

EPIFITIOLOGÍA DE LA PUDRICIÓN CARBONOSA CAUSADA POR *Macrophomina phaseolina* EN SOYA FERTILIZADA CON LOS ABONOS ORGÁNICOS BIOL Y BIOSOL

Victoria Eugenia Morales¹ y Alexander Hernández¹

RESUMEN

El hongo patógeno *Macrophomina phaseolina*, causante de la pudrición carbonosa, ataca importantes especies vegetales, y se han propuesto medidas para su control mediante la aplicación de enmiendas orgánicas. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de los abonos orgánicos biol y biosol en un cultivo de soya 'Cigras 06' (*Glycine max*) vía edáfica y foliar, sobre la epifitología de la enfermedad. El ensayo se estableció en condiciones de estrés hídrico y alta radiación solar. Se aplicaron 15 tratamientos que representaron cuatro tipos de manejo de la fertilización: convencional (urea+NPK), biosol vía edáfica, biol vía edáfica, y biol vía foliar. La fertilización edáfica con biol y biosol balanceados se calculó siguiendo los principios del equilibrio catiónico en la solución del suelo. La fertilización foliar con biol corregido se calculó neutralizando el pH del producto. Los resultados se evaluaron estadísticamente mediante análisis de varianza y prueba de medias de Tukey. Para definir el comportamiento de la epifitía se construyeron curvas de tendencia a partir del cálculo del área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE) en base a la mortalidad acumulada. Se obtuvieron las ecuaciones de regresión y los coeficientes de riesgo en cada tratamiento. Se construyó una matriz de correlación entre los datos estandarizados que permitió el análisis de componentes principales (ACP). La pudrición carbonosa siguió un modelo exponencial característico de las epifitias monocíclicas. El período crítico de la enfermedad estuvo comprendido entre las fases V4 y R1, donde ocurrió el grueso de la mortalidad que alcanzó 75 % en el testigo sin ningún abono. La aplicación de biosol con urea permitió contrarrestar los efectos del patógeno en un 66,75 %.

Palabras clave adicionales: Fertilización edáfica y foliar, *Glycine max*, patología vegetal

ABSTRACT

Epiphytiology of charcoal rot caused by *Macrophomina phaseolina* in soybean fertilized with biol and biosol

The pathogenic fungus *Macrophomina phaseolina*, which causes charcoal rot, attacks important plant species, and measures have been proposed for its control through the application of organic amendments. The objective of this research was to evaluate the effect of Biol and biosol organic fertilizers, by soil and foliar application in soybean 'Cigras 06' (*Glycine max*), on the epiphytiology of the disease. The test was established under water stress and high solar radiation conditions. A total of 15 treatments were applied that represented four types of fertilization management: conventional (urea+NPK), edaphic biosol, edaphic biol, and foliar biol. Soil fertilization with balanced biol and biosol was calculated according to the principles of cationic balance in soil solution. Foliar fertilization with corrected biol was made by pH neutralization. The results were analyzed by ANOVA and Tukey test. To define the behavior of the epiphytia, trend curves were constructed from the calculation of area under disease progress curve (AUDCP) based on accumulated mortality. Regression equations and risk coefficients were obtained in each treatment. A correlation matrix was built between standardized data by principal components analysis PCA. Charcoal rot followed an exponential model characteristic of monocyclic epiphytes. The disease critical period ranged from V4 to R1, where the bulk of mortality occurred reaching 75% in the control without fertilizers. The application of biosol with urea made it possible to counteract the effects of the pathogen at 66.75 %.

Additional key words: Edaphic and foliar fertilization, *Glycine max*, plant pathology

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades fúngicas en las plantas son fenómenos cuya incidencia poblacional impone

retos agronómicos. Uno de estos retos lo constituye el manejo del fitopatógeno *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid., causante de la enfermedad conocida con nombres como pudrición

Recibido: Octubre 19, 2020

Aceptado: Abril 13, 2021

¹ Universidad Centro-occidental Lisandro Alvarado, Decanato de Agronomía, Postgrado de Fitopatología, Barquisimeto, Venezuela. Apto. 400. e-mail: victoria.morales@ucla.edu.ve; ahernandez@ucla.edu.ve (autor de correspondencia)

gris o carbonosa de la raíz, mancha ceniza del tallo, pudrición húmeda de las plántulas" (damping off) y tizón cenizo del tallo, común en plantaciones ubicadas en zonas con sequía y altas temperaturas (Babu et al., 2010). Las plantas afectadas por este hongo presentan lesiones necróticas en diferentes partes como cotiledones, raíces, cuello, tallo, ramas y pedúnculos.

Entre los estudios pioneros de este patógeno destaca el de Dhingra y Sinclair (1978), publicado en Brasil, en el cual los autores definieron a *M. phaseolina* como un hongo no específico o no especializado en su habilidad parasítica, y que por tanto, ataca un amplio espectro de especies vegetales, haciéndose especialmente notable en cultivos económicamente importantes, entre ellos la soya. La actualización vigente de la base de datos de la U.S. National Fungus Collections Fungus-Host Distributions Database (Farr y Rossman, 2021) reporta 379 especies de plantas hospederas para *M. phaseolina* y otras tantas para las diferentes sinonimias. Además, se reconoce como un hongo que muestra amplia variabilidad morfológica, fisiológica, patogénica y genética, lo que le ha permitido adaptarse a diferentes condiciones ambientales con amplia distribución geográfica (Manici et al., 1995; Mayek et al., 2001; Su et al., 2001).

Este hongo produce infecciones sólo una vez por ciclo de cultivo, generando epifitias monocíclicas (Stewart y Rodríguez, 2013), donde el progreso de la enfermedad depende de la cantidad de inóculo inicial presente en el reservorio del suelo. Los microesclerocios son las estructuras de resistencia responsables de la sobrevivencia del hongo en el suelo, semillas y restos de cosecha siendo en consecuencia la fuente primaria de inóculo (Cardona, 2006; Torrealba et al., 2015).

Durante los estadios iniciales de la infección, los exudados del sistema radicular del cultivo inducen la germinación de los microesclerocios y el desarrollo del micelio del hongo que penetra en la epidermis de la raíz y permanece restringido en los espacios intercelulares del parénquima cortical de las raíces primarias. Como resultado, las células vegetales adyacentes colapsan, llevando a la muerte a las plántulas infectadas. Si el cultivo supera esta fase y llega a floración, entonces las hifas del hongo prosiguen su desarrollo y crecen intracelularmente a través del xilema y forman microesclerocios que bloquean los vasos y causan

disruptura de las células del hospedero (Muñoz et al., 2005; Kaur et al., 2012).

Una baja relación C:N en el suelo y un alto contenido de humedad en el mismo son variables que se han reportado afectan negativamente la supervivencia de los microesclerocios por lo que la enfermedad puede ser manejada, en cierta medida, con prácticas como la aplicación de enmiendas orgánicas (Gutpa et al., 2012). La implementación de modelos de producción con tecnologías ambientalmente amigables como el uso de abonos orgánicos, microorganismos eficientes, antagonistas y siembra directa, pueden modificar no solo los rendimientos del cultivo sino también el comportamiento de una epifitia como la pudrición carbonosa, ya que implica alteraciones en el suelo, por la incorporación de nuevos actores biológicos, nutricionales y físicos que mejoran las propiedades del mismo.

Para valorar la eficiencia de estas prácticas en términos epifitiológicos, es necesario seguir el comportamiento de la enfermedad en el tiempo. Dado que los patosistemas son altamente complejos se han generado aplicaciones prácticas de las matemáticas complejas, llamadas "teoría de los sistemas dinámicos" o "dinámica no lineal", que gracias al uso de nuevos programas y computadoras, han permitido una mejor descripción y pronóstico de epifitias, elaborar modelos matemáticos con funciones biológicas representadas cuantitativamente, e incluso, hacer predicciones sobre el futuro de importantes patosistemas en el marco del cambio climático (Groenen, 2018).

La principal herramienta matemática ha sido empleada es el análisis de regresión; ésta permite determinar la mejor ecuación funcional entre dos variables concomitantes. En el caso de los patosistemas posibilita medir la incidencia y severidad de una enfermedad a lo largo del ciclo del cultivo, graficar la curva de avance de una enfermedad y predecir el nivel de riesgo de la misma mediante el factor r . Vanderplank (1963) denominaba a la pendiente de la curva "factor r " o "tasa de infección aparente" porque representa la aparición de síntomas que se quedan acumulados o por detrás de las infecciones reales, y en un momento dado se manifiestan acelerando la epifitia.

Existen diversas formas de curvas resultantes que ya por sí mismas informan si una enfermedad

es muy acelerada o si se ralentiza en una fase dada, o si escala en un momento determinado, y cuanto es el tope del daño causado. A esta representación gráfica se le denomina curva de progreso de la enfermedad y al área que queda delimitada debajo de dicha curva se le conoce como ABCPE, área bajo la curva de progreso de la enfermedad (Kranz, 1988). Tanto el factor r como el ABCPE son parámetros claves en términos epifitiológicos porque expresan el riesgo de pérdidas en una siembra y el potencial de las estrategias de control para contener la enfermedad.

Mezclas de estiércoles, residuos urbanos, residuos verdes, compostas, ácidos húmicos, entre otras enmiendas orgánicas, se han evaluado para el control de los patógenos del suelo en numerosos cultivos. De acuerdo a una revisión realizada por Bonanomi et al. (2007) se constató que las enmiendas orgánicas mostraron un potencial de control en un 45% de los casos, siendo las compostas el material con mayor acción supresora con más del 50% de los casos que mostraron un control eficaz de *Verticillium*, *Thielaviopsis*, *Fusarium* y *Phytophthora*.

Por su parte, El-Baz et al. (2012) presentaron una investigación donde evaluaron el uso de aspersiones foliares de ácido húmico para el control de *Macrophomina phaseolina* en soya. Los autores recomendaron remojar las semillas y rociar las plantas para minimizar la severidad de la enfermedad. Estudios realizados con caldos de estiércol fermentado anaeróticamente como el biol, demuestran que debido a la presencia, en su composición, de microorganismos como bacterias ácido-lácticas, hongos y levaduras, actinomicetes, coliformes y en especial *Bacillus subtilis*, este tipo de abono ejerce acción fungostática y bacteriostática contra microorganismos patógenos (Escobar, 2015).

En este trabajo se planteó como objetivo evaluar el efecto de la aplicación de biol y biosol sobre la epifitiología de la podredumbre carbonosa causada por el hongo fitopatógeno *M. phaseolina* en plantas de soya en un ensayo bajo condiciones de umbráculo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación geográfica del sitio experimental. El ensayo se estableció en la Granja La Sabanita, municipio Miranda, estado Zulia. Se localiza entre

los paralelos 10°15' y 10°25' N, y los meridianos 69°05' y 69°15' W, a una altitud de 40 msnm, con una temperatura media de 26,5 °C y precipitación anual de 500 a 900 mm. El experimento se llevó a cabo en condiciones de umbráculo; el suelo empleado se tomó a 20 cm de profundidad en un campo de siembra en barbecho, que fue desmalezado manualmente. El suelo extraído se esparció sobre un plástico de polietileno negro y recubierto con el mismo para solarizarlo por 30 días, aprovechando la alta radiación solar y temperaturas de la zona. Posteriormente, se rellenaron bolsas de polietileno negro con 10 kg del suelo previamente humedecido.

Preparación del inóculo de *M. phaseolina*. La cepa de *M. phaseolina* fue aportada por el Laboratorio de Micología, Postgrado de Agronomía, UCLA en Cabudare. Provenía de colonias puras aisladas de muestras de frijol chino infectadas. La preparación del inóculo se llevó a cabo siguiendo la metodología de Castellanos et al. (2015). Consistió en incrementar la cantidad del inóculo del hongo en arroz a partir de un cultivo puro conservado en cápsulas de Petri con PDA.

Se realizó una cuantificación del inóculo madre contando el número de microesclerocios en un área de 50 mm de diámetro, delimitada con sacabocado. Se establecieron cuatro círculos por cápsula (uno por cuadrante) en tres cápsulas. Se extrajo cada cilindro demarcado y se raspó el micelio de la superficie para distribuirlo sobre una lámina portaobjeto y proceder al conteo bajo microscopio. De 12 medidas en total se observó un promedio de $150,7 \pm 39,2$ microesclerocios/50 mm.

La multiplicación del inóculo se realizó en bolsas con arroz estéril a 28 °C durante 15 días en total oscuridad. En ese período el hongo colonizó el arroz observándose un color negro homogéneo, indicador de que no se contaminó. Luego las bolsas fueron abiertas y se dejaron en la incubadora por 1 día para secar el exceso de humedad. Una vez seco el inóculo, se maceraron suavemente los granos de arroz con los esclerocios en un mortero y se esparcieron sobre papel absorbente para secar el macerado por un día más. Cuando el material estuvo completamente seco, se maceró nuevamente hasta convertirlo en un polvo fino de color negro. Este producto fue el inóculo de *M. phaseolina* para hacer las pruebas en umbráculo.

Por cada 10 kg de suelo se añadieron 5 g del inóculo, a razón de 0,5 g por 1 kg de suelo,

distribuyendo el polvo en una franja central de al menos de 2 cm de profundidad. Al día siguiente se procedió a la siembra, a razón de una semilla por bolsa y se aplicó un riego inicial.

Diseño experimental. El ensayo consistió en 13 tratamientos inoculados con *M. phaseolina*, donde se evaluaron 4 tipos de fertilización: convencional (sin abonos orgánicos), aplicación edáfica de biosol puro y balanceado, con y sin urea; aplicación edáfica de biol puro y balanceado con y sin urea; y aplicación foliar de biol puro y corregido, con y sin urea, respectivamente. Se incluyeron 2 controles, sin ningún tipo de fertilización: un tratamiento blanco con suelo no infectado y un tratamiento testigo con suelo infectado. Los riegos se aplicaron solamente cada 48 horas, a fin de someter las plantas a estrés hídrico y favorecer el ataque del patógeno.

Los tratamientos, detallados en el Cuadro 1, se

arreglaron en bloques completamente al azar con 3 repeticiones, a razón de 8 bolsas por tratamiento, para un total de 24 plantas por tratamiento, cada una representando la unidad experimental.

Dosificación de los abonos. La dosificación de los abonos orgánicos en cada tratamiento se basó en los cálculos para la aplicación de K^+ , Ca^{+2} y Mg^{+2} , propuestos por Cadahía (2005) en base al concepto de la “solución nutritiva ideal” de Hoagland y Arnon. La solución ideal considera estos cationes en las siguientes concentraciones: $[K] = 6$ meq/L, $[Ca]=8$ meq/L y $[Mg]=4$ meq/L. Para ello se determinaron previamente las concentraciones de estos cationes en la solución del suelo de siembra, agua de riego, biol y extracto saturado de biosol, para calcular los requerimientos nutricionales del suelo empleado que presentaba textura arenosa, retención de humedad 21,26 %, pH 5,8 y CE 0,3 $mS \cdot cm^{-1}$.

Cuadro 1. Identificación de los tratamientos empleados en el ensayo

Tratamiento	Identificación
T0	Blanco, sin inóculo, sin fertilización, solo agua de riego
<i>Inoculados con M. phaseolina</i>	
TS	Biol 20 mL + 80 mL de agua al pie de la planta, en fase vegetativa* V1, V3, V5 y V8
TSU	Biol como TS + 2,5 g de urea en siembra
TSC	Biol como TS + 0,9 g de 10:20:20 + 0,5 g $Ca(NO_3)_2$ para balancear K^+ , Ca^{+2} y Mg^{+2}
TSCU	Biol como TSC + 2,5 g urea en la siembra
TF	Biol como TS vía aspersión foliar
TFU	Biol como TF + 2,5 g urea en la siembra
TFC	Biol como TF + 0,5 de CaO para ajustar pH del biol entre 5 - 6
TFCU	Biol + CaO como TFC + 2,5 g urea en la siembra
TB	Biosol 91 g al suelo, una semana antes de la siembra
TBU	Biosol como TB + 2,5 g urea en la siembra
TBC	Biosol como en TB + 1,8 g de 10:20:20 para balancear K^+ , Ca^{+2} y Mg^{+2}
TBCU	Biosol como TBC + 2,5 g urea en la siembra
TU	Convencional (1,5 g de 10:20:20 + 2,5 g urea en la siembra)
TI	Testigo, con inóculo, sin fertilización, solo agua de riego

V1, V3, V5 y V8 son las fases fenológicas descritas para soya por Ciampitti (2013)

Variabes Fitopatológicas

Incidencia de la enfermedad. Se contó el número de plantas muertas y sobrevivientes en las siguientes fases fenológicas: emergencia (E), cotiledonal (VC), vegetativa (V4), reproductiva en floración (R1) y fructificación (R5).

Progreso de la enfermedad. Se empleó el método

del cálculo del área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE) graficando la incidencia de la enfermedad contra el tiempo, partiendo de la coordenada (0,0). Para ello los porcentajes de mortalidad fueron transformados en proporciones de área de incidencia de la enfermedad (PAIE), en escala de 0 a 1 y cada una de las fases fenológicas

de la soya se simplificaron a número de eventos: E=1, VC=2, V4=3, R1=4 y R5=5. Se empleó la fórmula del área trapezoidal que es la figura geométrica que divide una curva de progreso de la enfermedad CPE en secciones de trapecios, calculando el área de cada uno y luego sumando todas las áreas, de acuerdo a la fórmula general según Simko y Piepho (2012).

Para cada figura de ABCPE graficada se procedió a obtener la curva de tendencia, la ecuación de regresión logarítmica ($y = b \ln x + a$) y el coeficiente de determinación de cada curva de regresión (R^2), empleando el programa Excel 2010. De las ecuaciones de regresión resultantes se seleccionó el factor b (pendiente) de cada una, que corresponde a la tasa de velocidad de progreso de la enfermedad (Ulacio, 2013).

Análisis estadísticos. Los datos que cumplieron con los supuestos del análisis de la varianza y mostraron diferencias estadísticas, fueron discriminados por la prueba de Tukey a un nivel de significancia de 5 %. Todos los análisis fueron realizados con el programa Infogen (Balzarini y Di Rienzo, 2013).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Incidencia de la enfermedad pudrición carbonosa en soya. El síntoma generalizado fue marchitez seca, comprobándose que la cantidad de inóculo utilizado fue efectivo para causar la enfermedad. En las fases de emergencia (E) y

cotiledonal (VC), las plántulas iniciaron su desarrollo asintomáticas, pero una vez alcanzado el periodo vegetativo V4 hasta inicio de la floración R1, se manifestó plenamente la enfermedad. Las plantas infectadas produjeron folíolos más pequeños que los normales. Esas hojas se marchitaron y se mantuvieron adheridas a los pecíolos. Al extraer la planta, la corteza de la raíz se desprendía fácilmente, dejando expuestos los tejidos sub-epidérmicos que adquirieron una coloración grisácea a plateada por la abundante presencia de microesclerocios negros. Esta coloración se extendió a los tejidos vasculares y hasta la médula. Los microesclerocios, de 50-75 micras de diámetro, eran tan numerosos que hacían lucir a la raíz como espolvoreada con carbón.

La enfermedad presentó su mayor incidencia en un período muy marcado comprendido entre la mitad de la fase vegetativa (V4) y el inicio de la floración (R1), siendo esta la fase más aguda (Cuadro 2). Fueron muy pocas las plantas sobrevivientes que llegaron a cosecha (R8) y las mismas exhibieron toda la sintomatología característica de la enfermedad (Figura 1). De manera similar, Mayek et al. (2002) reportaron para un patosistema *Macrophomina-Phaseolus*, que la fase más aguda fue al inicio de la floración (R1), siendo más severa cuando la humedad del suelo era baja y la temperatura alta, lo que sometió a las plantas a estrés fisiológico haciéndola más susceptible a la enfermedad.

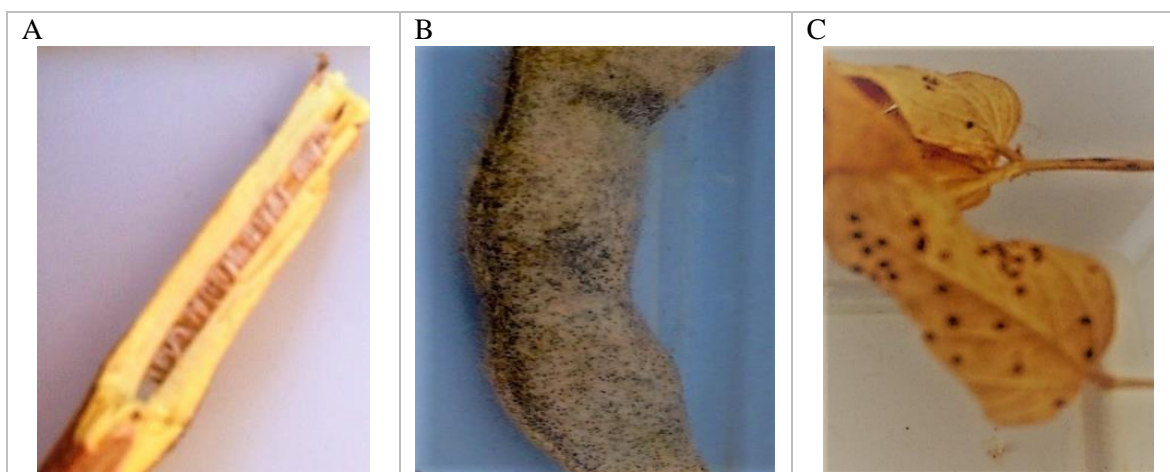


Figura 1. Daños ocasionados por *M. phaseolina* en el cultivo de soya en R8. A. Colapso vascular en tallo. B. Microesclerocios en vainas. C. Picnidios en el envés de las hojas

Mashooda et al. (2005) reportaron para un patosistema *Macrophomina-Abelmoschus esculentus*

(quimbombó) una mortalidad del 95% en fase de plántula y pérdida total del cultivo en apenas 20

días. Sankar y Sharma (2001) reportaron una mortalidad del 58,6% en un patosistema *Macrophomina*-maíz. Thilagavathi et al. (2007) reportaron una tasa de mortalidad del 87,3% en el patosistema *Macrophomina-Phaseolus vulgaris* a los 60 días.

En una amplia evaluación de accesiones de soya para resistencia a *M. phaseolina*, Mengistu et al. (2011) reportaron que en siembras de Estados Unidos, la enfermedad aparece en la fase inicial pero la plántula rara vez muere por el ataque del hongo. El verdadero cuadro sintomático se observa en las fases de fructificación R7 a R8, cuando el marchitamiento termina por afectar entre el 50% al 100% de la plantación. Por lo tanto, emplean por convención la fase R7 como el período crítico máximo para hacer las evaluaciones de resistencia de los distintos cultivares y cruces obtenidos. Dado que estos autores han comparado grupos de maduración tanto tropicales como subtropicales, afirman que la pudrición carbonosa en los trópicos es más severa y se manifiesta más tempranamente. Los síntomas de la pudrición carbonosa suelen ser mayores en las plantas estresadas por el alto calor y la sequía, especialmente cuando se produce sequía durante la fase reproductiva.

En este sentido, Wrather et al. (2008) reportaron que algunas variedades de soya tolerantes a sequía exhibían menor susceptibilidad a la colonización por *M. phaseolina* que los controles, pero la resistencia a sequía no las hacía resistentes a la pudrición carbonosa, solo que en estos genotipos los efectos de la enfermedad fueron más atenuados y la aparición se postergó a las fases tardías de la fructificación entre R6 a R8.

En el Cuadro 2, también se observa que el nivel de incidencia de plantas muertas en $V4 \geq 20\%$ marca claramente dos grupos: los tratamientos que retrasan la enfermedad (TBU, TBC, TB, TFC, TFCU, TSC, TS) y aquellos que no fueron eficientes (TF, TU, TBCU, TSCU y TSU). La sola aplicación de biol vía foliar (TF) no ofreció resistencia al patógeno, que permaneció como único habitante del suelo. Asimismo, la aplicación al suelo de urea (TU) o combinada con biol (TSU) no evitó que las plantas se enfermaran en la fase vegetativa. Otro resultado interesante sucedió con los tratamientos que incluyeron la adición de urea y sales inorgánicas en conjunto (TBCU y TSCU), lo que sugiere un probable efecto de solapado de salinidad o acumulación de sales, que pudo ocurrir

considerando que el régimen de riego fue deficitario.

Progreso de la enfermedad pudrición carbonosa en soya. Los valores de ABCPE obtenidos mostraron diferencias significativas entre los tratamientos, siendo aquellos con aplicación de biosol (TBU, TBC, TB) los que presentaron un ABCPE $\leq 0,6$ y una reducción en comparación al testigo infectado (TI) de 88,6; 84,6 y 72,3 %, respectivamente.

Un resultado similar fue obtenido por Ndiaye et al. (2010) en un patosistema *Macrophomina-Phaseolus*, reportando una reducción significativa entre un 28% a 56% del ABCPE, con la aplicación de compostas con 22,3% de materia orgánica a un suelo arenoso con un 0,4 % de materia orgánica nativa. En dicho estudio, el tratamiento con mezcla de composta $6 \text{ Mg}\cdot\text{ha}^{-1} + 50 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ NPK en el primer año, no difirió significativamente de los otros tratamientos donde solo se aplicó compostas, aunque si redujo el ABCPE en comparación al testigo. Sin embargo, este comportamiento cambió al tercer año de aplicación consecutiva. y luego resultó como el mejor tratamiento tanto en la reducción de aparición de la enfermedad, en aproximadamente 80%, como en el rendimiento. Ello indica que la constante aplicación de materia orgánica enriquecida con sales inorgánicas al suelo, mejora considerablemente sus funciones productivas y supresivas contra patógenos.

Con respecto a las curvas de progreso de la enfermedad CPE y las ecuaciones que resultaron con la mejor función de regresión una vez linealizadas las ABCPE, se muestran desde la Figura 2 hasta la Figura 6, observándose un comportamiento uniforme de la enfermedad que resultó de tipo exponencial. En cada gráfica se señalan los valores de R^2 que cuantifica la dependencia entre la variable incidencia y tiempo. Los ajustes oscilaron entre 0,60 y 0,83 indicando que el modelo logarítmico describió entre 60 y 83% el comportamiento de la pudrición carbonosa a lo largo del ciclo del cultivo de la soya en condiciones de estrés hídrico.

En la Figura 2 se observa el comportamiento del control no infectado T0, que se ajustó a una regresión lineal simple con un moderado coeficiente de determinación ($R^2 = 0,54$). En sentido estricto no se trata de una curva de progreso de la enfermedad en T0, ya que las plantas no estaban infectadas y por tanto no desarrollaron la enfermedad. Sin embargo,

en respuesta al régimen de estrés hídrico aplicado en el ensayo, se observó la muerte de algunas plantas por marchitamiento a una tasa relativamente lenta con un factor de riesgo $r = 0,0375$.

El resto de los tratamientos siguieron el modelo exponencial con una relación positiva, es decir a medida que avanzó el ciclo del cultivo, mayor fue la incidencia de la enfermedad.

Cuadro 1. Incidencia de la enfermedad pudrición carbonosa expresado en porcentaje de plantas muertas, mortalidad total (% MT), área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE) y factor r , en cada fase del ciclo fenológico de la soya cultivada con diferentes mezclas de biol y biosol

T	E	VC	V4	R1	R5	% MT	ABCPE	Factor r
T0	0	0	0 a	12,50 a	0	12,50 e	0,19 a	0,04*
TBU	0	0	4,17 ab	8,33 a	0	12,50 e	0,23 a	0,09 a
TBC	0	0	0 a	20,83 ab	0	20,83 de	0,31 ab	0,17 b
TB	0	0	0 a	37,50 abc	0	37,50 cd	0,56 abc	0,25 bc
TFC	0	0	8,33 ab	37,50 abcd	0	45,83 cd	0,73 abcd	0,31 cd
TSC	0	0	0 a	50,00 bcd	0	50,00 cd	0,75 abcde	0,35 cd
TS	0	0	8,33 ab	41,67 bcd	0	50,00 cd	0,83 bcde	0,34 cd
TFCU	0	0	20,83 bcd	29,17 bcd	0	50,00 cd	0,96 cde	0,34 cd
TU	0	0	33,33 bcd	25,00 cde	0	58,33 bcd	1,21 de	0,43 cdef
TSU	0	0	45,83 cd	12,50 cde	0	58,33 bcd	1,33 def	0,37 cdef
TF	0	0	29,17 bcd	45,83 de	0	75,00 abc	1,42 efg	0,53 def
TBCU	0	0	16,67 abc	62,50 de	0	79,17 abc	1,35 defg	0,59 ef
TI	0	0	75,00 d	4,25 de	0	79,25 ab	2,02 g	0,65 f
TSCU	0	0	75,00 d	16,67 e	0	91,67 a	2,13 fg	0,68 f
% CV	-	-	36,40	13,49	-	13,93	5,59	1,42
R ²	-	-	0,86	0,87	-	0,88	0,92	0,89

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($P \leq 0,05$). *regresión lineal

El tratamiento TI testigo infectado (Figura 3) dio la pauta del comportamiento exponencial característico de las epifitias monocíclicas, correspondiendo a una regresión logarítmica con un coeficiente alto de determinación ($R^2 = 0,81$) y una tasa de progreso de la enfermedad de $r = 0,6509$; un valor de esta magnitud es indicativo de enfermedades que se desarrollan muy rápidamente en las plantas y con alto riesgo porque las pérdidas pueden superar el 50 %. Tal incidencia es respuesta exclusiva de la patogénesis causada por el inóculo inicial empleado, observándose la competencia que se establece entre el crecimiento de la soya que es de ciclo corto y el desarrollo de *M. phaseolina*.

Estas curvas de regresión logarítmica muestran con detalle que la enfermedad pudrición carbonosa consta de tres fases: la inicial de VE a VC que es lenta y no registra plantas muertas; una segunda fase entre V4 a R1, donde la tasa de velocidad de la enfermedad describe una función exponencial, en la cual se presenta la mayor mortalidad; y el final, que va desde R1 a R5 donde cesa la enfermedad, es

decir las pocas plantas sobrevivientes aunque enfermas llegan a cosecha.

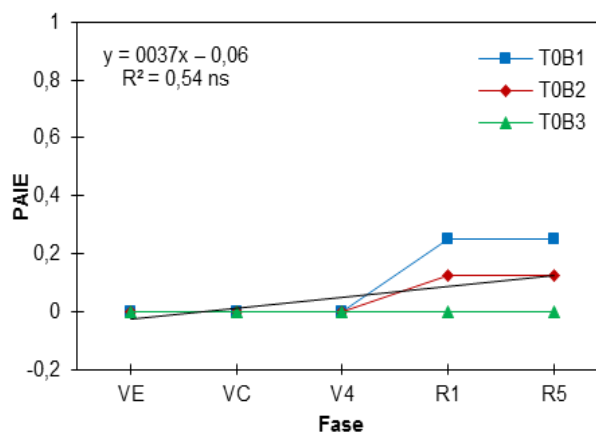


Figura 2. Curvas de progreso de la enfermedad en el tratamiento control T0 durante las fases de crecimiento de la planta. En color negro se presenta la línea de la regresión. PAIE: Proporción de área de incidencia de la enfermedad

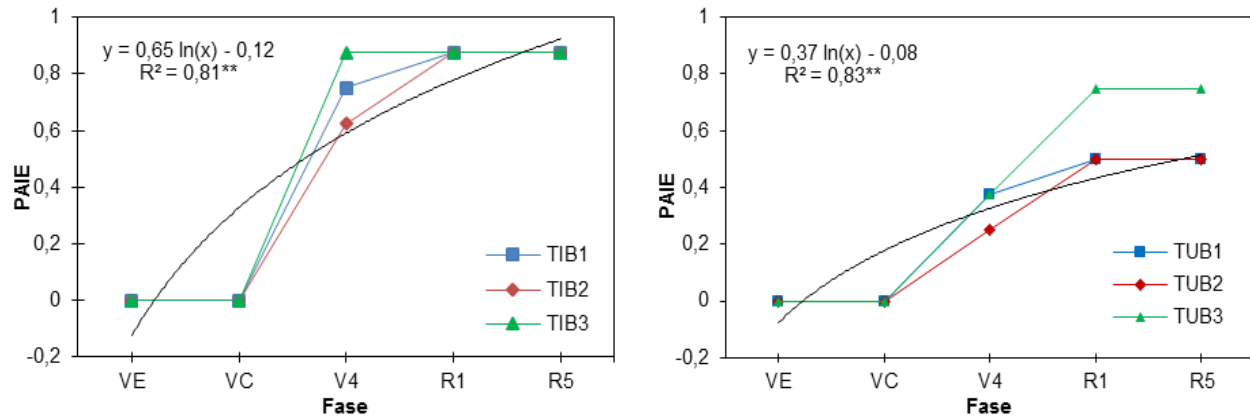


Figura 3. Curvas de progreso de la enfermedad de los tratamientos testigo TI y manejo convencional TU durante las fases de crecimiento de la planta. En color negro se presenta la línea de la regresión. PAIE: Proporción de área de incidencia de la enfermedad

La primera etapa de la enfermedad implica la germinación de los esclerocios en el suelo, el crecimiento del micelio y el inicio de la penetración en la epidermis de la raíz, momento en el que permanece restringido, aunque ya la plántula puede exhibir manchas pardas en el cuello por la infección (Kaur et al., 2012). Ahora bien, cuando inicia la elongación, desarrollo y maduración del tejido vascular de la plántula, con la misma velocidad avanza la colonización del hongo a través del corredor que representan físicamente los vasos conductores del xilema, a través del cual ocurre la mayor expansión del hongo, momento en que la infección ya es irreversible.

Autores como Khan (2007) y Mayek et al. (2002) también reportaron la fase de pre-floración como etapa crítica de la enfermedad, en la cual si el cultivo alcanza llegar a floración, entonces las hifas del hongo prosiguen su desarrollo con mayor vigor y forma los microesclerocios que bloquean los vasos y causan el colapso del hospedero. Esta fase de formación de los microesclerocios según Smits y Noguera (1988) tarda entre 2 a 8 días, de manera que después de la colonización del micelio, el desarrollo de las estructuras propagativas del hongo en los tejidos del hospedero es rápido y la planta no logra una fructificación adecuada. Sumado a ello, la fase formación de las vainas en soya es el período más largo, de allí que *M. phaseolina* disponga de más tiempo para la reproducción, observándose en esta etapa una aceleración de la enfermedad.

Esta aceleración tan marcada de la enfermedad,

entre V4 y R1, definió el comportamiento exponencial de la enfermedad y quedó cuantificado en el factor de riesgo (r). Como se observa en el Cuadro 2, se obtuvieron diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre los tratamientos en cuanto al factor r que osciló ampliamente entre los diferentes tratamientos presentando un rango de 0,04 hasta 0,68 ($R^2 = 0,93$; $CV = 19,62\%$).

En la Figura 4 se muestran las curvas de los tratamientos que recibieron biosol. Si se comparan con TI y TU en la Figura 2, los resultados muestran el efecto atenuador del biosol sobre la enfermedad por la aplicación de materia orgánica. Esto puede explicarse tanto por la capacidad de conservar la humedad del suelo, lo que reduce el estrés hídrico de las plantas, así como por la presencia de una microbiota capaz de competir e interferir en el desarrollo de *M. phaseolina*, como actinomicetes y bacterias ácido-lácticas.

Particularmente, el tratamiento mezcla de biosol con urea (TBU) presentó el factor de riesgo más bajo ($r = 0,087$), resaltando como el mejor, ya que permitió contrarrestar los efectos de la enfermedad presentando $\leq 12,5\%$ de plantas muertas al final del ciclo, equiparable al blanco no infectado y considerablemente distanciado del testigo infectado que alcanzó más de un 80 % de mortalidad. De esta mezcla, se puede deducir, que la urea contribuye en el rápido desarrollo de la biomasa vegetal y el biosol, por su parte, contribuye en mitigar el efecto del estrés hídrico y el desarrollo de *M. phaseolina* en el suelo, con lo cual hay una supervivencia significativa de las

plantas. Es una carrera contra el tiempo del progreso de la enfermedad, en la cual ni la urea

(TU) ni el biosol (TB) por sí solos pueden garantizar la supervivencia de las plantas.

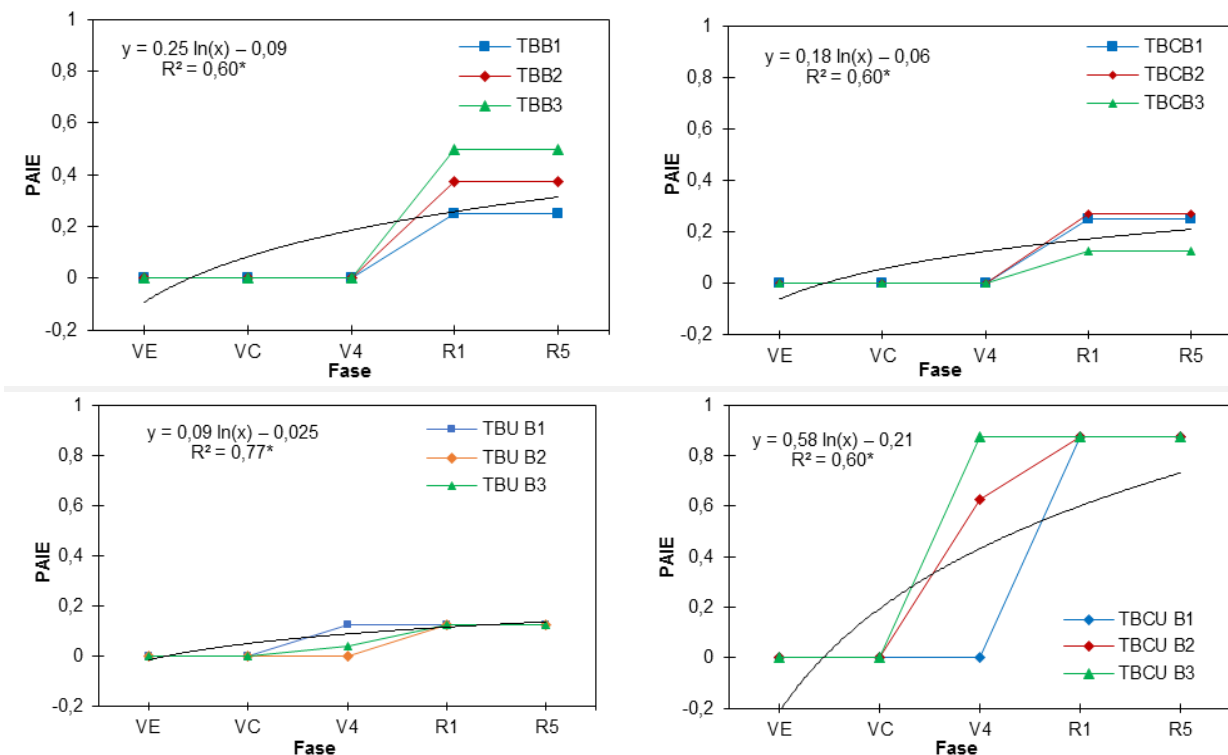


Figura 4. Curvas de progreso de la enfermedad de los tratamientos con aplicación de biosol al suelo TB, TBC, TBU y TBCU durante las fases de crecimiento de la planta. En color negro se presenta la línea de la regresión. PAIE: Proporción de área de incidencia de la enfermedad

La incorporación de residuos orgánicos compostados para el control de *M. phaseolina* en el frijol de racimo (*Cyamopsis tetragonoloba*) fue evaluado por Lodha et al. (2002) hallando una reducción de la sobrevivencia de los propágulos hasta un 13 a 23 % y una mortalidad del cultivo de 2 a 6% en comparación con un 16 % en el testigo. Los autores apuntan a que la incorporación de composta puede cambiar las características del suelo, que incluyen mayor actividad microbiológica y capacidad de retención de agua, factores que les son adversos al desarrollo de *M. phaseolina*. Perez et al. (2012) compararon la incidencia de *M. phaseolina* en cultivos de soja con distintas enmiendas orgánicas obteniendo un rango de reducción de la mortalidad entre un 60 a 72%. También reportaron que la población de actinomicetes incorporada por efecto de las enmiendas presentó un coeficiente de Pearson alto en el ACP, asociado a la supresión de la mortalidad por pudrición carbonosa. Por su parte, Thilagavathi et al. (2007) reportaron una reducción promedio de

60% de la pudrición carbonosa en judía, por efecto de la aplicación al suelo de una mezcla con los agentes de biocontrol: *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus subtilis* y *Trichoderma viride*. Estos biocontroladores tienen un potencial de colonización más extenso de la rizosfera, una expresión más consistente de rasgos beneficiosos en una gama más amplia de condiciones del suelo, y de ser antagonicos a un mayor número de patógenos que las cepas aplicadas individualmente. En ese sentido, el biosol tiene ese efecto combinatorio de agentes de biocontrol embebidos en una matriz coloidal que los conserva viables por mayor tiempo, en comparación a las mezclas en talco u otros sustratos que son ajenos a la composición natural del suelo, y suelen ser empleados como vehículo para los biocontroladores.

La incorporación al suelo de materia orgánica y microorganismos antagonistas y supresores, no protegen completamente a las plantas contra *M. phaseolina*, como se puede ver en la Figura 5. La aplicación de biol líquido mostró menor eficacia

que los tratamientos con biol sólido. Por lo tanto, su impacto sobre el manejo de esta enfermedad sigue siendo limitada ya que la rizosfera es un ambiente ecológicamente complejo y muchas otras variables confluyen a favor y en contra, como por ejemplo, humedad, temperatura y nutrientes. Pero se ha demostrado que la adición consecuente de materia orgánica al suelo puede permitir la creación de un hábitat cada vez más competitivo para este patógeno. Una exclusión total no se considera posible dada la naturaleza altamente resistente de los micro-esclerocios.

Comparaciones histológicas realizadas por Hemmati et al. (2018) entre cultivares de soya susceptibles y resistentes a *M. phaseolina*, revelaron que el proceso de pre-infección incluye dos pasos fundamentales: germinación de los

microesclerocios y desarrollo del micelio; pero estos no se relacionan con la resistencia de la planta, sino con la habilidad del hongo para lograr la penetración para lo cual debe garantizar en primera instancia su sobrevivencia. De allí que un suelo con humedad adecuada y una microbiota supresora, ofrezca mayor interferencia en el desarrollo del hongo. La adición consecuente de enmiendas orgánicas sigue siendo una estrategia útil para el manejo de los patógenos del suelo, sumado a los beneficios en la conservación de los suelos.

Como se muestra en las Figuras 4 y 5, los tratamientos que ofrecían el mejor aporte nutricional para el suelo y el cultivo TBCU y TSCU, contradictoriamente resultaron desfavorables para la supresión de *M. phaseolina*.

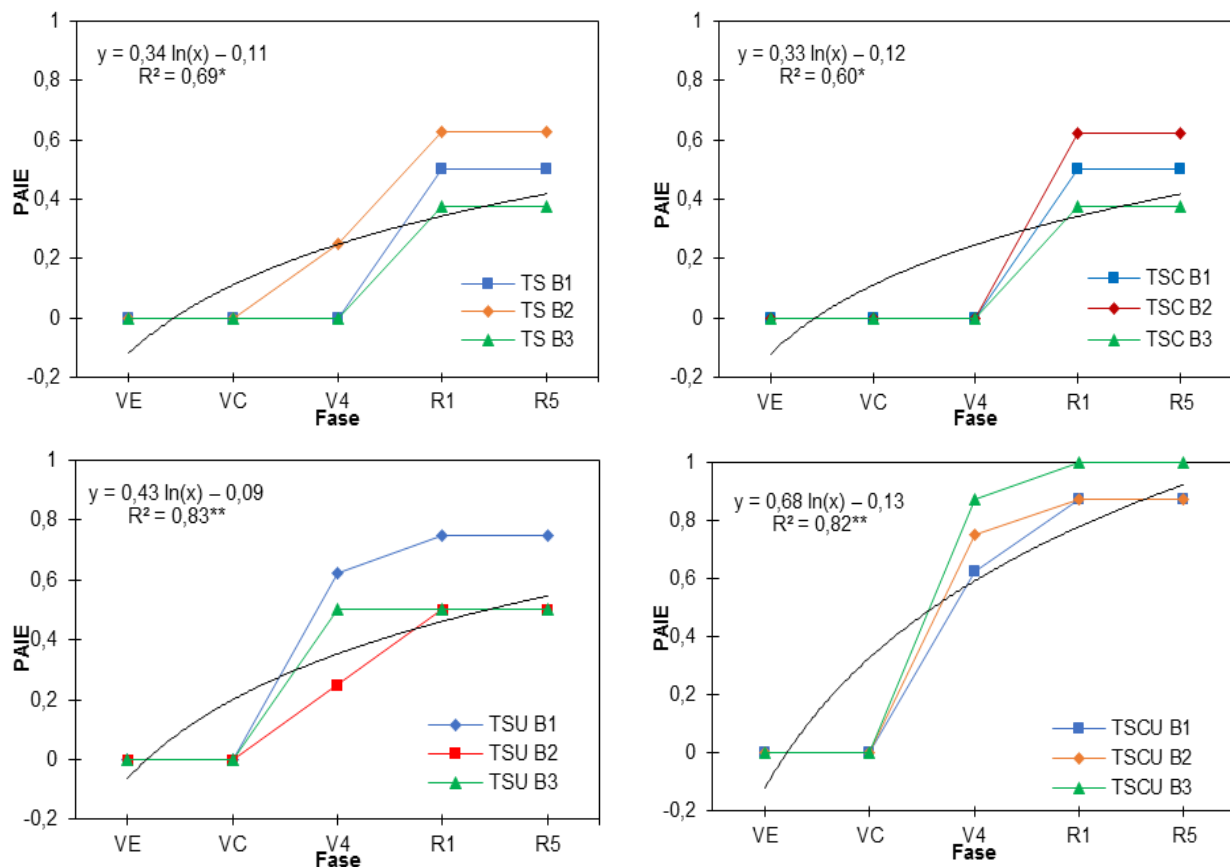


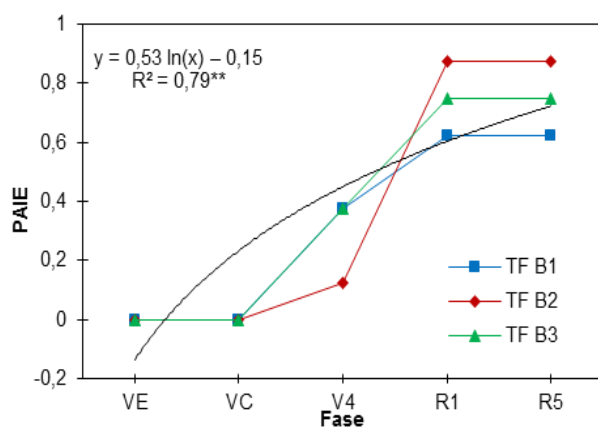
Figura 5. Curvas de progreso de la enfermedad de los tratamientos con biol al suelo TS, TSC, TSU y TSCU durante las fases de crecimiento de la planta. En color negro se presenta la línea de la regresión. PAIE: Proporción de área de incidencia de la enfermedad

Cervantes et al. (2003) apuntaron que la normal germinación de los esclerocios de *M. phaseolina* en el suelo también está condicionada a los nutrientes

disponibles para su desarrollo. Un mecanismo en el cual la reducción de nutrientes limita la emergencia del tubo germinativo y conserva la viabilidad de los

propágulos. Por el contrario, suelos ricos en nutrientes favorecen la germinación de los esclerocios, estimulada por la presencia de los exudados del sistema radicular del cultivo. Entre estos nutrientes distingue el nitrógeno, esencial para la formación de las poliaminas requeridas por *M. phaseolina* para resistir el estrés osmótico por efecto de la baja humedad del suelo, realizar su transición de esclerocio a micelio (Roa y Rosas, 2013). Por lo tanto, la adición excesiva de nitrógeno a suelos infectados con *M. phaseolina*, agudiza el desencadenamiento de la enfermedad. La estrategia más adecuada es la adición constante de materia orgánica balanceada y rica en microorganismos competidores, que contribuyan en el control de este patógeno, ya que una erradicación es poco probable por la resistencia de los esclerocios.

Una vez que el hongo infecta la planta,



comienza la habilidad intrínseca de defensa del cultivo. Los tratamientos foliares con biol fueron considerados principalmente para evaluar su capacidad de activar los sistemas de defensa natural del cultivo.

Como podemos observar en las Figuras 5 y 6, las aplicaciones de biol líquido al suelo y foliar presentaron factores de riesgo $r \geq 0,3$. Esto indica que las dosis de biol por cualquier vía de aplicación no fueron las ajustadas para contrarrestar la enfermedad.

Diversos productos orgánicos como el biocarbón o biochar (carbón vegetal pirrolisado) (Steiner et al. 2004), ácidos húmicos (Yigit y Dikilitas, 2008) y el quitosano (Hidangmayum et al. 2019) han sido evaluados como bioestimulantes de los sistemas de defensa de las plantas, aunque los resultados no han sido contundentes en todos los casos.

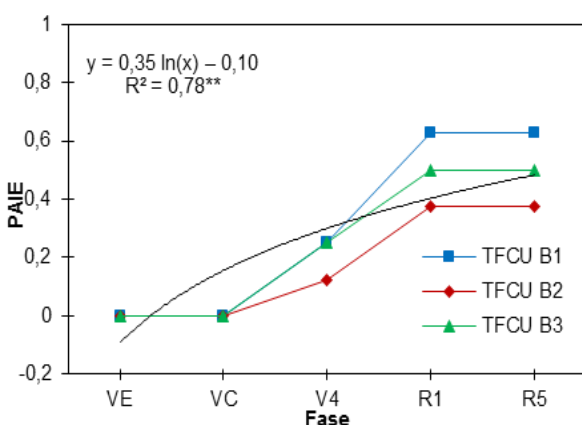
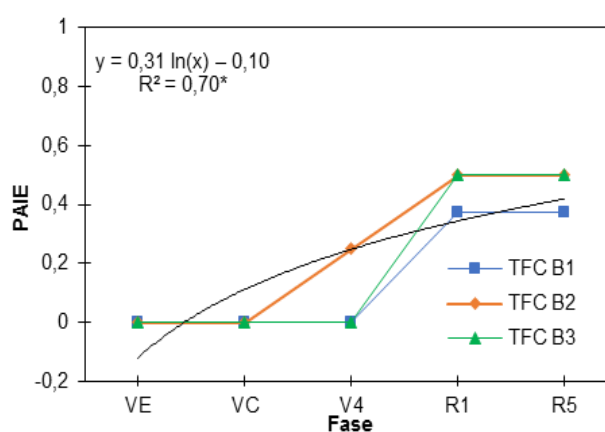


Figura 6. Curvas de progreso de la enfermedad de los tratamientos con biol foliar TF, TFC y TFCU durante las fases de crecimiento de la planta. En color negro se presenta la línea de la regresión. PAIE: Proporción de área de incidencia de la enfermedad

Jaiswal et al. (2018) evaluaron el biocarbón contra *Fusarium oxysporum* en tomate, reportando supresión del hongo en un 79 % *in vivo*, mientras que la supresión fue de 3 % *in vitro*. Esto indicaba

que el biocarbón no tuvo efecto tóxico directo sobre el patógeno, pero resultó un elemento supresor en el sistema de cultivo, aunque no se logró discriminar si el control fue por efecto antagonista

sobre el patógeno, o por inducción de resistencia sistémica en la planta. Sin embargo, otro tipo de resultado fue reportado por Copley et al. (2017) en plantas de soya tratadas con biocarbón de maple para inducir resistencia contra *Rhizoctonia solani*, donde registraron disminuciones en la abundancia de transcripción de los genes asociados al metabolismo primario y al metabolismo de la defensa de las plantas. En la mayoría de los patosistemas probados, la progresión de la enfermedad se retardó con dosis más bajas de biocarbón y se aceleró con dosis más altas (Jaiswal et al., 2014; Huang et al., 2015). Este fenómeno ha sido descrito como el efecto «respuesta máxima desplazada» (Jaiswal et al., 2015) que en términos epifitiológicos significa que las enfermedades a veces se estimulan con dosis de nutrientes que son óptimas para los rendimientos de las plantas (Frenkel et al., 2017). La respuesta máxima entre rendimientos y control de una enfermedad, implica un cambio dinámico y colectivo en la dosificación del producto. Por lo tanto, no solo es necesario balancear nutricionalmente al abono orgánico sino también, a través de la dosificación, modular su expresión tanto como fuente de nutrientes involucrados en el metabolismo primario como de elicitores estimulantes del metabolismo secundario.

Por su parte, está la dificultad para determinar el modo de acción de un bioestimulante. Yakhin et al. (2017), sugirieron que el enfoque de este tipo de investigaciones debe orientarse hacia la determinación de un amplio mecanismo de acción, y no un modo de acción específico como ocurre con los fungicidas sintéticos. Debido a la complejidad química y microbiológica de los bioestimulantes orgánicos, se debe mantener la expectativa de que la experimentación con los mismos conduzca a identificar nuevos fenómenos, vías y sinergias, que no han sido descubiertos o aclarados hasta ahora.

CONCLUSIONES

La aplicación de biosol con urea genera un efecto atenuador de la enfermedad pudrición carbonosa, debido a que la incorporación de este material orgánico permite conservar la humedad del suelo reduciendo el estrés hídrico de las plantas, y aporta una microbiota diversa y abundante en antagonistas que son capaces de competir e interferir en el desarrollo de *M. phaseolina*, como mohos, actinomicetes y bacterias

ácido-lácticas. Este efecto dilatorio del progreso de la enfermedad permite que las plantas puedan aprovechar los beneficios de la urea y alcanzar la fase productiva. Por el contrario, la aplicación de sales nutricionales en combinación con urea, ocasiona una sinergia negativa que no favorece el manejo de la pudrición carbonosa.

LITERATURA CITADA

1. Babu B.K., R. Saikia y D.K. Arora. 2010. Molecular characterization and diagnosis of *Macrophomina phaseolina*: a charcoal rot fungus. In: Gherbawy Y. y K. Voigt (eds.). Molecular Identification of Fungi. Springer. New York. pp. 179-193.
2. Balzarini M y J. Di Rienzo. 2013. InfoGen versión 2012. FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL: <http://www.info-gen.com.ar> (consulta de mayo, 2019).
3. Bonanomi G., V. Antignani, C. Pane y F. Scala. 2007. Suppression of soilborne fungal diseases with organic amendments. Journal of Plant Pathology 89(3): 311-324.
4. Cadahía C. 2005. Fertirrigación. Cultivos hortícolas, frutales y ornamentales. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid.
5. Cardona, R. 2006. Distribución vertical de esclerocios de *Macrophomina phaseolina* en un suelo infestado naturalmente en el estado Portuguesa. Rev. Fac. Agron. (LUZ) 23: 284-291.
6. Castellanos, G., C. Jara y G. Mosquera. 2015. Manejo del Hongo. Guía Práctica 5: *Macrophomina phaseolina*. Centro Internacional de Agricultura Tropical CIAT. Palmira, Colombia. 19 p.
7. Cervantes, D., J.S. Padilla, J. Simpson y N. Mayek. 2003. Osmotic potential effects on in vitro growth, morphology and pathogenicity of *Macrophomina phaseolina*. J. Phytopath. 151: 456-462.
8. Ciampitti, I. 2013. Soybean Growth and Development. Kansas State University, Research and Extension. Crop Production and Cropping Systems Specialist. <https://www.bookstore.sre.ksu.edu/pubs/MF3339.pdf>.
9. Copley, T.R., S. Bayen y S. Jabaji. 2017.

- Biochar amendment modifies expression of soybean and *Rhizoctonia solani* genes leading to increased severity of Rhizoctonia foliar blight. *Frontiers in Plant Science* 8: 221.
10. Dhingra O.D. y J.B. Sinclair. 1978. *Biology and Pathology of Macrophomina phaseolina*. Imprensa Universitária, Universidade Federal de Viçosa, Brasil. 166 p.
 11. El-Baz S.M., E. Abbas y R. Abo. 2012. Effect of sowing dates and humic acid on productivity and infection with rot diseases of some soybean cultivars cultivated in new reclaimed soil. *International Journal of Agricultural Research*. 7: 345-357.
 12. Escobar, J.L. 2015. Producción de abonos orgánicos y bioprotectores. Usos y aplicaciones. Centro de Investigación Agrícola Tropical (CIAT), Santa Cruz, Bolivia. pp. 18-20.
 13. Farr, D.F. y A.Y. Rossman. 2021. Fungal Databases, U.S. National Fungus Collections, ARS, USDA. <https://nt.ars-grin.gov/fungaldata/bases/> (consulta de marzo, 2021)
 14. Frenkel O, A.K. Jaiswal, Y. Elad, B. Lew, C. Kammann y E.R. Graber. 2017. The effect of biochar on plant diseases: what should we learn while designing biochar substrates?. *Journal of Environmental Engineering and Landscape Management* 25: 105-113.
 15. Groenen, D. 2018. The effects of climate change on the pests and diseases of coffee crops in Mesoamerica. *Journal of Climatology & Weather Forecasting* 6: 239-243.
 16. Hemmati, P., Z.S. Doustmorad, M. Bagher, H. Majid, G. Majid, D. Aria y A. Reza. 2018. Histopathology of charcoal rot disease (*Macrophomina phaseolina*) in resistant and susceptible cultivars of soybean. *Rhizosphere* 7: 27-34.
 17. Hidangmayum A., P. Dwivedi, D. Katiyar y A. Hemantaranjan. 2019. Application of chitosan on plant responses with special reference to abiotic stress. *Physiol. Mol. Biol. Plants* 25(2): 313-326.
 18. Huang W., H. Ji, G. Gheysen, J. Debode y T. Kyndt. 2015. Biochar-amended potting medium reduces the susceptibility of rice to root-knot nematode infections. *BMC Plant Biology* 15: 267.
 19. Jaiswal A.K., Y. Elad, E.R. Graber y O. Frenkel. 2014. *Rhizoctonia solani* suppression and plant growth promotion in cucumber as affected by biochar pyrolysis temperature, feedstock and concentration. *Soil Biology & Biochemistry* 69: 110-118.
 20. Jaiswal A.K., O. Frenkel, Y. Elad, B. Lew y E.R. Graber. 2015. Non-monotonic influence of biochar dose on bean seedling growth and susceptibility to *Rhizoctonia solani*: the “Shifted Rmax-Effect”. *Plant and Soil* 395: 125-140.
 21. Jaiswal A.K., Y. Elad, E.R. Graber, E. Cytryn y O. Frenkel. 2018. Soil-borne disease suppression and plant growth promotion by biochar soil amendments and possible mode of action. *Acta Hort.* 1207 (9): 69-76.
 22. Kaur, S., G.S. Dhillon, S.K. Brar, G.E. Vallad, R. Chand y V.B. Chauhan. 2012. Emerging phytopathogen *Macrophomina phaseolina*: biology, economic importance and current diagnostic trends. *Critical Reviews in Microbiology* 38: 136-151.
 23. Khan S.N. 2007. *Macrophomina phaseolina* as causal agent for charcoal rot of sunflower. *Mycopathologia*, 5: 111-118.
 24. Kranz J. 1988. Measuring plant disease. In: J. Kranz J. y J. Rottem (eds.). *Experimental Techniques in Plant Disease Epidemiology*. Springer-Verlag, Berlin. pp. 35-50.
 25. Lodha S., S.K. Sharma y R.K. Aggarwal. 2002. Inactivation of *Macrophomina phaseolina* propagules during composting and effect of compost on dry root rot severity and seed yield of clusterbean. *European J. Plant Pathology* 108: 253-261.
 26. Manici, L.M., F. Caputo y C. Cerato. 1995. Temperature responses of isolates of *Macrophomina phaseolina* from different climate regions of sunflower production in Italy. *Plant Disease* 79: 834-838.
 27. Mashooda B., S. Lokesh y T. Vasanth. 2005. Pathogenicity of *Macrophomina phaseolina* and *Fusarium verticilloides* in Okra. *Integrative Biosciences* 9(1): 37-40.
 28. Mayek, N., C. López, M. González, R. García, J.A. Acosta, O. Martínez y J. Simpson. 2001. Variability of mexican isolates of *Macrophomina phaseolina* on bases of

- pathogenesis and AFLP genotype. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 59: 257-264.
29. Mayek, N., R. García, C. López, J.A. Acosta y J. Simpson. 2002. Water relations, histopathology and growth of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) during pathogenesis of *Macrophomina phaseolina* under drought stress. *Physiol. Mol. Plant Path.* 60:185-195.
30. Mengistu A, J.R. Smith, J.D. Ray y N. Bellaloui. 2011. Seasonal Progress of Charcoal Rot and Its Impact on Soybean Productivity. *Plant Dis.* 95(9): 1159-1166.
31. Muñoz, R.M., S. Hernández y N. Mayek. 2005. Análisis patogénico y genético de *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. en diferentes hospedantes. *Revista Mexicana de Fitopatología* 23(1): 11-18.
32. Ndiaye M., A.J. Termorshuizen y A.H.C van Bruggen. 2010. Effects of compost amendment and the biocontrol agent *Clonostachys rosea* on the development of charcoal rot (*Macrophomina phaseolina*) on cowpea. *Journal of Plant Pathology* 92(1): 173-180.
33. Perez C., J. Arzeno, J. Huidobro, B. Grümberg, C. Conforto, S. Hilton et al. 2012. Long-term effect of tillage systems on soil microbiological, chemical and physical parameters and the incidence of charcoal rot by *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid in soybean. *Crop Protection* 40: 73-82.
34. Roa M.V. y R. Rosas. 2013. La biosíntesis de las poliaminas en el hongo fitopatógeno *Macrophomina phaseolina*. *Revista Mexicana de Fitopatología* 31(1): 45-59.
35. Sankar P y R.C. Sharma. 2001. Management of charcoal rot of maize with *Trichoderma viride*. *Indian Phytopath.* 54(3): 390-391.
36. Simko I y H.P. Piepho. 2012. The area under the disease progress stairs: calculation, advantage and application. *Phytopathology* 102(4): 381-389.
37. Smits G.B. y R. Noguera. 1988. Ontogenia y morfogénesis de esclerocios y picnidios de *Macrophomina phaseolina*. *Agronomía Tropical* 38: 69-78.
38. Steiner C., W.G. Teixeira, J. Lehmann y W. Zech. 2004. Microbial response to charcoal amendments of highly weathered soils and amazonian dark earths in central Amazonia - preliminary results. *In: B. Glaser y W.I. Woods (eds.). Amazonian Dark Earths: Explorations in Space and Time.* Springer Verlag, Heidelberg. pp. 195-212.
39. Stewart, S y M. Rodríguez. 2013. Manual de identificación de enfermedades de la soja. Boletín de Divulgación N° 104. INIA. Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca. Uruguay. 74 p.
40. Su, G., S.O. Suh, R.W. Schneider y J.S. Russin. 2001. Host specialization in the charcoal rot fungus *Macrophomina phaseolina*. *Phytopathology* 91: 120-126.
41. Thilagavathi R., D. Saravanakumar, N. Ragupathi y R. Samiyappan. 2007. A combination of biocontrol agents improves the management of dry root rot (*Macrophomina phaseolina*) in greengram. *Phytopathol. Mediterr.* 46: 157-167.
42. Torrealba, J.A., J. Pineda, D. Ulacio, H. Escalante y A. Hernández. 2015. La pudrición carbonosa (*Macrophomina phaseolina*) en soya y su manejo mediante aplicaciones de *Trichoderma* spp. y *Rhizobium* sp. *Bioagro* 27(3): 159-166.
43. Ulacio, D. 2013. Principios y conceptos epidemiológicos para el estudio de las enfermedades en las plantas. *In: D. Ulacio (ed.). Manejo Integrado de las Enfermedades (Principios y Aplicaciones).* San Felipe, Venezuela. pp. 147-171.
44. Vanderplank J. 1963. *Plant Diseases: Epidemics and Control.* Academic Press. New York.
45. Wrather J.A., J.G. Shannon, T.E. Carter, J.P. Bond, J.C. Rupe y A.M.R. Almeida. 2008. Reaction of drought-tolerant soybean genotypes to *Macrophomina phaseolina*. *Plant Management Network.* 5 p.
46. Yakhin O.I., A.A. Lubyantsev, I.A. Yakhin y P.H. Brown. 2017. Biostimulants in plant science: a global perspective. *Frontiers in Plant Science* 7: 2049.
47. Yigit F. y M. Dikilitas. 2008. Effect of humic acid applications on the root-rot diseases caused by *Fusarium* spp. on tomato plants. *Plant Pathology Journal* 7(2): 179-182.