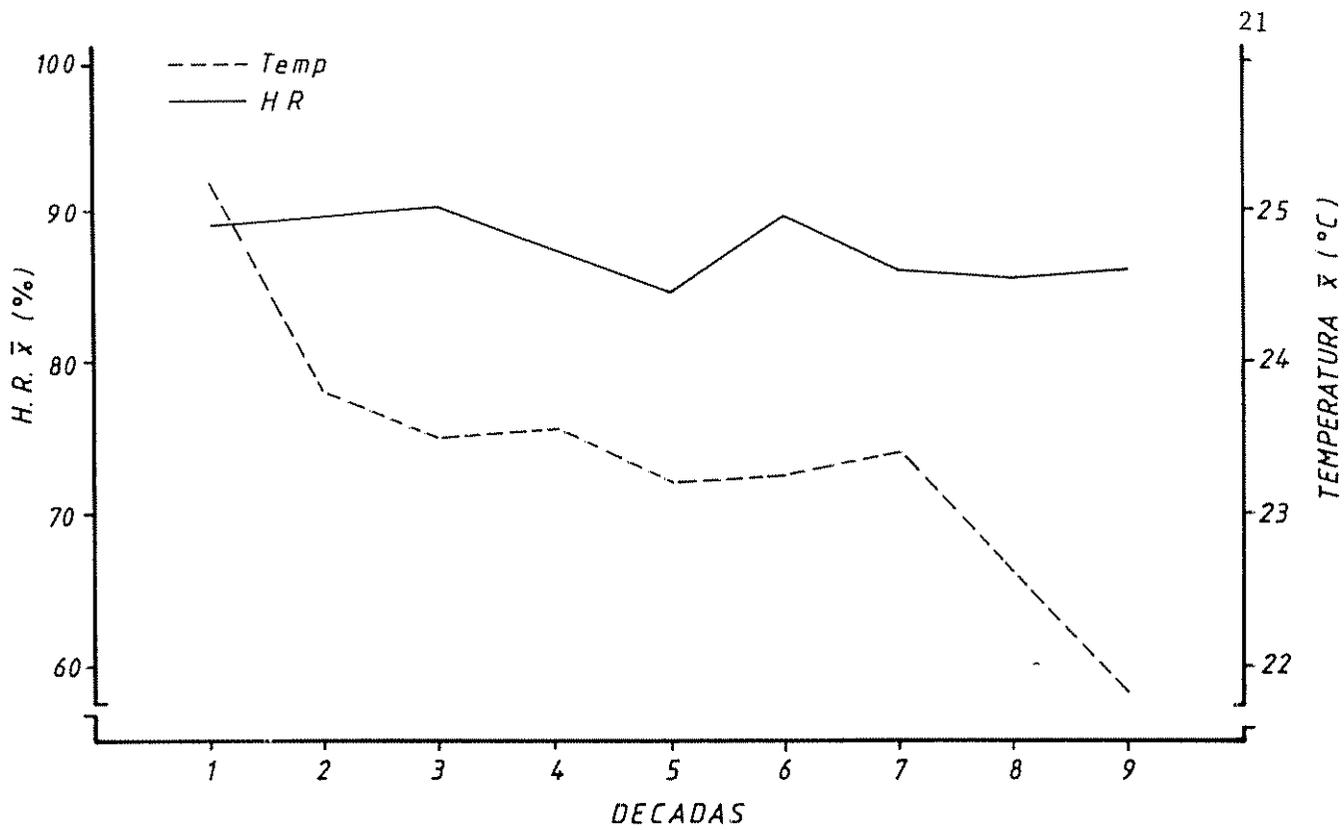


Figura 2. Humedad relativa, temperatura y precipitación, durante el experimento (periodos de diez días), del 20 de setiembre al 30 de diciembre de 1986, en campo, "La Montaña," CATIE.

3.2 Material experimental

Tanto en el campo como en el invernadero se utilizaron seis cultivares de frijol, de tipo II, guía corta (4). Este material fue seleccionado con base en estudios anteriores (14, 30, 49), en los cuales se han observado en el campo con diferente reacción de susceptibilidad a la mustia hilachosa. Los cultivares fueron:

- 'Porrillo-Sintético': Es un cultivar de frijol de color negro, grano pequeño, originario de El Salvador, de tipo II arbustivo y de guía corta. Su ciclo de cultivo es de 80 días y tiene buen grado de resistencia a la mustia (4, 14).

- 'Porrillo 70': Es de color negro, grano pequeño, de tipo II arbustivo. Tiene un ciclo de 80 días y presenta buena resistencia a la mustia (14).

- 'Talamanca': Cultivar de color negro, seleccionado en Costa Rica, es de tipo II arbustivo, de guía corta. Tiene un ciclo de 75 - 80 días y presenta resistencia a la mustia (4, 14, 49).

- 'ICA-Pijao': Es de color negro, originario de Colombia, de tipo II, erecto y de guía corta. Su ciclo de cultivo es de 80 días y es susceptible a la mustia (4, 14).

- 'R-27': Es un cultivar de color rojo, grano grande, de tipo arbustivo. El ciclo de cultivo es de 65-70 días y es susceptible a la mustia (49).

- 'Turrialba 4': Seleccionado en Costa Rica, es de color negro con grano pequeño de tipo II arbustivo. Tiene un ciclo de cultivo de 80 a 85 días y presenta cierta resistencia a la mustia (4, 30).

3.3 Metodología

El procedimiento general de inoculación consistió de tres fases.

3.3.1 Experimentos de laboratorio

3.3.1.1 Aislamiento del patógeno

Hojas de frijol con los síntomas típicos de mustia fueron colectados de campos alrededor de Turrialba durante el período de enero a junio de 1986. Pequeños trozos de hojas fueron obtenidos del margen de las lesiones, esterilizados durante dos minutos en solución de hipoclorito de sodio (NaOCl) a 0,05 por ciento y sembrados sobre agar agua a dos por ciento. Después de 72 horas de incubación a 25°C, se hicieron las transferencias del hongo sobre PDA (200 g de papa, 20 g de dextrosa y 18 g de agar). Los aislamientos fueron confirmados como *T. cucumeris* por la producción del estado perfecto del hongo por el método de Sims (51). Los cultivos fueron mantenidos por transferencia periódica sobre PDA.

3.3.1.2 Determinación de la tasa de crecimiento

La tasa de crecimiento se determinó sobre PDA en platos de petri de nueve cm de diámetro. Discos de cinco mm del margen de colonias de tres días sobre PDA fueron transferidos al centro de platos petri que contenían PDA fresco. Los cultivos fueron incubados a la temperatura de la sala (22-27°C). La tasa de crecimiento fue medida a intervalos de 24 horas. Se utilizaron cinco platos por aislamiento.

3.3.1.3 Determinación de la agresividad de los aislamientos

La agresividad fue determinada sobre hojas colectadas de plantas de frijol de 20 días crecidas en suelo estéril. Se utilizaron tres aislamientos con base en sus tasas de crecimiento, siendo uno de menor, otro de mayor y el último de tasa de crecimiento intermedio dentro de los aislamientos colectados.

Hojas de frijol fueron inoculadas con discos de micelio y agar de cinco mm de cultivos de ocho días sobre PDA en cámara húmeda (24). Después de la inoculación, se asperjó las hojas con agua destilada estéril y se incubaron a 25°C. Los testigos recibieron discos de agar sin micelio.

Dos cultivares, 'ICA-Pijao' y 'Talamancá', encontrados anteriormente como susceptible y resistente (14) fueron utilizados. Se inocularon seis hojas por cultivar con cada uno de los aislamientos. Se evaluó la severidad de la enfermedad cinco días después de la inoculación.

3.3.1.4 Anastomosis entre los aislamientos

Los grupos de anastomosis (AG) de los aislamientos fueron determinados por el método de Parmeter (46). Se utilizaron los grupos probadores AG-1, AG-2, AG-2,2, AG-3, AG-4 y AG-5 suministrados por Dr. J. J. Galindo, Laboratorio de Fitopatología, Departamento de Producción Vegetal del CATIE. Cultivos de estos grupos fueron mantenidos por transferencia periódica sobre PDA. Para cada aislamiento que se apareó con un grupo (AG), se utilizaron tres porta objetos.

3.3.2 Experimento de invernadero

3.3.2.1 Procedimiento

El procedimiento para inoculación y evaluación de síntomas se hizo de la siguiente manera. Se utilizó el aislamiento N° 7 de los tres probados por su agresividad, de acuerdo al tamaño de manchas producidas sobre cultivares de frijol de diferentes grados de susceptibilidad. Propágulos de micelio de 12 días producidos sobre PDA fueron utilizados para la inoculación. Por raspado superficial, se obtuvo una suspensión de micelio en agua destilada. Esta suspensión macerada durante 10 segundos en una licuadora fue asperjada sobre las plantas por medio de un atomizador plástico de 0,8 litros. También se utilizaron, para la inoculación de frijol, basidiosporas producidas por el método de Tu (55), las cuales fueron asperjadas sobre las plantas mediante atomizadores De Vilbiss.

Se evaluaron diferentes concentraciones numéricamente iguales de propágulos de micelio y de basidiosporas. Las concentraciones se determinaron mediante recuentos en un hematocímetro (23). El testigo recibió una aspersión de agua destilada estéril.

Plantas de frijol se sembraron en potes plásticos que contenían suelo previamente esterilizado en autoclave. Estos potes se colocaron sobre las mesas del invernadero. A los treinta días de edad, estas plantas fueron inoculadas con los distintos tipos de inóculo incubadas en cámaras de 2 m x 1,5 m x 1,5 m con plástico transparente.

Se crearon, por medio de un humidificador, las condiciones de humedad para el desarrollo de la enfermedad, el cual proveía una nebulización durante cuatro segundos a intervalos de 16 minutos.

3.3.2.2 Tratamientos

Los tratamientos utilizados fueron:

-Densidades de inóculo: 0-1.000 - 5.000 - 10.000 50.000 y 100.000 propágulos por ml para micelio y basidiosporas respectivamente.

-Los cultivares utilizados fueron: 'Porrillo-70', 'Porrillo-Sintético', 'Talamanca', 'ICA-Pijao', 'Turrialba-4' y 'R-27'.

3.3.2.3 Unidad experimental

La unidad experimental estuvo compuesta por dos potes con dos plantas de frijol.

3.3.2.4 Diseño experimental

Se utilizó un arreglo factorial anidado en bloques al azar. Los factores que intervienen en el arreglo factorial son variedad y tipo de inóculo. Además, los niveles de inóculo correspondientes a micelio y basidiosporas no tienen el mismo significado por lo cual no corresponde compararlos. Por este motivo, los niveles aparecen anidados dentro de los tipos de inóculo. Los bloques están constituidos por las cámaras húmedas utilizadas.

3.3.2.5 Variables evaluadas

Las variables evaluadas fueron:

-Incidencia de la enfermedad a los 6, 9 y 13 días después de la inoculación determinada como porcentaje de hojas afectadas por planta.

-Severidad de la enfermedad a los 6, 9 y 13 días después de la inoculación. Se midió mediante el uso de una escala de nueve grados (54) que mide el porcentaje de mancha en la hoja: (1= 0, planta sana; 2= 1-5 por ciento; 3= 5-10 por ciento; 4= 10-20 por ciento; 5= 20-30 por ciento; 6= 30-40 por ciento; 7= 40-60 por ciento; 8= 60-80 por ciento y 9= 80-100 por ciento).

3.3.3 Experimento de campo

3.3.3.1 Procedimiento

Para preparar la suspensión de micelio para asperjar en campo, se utilizó el mismo procedimiento aplicado al invernadero. Se evaluaron diferentes concentraciones de propágulos de micelio determinadas mediante recuentos en un hematómetro (23). El testigo recibió una asperción de agua destilada estéril.

Las aspersiones se hicieron a los 35 días después de la siembra. Se trató de que la suspensión cubriera toda la planta, aplicando aproximadamente 5 ml de suspensión por planta. Las inoculaciones se llevaron a cabo durante las horas de la tarde después que se les aplicó a las plantas riego por asperción durante cinco horas.

El resultado de la inoculación, severidad e incidencia de la enfermedad, fue evaluado a los 12, 20 y 28 días después.

3.3.3.2 Tratamientos

Los tratamientos se formaron de la combinación de los seis cultivares de frijol por las concentraciones de inóculo:

-Densidades de inóculo: 1.000 - 10.000 - 100.000 propágulos/ml y el testigo sin inoculación.

-Los cultivares: 'Porrillo-70', 'Porrillo-Sintético', 'ICA-Pijao', 'Turrialba-4', 'R-27' y 'Talamanca'.

3.3.3.3 Unidad experimental

La unidad experimental consistió de cuatro hileras de cuatro metros de largo, separadas entre sí a 0,50 m en las cuales se sembraron frijol a la densidad de 200.000 plantas/ha. Los datos fueron tomados de las dos hileras centrales.

3.3.3.4 Diseño experimental

Se utilizó un diseño de parcelas divididas en el cual la parcela principal fue el cultivar de frijol y las concentraciones de inóculo constituyeron las sub-parcelas. Se hicieron cuatro repeticiones.

3.3.3.5 Manejo del experimento

El experimento se realizó en un terreno que no ha sido cultivado desde varios años en el cual existía una población densa y variada de malezas. Este terreno fue escogido por proporcionar una buena estructura del suelo debido a un sistema de "no labranza", evitando así la inoculación no controlada mediante el salpique de posible inóculo que puede haber sobrevivido en el suelo.

Una semana antes de la siembra, utilizando herramientas manuales, se cortaron las malezas evitando la remoción del suelo.

Para la siembra de las parcelas se colocaron a mano tres semillas por golpe espaciado a 20 cm. El siguiente día, las parcelas fueron tratadas con una mezcla de herbicidas Radex (dicloruro de 1,1 dimetil-4,4, bupiridilo) y Lazo (alachlor, 2-clor-2', 6--dietil-N-(metoximetil) acetamida) utilizando 100 ml de cada uno en una bomba de 16 l. A los 10 días de la siembra se llevó a cabo el raleo, dejando dos plantas por sitio. La fertilización utilizada fue: 200 kg/ha de 10-30-10 aplicados a los 12 días de la siembra y 60 kg/ha de nitrato de amonio a los 25 días después de la siembra.

A los 22 días de la siembra, se hizo una nueva limpieza manual evitando en lo posible la remoción del suelo.

Para crear mejores condiciones para el desarrollo de la enfermedad se instaló un sistema de riego por aspersión.

3.3.3.6 Variables que se midieron

Las variables evaluadas fueron:

-Severidad de la enfermedad, mediante el uso de una escala de nueve grados (54) la cual mide el porcentaje de mancha en la hoja.

-Incidencia de la parcela determinada como porcentaje de plantas enfermas en las hileras centrales.

-Incidencia en la planta determinada como porcentaje de hojas afectadas en la planta.

-Plantas muertas determinadas a intervalos de 15 días después de la inoculación.

-Producción de grano (kg/ha) determinada al 11 por ciento de humedad. La corrección por humedad se hizo por la fórmula:

$$\text{Rendimiento parcela} \times \frac{100 - \text{Humedad de campo}}{100 - \text{Humedad deseada}}$$

-Número de vainas por planta (promedio de 15 plantas).

-Número de granos por vainas (promedio de 50 vainas)

-Manchas en vainas (50 vainas)

-Tamaño manchas en vainas.

-Peso de 100 granos.

3.4 Análisis estadístico

Los promedios de las muestras obtenidas tanto en invernadero como en campo fueron analizados estadísticamente. Los datos de cada muestra se encuentran en los Cuadros 4A a 12A.

A los datos de incidencia, se les aplicó la transformación angular o arcoseno y los valores originales de severidad y plantas muertas fueron transformados a $y = \sqrt{x + 1}$ e $y = \sqrt{x}$ respectivamente. Se les hizo después el análisis de varianza y prueba de Amplitud Múltiple de Duncan (4, 33).

Además, se hizo una regresión tomando las concentraciones de inóculo como variables independientes y las características de incidencia y severidad observadas como variables dependientes y una matriz de correlación con las variables estudiadas en invernadero y campo.

4. RESULTADOS

4.1 Identificación de los aislamientos

Un total de doce aislamientos se obtuvieron del margen de lesiones típicas de mustia hilachosa en hojas de frijol de los cv 'Turrialba-4', 'ICA-Pijao', 'R-27' y 'Vainica'. Los síntomas iniciales de la enfermedad fueron pequeñas manchas de apariencia acuosa, de forma irregular. Estas manchas, a medida que crecían se tornaban café con un borde más oscuro. Estas lesiones parecían ser iniciadas por esclerocios y/o micelio del hongo. Sin embargo, el aislamiento No. 2 fue obtenido de lesiones características de infección por basidiosporas como lo ha descrito Echandi (17). Todos los aislamientos obtenidos de hojas de frijol infectadas naturalmente fueron similares y tuvieron las características del micelio de *R. solani*, estado imperfecto de *T. cucumeris* (45, 59). Estas características incluyen el color del micelio, hialino al inicio que se torna café a medida que madura, la ramificación de hifas en ángulo casi recto, la presencia de una constricción en la base de la ramificación y del aparato septal cerca del punto de ramificación, producción abundante de esclerocios a partir del centro del plato petri.

4.1.1 Tasa de crecimiento

Los doce aislamientos tuvieron una tasa de crecimiento relativamente rápida que varió en promedio de 7,6 a 23,1 mm en 24 horas. El aislamiento de menor tasa de crecimiento fue el No. 12 encontrado en hojas del cv 'R-27' infectadas en el campo, La Montaña, mientras que el de mayor tasa de crecimiento fue el No. 7 aislado de hojas infectadas del

cv 'ICA-Pijao'. Sin embargo, se observó que otro aislamiento del cv 'R-27' dio una tasa promedio de 21,1 mm en 24 horas. Esto sugiere que dentro de un mismo campo hay variación dentro de los aislamientos de *T. cucumeris*. Los demás aislamientos tuvieron valores entre los dos extremos (Cuadro 1).

4.1.2 Grupos de anastomosis

Los aislamientos tuvieron afinidad con los grupos de anastomosis utilizados en el estudio y designados por Parmeter (46) y Bolkan (8). De los doce aislamientos, tres fueron encontrados AG-1, cinco se aparearon con AG-2, tres con AG-2,2 y un aislamiento tuvo afinidad a AG-3. Ellos tuvieron características de su grupo respectivo como descrito por Sherwood (50). Sin embargo, variaciones en color de micelio fueron observadas entre aislamientos de un mismo grupo. El tipo de reacción de anastomosis observada fue la fusión de pared de micelio.

4.1.3 Agresividad de los aislamientos

En esta prueba, se utilizaron los aislamientos No. 7, 8 y 12 por tener tasa de crecimiento diferente. A partir de los resultados obtenidos de la inoculación de hojas de frijol de dos cultivares con estos aislamientos, se notó una evidente diferencia ($P= 0,05$) entre estos aislamientos en cuanto al tamaño de lesiones producidas. En hojas del cv 'Talamanca' el aislamiento No. 7 expresó los síntomas de mustia, dando un valor promedio de 6,7 de la escala de severidad, mientras que el No. 12 de menor tasa de crecimiento fue menos agresivo, expresando el valor de 3,7. El aislamiento No. 8 tuvo valor intermedio sobre este cultivar.

Cuadro 1. Tasa de crecimiento, grupos de anastomosis y agresividad de aislamientos de *Thanatephorus cucumeris*. Turrialba, 1986.

Nº	Aislamientos Fuentes	Tasa crecimiento (mm/24 hr)	Severidad ^{1, 2/}		Grupos de anastomosis
			Talamanca	ICA-Pijao	
1	Turrialba-4	20,1 ab	-	-	AG-1
2	Turrialba-4	19,2 abc	-	-	AG-2
3	Turrialba-4	22,5 a	-	-	AG-2
4	Vainica	19,0 abc	-	-	AG-1
5	R-27	21,1 a	-	-	AG-1
6	Vainica	10,4 fg	-	-	AG-3
7	ICA-Pijao	23,1 a	6,7 a	7,5 a	AG-2
8	ICA-Pijao	16,3 bcd	5,5 b	7,6 a	AG-2
9	R-27	15,6 cd	-	-	AG-2,2
10	ICA-Pijao	14,7 de	-	-	AG-2,2
11	R-27	11,7 ef	-	-	AG-2
12	R-27	7,6 g	3,7 c	5,5 b	AG-2,2

Los promedios con una misma letra no expresan diferencias significativas entre sí según la Prueba de Amplitud Múltiple de Duncan (P= 0,05)

1/ Severidad: 1, indica hojas sin síntomas
9, indica 80 - 100 por ciento de tejido infectado

2/ Prueba realizada en hojas de frijol.

En el cv 'ICA Pijao', el aislamiento No. 7 no se diferenci6 del No. 8 en cuanto al tama1o de lesiones producidas, dando valores de 7,5 y 7,6, respectivamente. Sin embargo, el aislamiento No. 12 sigue siendo el de menor expresi3n sobre el cv 'ICA-Pijao' (Cuadro 1).

En promedio, el aislamiento de mayor tasa de crecimiento caus6 s3n-tomas severos en los diferentes cultivares de frijol, mientras que el No. 12 de menor tasa, fue de baja expresi3n. Los aislamientos de *T. cucumeris* de alta tasa de crecimiento causaron necrosis severa y r1pida sobre las hojas de frijol. Las primeras lesiones fueron observadas entre 24 a 36 horas y las hojas inoculadas fueron casi completamente afectadas en cinco d3as. Las lesiones causadas por el aislamiento de baja tasa de crecimiento fueron restringidas.

4.2 Evaluaci3n de la resistencia en invernadero

4.2.1 Incidencia de mustia

La incidencia de mustia en los diferentes cultivares fue m1s alta a medida que se aumentaron las concentraciones de in3culo, tanto con micelio como con basidiosporas. La incidencia m1s baja fue observada en los cultivares a los que se aplic6 el menor nivel de in3culo utilizado.

En la inoculaci3n con micelio, se nota el valor m1s bajo de 28,5 por ciento de incidencia para el cv 'Talamanca', en el grupo de menor incidencia, y para el cv 'ICA-Pijao', 52,4 por ciento de incidencia, el m1s alto en el grupo de mayor incidencia cuando fueron inoculados a la concentraci3n de 10^3 prop1gulos de micelio/ml (prop/ml). La m1s alta incidencia, 100 por

por ciento, en dichos cultivares se observó con la densidad de 10^5 prop / ml. Esta tendencia creciente de la incidencia se notó en todos los cultivares y entre los niveles de inóculo aún cuando hay variación en respuesta de los cultivares dentro de una concentración de inóculo y sus valores variaron dentro de esos extremos. Todos los cultivares registraron 100 por ciento de incidencia cuando se inoculó las plantas con la concentración de 10^5 prop /ml (Cuadro 2).

En promedio, estas cinco concentraciones de micelio (Cuadro 2) dieron valores respectivos de 40,8, 57,6, 72,6, 97,5 y 100 por ciento de incidencia que difirieron entre sí y con el testigo sin inocular ($P= 0,05$).

En la inoculación con basidiosporas, se observó la misma tendencia de esta variable de incidencia al aumentar la densidad de basidiosporas, sin embargo la incidencia fue menor en los cultivares inoculados. Al igual que en la inoculación con micelio, la menor incidencia se obtuvo con el cv 'Talamanca', dando valores de 22 y 71 por ciento, respectivamente, para las concentraciones de 10^3 y 10^5 basidiosporas/ml (bas/ml). La mayor incidencia fue encontrada con el cv 'R-27', que expresó valores de 36 y 90 por ciento cuando fue inoculado con las concentraciones de 10^3 y 10^5 bas/ml respectivamente. Valores intermedios entre esos extremos fueron encontrados para los demás cultivares y concentraciones de inóculo (Cuadro 2).

Los promedios por concentración de basidiosporas fueron 28,0, 40,0, 49,6, 59,1 y 79,4 por ciento de incidencia que difirieron entre sí y del testigo sin síntomas de mustia.

Cuadro 2. Incidencia de mustia, causada por *Thanatephorus cucumeris*, en seis cultivares de frijol inoculados con cinco concentraciones de micelio (M) y basidiosporas (B) en el invernadero. CATIE, 1986.

Cultivares	Concentraciones de inóculo *															Promedio $\frac{1}{l}$	
	Testigo		10^3		5×10^3		10^4		5×10^4		10^5						
	M	B	M	B	M	B	M	B	M	B	M	B	M	B	M		B
Talamanca	0	0	28,5	22,0	37,2	30,2	53,8	39,0	98,8	53,0	100	71,0	63,7	c	43,0	b	
Porrillo-Sint.	0	0	36,0	25,1	54,0	39,3	67,5	47,0	96,4	56,3	100	74,5	70,8	bc	48,4	b	
Porrillo - 70	0	0	43,0	28,0	64,0	35,0	73,0	49,5	93,0	62,6	100	72,0	74,6	ab	49,6	b	
Turrialba-4	0	0	35,5	28,0	58,0	44,0	69,0	53,2	97,2	60,0	100	82,1	71,9	b	53,5	b	
ICA-Pijao	0	0	52,4	29,3	66,2	38,7	85,5	49,4	100	56,6	100	87,0	80,8	a	52,2	b	
R-27	0	0	49,5	36,0	66,0	53,5	87,0	59,7	99,5	66,3	100	90,0	80,4	a	61,1	a	
Promedios																	
General					Micelio: 73,7 a	Basidiosporas: 49,5 b											
Con. Micelio	0 e		40,8 d		57,6 c		72,6 b		97,5 a		100 a						
Con. Basidiosporas	0 f		28,0 e		40,0 d		49,6 c		59,1 b		79,4 a						

$\frac{1}{l}$ Promedios con una misma letra no difieren entre sí, según prueba de Amplitud Múltiple de Duncan ($P= 0,05$).

* Propágulos de micelio/ml - Basidiosporas/ml.

Comparando los resultados obtenidos para los dos tipos de inóculo, la inoculación con micelio resultó en mayor incidencia de mustia en los diferentes cultivares, dando un promedio de 73,7. Este difirió significativamente ($P= 0,05$) de la inoculación con basidiosporas con un promedio de 49,5 por ciento.

En lo que se refiere a los cultivares, se notó casi el mismo orden de respuesta dentro de las diferentes concentraciones de inóculo evaluadas tanto para micelio como para basidiosporas. Para esta variable, en promedio, las diferencias debidas a los cultivares se reúnen en tres grupos: los cv 'Talamanca' y 'Porrillo-Sintético' con 63,7 y 70,8 por ciento de incidencia, respectivamente, constituyeron el grupo de menor incidencia. Sin embargo el cv 'Porrillo-Sintético' no se diferenció de los cv 'Porrillo-70' y 'Turrialba-4' que presentaron, respectivamente, 74,6 y 71,9 por ciento de incidencia en otra agrupación. En el grupo de mayor incidencia se encontraron los cv 'ICA-Pijao' y 'R-27' que tuvieron promedios de 80,8 y 80,4 por ciento, respectivamente.

A excepción del cv 'R-27', que tuvo un promedio de incidencia de 61,1 por ciento cuando se lo aplicó las distintas concentraciones de basidiosporas, se observó poca variación en los demás cultivares. Sin embargo, el cv 'Talamanca' se distinguió por ser el cultivar menos afectado ($P= 0,05$) expresando un promedio de incidencia de 43,0 por ciento (Cuadro 2).

4.2.2 Severidad de mustia

Esta variable se comportó de manera similar a lo que se ha observado para la incidencia en cuanto a los efectos de concentración de

inóculo. La más alta expresión de los síntomas de mustia fue notada cuando los cultivares recibieron la más alta concentración evaluada en ambos tipos de inóculo.

En lo referente a la concentración con micelio, para el nivel más bajo de 10^3 prop/ml, el cv 'Talamanca' expresó en menor grado la severidad con un promedio de 4,25, mientras que la expresión más alta de los síntomas de mustia se notó con el cv 'R-27' inoculado con 10^5 prop/ml que dio un índice de 8,85. La tendencia de la severidad a aumentarse con las concentraciones de micelio se observó en todos los cultivares y sus valores variaron entre esos extremos (Cuadro 3).

Se encontró el mismo comportamiento a causar síntomas de las enfermedades en los diferentes cultivares con las concentraciones de basidiosporas. Los índices de severidad tuvieron una variación entre 3,90 para el cv 'Talamanca' inoculado con 10^3 bas/ml y el más alto 8,55 para el cv 'R-27' con la inoculación al nivel de 10^5 bas/ml.

En promedio, las concentraciones de micelio difirieron entre sí y con el testigo sin inocular. Los promedios respectivos para las distintas concentraciones fueron 4,90, 5,95, 6,95, 7,80 y 8,50 en los diferentes cultivares, mientras que la inoculación con basidiosporas expresó índices promedios de 4,65, 5,55, 6,45, 7,40 y 8,25 que fueron diferentes del testigo ($P= 0,05$).

Al igual que los resultados obtenidos para la variable de incidencia, los tipos de inóculo se comportaron de manera distinta siendo mayor la severidad de mustia cuando se inocularon las plantas con micelio. La

Cuadro 3. Severidad de mustia en seis cultivares de frijol inoculados con cinco concentraciones de micelio (M) y basidiosporas (B) de *Thanatephorus cucumeris* en el invernadero. CATIE, 1986.

Cultivares	Concentración de inóculo*																		
	Testigo		10 ³			5 x 10 ³			10 ⁴			5 x 10 ⁴			10 ⁵			Promedio $\frac{1}{2}$	
	M	B	M	B	M	B	M	B	M	B	M	B	M	B	M	B	M	B	
Talamanca	1,0	1,0	4,25**	3,90	5,15	4,95	6,20	5,80	7,25	7,10	8,30	8,10	6,25	d	5,95	c			
Porrillo-70	1,0	1,0	4,40	4,15	5,60	5,30	6,90	6,20	7,50	7,10	8,25	8,15	6,50	c	6,20	bc			
Porrillo-Sint.	1,0	1,0	4,40	4,55	5,60	5,30	6,50	6,20	7,75	7,25	8,30	8,20	6,50	c	6,30	bc			
Turrialba-4	1,0	1,0	5,30	4,90	6,05	5,50	6,80	6,35	7,55	7,50	8,55	8,20	6,85	b	6,45	b			
ICA-Pijao	1,0	1,0	5,90	5,20	6,60	6,00	7,40	7,00	8,30	7,65	8,75	8,40	7,40	a	6,85	a			
R-27	1,0	1,0	5,30	5,10	6,75	6,15	7,90	7,10	8,40	7,90	8,85	8,55	7,45	a	6,95	a			
Promedios																			
General					Micelio: 6,80 a						Basidiosporas: 6,45 b								
Conc. micelio	1,0 f		4,90 e		5,95 d		6,95 c		7,80 b		8,50 a								
Conc. basidiosporas	1,0 f		4,65 e		5,55 d		6,45 c		7,40 b		8,25 a								

1/ Promedios con una misma letra no difieren entre sí, según prueba de Amplitud Múltiple de Duncan (P= 0,05)

* Propágulos de micelio/ml - Basidiosporas/ml

** Escala (1-9) - 1: planta sana; 2-3: resistente; 4-6: intermedio; 7-9: susceptible.

inoculación con micelio expresó un promedio de 6,80 mientras que el índice promedio para la inoculación con basidiosporas fue de 6,45. Las diferencias observadas en cuanto a las concentraciones de inóculo fueron significativas ($P= 0,05$) (Cuadro 3).

Con relación a los cultivares inoculados con micelio, el orden ascendente para dicha variable fue: el cv 'Talamanca' con un promedio de 6,25 luego siguen los cv 'Porrillo-70' y 'Porrillo-Sintético' que presentaron valores iguales de 6,50 en la escala. El cv 'Turrialba-4', de reacción intermedia, presentó un grado de severidad promedio de 6,85 mientras que los cultivares más afectados fueron 'ICA-Pijao' y 'R-27' dando promedios de 7,40 y 7,45, respectivamente. Cabe destacar que los cultivares se ordenaron de manera casi similar en cuanto a su grado de severidad cuando se les inoculó con basidiosporas. Los cv 'ICA-Pijao' y 'R-27' fueron el grupo de mayor severidad con grados de 6,85 y 6,95 respectivamente. En otro grupo, de menor severidad, se encontraron los cv 'Talamanca', 'Porrillo-Sintético' y 'Porrillo-70' con 5,95, 6,30 y 6,20, respectivamente, mientras que a su vez los cv 'Porrillo-70' y 'Porrillo-Sintético' no difirieron del cv 'Turrialba-4' de reacción intermedia con 6,45. Las diferencias entre los grupos fueron significativas ($P= 0,05$) (Cuadro 3).

La variación observada entre los cultivares se disminuyó conforme se aumentaron las densidades de inóculo, tanto para micelio como para basidiosporas.

4.2.3 Interacción entre cultivares y concentraciones de inóculo

De la interacción cultivar x concentración de inóculo cabe destacar que consistentemente y para cualquiera de los cultivares evaluados se presentaron mayor incidencia y severidad con el nivel más alto de inóculo.

En la inoculación con el nivel de 10^3 prop/ml y bas/ml, se observó una gran variación en respuesta de los cultivares en cuanto a incidencia y severidad de mustia. Para la incidencia, el cv 'ICA-Pijao', inoculado con micelio, sobresalió por expresar mayormente esta variable, 52 por ciento de incidencia, mientras que el cv 'R-27' presentó mayor incidencia en el grupo inoculado con basidiosporas a este nivel. En ambos tipos de inóculo, el cv 'Talamanca' presentó menor incidencia con 29 y 22 por ciento, respectivamente. Los demás cultivares tuvieron valores intermedios de los ya mencionados (Figura 3).

Con respecto a la severidad a este nivel de inóculo, todos los cultivares fueron de reacción intermedia a la mustia por presentar valores que variaron de 4,25 a 5,90 en la escala, respectivamente para los cv 'Talamanca' e 'ICA-Pijao' inoculados con micelio, y de 3,90 a 5,20 para estos mismos cultivares inoculados con basidiosporas.

Como en el caso anterior, a la densidad de inóculo de 5×10^3 prop/ml y bas/ml, se notó aún la variación bien marcada en la respuesta de los cultivares. Este ordenamiento creciente de los cultivares se hizo con base en su expresión de los síntomas de dicha enfermedad. Los cv 'R-27' e 'ICA-Pijao', inoculados con micelio, presentaron la mayor incidencia con 66 por ciento de sus hojas infectadas. Sin embargo, el cv

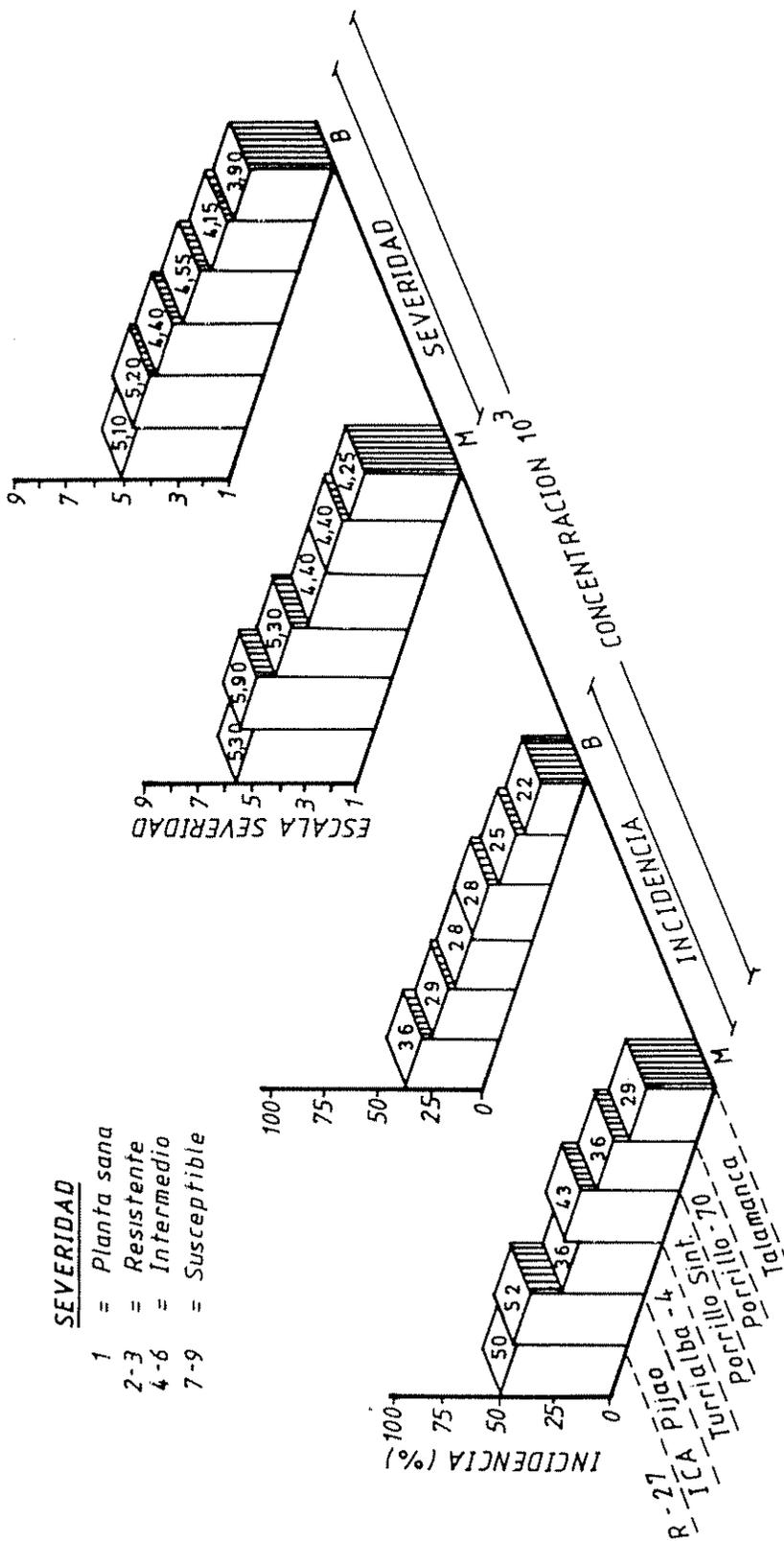


Figura 3. Incidencia y severidad de mustia causada por *Thanatephorus cucumeris* en 6 cultivares de frijol inoculados con micelio (M) y basidiosporas (B) a la concentración de 10^3 / ml en el invernadero. Promedio de 4 repeticiones. CATIE, 1986.

'Porrillo-70' no difirió de estos dos primeros con 64 por ciento de incidencia. Los cv 'Turrialba-4' y 'Porrillo-Sintético' constituyeron un grupo intermedio dentro de los seis cultivares mientras que el cv 'Talamanca' fue de menor incidencia con 37 por ciento de incidencia (Figura 4).

En esta misma figura, se observa que a excepción del cv 'R-27' que mostró 54 por ciento de incidencia al ser inoculado con 5×10^3 bas/ml, la variación entre los demás cultivares fue poco marcada. Sin embargo el cv 'Talamanca' fue el menos afectado con 30 por ciento de sus hojas mostrando manchas de mustia.

En lo que refiere a severidad, se puede notar la diferencia bien definida entre los cultivares. El cv 'R-27' presentó los síntomas de la enfermedad tomando valores de 6,75 y 6,15 cuando fue inoculado con micelio y basidiosporas respectivamente, mientras que los síntomas fueron menos severos en el cv 'Talamanca' que dio, respectivamente, 5,15 y 4,95 en ambos tipos de inóculo (Figura 4).

El límite de variación entre los cultivares en cuanto a su respuesta a la incidencia y severidad de mustia fue más alto cuando se inocularon los cultivares con micelio y basidiosporas a la concentración de 10^4 prop/ml. Tanto para micelio como para basidiosporas, el cultivar de mayor incidencia, 'R-27', dio respectivamente 87 y 59,7 por ciento, mientras que el cv 'Talamanca', de menor incidencia, tuvo 53,8 y 39 por ciento en los dos tipos de inóculo, respectivamente. Los demás cultivares tuvieron valores que variaron entre esos extremos (Figura 5).

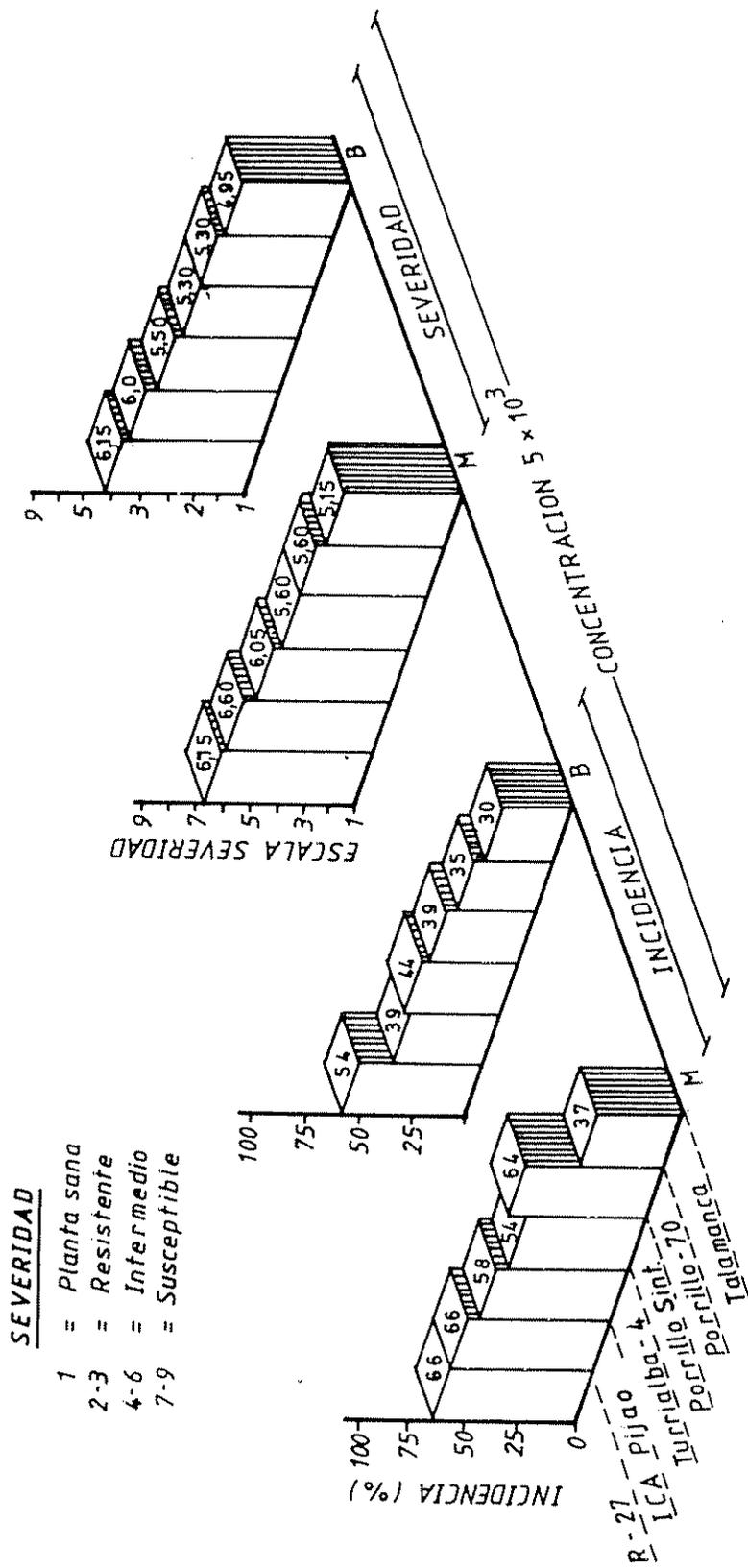


Figura 4 Incidencia y severidad de mustia causada por *Thanatephorus cucumeris* en 6 cultivares de frijol inoculados con micelio (M) y basidiosporas (B) a la concentración de 5×10^3 / ml en el invernadero. Promedio de 4 repeticiones. CATIE, 1986.

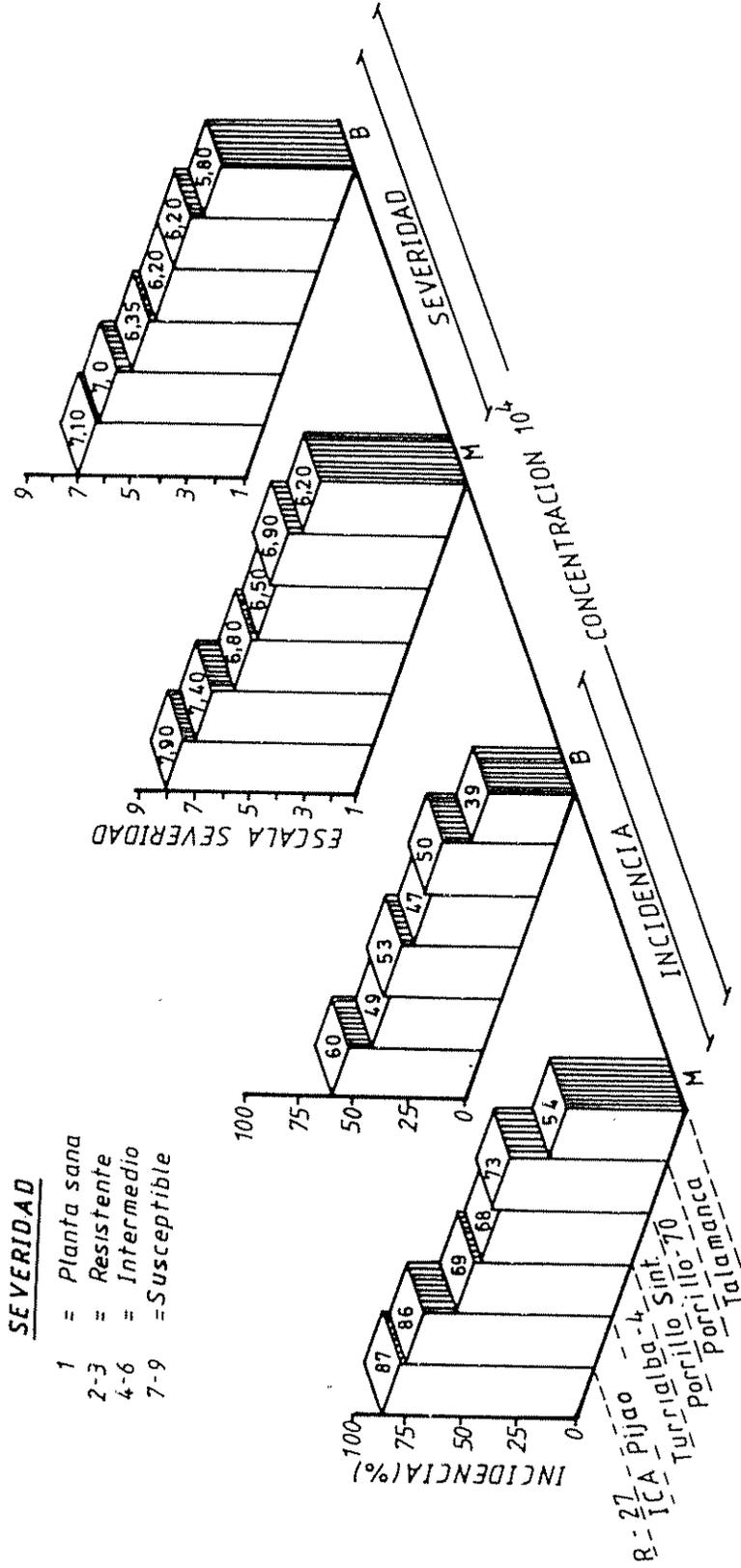


Figura 5 Incidencia y severidad de mustia causada por *Thanatephorus cucumeris* en 6 cultivares de frijol inoculados con micelio (M) y basidiosporas (B) a la concentración de 10^4 / ml en el invernadero. **Promedio de 4 repeticiones. CATIE, 1986.**

En cuanto a la severidad, en ambos tipos de inóculo, los cv 'R-27' e 'ICA-Piajo' expresaron reacciones de susceptibilidad con valores de 7,90 y 7,40, respectivamente, cuando se inocularon con micelio, mientras que los índices de severidad en estos cultivares fueron 7,10 y 7,00 para la inoculación con basidiosporas. A un nivel de inóculo de 10^4 prop/ml, bas/ml, las manchas fueron bien desarrolladas cubriendo en algunos casos, más del 60 por ciento de la hoja. Los otros cultivares presentaron una reacción intermedia en cuanto a su respuesta a la severidad de mustia, sin embargo, las manchas en las hojas fueron más grandes que en los casos anteriores donde se les inoculó con 10^3 y 5×10^3 prop/ml. Cabe mencionar, como se observa en la Figura 5, que 'Talamanca' fue el cultivar que menor severidad presentó dando valores de 6,20 y 5,80, respectivamente, para inoculaciones con micelio y con basidiosporas.

A medida que van aumentando las concentraciones de inóculo, los cultivares tienden a comportarse de manera similar en su respuesta especialmente para la variable de severidad. Al nivel de 5×10^4 prop/ml, todos los cultivares tuvieron la más alta expresión de la incidencia variando de 93 por ciento para el cv 'Porrillo-70' a 100 por ciento para el cv 'ICA-Pijao'. Esta variable tuvo menor expresión en cultivares inoculados con 5×10^4 bas/ml pero la variación no fue muy grande. La más alta incidencia, la expresó el cv 'R-27' con 66,3 por ciento y el cv 'Talamanca' de menor incidencia con 53,0 por ciento (Figura 6).

En cuanto a los síntomas de mustia, a la concentración de 5×10^4 prop/ml, bas/ml, los cultivares se revelaron susceptibles, siendo mayores las manchas en el cv 'R-27' (Figura 6).

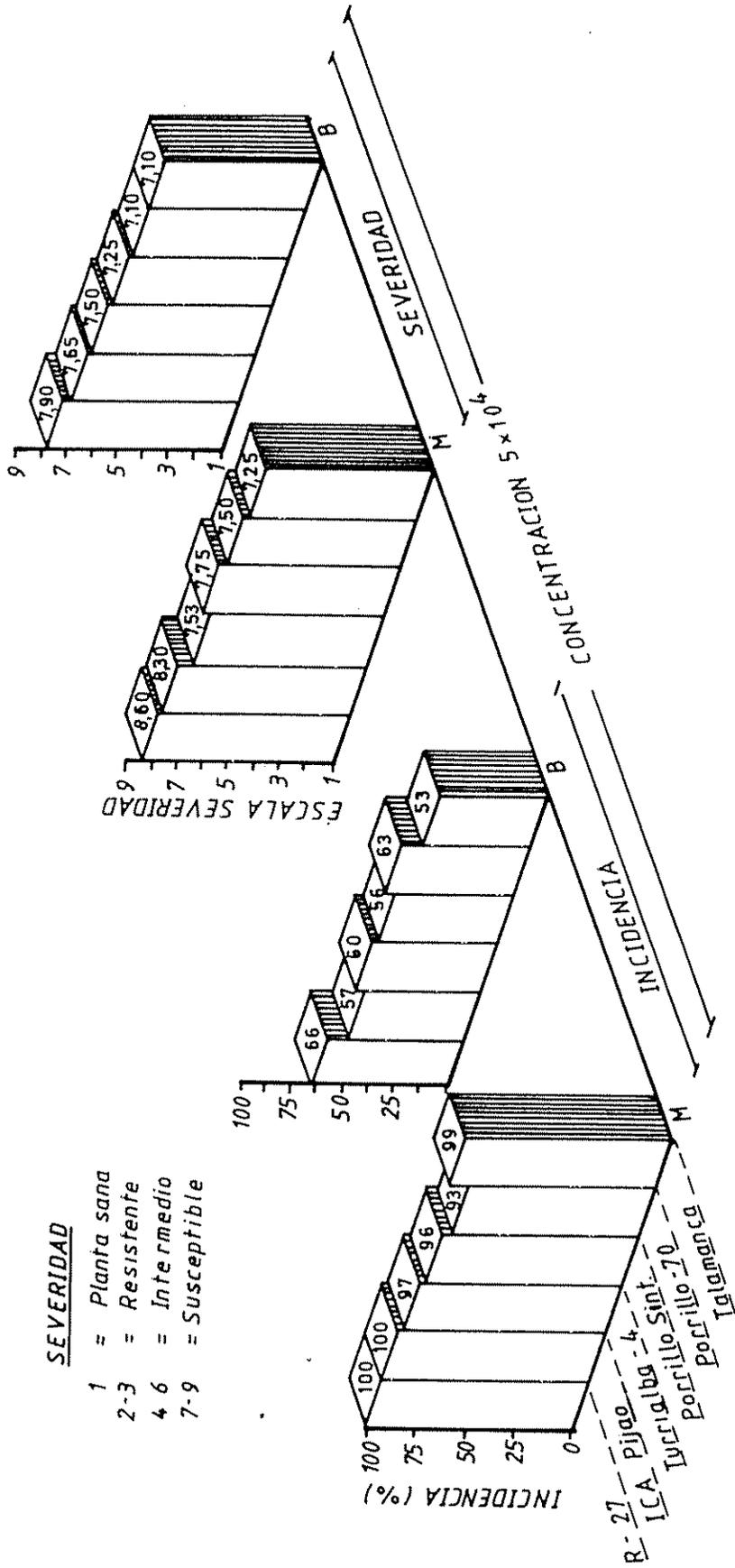


Figura 6 . Incidencia y severidad de mustia causada por *Thanatephorus cucumeris* en 6 cultivares de frijol inoculados con micelio (M) y basidiosporas (B) a la concentración de 5×10^4 / ml en el invernadero. Promedio de 4 repeticiones. CATIE, 1986.

La más alta expresión de la enfermedad en los distintos cultivares se observó con la concentración de 10^5 prop/ml, bas/ml. Todos los cultivares inoculados con micelio presentaron 100 por ciento de incidencia, mientras que en la inoculación con basidiosporas, el cv 'R-27' fue con el mayor número de hojas afectadas expresando 90 por ciento de incidencia y el cv 'Talamanca' de incidencia más baja con 71 por ciento (Figura 7).

A esta concentración, tanto con micelio como basidiosporas se registraron lesiones que cubrieron más del 80 por ciento de la hoja. Se notó el grado más alto de severidad con el cv 'R-27' que dio un índice de 8,85 y para el cv 'Talamanca' se obtuvo 8,10, para micelio y basidiosporas (Figura 7). Cabe destacar que los síntomas fueron los más severos a este nivel de inóculo y en la mayoría de los casos los tallos fueron también infectados.

Se determinó la correlación entre las concentraciones de inóculo y las variables de incidencia y severidad. Se observó una correlación positiva altamente significativa ($r= 0,77$) entre concentración e incidencia mientras que la correlación fue de 0,92 entre severidad de mustia y densidad de inóculo (Cuadro 14A).

4.2.4 Efecto de tipos de inóculo

A los datos generados a partir del análisis de las características de incidencia y severidad observadas (Cuadro 13A), se trató de ajustar un modelo de regresión lineal simple y cuadrático tomando las concentraciones de inóculo como variable independiente. El modelo lineal

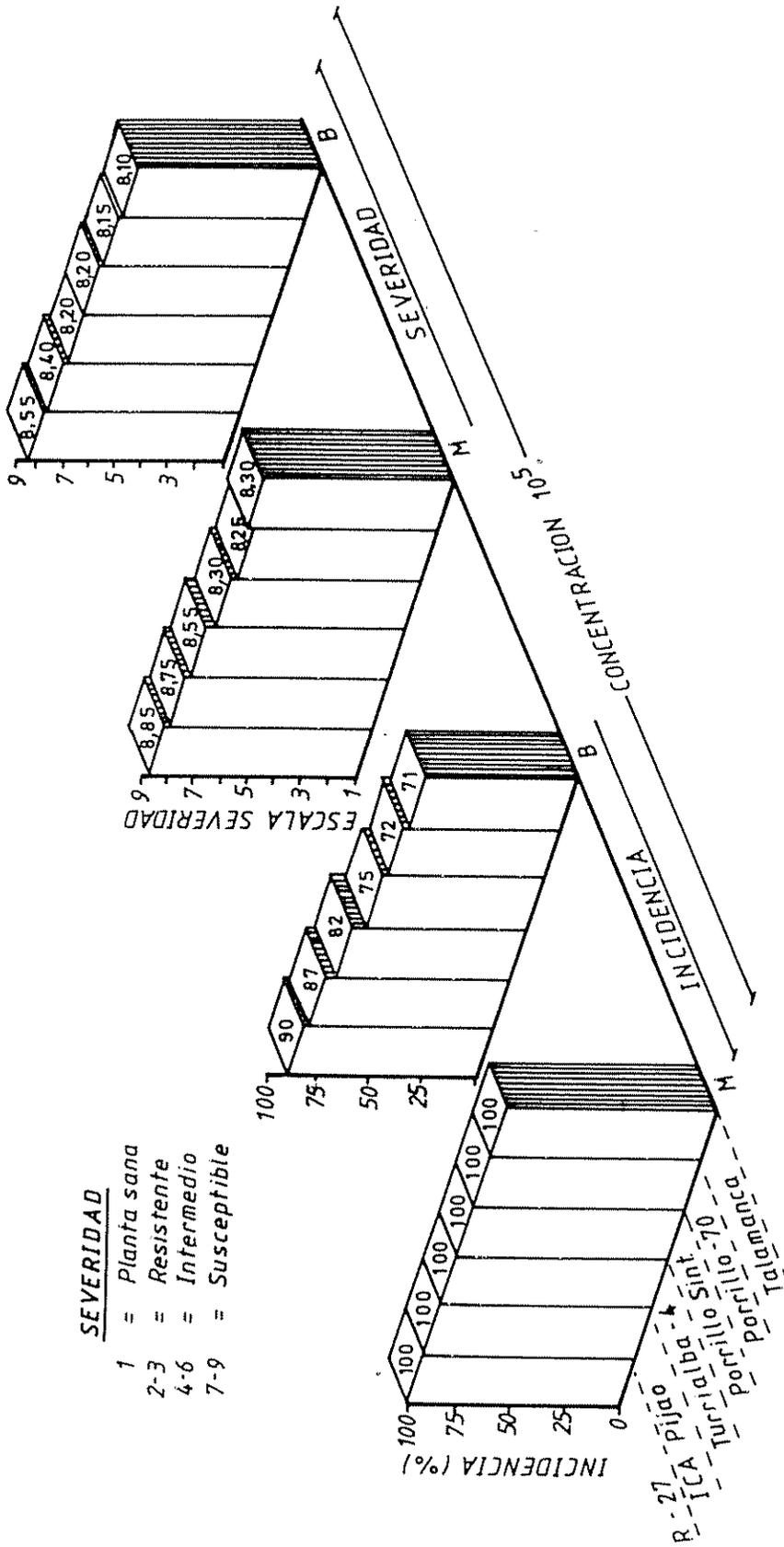


Figura 7 Incidencia y severidad de muestra causada por *Thanatephorus cucumeris* en 6 cultivares de frijol inoculados con micelio (M) y basidiosporas (B) a la concentración de 10⁵ / ml en el invernadero. Promedio de 4 repeticiones. CATIE, 1986.

dio coeficiente de determinación de 90,0 y 80,0 por ciento inferior al del cuadrático (93,7 por ciento), respectivamente para las variables de incidencia y severidad. Sin embargo, en ningún caso, la incidencia y severidad disminuyeron con los niveles crecientes de inóculo probados.

La inoculación con micelio dio mayor número de hojas afectadas en las plantas de los diferentes cultivares. Una tendencia lineal se notó entre incidencia de mustia y concentraciones de micelio hasta el nivel de 10^4 prop/ml. Arriba de esta concentración de inóculo, el aumento en incidencia, en promedio, en los cultivares fue poco marcado. Un comportamiento similar se observó entre incidencia y concentraciones de basidiosporas sin embargo al nivel de 10^5 bas/ml, la incidencia fue mayor en todos los cultivares (Figura 8).

También se notó mayor grado de severidad en cultivares inoculados con micelio. La severidad en los cultivares, en promedio, tuvo un comportamiento lineal hasta el nivel de 10^4 prop/ml en ambos tipos de inóculo (Figura 8).

4.3 Evaluación de la resistencia en campo

Los resultados del análisis de incidencia, severidad, plantas muertas y los componentes de rendimiento muestran diferencias entre cultivares y concentraciones de inóculo ($P= 0,01$) (Cuadros 15A y 18A).

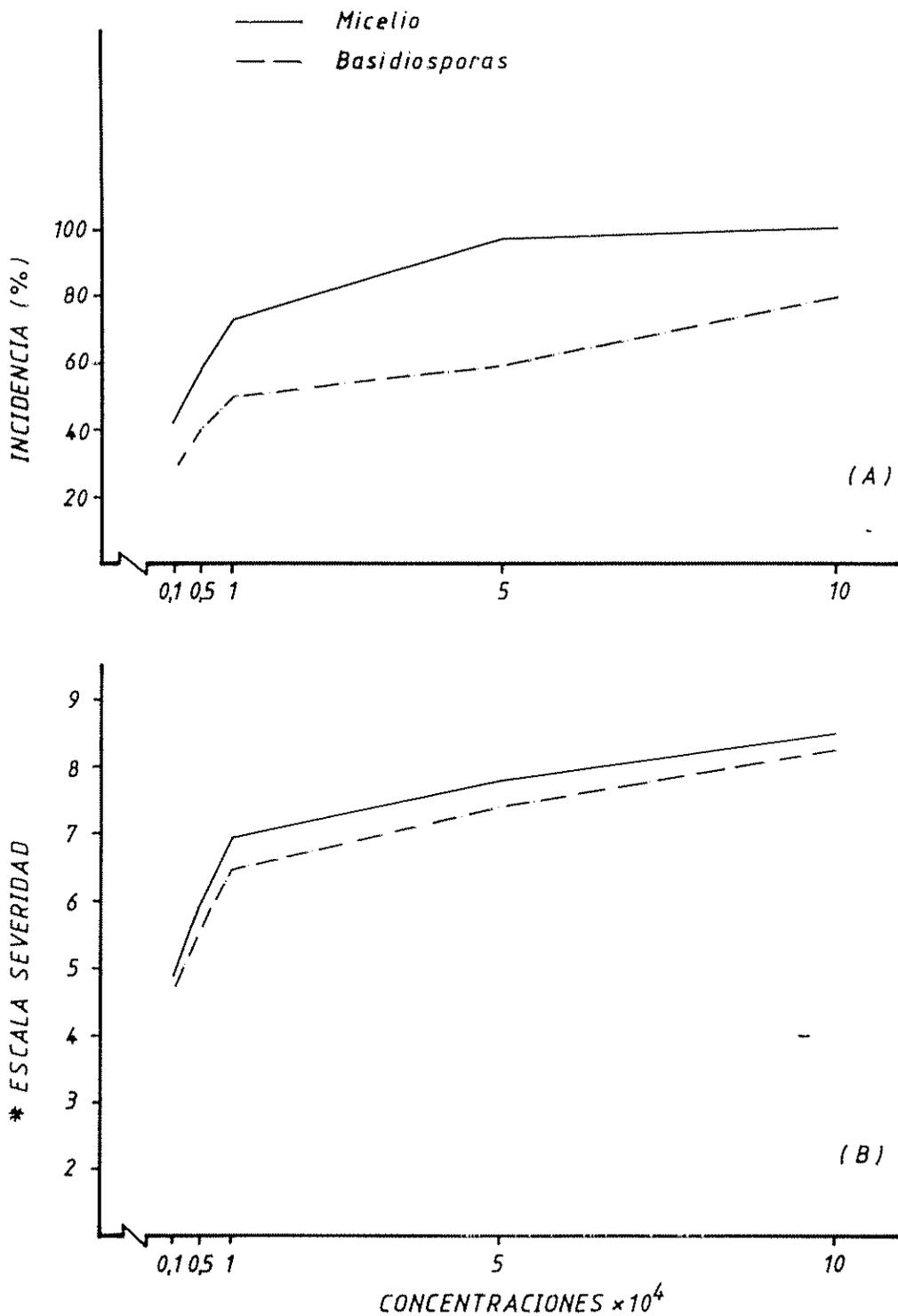


Figura 8. Incidencia (A) y Severidad (B), (en promedios) de mustia, causada por *Thanatephorus cucumeris* en los seis cultivares de frijol inoculados con cinco concentraciones de micelio y basidiosporas en el invernadero. CATIE, 1986.

* Escala (1-9): 1=Planta sana; 2-3=Resistente;
4-6=Intermedio; 7-9=Susceptible

4.3.1 Incidencia en parcelas y severidad de mustia

En promedio, los cultivares difirieron en el número de plantas afectadas por parcela. Esto sugiere que en algunas parcelas las plantas escapen a la inoculación. Los cv 'Talamanca' y 'Porrillo-Sintético' fueron los cultivares que presentaron en menor grado la incidencia de mustia con porcentajes de 15,75 y 19,25 por ciento, respectivamente. Las parcelas de los cv 'Turrialba-4' y 'R-27' fueron las más afectadas con 52,25 y 59,50 por ciento de plantas enfermas, respectivamente, mientras que los cv 'Porrillo-70' e 'ICA-Pijao' formaron un grupo de incidencia intermedia (Cuadro 16A).

Con respecto a la severidad registrada en campo en los diferentes cultivares, 'Talamanca' y 'Porrillo-Sintético' dieron en promedio, valores más bajos con 4,80 y 4,65, respectivamente. Sin embargo, el cv 'Porrillo-70' con un promedio de severidad de 5,25 no difiere del cv 'Talamanca'. Los cv 'ICA-Pijao' y 'Turrialba-4' forman un grupo de reacción intermedia y el 'R-27' con un promedio de 7,60 expresó síntomas severos de mustia (Cuadro 16A). Estas diferencias fueron significativas ($P= 0,05$).

En lo que se refiere a las interacciones entre cultivares y concentraciones de inóculo, el nivel de 10^5 prop/ml causó mayor incidencia y las parcelas del cv 'R-27' fueron las más afectadas. Todas las concentraciones difirieron del testigo sin inocular ($P= 0,05$). Sin embargo, las densidades de inóculo de 10^3 y 10^4 prop/ml, a excepción de las parcelas del cv 'Turrialba-4', causaron efecto igual de incidencia en las parcelas de los otros cultivares (Figura 9).

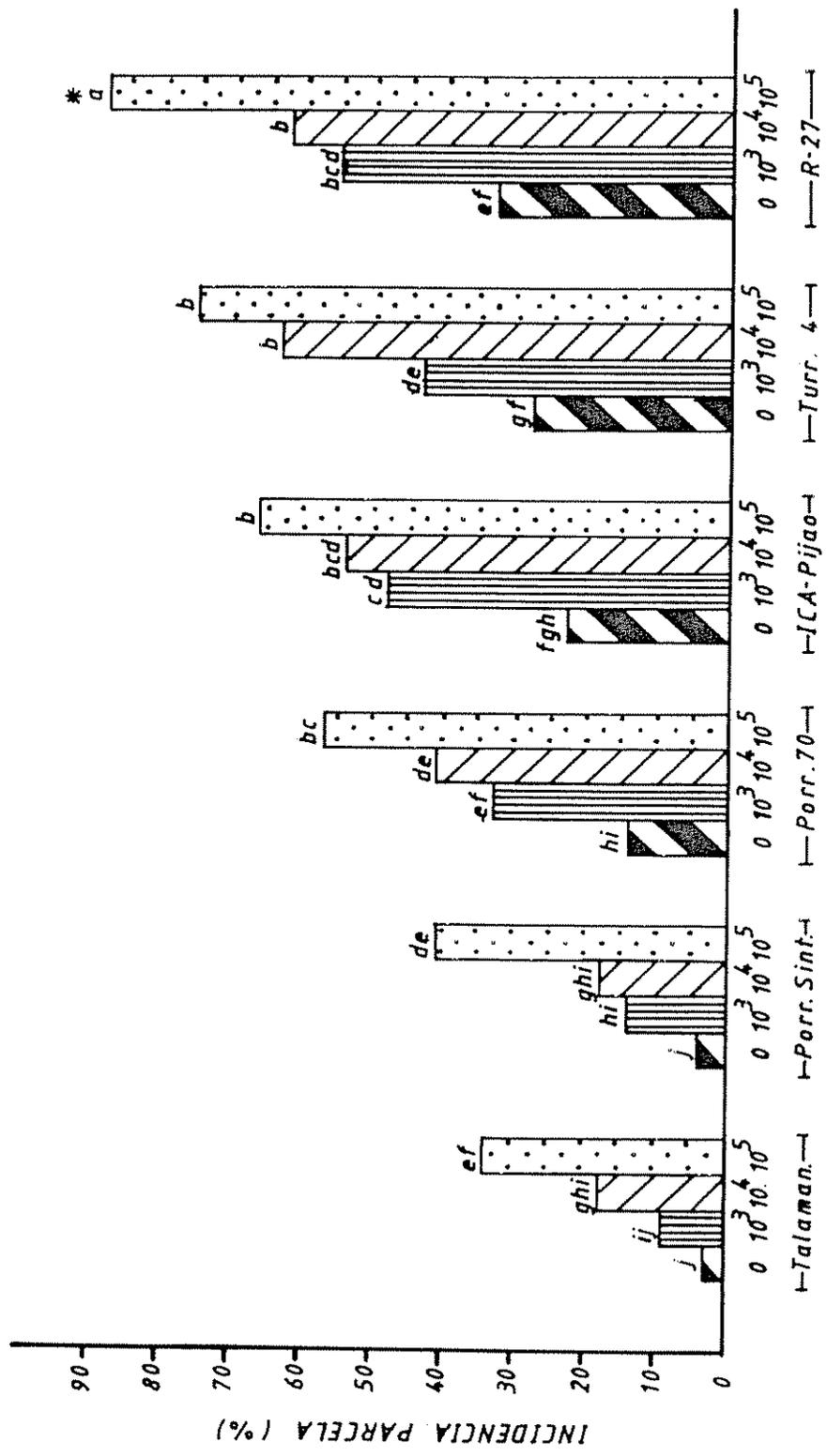


Figura 9 Incidencia (% planta/parcela) de mustia causada por *Thanatephorus cucumeris* en 6 cultivares de frijol inoculados con 3 concentraciones de micelio. La Montaña, CATIE, 1986.

* Los promedios con una misma letra no expresa diferencias significativas entre sí. Prueba de Duncan (P = 0,05).

La severidad en los diferentes cultivares aumenta con las concentraciones de inóculo. Se observó síntomas severos cuando a los cultivares se les aplicó 10^5 prop/ml. El cv 'R-27' presentó reacción de susceptibilidad, inoculado con la concentración de 10^3 prop/ml. La severidad fue de 7,60. Los cv 'Turrialba-4' e 'ICA-Pijao' se comportaron como susceptibles cuando se inocularon a la densidad de 10^4 prop/ml y expresaron respectivamente, valores de 7,0 y 7,2. Hasta la concentración de 10^5 prop/ml, la más alta utilizada, los cv 'Talamanca', 'Porrillo-70' y 'Porrillo-Sintético' conservaron su reacción intermedia con 6,55, 6,50 y 6,20, respectivamente (Figura 10). También se observa en esta misma figura que todas las concentraciones probadas difirieron del testigo y a excepción del cv 'Talamanca', el nivel de 10^3 prop/ml no difirió del 10^4 prop/ml que a su vez dio respuesta igual a la concentración de 10^5 prop/ml en todos los cultivares en cuanto a severidad de mustia ($P= 0,05$).

4.3.2 Incidencia en la planta y plantas muertas por mustia

Los cultivares se comportaron de manera distinta en su expresión de incidencia. Las plantas del cv 'R-27' fueron las más afectadas. La incidencia promedio en las plantas de dicho cultivar fue de 50,75 por ciento mientras que los menos afectados fueron los cv 'Porrillo-Sintético' y 'Talamanca' dando promedios de incidencia de 16,50 y 19,25 por ciento, respectivamente. En un grupo de reacción intermedia, se encontraron los cv 'Porrillo-70', 'ICA-Pijao' y 'Turrialba-4' (Cuadro 17A, Figura 11). Las diferencias observadas fueron significativas a nivel ($P= 0,05$).

Las tres concentraciones de micelio evaluadas en campo afectaron de manera creciente la incidencia de mustia en las plantas de los diferentes

SEVERIDAD

- 1 = Planta sana
- 2-3 = Resistente
- 4-6 = Intermedio
- 7-9 = Susceptible

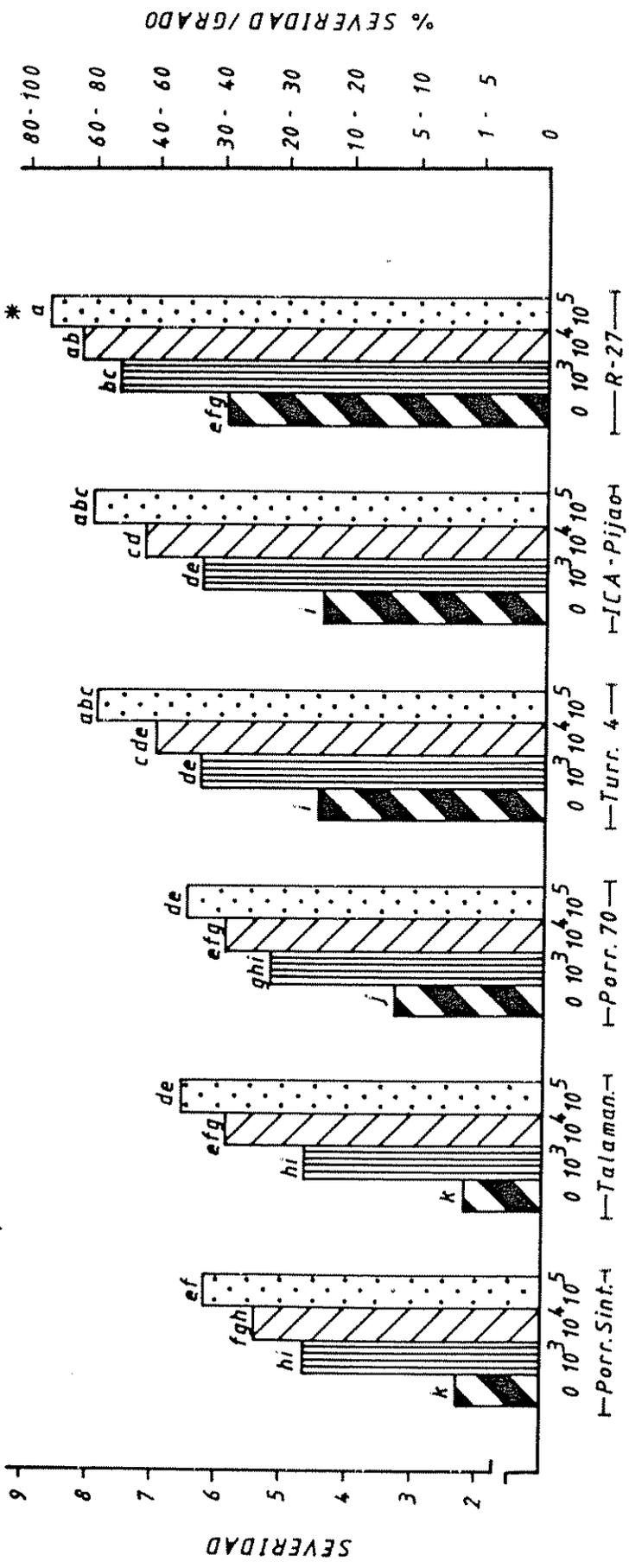


Figura 10. Severidad de mustia causada por *Thanatephorus cucumeris* en 6 cultivares de frijol inoculados con 3 concentraciones de micelio. La Montaña, CATIE, 1986.

* Los promedios con una misma letra no expresan diferencias significativas entre sí, según la prueba de amplitud múltiple de Duncan (P = 0,05).

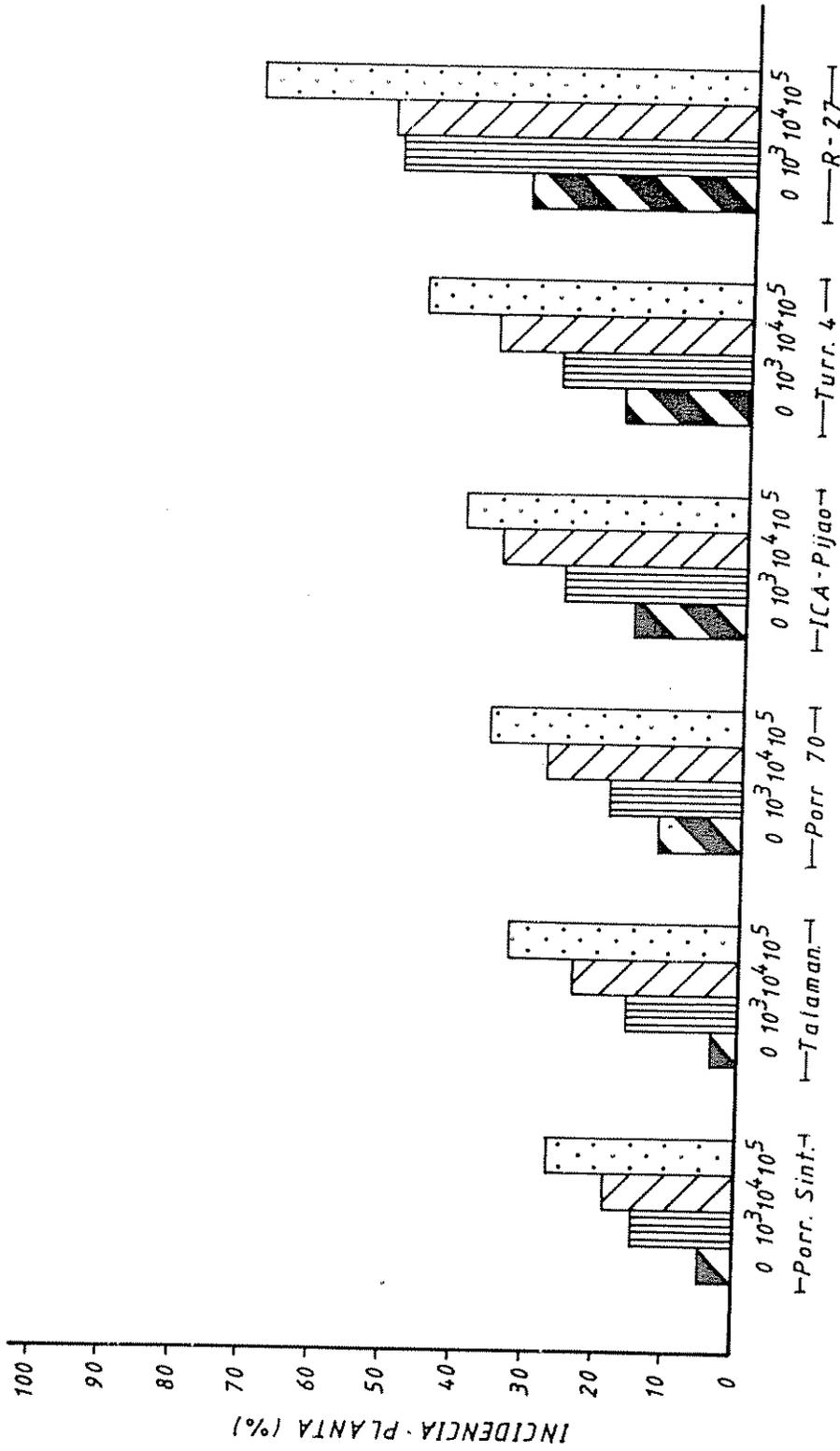


Figura 11. Incidencia (% hojas afectadas/planta) por mustia causada por *Thanatephorus cucumeris* en 6 cultivares de frijol de frijol inoculados con 3 concentraciones de micelio Promedio de 4 repeticiones. La Montaña, CATIE, 1986.

cultivares. Sin embargo, el nivel de 10^5 prop/ml fue el que causó mayor daño, especialmente en el cv 'R-27' con 70 por ciento de la planta afectada por la mustia (Figura 11).

El número de plantas muertas varía en los diferentes cultivares. En promedio y en cuanto a diferencias observadas para esta variable, los cultivares se agrupan en tres; en un grupo de menor número de plantas muertas están los cv 'Talamanca', 'Porrillo-Sintético' y 'Porrillo-70'. Los cv 'Turrialba-4' e 'ICA-Pijao' no difirieron entre sí en un grupo intermedio de plantas muertas por mustia mientras que el cv 'R-27' resultó en mayor número de plantas muertas. Estos resultados expresaron sus diferencias a nivel de significancia ($P= 0,05$) (Cuadro 17A, Figura 12).

En lo referente a las interacciones entre cultivares y concentraciones de micelio, la densidad de inóculo de 10^5 prop/ml dio mayor número de plantas muertas en todos los cultivares y el 'R-27' tuvo valor más grande de 3,40. Todas las concentraciones evaluadas difirieron del testigo sin inocular. Sin embargo, a excepción del cv 'Porrillo-70', los niveles de 10^4 prop/ml y 10^5 prop/ml expresaron resultados similares en todos los demás cultivares (Figura 12).

4.3.3 Efecto de las concentraciones de inóculo sobre los componentes de rendimiento

a) Rendimiento y vainas por planta.

En los respectivos cultivares evaluados se observó la tendencia del rendimiento a disminuir con niveles crecientes de inóculo. En

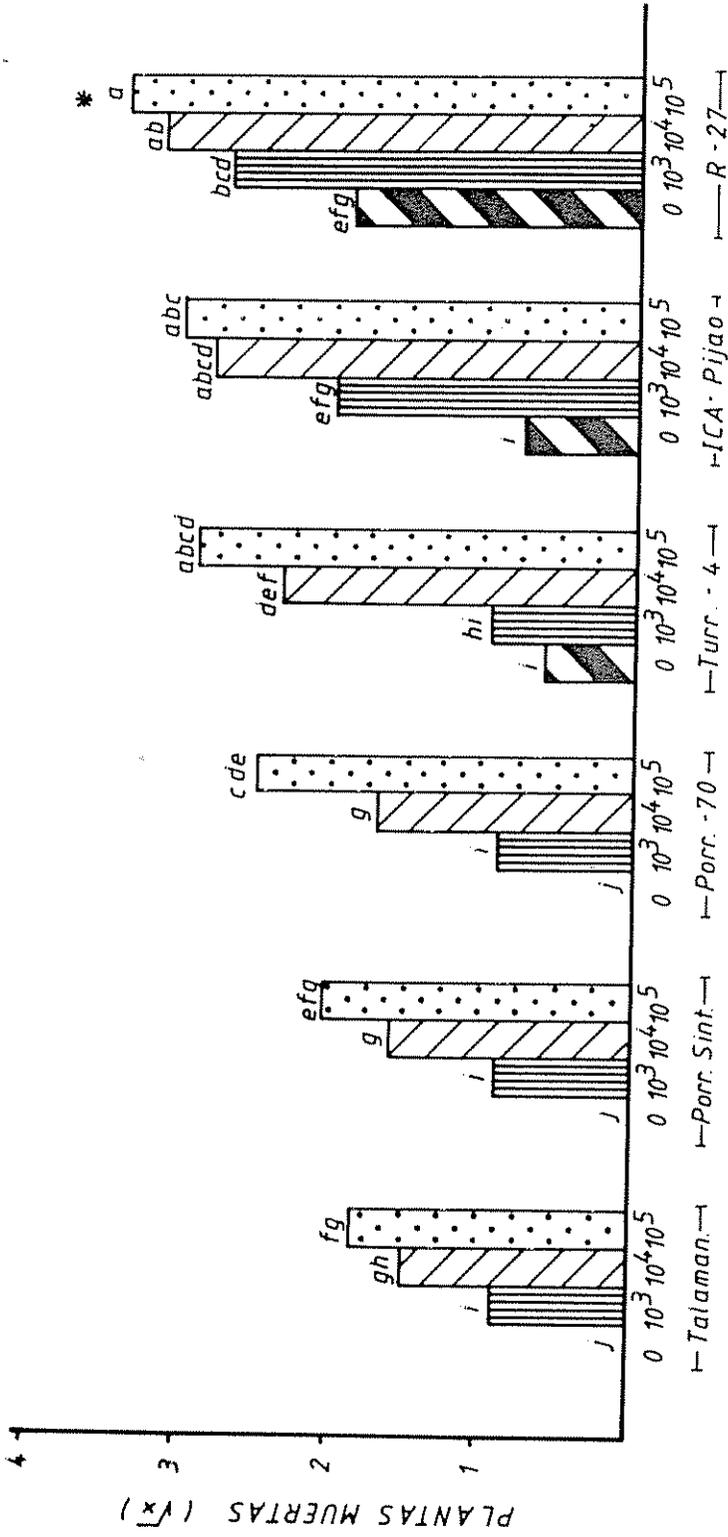


Figura 12. Plantas muertas por muestia causada por *Thanatephorus cucumeris* en 6 cultivares de frijol inoculados con 3 concentraciones de micelio. La Montaña, CATIE, 1986.

* Letras iguales expresan diferencias no significativas entre los promedios según la prueba de Amplitud Múltiple de Duncan (P = 0,05).

todos los cultivares, el rendimiento más bajo se obtuvo con el nivel de 10^5 prop/ml y el cv 'R-27' rindió a este nivel 679 kg/ha, el más bajo obtenido. El cultivar de mayor rendimiento fue el 'Porrillo-70' en el cual la parcela testigo sin inocular dio 2.024 kg/ha (Figura 13).

En cuanto a los promedios obtenidos por cultivar, 'Porrillo-70' con 1.664 kg/ha no difiere de los cv 'Talamanca', 'Porrillo-Sintético' e 'ICA-Pijao'. El grupo de menor rendimiento fue constituido por los cv 'Turrialba-4' y 'R-27' que dieron en promedio 1.237 y 942 kg/ha, respectivamente. Sin embargo, cabe destacar que los resultados obtenidos para el cv 'Turrialba-4' no fueron diferentes ($P=0,05$) de los observados para los cv 'Talamanca', 'Porrillo-Sintético' e 'ICA-Pijao' (Cuadro 19A).

Para la variable vainas por planta, a excepción del cv 'R-27' que presentó un promedio de 5,8 vainas por planta, la variación entre los demás cultivares fue poco marcada (Cuadro 19A). Sin embargo, se destacó la tendencia de esta variable a bajar a medida que se aumentaron las concentraciones de inóculo. El número más alto de vainas por planta lo obtuvo el cv 'Porrillo-70' que presentó un promedio de 13,30 vainas por planta en la parcela testigo mientras que el cv 'R-27', inoculado con 10^5 prop/ml dio 4,90 vainas por planta, valor más bajo obtenido (Figura 14).

b) Peso de 100 semillas y granos por vaina

Las diferencias en respuesta de los cultivares en cuanto a la variable de peso de 100 semillas les clasifican en cuatro grupos: el cv 'Turrialba-4' dio un promedio de 16,5 g, que es el menor peso de 100 semillas obtenido. Los cv 'Talamanca', 'Porrillo-Sintético' e 'ICA-Pijao' se agruparon con promedios de 18,8, 19,3 y 19,4 g, respectivamente.

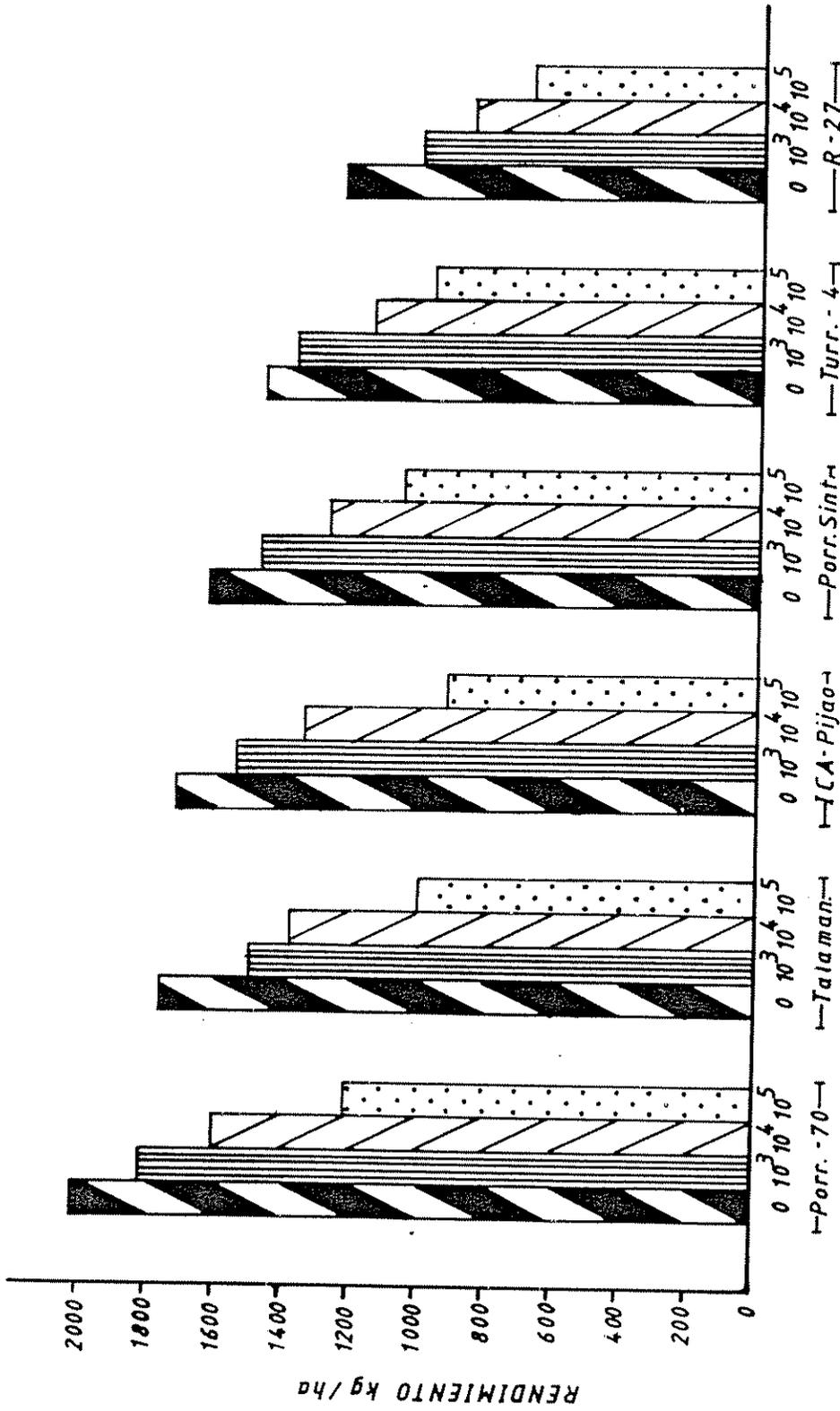


Figura 13. Rendimiento en kg/ha en 6 cultivares de frijol inoculados con 3 concentraciones de micelio de *Thanatephorus cucumeris*. Promedio de 4 repeticiones. La Montaña, CATIE, 1986.

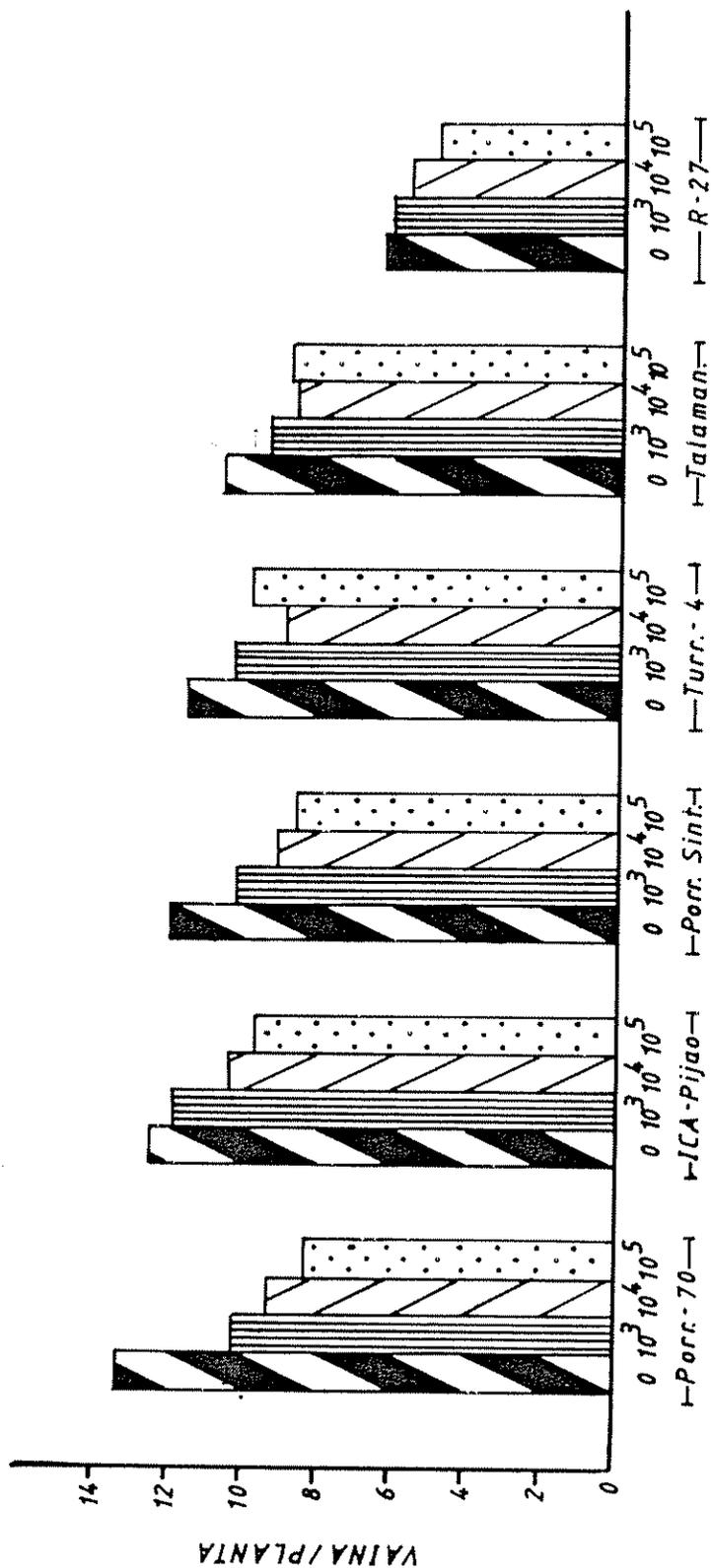


Figura 14. Número de vainas por planta en 6 cultivares de frijol inoculados con 3 concentraciones de micelio de *Thanatephorus cucumeris*. Promedio de 4 repeticiones. La Montaña, CATIE, 1986.

El cv 'Porrillo-70' mostró un promedio de 21,1 g y 'R-27' fue el cultivar con mayor peso de 100 semillas por su promedio de 42,2 g (Cuadro 4). Estas diferencias fueron significativas ($P= 0,05$).

En lo que respecta a las concentraciones de inóculo el nivel de 10^5 prop/ml dio un promedio de 22,3 g para esta variable que fue menor de los resultados obtenidos para las densidades de inóculo de 10^3 y 10^4 prop/ml y el testigo.

En el Cuadro 4, también se nota el comportamiento de la variable granos por vaina a disminuir con las diferentes concentraciones de inóculo. En promedio, a excepción del cv 'R-27' que presentó un número bajo, 4,45 granos por vaina, hubo poca variación entre los promedios de los demás cultivares. Los tratamientos de 10^4 y 10^5 prop/ml no se difirieron entre sí que a su vez fueron significativamente diferentes del 10^3 prop/ml y del testigo ($P= 0,05$) en cuanto a su efecto sobre el número de granos por vaina de los distintos cultivares.

c) Número de vainas con manchas y tamaño de manchas de mustia.

El número de vainas con manchas se mostró afectado por los crecientes niveles de inóculo. En muestra de 50 vainas, el nivel de 10^5 prop/ml dio mayor número de vainas afectadas en todos los cultivares y el cv 'R-27' sobresalió con 23 vainas afectadas, valor más alto a esta concentración de inóculo. Las parcelas testigo resultaron con menor número de vainas afectadas y el cv 'Porrillo-Sintético' obtuvo el promedio más bajo, 4,75 vainas con manchas de mustia (Figura 15).

Cuadro 4. Peso de 100 granos (P.100) en gramo y granos por vaina (G/v) en seis cultivares de frijol inoculados con tres concentraciones de micelio de *Thanatophorus cucumeris*. Promedio de cuatro repeticiones. La Montaña, CATIE, 1986.

Cultivares	Concentraciones de micelio/ml						Promedio $\frac{l}{G/v}$
	Testigo $\frac{P.100(g)}{G/v}$	10^3 $\frac{P.100(g)}{G/v}$	10^4 $\frac{P.100(g)}{G/v}$	10^5 $\frac{P.100(g)}{G/v}$	10^5 $\frac{P.100(g)}{G/v}$	10^5 $\frac{P.100(g)}{G/v}$	
Talamanca	19,69	18,85	18,60	5,57	18,22	5,54	18,84 c 5,75 a
Porrillo-Sint.	19,44	19,41	19,53	5,69	18,97	5,45	19,34 c 5,85 a
Porrillo-70	21,35	21,05	21,32	5,62	20,82	5,59	21,13 b 5,84 a
Turrialba-4	17,00	16,62	16,21	5,90	16,28	5,53	16,53 d 5,96 a
ICA-Piajo	19,98	16,67	19,12	5,48	18,83	5,55	19,40 c 5,71 a
R-27	41,86	41,99	44,62	4,21	40,55	3,94	42,26 a 4,45 b
Promedios							
P.100	23,22 a	22,93 a	23,23 a		22,28 b		
G/v	5,98 a	5,71 b	5,42 c		5,27 c		

$\frac{l}{G/v}$ Los valores con una misma letra son estadísticamente iguales según la Prueba de Amplitud Múltiple de Duncan (P= 0,05).

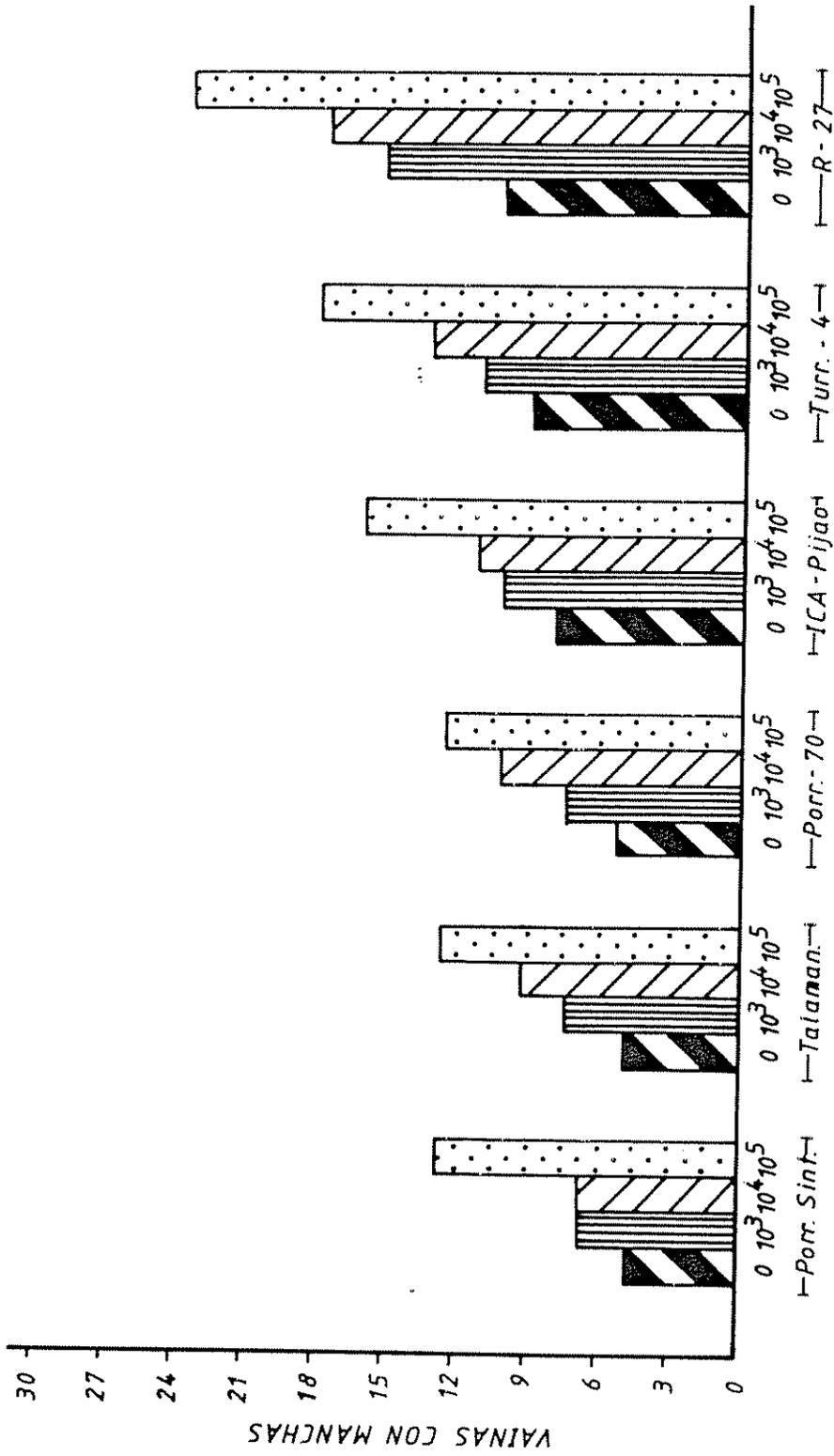


Figura 15. Número de vainas con manchas de mustia, causada por *Thanatephorus cucumeris* en 6 cultivares de frijol inoculados con 3 concentraciones de micelio. Promedio de 4 repeticiones. La Montaña, CATIE, 1986.

En promedio, los cv 'Porrillo-Sintético', 'Talamanca' y 'Porrillo-70' expresaron menor número de vainas manchadas. En otro grupo intermedio se encuentran los cv 'ICA-Pijao' y 'Turrialba-4' mientras que 'R-27' fue el cultivar con mayor vainas afectadas por la enfermedad (Cuadro 20A).

Las lesiones de mustia en las vainas fueron más severas conforme se aumentaron las concentraciones de inóculo. Los síntomas observados en las vainas fueron pequeñas manchas de color café, de forma irregular. Estas manchas fueron más grandes cuando los cultivares recibieron el nivel más alto de inóculo (Figura 16). A la concentración de 10^5 prop/ml, el cv 'R-27', con vainas más afectadas, presentó 27 por ciento de su vaina con síntomas de mustia mientras que en las parcelas testigo, especialmente para el cv 'Porrillo-70' se notaron lesiones muy pequeñas sobre las vainas.

Considerando los promedios obtenidos, las vainas de los cv 'ICA-Pijao' y 'R-27' fueron las más afectadas, con manchas de mustia de 16,25 y 18,44 por ciento sobre la vaina, respectivamente. El cv 'Porrillo-70' presentó manchas que cubrieron en promedio nueve por ciento de la vaina y los cv 'Talamanca', 'Porrillo-Sintético' y 'Turrialba-4' presentaron valores intermedios de 13,56, 11,37 y 14,31 por ciento, respectivamente (Cuadro 20A).

Se observó correlaciones positivas altamente significativas entre las concentraciones de inóculo y las características de incidencias ($r= 0,50$), severidad ($r= 0,65$), plantas muertas ($r= 0,50$), vainas con manchas ($r= 0,63$) y tamaño de manchas por vaina ($r= 0,73$). Las correlaciones fueron negativas y altamente significativas entre los tratamientos de

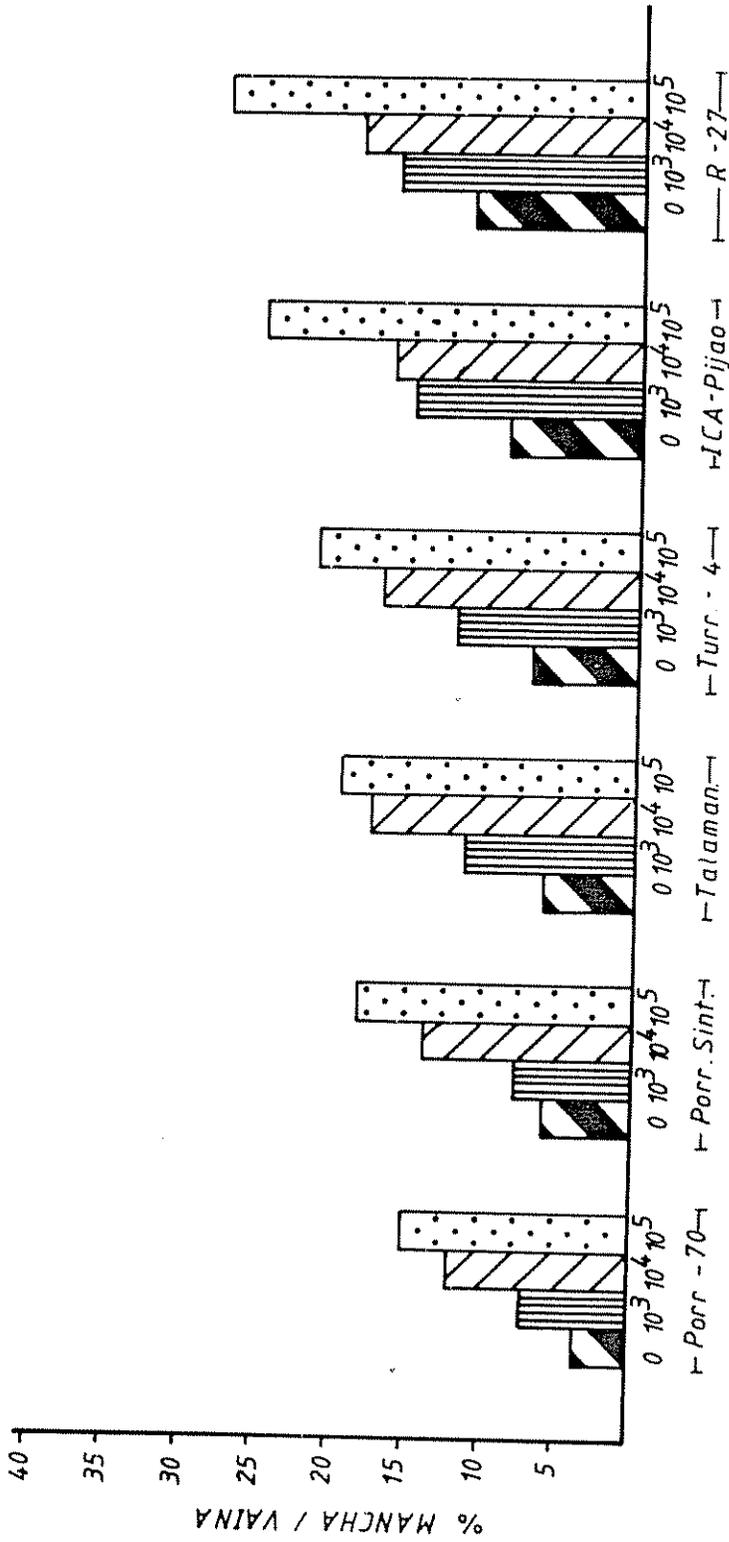


Figura 16. Tamaño de manchas (%) de mustia en vainas, causada por *Thanatephorus cucumeris* en 6 cultivares de frijol inoculados con concentraciones de micelio. Promedio de 4 repeticiones. La Montana, CATIE, 1986.

inóculo y las variables de rendimiento ($r = -0,58$), vainas por planta ($r = -0,42$) y granos por vaina con $r = -0,41$ (Cuadro 21A).

4.4 Relación invernadero - campo

Se comparó los tres niveles de inóculo 10^3 , 10^4 y 10^5 prop/ml de micelio de *T. cucumeris*, evaluados en campo y en invernadero.

a) Incidencia de mustia en las plantas

Los cultivares se ordenaron de manera casi similar en respuesta a las concentraciones de inóculo en ambos lugares. Sin embargo, la incidencia en las plantas de los diferentes cultivares inoculados fue mayor en invernadero que en campo.

En cuanto a los efectos de los tratamientos de inóculo, la densidad de 10^5 prop/ml dio 100 por ciento de incidencia en todos los cultivares inoculados en invernadero mientras que en campo, la incidencia más alta a esta dosis de inóculo fue de 70 por ciento, valor observado para el cv 'R-27'. La concentración de 10^3 prop/ml causó menor incidencia en todos los cultivares. En invernadero como en campo, se observó una gran variación entre cultivares inoculados con 10^3 prop/ml. Los valores varían de 28,5 por ciento para el cv 'Talamanca' a 52,4 por ciento para el cv 'ICA-Pijao' en invernadero, mientras que en campo, la menor incidencia, la tuvo el cv 'Porrillo-Sintético' con 15 por ciento y el valor más grande 50 por ciento a esta densidad de 10^3 prop/ml lo expresó el cv 'R-27'. Sin embargo, cabe destacar que el cv 'R-27' presentó un porcentaje igual de hojas infectadas en invernadero como en campo al nivel de 10^3 prop/ml. Se encontraron

valores intermedios de incidencia con la inoculación de las plantas a la densidad de 10^4 prop/ml en ambos lugares (Figura 17).

En el invernadero, las concentraciones de 10^3 , 10^4 y 10^5 prop/ml causaron en promedio 41, 73 y 100 por ciento de incidencia, respectivamente, en los diferentes cultivares mientras, que en campo los promedios respectivos fueron 25, 32 y 42 por ciento (Cuadros 2 y 17A).

b) Severidad de mustia

Tanto en invernadero como en campo se notaron síntomas más severos a medida que se aumentaron las concentraciones de inóculo. Todos los cultivares inoculados en invernadero con la dosis de 10^5 prop/ml se mostraron susceptibles expresando valores en la escala de severidad que varían de 8,25 a 8,85, respectivamente, para los cv 'Porrillo-70' y 'R-27'. En campo, esta reacción de susceptibilidad a este nivel de inóculo se presentó para los cv 'Turrialba-4', 'ICA-Pijao' y 'R-27' y los índices fueron 7,90, 8,00 y 8,70, respectivamente (Figura 18).

Al nivel de 10^4 prop/ml, se notó también reacción de susceptibilidad en invernadero para los cv 'ICA-Pijao' y 'R-27' con valores de 7,40 y 7,90 respectivamente mientras que en campo, tres cultivares: 'Turrialba-4', 'ICA-Pijao' y 'R-27' presentaron síntomas de mustia con reacción de susceptibilidad. En cuanto a la dosis más baja de 10^3 prop/ml, a excepción del cv 'R-27' que tuvo un índice de severidad de 7,60 cuando fue inoculado en campo, todos los cultivares presentaron reacción intermedia en su respuesta a la severidad de mustia tanto en campo como en invernadero. Sin embargo, esta dosis de 10^3 prop/ml afectó en mayor grado los

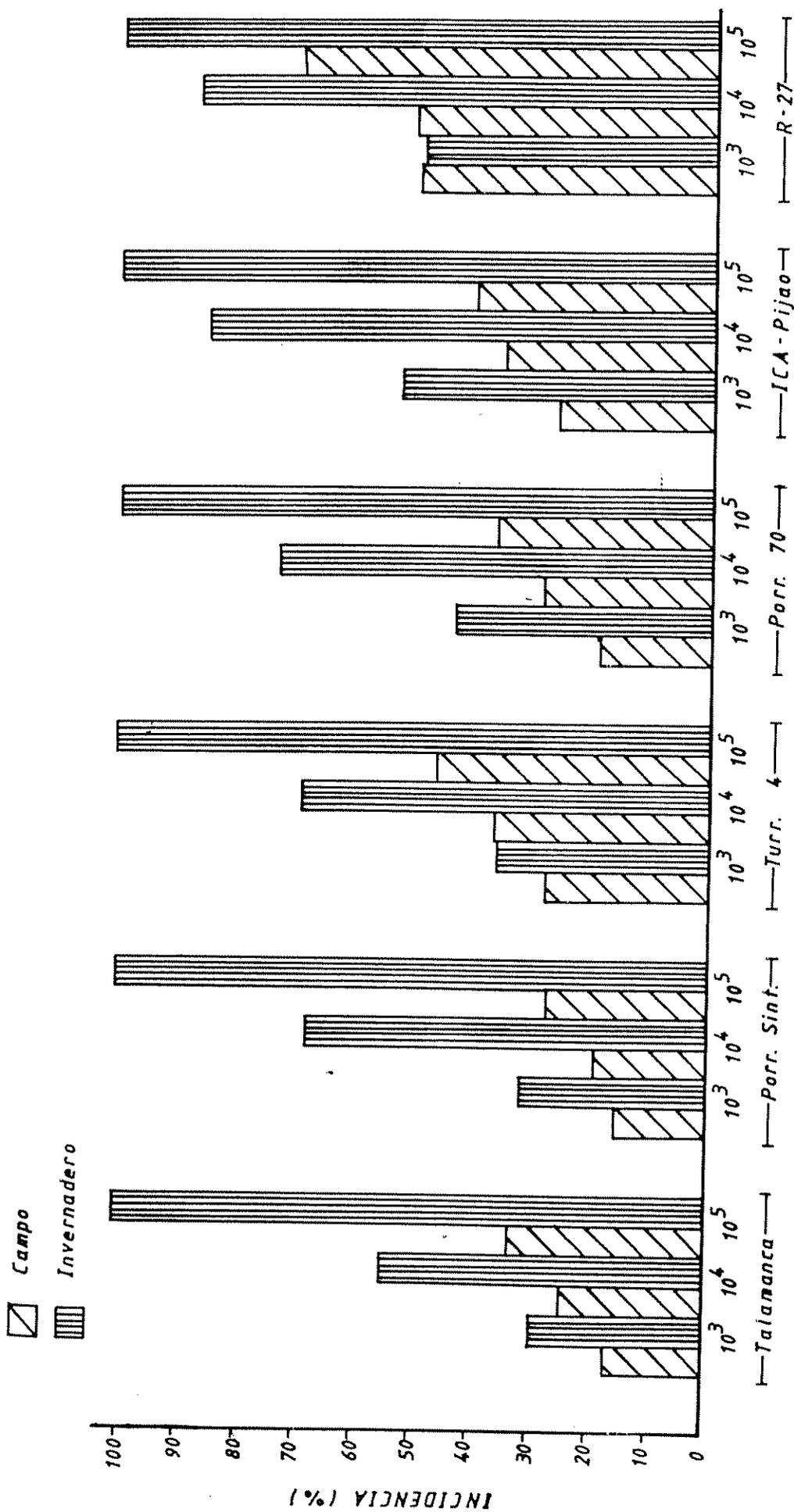


Figura 17. Incidencia (% de planta afectada) de mustia, causada por *Thanatephorus cucumeris* en 6 cultivares de frijol inoculados con 3 concentraciones de micelio en el Invernadero y campo. CATIE, 1986.

 Campo
 Invernadero

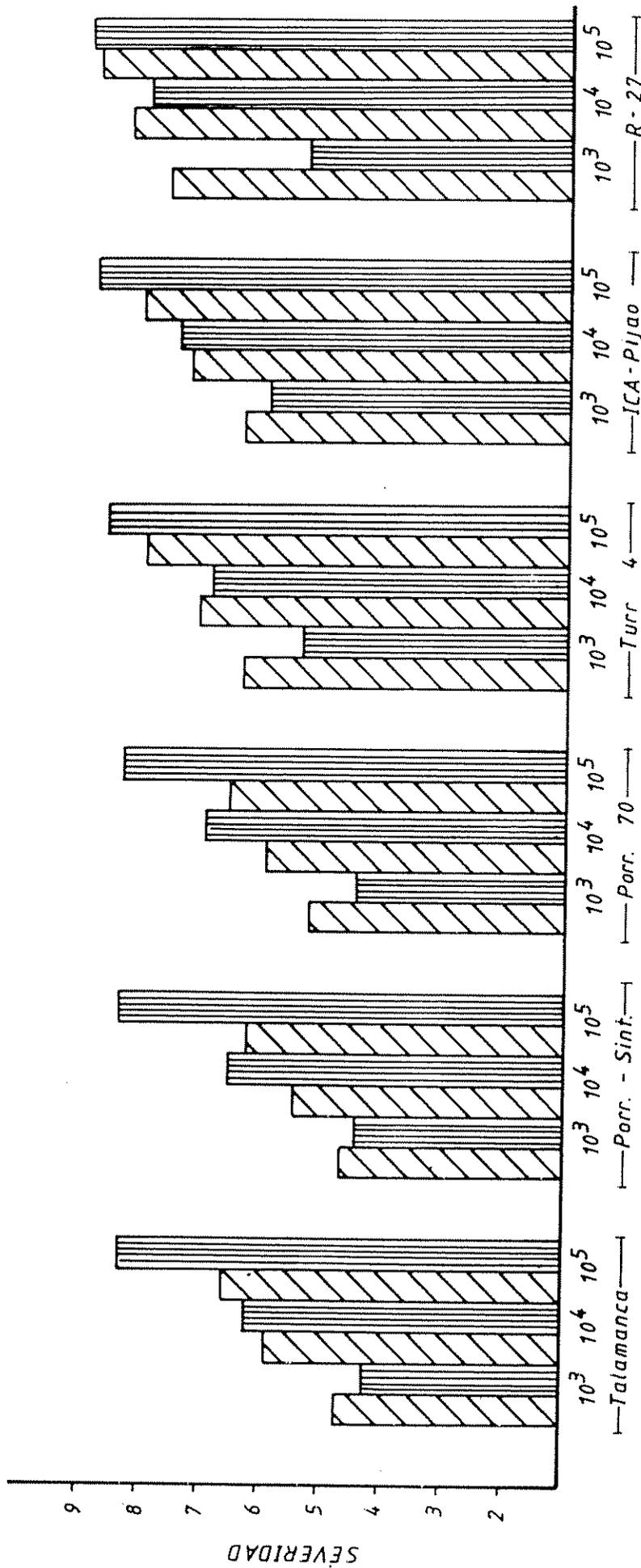


Figura 18. Severidad (1-9) * de mustia, causada por *Thanatephorus cucumeris*, en 6 cultivares de frijol inoculados con 3 concentraciones de micelio en Invernadero y Campo. CATIE, 1986.

* Escala (1-9) : 1=Planta sana, 2-3 = Resistente
 4-6=Intermedio ; 7-9 = Susceptible

cultivares inoculados en campo (Figura 18).

En promedio, se encontraron índices de severidad de 5,75, 6,60 y 7,30 en los cultivares inoculados en campo mientras que en invernadero los promedios fueron 4,90, 6,95 y 8,50 con las concentraciones de 10^3 , 10^4 y 10^5 prop/ml, respectivamente (Cuadro 3 y 16A).

5. DISCUSION

5.1 Evaluación de la resistencia a mustia hilachosa

a) Efecto de concentraciones de inóculo.

La inoculación de partes aéreas de plantas de frijol con diferentes concentraciones de inóculo de *T. cucumeris* no ha sido indicada anteriormente, por lo tanto, no es conocido la respuesta de cultivares con diferentes grados de susceptibilidad a niveles crecientes de inóculo.

Los resultados obtenidos en este experimento muestran diferencias en el comportamiento de los cultivares con respecto a los niveles de inóculo evaluados. La efectividad de este método se reflejó en altos porcentajes de incidencia y severidad a medida que se aumentaron las concentraciones de inóculo. En promedio, incidencia y severidad de mustia fueron asociadas linealmente con las concentraciones de inóculo. En cultivares como 'Porrillo-70', 'Porrillo-Sintético' y 'Talamanca', el incremento en niveles de inóculo resultó marcadamente en un incremento de severidad. Sin embargo, para los cv 'ICA-Pijao' y 'R-27', al nivel de 10^4 prop/ml, los tejidos fueron infectados casi por completo y el incremento posterior de inóculo resultó en un aumento relativamente pequeño en severidad e incidencia de la enfermedad. El progreso de la enfermedad fue muy rápido a la concentración de 10^5 prop/ml y se notó poca variación en la reacción de los cultivares.

Al igual de lo observado, en condiciones de ocurrencia natural de mustia, se encontró que incidencia y severidad fueron más altas en un campo con un número relativamente grande de propágulos de *T. cucumeris*

por gramo de suelo y la severidad fue más baja en otro campo que ha estado en rotación con gramíneas y pastos (24).

Uno de los objetivos de este estudio consistió en determinar el nivel de inóculo adecuado en un programa de mejoramiento de frijol por resistencia a mustia. Considerando los resultados obtenidos, tanto para incidencia como para severidad, este método de evaluar resistencia a mustia utilizando concentraciones crecientes de inóculo de *T. cucumeris* permite separar cultivares con diferentes grados de susceptibilidad. La concentración de 10^4 prop/ml permite mejor esta separación, lo que sugiere su importancia en un programa de mejoramiento por resistencia.

La mustia de frijol ha contribuido a grandes pérdidas de rendimiento durante la estación lluviosa, época de mayor producción y diseminación del inóculo del hongo, y su ocurrencia en proporciones epidémicas (59). En nuestro estudio, aún cuando el rendimiento varía de un cultivar a otro como resultado de su potencial genético respectivo, consistentemente el rendimiento más bajo se obtuvo con la densidad más alta de inóculo.

Se ha observado anteriormente (24) que el rendimiento del cv 'Porri-llo-70' fue casi nulo en campo con alto nivel de inóculo de *T. cucumeris*, sin embargo la infección de las plantas ocurrió 14 días después de la siembra y condiciones de alta precipitación (500 mm/mes) favorecieron el desarrollo de la enfermedad. Estos resultados difieren de los obtenidos en esta investigación pues no se notó pérdidas totales aún al nivel más alto de inóculo probado. Esto pudo haber ocurrido debido a que los cultivares fueron inoculados en campo a los 35 días, y que las condiciones climáticas, especialmente la humedad, no fueron completamente favorables

para el desarrollo de la enfermedad.

Los componentes de rendimiento fueron bastante afectados y parece que la alta incidencia y severidad correlacionadas con las concentraciones de inóculo fueron aparentemente responsables. Resultados similares fueron observados por Weber (59) sobre plantas de frijol lima en campo de alto potencial de inóculo y las condiciones favorables a la diseminación del patógeno y desarrollo de la enfermedad.

b) Efecto del tipo de inóculo

En trabajos anteriores (17, 59) se ha demostrado la infectividad y la habilidad de esclerocios, fragmentos de micelio y basidiosporas a inducir los síntomas típicos de mustia hilachosa en frijol. También se informó (24) que la producción de basidiosporas es importante en la diseminación del hongo a largas distancias y en el intercambio de material genético entre diferentes aislamientos del hongo que resulta en la producción de nuevos tipos con una variación considerable en virulencia.

En este estudio, se notaron diferencias entre estas estructuras en cuanto a la iniciación y desarrollo posterior de mustia en cultivares de frijol bajo condiciones de inoculación en cámara húmeda. Los síntomas observados en plantas inoculadas con micelio han sido indicados anteriormente (24, 59). Con basidiosporas, las lesiones observadas fueron numerosas manchas sobre la superficie de la hoja, pequeñas al inicio que coalescen rápidamente causando daños severos en las plantas. Estos síntomas fueron anteriormente observados por Echandi (17), sin embargo, el número de lesiones notado fue mucho menor. Estas diferencias pueden ser el

resultado de métodos utilizados y condiciones específicas de los experimentos. Echandi (17) utilizó gotas de una suspensión de basidiosporas que fueron colectadas en hojas de frijol mostrando un himenio bien desarrollado mientras que en este estudio una base alimenticia previa a la producción de basidiosporas pudo haber tenido un papel en cuanto a la severidad que causó este aislamiento en plantas de diferentes cultivares (3).

Como en este trabajo, en Colombia, se encontró que cultivares de frijol tuvieron reacción distinta en campo con respecto a la incidencia y severidad de la enfermedad, según que la fuente de inóculo inicial sea basidiospora o micelio (14).

El mayor efecto debido a la inoculación con micelio podría ser explicado por el proceso de penetración del hospedante por ambas estructuras, condiciones de humedad y temperatura en la cámara siendo favorables (20). La infección por basidiosporas ocurre después del establecimiento de hifas sobre el tejido. Otra explicación sería que el inóculo de basidiosporas no tiene el mismo potencial que el micelio, o sea la energía para colonizar un sustrato.

Por las razones mencionadas, se considera que el método de inoculación con micelio, además de su simplicidad, es confiable en programas que tengan como objetivos la búsqueda de resistencia *T. cucumeris*.

c) Relación campo - invernadero

Los resultados han demostrado que las diferencias en reacción a la enfermedad ocurrieron entre cultivares tanto en campo como en invernadero.

Sin embargo, la efectividad de las inoculaciones en invernadero, en cámaras húmedas, se reflejó en altos porcentajes de incidencia y severidad que permitieron determinar los niveles de resistencia al hongo.

El ataque de mustia fue más intenso en cultivares inoculados en invernadero. Observaciones similares fueron hechas por Sánchez (49) que concluyó que las condiciones en este sitio fueron más favorables para el desarrollo de la enfermedad. La inoculación en invernadero, utilizando cámaras húmedas, permitió reproducir y controlar la condición de alta humedad indispensable para la germinación y penetración del hongo y asegura la presencia de una película de agua libre sobre el follaje necesario para la formación del tubo germinal.

Varios autores (17, 24, 59) han encontrado que la presencia de una película de agua es determinante en el proceso de germinación y penetración de hifas del hongo. La humedad es también indispensable para la penetración, dado que las hifas del hongo son muy susceptibles a la desecación, lo que puede causar su muerte (20). Esto explica la diferencia en incidencia observada en el invernadero y el campo, donde fluctuaciones climáticas diarias impiden que la humedad relativa alta, sea suficientemente prolongada para la germinación y penetración del hongo.

En el desarrollo de este trabajo, además de las condiciones de humedad, las observaciones efectuadas indican que la temperatura, fue determinante en el desarrollo de la enfermedad. El promedio de temperatura fue más elevado en invernadero. Condiciones de alta temperatura, susceptibilidad del hospedero y la capacidad de los aislamientos a producir un número grande de esclerocios en un tiempo corto fueron considerados como

factores importantes para determinar incidencia y severidad de mustia (24, 59).

Sin embargo, la mayor severidad observada en invernadero, especialmente para los niveles de 10^4 y 10^5 prop/ml, pudo haber ocurrido debido a que las plantas crecieron menos vigorosamente y por lo tanto favorecieron el desarrollo de los síntomas de la enfermedad. Por otro lado, en campo se observó en algunas parcelas síntomas típicos de infección por basidiosporas. El hecho de no haber sido posible evitar la contaminación entre las parcelas y las condiciones de diseminación en el campo podrían explicar el mayor efecto de la concentración de 10^3 prop/ml en campo, al compararla con la del invernadero.

d) Comportamiento de los cultivares

Comparando la reacción de los cultivares, estos resultados demuestran que no existe uno, en los seis evaluados, que sea inmune a la mustia, pero se notaron diferencias en susceptibilidad a bajo nivel de inóculo. Este hecho fue mencionado anteriormente por Sánchez (49) quien trabajó con cultivares de frijol de diferentes grados de susceptibilidad en Costa Rica.

Los diferentes niveles de resistencia o de susceptibilidad obtenidos en esta investigación y en otras observaciones en condiciones de ocurrencia de la enfermedad en campo (14, 24, 49) indican aparentemente la existencia en los cultivares de resistencia horizontal. Esta resistencia, llamada también cuantitativa, se caracteriza por la presencia de genes de resistencia que le confieren a la planta una protección permanente pero incompleta contra el hongo (57).

De nuestra observación, en promedio, se calificó los cultivares en dos grupos de reacción a la enfermedad denominada en esta investigación: resistencia intermedida y susceptible. Esta calificación se basa principalmente en la severidad, dado que esto expresa mejor el daño que puede causar el hongo a los cultivares (52).

Los cv 'Porrillo-70', 'Talamanca', 'Porrillo-Sintético' y 'Turrialba-4' se calificaron como de resistencia intermedia por mostrar un índice de severidad menor que 7. Estos cultivares fueron previamente evaluados en Costa Rica (14,22) y, al igual que en este trabajo, se les consideró con cierta resistencia a *T. cucumeris*. Los del grupo 'Porrillo' fueron señalados anteriormente por poseer aparentemente genes de resistencia a la enfermedad (24) y el cv 'Talamanca' entró como testigo resistente en varios estudios de evaluación de germoplasma llevados a cabo en Costa Rica (14, 54). Estos cultivares, a pesar de que las condiciones de humedad fueron favorables para el patógeno, tuvieron también las menores incidencias, la cual fue mínima para el cv 'Talamanca', lo que sugiere una relación entre la incidencia y cultivares con grado de resistencia. Los bajos valores de incidencia y severidad de estos cultivares, parecen indicar que poseen genes de resistencia que les confieren mecanismos que impiden o retrasan el desarrollo de *T. cucumeris*. Por estas razones, se considera que dichos cultivares son promisorios y el cv 'Porrillo-70' por tener buen potencial de rendimiento y buena adaptación, lo convierten en un material genético muy valioso como progenitor en un programa de mejoramiento para resistencia a *T. cucumeris* (4). Sin embargo, en este mismo grupo, se destacó el comportamiento del cv 'Turrialba-4' que parece tener menos genes que le confieren esta resistencia. Además, es importante conocer si

estos cultivares tienen diferentes fuentes de resistencia para *T. cucumeris*.

Como parece que hay varios genes que están involucrados en la expresión de resistencia, al principio se deben usar bajos niveles de inóculo para poder reconocer estos genes que, en su acción individual, confieren bajos niveles de resistencia. Al mezclar genes de resistencia de diversas fuentes, se podrían encontrar niveles más altos de resistencia por lo cual posiblemente sería más conveniente probar niveles más altos de inóculo.

Los cultivares susceptibles mostraron los más altos niveles de incidencia y severidad. Su comportamiento se debe a que probablemente no poseen genes de resistencia para el aislamiento probado, lo que facilita el rápido desarrollo del patógeno. En este grupo se incluye consistentemente a lo largo de los experimentos los cv 'ICA-Pijao' y 'R-27', los que han mostrado anteriormente reacción de susceptibilidad a la mustia (14, 49).

Se menciona también en varias publicaciones que es posible que la arquitectura de la planta sea un factor importante para considerar en la resistencia a la enfermedad. Las plantas erectas de hojas pequeñas y con buena distribución del área foliar favorecen la circulación del aire y evitan condiciones propicias para el desarrollo del hongo (22, 24, 26).

Sin embargo cabe mencionar que en promedio los cultivares indicados con resistencia retrasaron el desarrollo de la enfermedad hasta el nivel de 10^4 prop/ml y a partir del nivel de 5×10^5 prop/ml, las diferencias en reacción de los cultivares fueron poco marcadas y las plantas de los

seis cultivares fueron completa y severamente afectadas.

5.2 Características de los aislamientos

La identificación de los aislamientos colectados fue hecha con base en las características del micelio del estado imperfecto, *R. solani* y la producción del estado basidial (21, 55). Los aislamientos utilizados en este estudio han producido el estado perfecto y tuvieron las características del micelio de *T. cucumeris*. Varios autores (17, 22, 24) han indicado anteriormente la ocurrencia de *T. cucumeris* y la severidad de mustia de frijol en Costa Rica.

Una variación considerable fue encontrada en las características de los 12 aislamientos. Weber (59) observó variabilidad en la morfología y características de cultivo de aislamientos de este hongo. La tasa de crecimiento del micelio fue relativamente rápida. Resultados similares fueron encontrados por Galindo (24) quien concluyó que el crecimiento rápido del micelio es característica de aislamientos de *T. cucumeris* que causan mustia. El color de micelio no se encontró correlacionado con la tasa de crecimiento. Sin embargo, se notó una gran variabilidad en cuanto a la producción y tamaño de esclerocios entre los aislamientos. Este comportamiento ha sido observado con aislamientos de *T. cucumeris* obtenidos de hojas de frijol en Florida (59).

La variabilidad en las características de *T. cucumeris* ha sido asociada con la variación en virulencia. En varias investigaciones (25, 46) se han concluido que la variabilidad del patógeno se produce por el fenómeno de anastomosis por lo tanto se considera que la población de *T. cucumeris* está compuesta por grupos de anastomosis. Al respecto Sherwood

(50) informó que en la clasificación de aislamientos de *T. cucumeris* es mejor utilizar anastomosis que uso morfológico y fisiológico de sub-especies. La inhabilidad de grupos de anastomosis a aparearse con otros parece ser un carácter estable; por otro lado, la expresión morfológica es fácilmente modificada por el ambiente.

En este estudio, la mayoría de los aislamientos utilizados fueron asignados al grupo AG-2. Este grupo de anastomosis ha sido aislado de hojas de frijol (24, 46) y estos autores encontraron que la mayoría de los aislamientos de mustia en Costa Rica caen en el grupo AG-2. Los grupos AG-1 fueron encontrados de más alta tasa de crecimiento y virulencia a frijol que los grupos AG-2. Sin embargo, en este trabajo un aislamiento AG-2 fue numéricamente de mayor tasa de crecimiento (Cuadro 1) y fue el principal criterio de escogencia de los aislamientos en la prueba de virulencia.

El grupo AG-2,2 fue considerado como una subdivisión de AG-2 debido a la infrecuencia de anastomosis dentro del grupo y las características de su cultivo. Debido a este comportamiento, Parmeter (46) sugirió el uso de tres o más probadores para distinguir aislamientos AG-2. Un aislamiento en el estudio tuvo afinidad a AG-3. Este último grupo fue predominantemente aislado de papa (46). Sin embargo este mismo autor concluye que ninguno de los grupos de anastomosis tuvieron ámbito bien definido de hospederos y patogenicidad.

La prueba de agresividad indica que existe una gran variación en la habilidad de las cepas del hongo para producir lesiones en tejidos de diferentes cultivares. En este estudio, el aislamiento de mayor tasa de crecimiento produjo lesiones más grandes en cultivares de diferentes

grados de susceptibilidad. Estos resultados concuerdan con los obtenidos anteriormente (24).

6. CONCLUSIONES

Con base en los resultados generados y bajo las condiciones ambientales durante el estudio y la potencialidad del material genético utilizado, se puede llegar a las siguientes conclusiones:

1. La inoculación de cultivares de frijol con niveles crecientes de inóculo de *T. cucumeris* resultó en un incremento en incidencia y severidad de acuerdo al aumento del inóculo.
2. El estudio pone de relieve la importancia del nivel de inóculo cerca a los 10^4 prop/ml en un programa de mejoramiento por resistencia a *T. cucumeris*, pues concentraciones más altas de inóculo pueden superar la resistencia la cual podría proveer protección adecuada bajo condiciones de campo.
3. Se encontró evidencia de que la utilización de fragmentos de micelio incrementó la eficiencia de inoculación para la evaluación de cultivares de frijol resistentes a *T. cucumeris* al incrementar significativamente la incidencia y severidad de mustia.
4. Al nivel de inóculo de 10^4 prop/ml, los cv 'Porrilo-70', 'Talamanca', 'Porrillo-Sintético' y 'Turrialba-4' no fueron tan susceptibles debido probablemente a la presencia de genes de resistencia los cuales están ausentes o en menor cantidad en los cv 'ICA-Pijao' y 'R-27' que fueron severamente afectados.
5. Todos los cultivares mostraron susceptibilidad al nivel más alto de inóculo, tanto en forma de micelio como de basidiosporas.

7. RECOMENDACIONES

Se recomienda probar niveles de inóculo entre 10^2 - 10^4 prop/ml en condiciones de campo en plantas de frijol entre 12 y 15 días de edad, donde las condiciones climáticas, especialmente la humedad, son más conductivas para el desarrollo de la enfermedad antes de iniciar programas que tengan como objetivos la incorporación de resistencia a cultivares de frijol.

La inoculación con suspensión de micelio del hongo permite evaluar gran cantidad de materiales en un tiempo más corto y es un método confiable para determinar diferencias en susceptibilidad a *T. cucumeris*.

Para trabajos de investigación, los cv 'R-27' e 'ICA-Pijao' pueden ser utilizados como testigos susceptibles.

En trabajos con este hongo en otras regiones, se recomienda seguir la misma metodología (Anexo 1) antes de iniciar programas de mejoramiento de cultivares de frijol a *T. cucumeris*.

8. LITERATURA CITADA

1. ABAWI, G. S.; MARTIN, S. B. 1985. Rhizoctonia foliar blight of cabbage in New York. *Plant Disease* (EE.UU.) 69(2):158-161.
2. ADAMS JUNIOR, G. C.; BUTLER, E. E. 1979. Serological relationships among anastomosis groups of *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology* (EE.UU.) 69(6):628-633.
3. _____; BUTLER, E. E. 1983. Influence of nutrition on the formation of basidia and basidiospores in *Thanatephorus cucumeris*. *Phytopathology* (EE.UU.) 73(2):147-151.
4. ALFARO, R. 1983. El cultivo de frijol. San José, C. R., CAFESA. 100 p.
5. ANDERSON, V. L.; Mc CLEAN, R. A. 1974. Design of experiments. New York, EE.UU., Marcel Dekker. 418 p.
6. BAKER, R. 1971. Analyses involving inoculum density of soil borne pathogens in epidemiology. *Phytopathology* (EE.UU.) 61:1280-1292.
7. BOLKAN, H. A.; BUTLER, E. E. 1974. Studies on heterokaryosis and virulence of *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology* (EE.UU.) 64(4): 513-522.
8. _____; RIBEIRO, W. R. C. 1985. Anastomosis groups and pathogenicity of *Rhizoctonia solani* isolates from Brazil. *Plant Disease* (EE.UU.) 69(7):599-601.
9. CARDONA, C. A.; MORALES, F. J.; CORMALES, M. P.; FLOR, C. A. 1982. Problemas de campo en los cultivos de frijol en América Latina. Cali, Colombia, CIAT. 116 p.
10. CASTANHO, B.; BUTTLER, E. E. 1978. Rhizoctonia decline: studies on hypovirulence and potencial use in biological control. *Phytopathology* (EE.UU.) 68:1511-1514.
11. CHRISTOU, T. 1962. Penetration and host-parasite relationships of *Rhizoctonia solani* in the bean plant. *Phytopathology* (EE.UU.) 52(5):381-389.
12. CIAT (Col.) 1978. El programa de frijol. In Avances logrados en 1978. Cali, Colombia, CIAT. p. 1-26.
13. _____. 1982. Resistencia a enfermedades fungosas y bacterianas. In CIAT. Informe Anual 1982. Cali, Colombia. p. 33-48.
14. _____. 1983. Resistencia a enfermedades fungosas. In CIAT. Informe Anual 1983. Cali, Colombia. p. 18-38.

15. CRISPIN, A.; GALLEGOS, C. C. 1963. Web blight. A severe disease of beans and soybeans in Mexico. *Plant Disease Reporter (EE.UU.)* 47(11):1010-1011.
16. DODMAN, R. L.; BAKER, K. R.; WALKER, J. C. 1968. Modes of penetration by diferent isolates of *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology (EE.UU.)* 58:31-33.
17. ECHANDI, E. 1965. Basidiospore infection by *Pellicularia filamentosa* (=Corticium microsclerotia), the incitant of web blight of comon bean. *Phytopathology (EE.UU.)* 55:698-699.
18. FEDERATION OF BRITISH PLANT PATHOLOGISTS. 1973. A guide to the use of terms in plant pathology. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England. *Phytopathological Papers no. 17.* 55 p.
19. FLENTJE, N. T. 1956. Studies on *Pellicularia filamentosa* (Pat.) Rogers. 1. Formation of the perfect stage. *British Mycological Society Transactions (G. B.)* 39(3):343-356.
20. _____. 1957. Studies on *Pellicularia filamentosa* (Pat.) Rogers. 3 Host penetration and resistance, and strain specialization. *British Mycological Society Transactions (G. B.)* 40(3):322-336.
21. _____; SAKSENA, H. K. 1957. Studies on *Pellicularia filamentosa* (Pat.) Rogers. 3. Occurence and distribution of pathogenic strains. *British Mycological Society Transactions (G.B.)* 40(1):95-108.
22. FLORES MORA, D. M. 1984. Evaluación de cultivares de frijol común tolerantes a la Telaraña (*Thanatephorus cucumeris* (Frank) Donk (= *Rhizoctonia solani* Kühn) en Esparza y en las Juntas del Pacuar de Pérez Zeledón. Tesis Ing. Ag. San José, Universidad de Costa Rica, Facultad de Agronomía. 31 p.
23. FRENCH, E. R.; HEBERT, T. T. 1982. Métodos de investigación fitopatológica. San José, Costa Rica. IICA. 209 p.
24. GALINDO, J. J. 1982. Epidemiology and control of web blight of beans in Costa Rica. Ph. D. Thesis. Ithaca, New York, Cornell University. 141 p.
25. _____; ABAWI, G. S.; THURSTON, H. D. 1982. Variability among isolates of *Rhizoctonia solani* asociated with snap bean hypocotyls and soil in New York. *Plant Disease (EE.UU.)* 66(5):390-394.
26. GALVEZ, G. E.; GUZMAN, P.; CASTAÑO, M. 1980. La mustia hilachosa. In *Problemas de producción de frijol: enfermedades, insectos, limitaciones edáficas y climáticas de Phaseolus vulgaris L.* Ed. por H. F. Schwartz; G. E. Galvez. Cali, Colombia, CIAT. p. 101-110.

27. HENIS, Y.; BEN-YEPHET, Y. 1970. Effect of propagule size of *Rhizoctonia solani* on saprophytic growth, infectivity, and virulence on bean seedlings. *Phytopathology* (EE.UU.) 60(9):1351-1356.
28. HOLDRIDGE, L. R. 1982. *Ecología basada en zonas de vida*. San José, Costa Rica, IICA. 216 p.
29. ICHIELEVICH-AUSTER, M.; SNEH, B.; KOLTIN, Y.; BARASH, I. 1985. Suppression of damping-off caused by *Rhizoctonia* species by a nonpathogenic isolate of *R. solani*. *Phytopathology* (EE.UU.) 75(10):1080-1084.
30. IICA (C.R.). 1963. La chasparria del frijol provocada por *Pellicularia filamentosa*; patogenicidad de difentes cepas del hongo. Evaluación de la resistencia a la chasparria de variedades y selecciones de frijol. In IICA. Informe Técnico 1963. San José, Costa Rica. p. 76.
31. KAMAL, M.; WEINHOLD, A. R. 1967. Virulence of *Rhizoctonia solani* as influenced by age of inoculum in soil. *Canadian Journal of Botany* (Can.) 45:1761-1765.
32. KO, W. H.; HORA, F. K. 1971. A selective medium for the quantitative determination of *Rhizoctonia solani* in soil. *Phytopathology* (EE.UU.) 61(6):707-710.
33. LITTLE, T. M.; HILLS, F. J. 1983. Métodos estadísticos para la investigación en la agricultura. México, Editorial Trillas. p. 125-143.
34. LIU, S.; BAKER, R. 1980. Mechanism of biological control in soil suppressive to *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology* (EE.UU.) 70(5):404-412.
35. LUKE, W. J.; PINCKARD, J. A.; WANG, S. C. 1974. Basidiospore infection of cotton bolls by *Thanatephorus cucumeris*. *Phytopathology* (EE.UU.) 64(1):107-111.
36. MANZANO, J. M. 1973. Evaluación de fungicidas para el control de la mustia hilachosa, *Thanatephorus cucumeris*, y su efecto sobre el cultivo de frijol común en El Salvador. In Reunión Anual Programa Cooperativo Centroamerica para el Mejoramiento de los Cultivos Alimenticios (19a., 1973, San José, Costa Rica). Resúmenes. s.n.t.
37. McCLEAN, D. M.; HOFFMAN, J. C.; BROWN, G. B. 1968. Greenhouse studies on resistance of snap beans to *Rhizoctonia solani*. *Plant Disease Reporter* (EE.UU.) 52(6):486-488.
38. McCOY, R. J.; KRAFT, J. M. 1984. Comparison of techniques and inoculum sources in evaluating peas (*Pisium sativum*) for resistance to stem rot caused by *Rhizoctonia solani*. *Plant Disease* (EE.UU.) 68:53-55.

39. MOODY, A. R.; BENEPAL, P. S.; BERKLEY, B.; KOCH, E. J. 1980. Resistance of *Phaseolus vulgaris* L. cultivars to hypocotyl inoculation with *Rhizoctonia solani* Kuhn. Journal of the American Society for Horticultural Science (EE.UU.) 105(6): 836-388.
40. MOORE, W. D.; CONOVER, R. A. 1955. Chemical soil treatments for the control of *Rhizoctonia* on snap beans. Plant Disease Reporter (EE.UU.) 39(2):105.
41. MORA, B. E.; GALVEZ, G. E. 1979. Evaluaciones de variedades promisorias de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) a la incidencia de mustia. In Reunión Anual Programa Cooperativo Centroamericano para el Mejoramiento de los Cultivos Alimenticios (25a., Tegucigalpa, Honduras). Memoria, Tegucigalpa, Secretaría de Recursos Naturales. V. 3, p. L38/1-5.
42. O'NEILL, N. R. 1977. Aerial blight of soybeans caused by *Rhizoctonia solani*. Plant Disease Reporter (EE.UU.) 61:713-717.
43. ONESIROSAN, P. T.; SAGAY, S. O. 1975. Survival of two pathogens of cowpea over the dry season. Plant Disease Reporter (EE.UU.) 59(12):1018-1020.
44. OYEKAN, P. O. 1979. Chemical control of web blight and leaf spot of cowpea in Nigeria. Plant Disease Reporter (EE.UU.) 63(7): 574-577.
45. PARMETER JUNIOR, J. R.; WHITNEY, H. S.; PLATT, W. D. 1967. Affinities of some *Rhizoctonia* species that resemble mycelium of *Thanatephorus cucumeris*. Phytopathology (EE.UU.) 57(2):218-223.
46. _____; SHERWOOD, R. T.; PLATT, W. D. 1969. Anastomosis grouping among isolates of *Thanatephorus cucumeris*. Phytopathology (EE.UU.) 59(9):1270-1278.
47. PLOPPER, L. D. 1982. La mustia hilachosa, nueva enfermedad en los cultivos de poroto (*Phaseolus vulgaris* L.) del Noreste Argentino. Revista Industrial y Agrícola de Tucumán (Arg.) 58(2):101-111.
48. PRASAD, K.; WEIGLE, J. L. 1970. Screening for resistance to *Rhizoctonia solani* in *Phaseolus vulgaris*. Plant Disease Reporter (EE.UU.) 54(1):40-44.
49. SANCHEZ, D. 1963. Pruebas de resistencia y combate por medio químico de la chasparriá del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) causada por el hongo (*Pellicularia filamentosa* (Pat.) Rogers). Tesis Mag. Sc. Turrialba, Costa Rica, IICA. 38 p.
50. SHERWOOD, R. T. 1969. Morphology and physiology in four anastomosis groups of *Thanatephorus cucumeris*. Phytopathology (EE.UU.) 59(12): 1924-1929.

55. SIMS JUNIOR, A. C. 1956. Factors affecting basidiospore development of *Pellicularia filamentosa*. *Phytopathology* (EE.UU.) 46(9): 471-472.
52. SNEH, B.; KATAN, J.; HENIS, Y.; WAHL, I. 1966. Methods for evaluating inoculum density of *Rhizoctonia* in naturally infested soil. *Phytopathology* (EE.UU.) 56(1):74-78.
53. STRETTON, H. M.; MCKENZIE, A. R.; BAKER, K. F.; FLENTJE, N. T. 1964. Formation of the basidial stage of some isolates of *Rhizoctonia*. *Phytopathology* (EE.UU.) 54:1093-1095.
54. TALLER DE MUSTIA HILACHOSA (*Thanatephorus cucumeris*) (2, 1986, San José, C. R.). 1987. (Informe). Cali, Colombia, CIAT. 153 p.
55. TU, C. C.; KIMBROUGH, J. W. 1975. A modified soil over culture method for inducing basidia in *Thanatephorus cucumeris*. *Phytopathology* (EE.UU.) 65:730-731.
56. _____; CHENG, Y. H.; SCHENK, N. C. 1977. Leaf spot caused by basidiospores of *Thanatephorus cucumeris* on jute, and survival on single basidiospore isolates in soil. *Plant Disease Reporter* (EE.UU.) 61(2):80-84.
57. VAN DER PLANK, J. E. 1968. Disease resistance in plants. Academic Press, New York. 206 p.
58. WARREN, H. L. 1975. Effect on inoculum concentration on resistance of lima bean to *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology* (EE.UU.) 65(3):341-345.
59. WEBER, G. F. 1939. Web blight, a disease of beans caused by *Corticium microsclerotia*. *Phytopathology* (EE.UU.) 29(7):559-575.
60. ZIMMER, D. E.; THOMAS, C. A. 1967. *Rhizoctonia* blight of safflower and varietal resistance. *Phytopathology* (EE.UU.) 57(9):946-949.

9. APENDICE

Anexo 1. Resumen de la metodología desarrollada en esta investigación.

- 1) La primera etapa consistió en buscar fuentes de resistencia en algunos cultivares de frijol que han sido expuestos a la enfermedad bajo condiciones naturales. Por lo tanto, para evitar escapes, es necesario distinguir entre plantas resistentes y susceptibles mediante infecciones inducidas artificialmente antes de iniciar programas de mejoramiento de cultivares de frijol a *T. cucumeris*.
- 2) El organismo causal, *T. cucumeris*, está constituido de formas biológicas que difieren en patogenicidad y agresividad sobre los diferentes cultivares de la misma especie. Por consiguiente la resistencia de los cultivares es una expresión tanto del genotipo de la planta como del genotipo del parásito, y está condicionada por factores del medio ambiental. Esto nos conduce a estudiar en el laboratorio la variabilidad de algunos aislamientos y determinar su agresividad en plantas de cultivares de frijol de diferentes grados de susceptibilidad.
- 3) La resistencia en algunos cultivares está regida por genes que afectan la interrelación huésped-parásito. Entonces, la intensidad de la enfermedad inducida debe ser adecuada para que se puedan manifestar diferencias entre cultivares que se están probando. De lo anterior, se evaluaron varias concentraciones de inóculo del hongo *T. cucumeris*, para poder diferenciar entre cultivares resistentes y susceptibles y determinar el nivel bajo el cual se puede claramente separar entre cultivares susceptibles y resistentes.

- 4) Se ha encontrado (14) que bajo condiciones de campo, los cultivares varían su respuesta según que la fuente principal del inóculo del hongo sea micelio o basidiosporas. Se ha desarrollado un método de inoculación utilizando estas estructuras (micelio y basidiosporas) para determinar su importancia en cuanto a severidad de síntomas que producen en plantas de diferentes cultivares.
- 5) La importancia del trabajo en el invernadero utilizando cámara húmeda es la de proporcionar un medio que favorezca el desarrollo de la enfermedad para poder diferenciar eficazmente entre cultivares resistentes y susceptibles.
- 6) La inoculación en campo permitió evaluar los cultivares en condiciones naturales, favorables al desarrollo de la enfermedad, y conocer si las diferencias observadas anteriormente no fueron por escape.

Esta metodología ha permitido diferenciar entre cultivares resistentes y susceptibles. En trabajos con este hongo, y según los resultados de esta investigación, esta metodología puede ser seguida sin tener que hacer la inoculación con basidiosporas, que es más dispendiosa sobre todo en la producción del inóculo. Sin embargo, en otras regiones al iniciar un programa de mejoramiento se debe comparar el efecto de dosis de ambas fuentes de inóculo y observar si hay una correlación en la expresión de la severidad de los síntomas.

Cuadro 1A. Promedio de temperatura (°C) y humedad relativa (%) durante el período del experimento en invernadero.

Elementos climáticos	Días																			
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Temperatura °C																				
Máxima	31,8	32,5	32,0	32,0	31,8	32,3	33,8	33,8	32,2	35,0	33,8	34,0	32,0	36,5	31,8	32,0	33,8	33,8	34,0	31,0
Mínima	19,0	21,0	24,0	20,0	23,0	18,0	22,5	20,5	19,5	20,5	20,0	22,0	17,5	20,0	22,5	17,5	20,0	19,0	21,5	19,5
Promedio	25,4	26,7	28,0	26,0	27,4	25,1	28,1	27,1	25,8	27,7	26,9	28,0	24,7	28,2	27,1	24,7	25,4	26,4	27,7	25,2
Humedad relativa %																				
Máxima	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Mínima	80	49	40	82	76	64	82	58	56	60	76	74	82	80	80	90	54	48	64	80
Promedio	70	74	70	91	88	82	91	79	78	80	88	77	91	90	90	95	77	74	82	90

Media general: Temperatura: \bar{X} = 26,6°C

Media general: Humedad relativa: \bar{X} = 84,4 %

Media mínima: Humedad relativa: \bar{X} = 68,7 %

Cuadro 2A. Datos meteorológicos promedios de varios años, Turrialba, Costa Rica. (Estación Agrometeorológica

Elevación 602 msnm - CATIE)*

Elementos climáticos	Ene.	Feb.	Mar.	Abr.	May.	Jun.	Jul.	Ago.	Sep.	Oct.	Nov.	Dic.	\bar{x} anual
Lluvia (mm)	170,00	135,30	79,90	125,90	226,90	280,90	278,00	247,60	259,40	250,20	274,30	303,30	2.631,70
Temperatura °C													
Promedio Max + Min / 2	20,76	20,99	21,73	22,50	23,23	23,10	22,58	22,68	22,85	22,75	22,10	21,18	22,20
Máxima absoluta	29,90	30,50	31,00	31,50	31,60	30,40	31,20	30,00	29,00	31,00	32,00	29,00	30,68
Mínima absoluta	11,70	11,50	12,40	13,20	14,20	16,20	15,10	15,70	15,60	15,00	13,70	10,60	13,75
Media Horaria	20,26	20,45	21,22	21,87	22,46	22,23	21,81	21,84	21,98	21,89	21,37	20,58	21,50
Humedad relativa %	87,00	86,10	85,10	85,20	86,80	88,00	88,00	88,00	88,00	88,60	89,50	88,60	87,60
Brillo solar (hrs)	148,40	142,76	160,96	154,79	151,55	124,45	116,74	131,47	134,48	147,57	128,73	129,31	1.671,21
Radiación solar cal/cm	12.397	12.261	14.738	13.680	14.384	12.317	11.961	12.915	13.251	13.445	11.263	11.176	

*Observaciones en el período: Precipitación 1949 - 1986 (38 años) Brillo solar 1968 - 1986 (19 años)
 Temperatura 1968 - 1986 (19 años) Radiación 1968 - 1986 (19 años)
 Humedad relativa 1968 - 1986 (19 años)

Cuadro 3A. Datos meteorológicos promedios durante el período del ensayo en campo, La Montaña. Lat. 9°53' N. Long. 83°38' O. Elevación 602 msnm.

Meses	Temperatura (°C)		Precipitación (mm)		Humedad relativa (%)		Radiación solar cal/cm		Brillo solar (hrs)			
	\bar{x} diario	Absoluta	Total	\bar{x} diario	máx.	Min.	Total	\bar{x} diario	Total	\bar{x} diario		
		Max.									Min.	
Setiembre (26 a 30)	24,63	29,42	20,34	54,30	10,86	89,63	93,70	84,95	2.144	428,80	22,50	4,50
Octubre (1 a 31)	23,64	25,28	21,92	226,90	7,32	89,22	98,33	83,58	14.058	453,48	159,60	5,15
Noviembre (1 a 30)	23,31	24,45	21,06	138,60	4,62	86,81	95,33	82,42	13.079	435,97	158,00	5,27
Diciembre (1 a 24)	22,27	23,66	20,90	50,10	2,10	85,80	93,83	79,75	9.821	409,46	110,50	4,6

Cuadro 4A. Incidencia (porcentaje de la planta afectada) de mustia, causada por *Thamatephorus cucumeris* en seis cultivos de frijol inoculados con cinco concentraciones de micelio (M) y basidiosporas (B) en el invernadero. Muestra 1.

Cultivares	Testigo		Concentraciones de inóculo									
			10 ³		5 x 10 ³		10 ⁴		5 x 10 ⁴		10 ⁵	
	M	B	M	B	M	B	M	B	M	B	M	B
Talamanca	0,0	0,0	0,43	0,33	0,54	0,37	0,76	0,46	1,32	0,64	1,57	0,81
Porrillo-Sint.	0,0	0,0	0,55	0,45	0,75	0,58	0,90	0,64	1,19	0,69	1,57	0,90
Porrillo-70	0,0	0,0	0,62	0,49	0,83	0,55	0,95	0,73	1,13	0,81	1,57	0,89
Turrialba-4	0,0	0,0	0,52	0,43	0,76	0,58	0,91	0,66	1,30	0,71	1,57	0,98
ICA-Pijao	0,0	0,0	0,70	0,39	0,84	0,47	1,02	0,57	1,51	0,65	1,57	0,97
R-27	0,0	0,0	0,67	0,52	0,81	0,73	0,95	0,81	1,41	0,86	1,57	1,09

l/ Los valores asignados fueron transformados por $\text{Arcsen} \sqrt{x}$

Cuadro 5A. Severidad de mustia, causada por *Thanatephorus cucumeris*, en seis cultivares de frijol inoculado con cinco concentraciones de micelio (M) y basidiosporas (B) en el invernadero. Muestra 1.

Cultivares	Concentraciones de inóculo																	
	Testigo		10 ³			5 x 10 ³			10 ⁴			5 x 10 ⁴			10 ⁵			
	M	B	M	B	M	B	M	B	M	B	M	B	M	B	M	B		
Talamanca	1,41	1,41	2,00	2,00	2,25	2,34	2,45	2,43	2,67	2,74	2,93	2,87						
Porrillo-70	1,41	1,41	2,12	2,05	2,32	2,29	2,70	2,51	2,78	2,72	2,93	2,89						
Porrillo Sint.	1,41	1,41	2,00	2,06	2,30	2,26	2,50	2,49	2,78	2,74	2,96	2,88						
Turrialba-4	1,41	1,41	2,29	2,18	2,45	2,31	2,59	2,50	2,80	2,81	3,03	2,91						
ICA - Pijao	1,41	1,41	2,47	2,25	2,63	2,46	2,74	2,73	2,91	2,87	3,04	2,93						
R-27	1,41	1,41	2,26	2,24	2,60	2,47	2,87	2,70	2,94	2,86	3,08	3,01						

1/ Los valores asignados fueron transformados a $y = \sqrt{x + 1}$

Escala (1-9): 1= planta sana; 2-3= Resistente; 4-6= intermedio; 7-9= Susceptible

Cuadro 6A. Incidencia (porcentaje de la planta afectada) de mustia, causada por *Thanatephora cucurbitis*, en seis cultivares de frijol inoculados con cinco concentraciones de micelio (M) y basidiosporas (B) en el invernadero. Muestra 2.

Cultivares	Concentraciones de inóculo														
	10 ³			5 x 10 ³			10 ⁴			5 x 10 ⁴			10 ⁵		
	M	B	M	B	M	B	M	B	M	B	M	B	M	B	
Talamanca	0,0	0,0	0,57	0,42	0,64	0,59	0,80	0,66	1,49	0,77	1,57	0,99			
Porrillo-Sint	0,0	0,0	0,64	0,49	0,84	0,67	0,95	0,76	1,41	0,83	1,57	0,99			
Porrillo-70	0,0	0,0	0,73	0,57	0,94	0,63	1,01	0,78	1,25	0,89	1,57	0,96			
Turrialba-4	0,0	0,0	0,63	0,51	0,86	0,69	0,98	0,81	1,33	0,87	1,57	1,08			
ICA - Pijao	0,0	0,0	0,77	0,57	0,94	0,65	1,11	0,76	1,57	0,84	1,57	1,13			
R-27	0,0	0,0	0,73	0,66	0,91	0,82	1,09	0,87	1,57	0,95	1,57	1,19			

1/ Los valores asignados fueron transformados por Arsen \sqrt{x}

Cuadro 7A. Severidad de mustia, causada por *Thanatephorus cucumeris*, en seis cultivares de frijol inoculados con cinco concentraciones de micelio (M) y basidiosporas (B) en el invernadero. Muestra 2.

Cultivares	Concentraciones de inóculo																													
	10 ³						5 x 10 ³						10 ⁴						5 x 10 ⁴						10 ⁵					
	Testigo		M		B		M		B		M		B		M		B		M		B		M		B					
Talamanca	1,41	1,41	2,34	2,29	2,55	2,45	2,76	2,63	2,90	2,87	3,05	3,05	3,05	3,05	3,05	3,05	3,05	3,05	3,05	3,05	3,05	3,05	3,05	3,05	3,05					
Porrillo-70	1,41	1,41	2,40	2,32	2,66	2,57	2,84	2,70	2,91	2,85	3,02	3,04	3,04	3,04	3,04	3,04	3,04	3,04	3,04	3,04	3,04	3,04	3,04	3,04	3,04					
Porrillo-Sint.	1,41	1,41	2,32	2,46	2,57	2,57	2,75	2,74	2,93	2,89	3,04	3,10	3,10	3,10	3,10	3,10	3,10	3,10	3,10	3,10	3,10	3,10	3,10	3,10	3,10					
Turrialba-4	1,41	1,41	2,54	2,48	2,72	2,60	2,85	2,76	2,93	2,93	3,08	3,03	3,03	3,03	3,03	3,03	3,03	3,03	3,03	3,03	3,03	3,03	3,03	3,03	3,03					
ICA-Pijao	1,41	1,41	2,68	2,52	2,77	2,69	2,91	2,87	3,06	2,95	3,11	3,11	3,11	3,11	3,11	3,11	3,11	3,11	3,11	3,11	3,11	3,11	3,11	3,11	3,11					
R-27	1,41	1,41	2,53	2,48	2,78	2,69	2,98	2,88	3,10	2,98	3,16	3,09	3,09	3,09	3,09	3,09	3,09	3,09	3,09	3,09	3,09	3,09	3,09	3,09	3,09					

1/ Los valores asignados fueron transformados a $Y = \sqrt{x + 1}$

Escala (1-9): 1= planta sana; 2-3= Resistente; 4-6= Intermedio; 7-9= Susceptible

Cuadro 8A. Incidencia (porcentaje de la planta afectada) de mustia, causada por *Thanatephorus cucumeris*, en seis cultivares de frijol inoculados con cinco concentraciones de micelio (M) y basidiosporas (B) en el invernadero). Muestra 3.

Cultivares	Concentraciones de inóculo																		
	Testigo			10 ³			5 x 10 ³			10 ⁴			5 x 10 ⁴			10 ⁵			
	M	B		M	B		M	B		M	B		M	B		M	B		
Talamanca	0,0	0,0	0,57	0,48	0,65	0,58	0,82	0,67	1,49	0,80	1,57	1,00							
Porrillo-Sint.	0,0	0,0	0,64	0,52	0,83	0,68	0,96	0,76	1,40	0,85	1,57	1,04							
Porrillo-70	0,0	0,0	0,73	0,56	0,94	0,63	1,03	0,78	1,32	0,91	1,57	1,01							
Turrialba-4	0,0	0,0	0,64	0,56	0,87	0,72	0,98	0,82	1,40	0,83	1,57	1,13							
ICA Píjao	0,0	0,0	0,81	0,57	0,95	0,67	1,18	0,78	1,55	0,85	1,57	1,20							
R-27	0,0	0,0	0,78	0,66	0,95	0,82	1,20	0,88	1,52	0,95	1,57	1,24							

1/ Los valores asignados fueron transformados por Arcsen \sqrt{x}

Cuadro 9A. Severidad de mustia, causada por *Thanatephorus cucumeris*, en seis cultivares de frijol inoculados con cinco concentraciones de micelio (M) y basidiosporas (B) en el invernadero. Muestra 3.

Cultivares	Concentraciones de inóculo																	
	Testigo		10 ³			5 x 10 ³			10 ⁴			5 x 10 ⁴			10 ⁵			
	M	B	M	B	M	B	M	B	M	B	M	B	M	B	M	B		
Talamanca	1,41	1,41	2,52	2,34	2,64	2,55	2,83	2,76	3,04	2,91	3,15	3,12						
Porrillo-70	1,41	1,41	2,44	2,44	2,71	2,67	2,88	2,84	3,04	2,98	3,16	3,13						
Porrillo-Sint	1,41	1,41	2,65	2,54	2,83	2,71	2,96	2,82	3,16	2,98	3,16	3,12						
Turrialba-4	1,41	1,41	2,69	2,63	2,79	2,72	2,93	2,87	3,05	2,99	3,16	3,14						
ICA-Pijao	1,41	1,41	2,72	2,69	2,85	2,80	3,06	2,90	3,16	3,01	3,16	3,16						
R-27	1,41	1,41	2,72	2,69	2,97	2,85	3,10	2,95	3,16	3,10	3,16	3,16						

1/ Los valores asignados fueron transformados a $Y = \sqrt{X + 1}$

Escala (1-9): 1= Planta sana; 2-3= Resistente; 4-6= Intermedio; 7-9= susceptible

Cuadro 10A. Incidencias (IPA, IPL), severidad (S) y plantas muertas (PM) por mustia, causada por *Thanatephorus cucumeris*, en seis cultivos de frijol inoculados con tres concentraciones de micelio. Muestra 1. La Montaña, CATIE, 1986.

Cultivos	Concentraciones de micelio/ml															
	Testigo						10 ³			10 ⁴			10 ⁵			
	1/ IPA	IPL	2/ S	3/ PM	IPA	IPL	S	PM	IPA	IPL	S	PH	IPA	IPL	S	PM
Talamanca	0,03	0,06	1,49	0,00	0,15	0,25	2,01	0,00	0,32	0,42	2,47	0,00	0,47	0,47	2,60	0,00
Porrillo-Sint	0,05	0,06	1,49	0,00	0,26	0,27	2,01	0,00	0,27	0,30	2,23	0,25	0,39	0,39	2,49	0,35
Porrillo-70	0,14	0,19	1,72	0,00	0,38	0,33	2,38	0,69	0,51	0,42	2,53	0,85	0,59	0,48	2,60	1,22
Turrialba-4	0,40	0,31	2,17	0,00	0,49	0,37	2,51	0,25	0,67	0,48	2,66	1,03	0,74	0,55	2,90	1,61
ICA-Pijao	0,28	0,26	2,05	0,00	0,52	0,37	2,51	0,60	0,59	0,47	2,74	1,61	0,70	0,54	2,91	1,80
R-27	0,55	0,53	2,58	1,51	0,79	0,67	2,84	2,17	0,83	0,74	2,98	2,98	0,92	0,89	3,07	3,12

1/ IPA= % de plantas afectadas por partea; IPL= % de la planta afectada, transformados por Arcsen \sqrt{X}

2/ Escala de severidad (1-9): Los datos fueron transformados a $Y = \sqrt{X + 1}$

3/ Valores asignados fueron transformados a $Y = \sqrt{X}$

Cuadro 11A. Incidencias (IPA, IPL), severidad (S) y plantas muertas (PM) por mustia, causada por *Thanatephorus cucumeris*, en seis cultivares de frijol inoculados con tres concentraciones de micelio. Muestra 2. La Montaña, CATIE, 1986.

Cultivares	Concentraciones de micelio/ml																							
	Testigo						10^3						10^4						10^5					
	IPA	IPL	$\frac{2}{S}$	$\frac{3}{PM}$	IPA	IPL	S	PM	IPA	IPL	S	PM	IPA	IPL	S	PM	IPA	IPL	S	PM				
Talamanca	0,09	0,15	1,64	0,00	0,30	0,44	2,51	1,03	0,41	0,50	2,64	1,87	0,60	0,58	2,77	2,26								
Porrillo-Sint	0,18	0,25	1,73	0,00	0,35	0,37	2,46	0,68	0,38	0,44	2,60	1,41	0,48	0,52	2,71	2,11								
Porrillo-70	0,43	0,40	2,08	0,00	0,66	0,44	2,43	0,70	0,74	0,52	2,53	1,65	0,91	0,61	2,68	2,42								
Turrialba-4	0,57	0,41	2,37	0,60	0,69	0,53	2,72	1,09	0,83	0,59	2,83	2,54	0,93	0,75	2,99	3,24								
ICA-Pijao	0,47	0,38	2,34	0,35	0,70	0,50	2,72	2,08	0,76	0,61	2,87	2,95	0,84	0,62	2,99	3,26								
R-27	0,68	0,66	2,69	2,06	0,90	0,90	3,01	2,88	1,00	0,96	3,08	3,17	1,57	1,11	3,16	3,28								

1/ IPA= % de plantas afectadas por parcela; IPL = % de la planta afectada; datos transformados por $\text{Arcsen} \sqrt{X}$

2/ Escala de severidad (1-9): Los datos fueron transformados a $Y = \sqrt{X + 1}$

3/ Valores asignados fueron transformados a $Y = \sqrt{X}$

Cuadro 12A. Incidencias (IPA, IPL), severidad (S) y plantas muertas (PM) por mustia, causada por *Thanatephorus cucumeris*, en seis cultivares de frijol inoculados con tres concentraciones de micelio. Muestra 3. La Montaña, CATIE, 1986.

Cultivares	Concentraciones de micelio/ml																	
	Testigo						10 ³			10 ⁴			10 ⁵					
	IPA/	IPL	2/S	3/PM	IPA	PM	IPA	IPL	S	PM	IPA	IPL	S	PM	IPA	IPL	S	PM
Talamanca	0,27	0,35	2,21	0,00	0,45	0,52	2,60	1,60	0,53	0,59	2,72	2,66	0,80	0,74	2,87	3,22		
Porrillo-Sint	0,37	0,36	2,19	0,00	0,52	0,52	2,66	2,03	0,65	0,58	2,77	3,10	0,77	0,69	2,85	3,75		
Porrillo-70	0,55	0,49	2,40	0,00	0,78	0,57	2,64	1,36	0,89	0,72	2,82	2,63	1,07	0,81	2,91	3,83		
Turrialba-4	0,67	0,58	2,49	1,27	0,96	0,73	2,87	1,49	1,25	0,84	3,00	3,45	1,49	0,90	3,06	3,92		
ICA-Pijao	0,73	0,58	2,60	1,92	1,07	0,71	2,88	3,30	1,12	0,81	2,96	3,81	1,35	0,87	3,08	3,92		
R-27	-	-	-	2,13	-	-	-	3,35	-	-	-	3,85	-	-	-	4,25		

1/ IPA= % de plantas afectadas por parcela; IPL= % de la planta afectada; datos transformados por $\text{Arcsen} \sqrt{x}$

2/ Escala de severidad (1-9). Los datos fueron transformados a $Y = \sqrt{x + 1}$

3/ Los valores fueron transformados a $Y = \sqrt{x}$

Cuadro 13A. Cuadrados medios de incidencia y severidad en seis cultivares de frijol inoculados con cinco concentraciones de micelio y basidiosporas de *Thanatephorus cucumeris* en el invernadero.

Fuente de variación	Grados de Libertad	Cuadrados medios	
		Incidencia ^{1/}	Severidad ^{2/}
Repeticiones	3	0,018 *	0,0062 *
Cultivares	5	0,185 **	0,271 **
Tipos de inóculo	1	6,098 **	0,255 **
Nivel (inóculo)	8	2,210 **	1,668 **
Cult. x Tipos	5	0,019 **	0,005 *
Cult x Nivel (Inoc)	40	0,013 **	0,008 **
Error	177	0,006	0,002
C.V.		7,92	1,41

1/ Los valores originales transformados por $\text{Arcsen } \sqrt{X}$

2/ Los valores originales transformados por $\sqrt{X + 1}$

* Significado al cinco por ciento

** Significado al uno por ciento

NS No significativo

Cuadro 14A. Matriz de correlación entre las variables evaluadas en seis cultivares de frijol inoculados con cinco concentraciones de micelio y basidiosporas de *Thanatephorus cucumeris* en el invernadero.

	Inoc.	Nivel	Rep.	Inc.	Sev.
Inóculo	1				
Niveles	0,00	1			
Repetición	0,00	0,00	1		
Inc.	-0,48*	0,77*	0,02	1	
Severidad	-0,13**	0,92*	0,11	0,82*	1

*Denota significancia estadística a $P= 0,0001$

**Denontan significancia estadística a $P= 0,05$

Cuadro 15A. Cuadrados medios de incidencia, severidad y plantas muertas en seis cultivares de frijol inoculados con tres concentraciones de micelio de *Thanatephorus cucumeris*. La Montaña, CATIE, 1986.

Fuente de variación	Grados de libertad	Cuadrados medios		
		Incidencia $\frac{1}{}$ parcela	Incidencia $\frac{1}{}$ planta	Severidad $\frac{2}{}$ plantas muertas
Repeticiones	3	0,211 NS	0,146 *	0,115 NS
Cultivares	5	2,176 **	1,092 **	2,586 **
Rep. x Cult. (Ea)	15	0,075	0,030	0,059
Concentraciones	3	2,753 **	1,304 **	6,340 **
Cult. x Conc.	15	0,025 **	0,010 NS	0,084 **
Error	54	0,008	0,009	0,020
				0,355

1/ Los valores originales fueron transformados por $\text{Arcsen} \sqrt{X}$

2/ Los valores originales fueron transformados a $Y = \sqrt{X + 1}$

** Significativo al uno por ciento; NS: no significativo; *, significativo al 5 por ciento

Incidencia parcela: CV= 14,35 %; Incidencia planta: CV= 13,76 %

Severidad: CV= 5,82 %; plantas muertas: CV= 24,33 %

Cuadro 16A. Incidencia (Porcentaje de plantas/parcela, IPA) y severidad (S) de mustia, causada por *Tanatephorus cucumeris*, en seis cultivares de frijol inoculados con tres concentraciones de micelio. Promedio de cuatro repeticiones. La Montaña, CATIE, 1986.

Cultivares	Concentraciones de micelio/ml												Promedio \bar{x}
	Testigo			10 ³			10 ⁴			10 ⁵			
	IPA (%)	S (1-9)	IPA (%)	S (1-9)	IPA (%)	S (1-9)	IPA (%)	S (1-9)	IPA (%)	S (1-9)	IPA (%)	S (1-9)*	
Talamanca	3,00	2,20	9,00	4,65	17,00	5,85	34,00	6,55	15,75	d	4,80	cd	
Porrillo-Sint.	4,00	2,30	14,00	4,65	18,00	5,40	41,00	6,20	19,25	d	4,65	d	
Porrillo-70	14,00	3,30	33,00	5,20	41,00	5,90	57,00	6,50	36,25	c	5,25	c	
Turrialba-4	28,00	4,50	43,00	6,30	63,00	7,00	75,00	7,90	52,25	ab	6,40	b	
ICA-Pijao	23,00	4,45	48,00	6,30	54,00	7,20	66,00	8,00	47,75	bc	6,50	b	
R-27	33,00	5,95	55,00	7,60	62,00	8,20	88,00	8,70	59,50	a	7,60	a	
Promedios													
IPA	17,50	d	33,70	c	42,50	b	60,20	a					
S	3,80	d	5,75	c	6,60	b	7,30	a					

i/ Los valores con una misma letra expresan diferencias no significativas entre promedios (Duncan, $\alpha = 0,05$)

* Escala i-9: 1= Planta sana; 2-3 Resistente; 4, 5, 6= Intermedio; 7, 8, 9= Susceptible

Cuadro 17A. Incidencia (porcentaje de la planta afectada; IPL) y plantas muertas (PM) por mustia, causada por *Thanatephorus cucumeris*, en seis cultivares de frijol inoculados con tres concentraciones de micelio. Promedio de cuatro repeticiones. La Montaña, CATIE, 1986.

Cultivares	Concentraciones de micelio/ml											
	Testigo		10 ³		10 ⁴		10 ⁵		Promedio $\frac{1}{-}$		IPL	PM
	IPL	PM	IPL	PM	IPL	PM	IPL	PM	IPL	PM		
Talamanca	4,0	0,0	16,0	0,9	24,0	1,5	33,0	1,8	19,2	de	1,1	d
Porrillo-Sint.	5,0	0,0	15,0	0,9	19,0	1,6	27,0	2,1	16,5	e	1,1	d
Porrillo-70	12,0	0,0	19,0	0,9	28,0	1,7	36,0	2,5	23,7	cd	1,3	cd
Turrialba-4	18,0	0,6	27,0	0,9	36,0	2,3	46,0	2,9	31,7	b	1,7	bc
ICA-Pijao	16,0	0,8	26,0	2,0	35,0	2,8	40,0	3,0	29,2	bc	2,1	b
R-27	32,0	1,9	50,0	2,7	51,0	3,1	70,0	3,4	50,7	a	2,8	a
Promedios												
IPL	14,5	d	25,5	c	32,2	b	42,0	a				
PM	0,5	d	1,4	c	2,2	b	2,6	a				

1/ Los promedios con una misma letra expresan diferencias no significativas entre los valores según Prueba de

* Duncan con $\alpha = 0,05$.

Cuadro 18A. Cuadrados medios de los componentes de rendimiento en seis cultivares de frijol inoculados con tres concentraciones de micelio de *Thurberaphorus cucumeris*. La Montaña, CATIE, 1986.

Fuente de variación	Grados de libertad	Cuadrados medios					
		Rendimiento	Vainas por planta	Granos por vaina	Vainas con manchas	Tamaño de manchas	Peso de 100 granos
Repeticiones	3	574.435,63	16,12	0,38	10,75	136,90 **	8,24
Cultivares	5	896.849,86 *	57,13 **	5,16 **	178,55 **	170,38 **	1.471,62 **
Rep. x Cul (Ea)	15	229.066,85	5,67	0,55	15,79	22,52	3,04
Concentraciones	3	1.970.123,20 **	35,47 **	2,41 **	335,86 **	864,78 **	4,77 **
Cult x Conc.	15	17.761,79	1,75	0,05	4,60	7,55	2,11 *
Error b	54	13.002,77	1,02	0,08	3,90	10,70	0,97
C.V.		8,56	10,67	4,99	17,94	23,56	4,30

* Significativo al cinco por ciento

** Significativo al uno por ciento

Cuadro 19A. Rendimiento (REND) en kg/ha y vainas por planta (V/P) en seis cultivares de frijol inoculados con tres concentraciones de micelio de *Thanatephorus cucumeris*. Promedio de cuatro repeticiones. La Montaña, CATIE, 1986.

Cultivares	Concentración de micelio/ml											
	Testigo		10 ³		10 ⁴		10 ⁵		Promedio \bar{x}		I/	
	Rend	V/P	Rend	V/P	Rend	V/P	Rend	V/P	Rend	V/P	Rend	V/P
Porrillo-70	2.024,15	13,30	1.821,70	10,25	1.603,90	9,27	1.207,00	8,35	1.664,20	a	10,29	a
Talamanca	1.765,70	10,60	1.501,70	9,42	1.377,50	8,70	1.001,15	8,77	1.441,50	ab	9,37	a
ICA-Pijao	1.725,27	12,55	1.542,55	11,90	1.338,00	10,42	918,54	9,70	1.381,30	ab	11,14	a
Porrillo-Sint.	1.635,50	12,00	1.471,60	10,22	1.270,60	9,10	1.051,30	8,57	1.357,30	ab	9,97	a
Turrialba-4	1.472,55	11,57	1.375,00	10,30	1.138,50	8,85	965,30	9,92	1.237,80	bc	10,61	a
R-27	1.233,70	6,37	1.001,90	6,12	855,45	5,65	679,90	4,96	942,70	c	5,77	b
Promedios												
Rend	1.642,80	a	1.452,40	b	1.264,10	c	970,55	d				
V/P	11,06	a	9,70	b	8,66	c	8,38	c				

I/ Letras iguales expresan diferencias no significativas entre los promedios. Prueba de Duncan con $\alpha = 0,05$.

Cuadro 20A. Número de vainas con manchas (MV) y tamaño de manchas (TM) de mustia, causada por *Thananaphorus cucumeris* en seis cultivares de frijol inoculados con tres concentraciones de micelio. Promedio de cuatro repeticiones. La Montaña, CATIE, 1986.

Cultivares	Concentraciones de micelio/ml											
	Testigo		10 ³		10 ⁴		10 ⁵		Promedio $\frac{1}{2}$		TM (%)	MV
	MV	TM (%)	MV	TM (%)	MV	TM (%)	MV	TM (%)	MV	TM (%)		
Talamanca	5,00	6,00	7,50	11,25	9,25	17,50	12,75	19,50	8,62	cd	13,56	bc
Porrillo-Sint.	4,75	5,75	6,75	7,75	6,75	13,75	12,75	18,25	7,75	d	11,37	cd
Porrillo-70	5,25	3,50	7,50	7,00	10,25	12,00	12,50	15,00	8,87	cd	9,37	d
Turrialba-4	9,00	7,00	11,00	12,00	13,25	17,00	18,00	21,25	12,81	b	14,31	bc
ICA-Pijao	7,75	8,75	10,25	15,00	11,25	16,25	16,00	25,00	11,31	bc	16,25	ab
R-27	10,25	11,25	15,25	16,25	17,50	18,75	23,50	27,50	16,62	a	18,44	a
Promedios												
MV	7,0 d		9,70 c		11,37 b		15,91 a					
TM		7,04 d		11,54 c		15,87 b		21,08 a				

1/ Los valores con una misma letra son estadísticamente iguales según la Prueba de Amplitud Múltiple de Duncan (P= 0,05).

Cuadro 21A. Matriz de correlación entre las variables evaluadas en seis cultivares de frijol inoculados con tres concentraciones de micelio de *Thurattaphora cucumeris*. La Montaña, CATIE, 1986.

	Trat.	Inc. Par	Inc. Pl	Sev	Pl Muer.	Rend	Vai/pl	Gra/V	Vai. Man	Ta Man	P. 100
Tratamiento	1										
Incidencia-Par.	0,50 **	1									
Incidencia-Planta	0,50	0,87 **	1								
Severidad	-0,65	0,80	0,82 **	1							
Plantas muertas	0,49	0,78	0,84	0,72 **	1						
Rendimiento	-0,58	-0,52	-0,65	-0,60	-0,56 **	1					
Vainas/planta	-0,42	-0,41	-0,57	-0,51	0,50 **	0,75 **	1				
Granos/vaina	-0,41	-0,46	-0,61	-0,53	-0,58	0,64	0,74 **	1			
Vainas Manchadas	0,63	0,67	0,70	0,71	0,65	-0,63	-0,48	-0,64 **	1		
Tamaño Manchas	0,73	0,52	0,54	0,64	0,56	-0,80	-0,66	-0,65	0,69 **	1	
Peso 100 granos	-0,03	0,31	0,45	0,33	0,45	-0,26	-0,53	-0,67	0,38	0,19 *	1

**Denotan significancia estadística a P= 0,0001

*Denota significancia estadística a P= 0,005