

UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

Influencia del silicio en el desarrollo de enfermedades foliares y respuestas fisiológicas y agronómicas de arveja (*Pisum sativum*)

Viviana Vargas Rojas

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias Agrarias, Departamento de Agronomía
Bogotá D.C., Colombia

2022

Influencia del silicio en el desarrollo de enfermedades foliares y respuestas fisiológicas y agronómicas de arveja (*Pisum sativum*)

Viviana Vargas Rojas

Tesis presentada como requisito parcial para optar al título de:
Magister en Ciencias Agrarias

Directora:

Ph.D. Sandra Gómez Caro

Codirector:

Ph.D. Hermann Restrepo Díaz

Línea de Investigación:

Fitopatología

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias Agrarias, Departamento de Agronomía
Bogotá D.C., Colombia

2022

Esta tesis está dedicada a mi familia, por su apoyo incondicional brindado. A mis padres y mis hermanos, especialmente a Moises Vargas Rojas que, aunque en este mundo ya no lo volveremos a ver, siempre estará presente en nuestros corazones. Gracias por las palabras de apoyo en los momentos indicados, las enseñanzas, las alegrías y los recuerdos que nunca serán olvidados.

Declaración de obra original

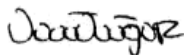
Yo declaro lo siguiente:

He leído el Acuerdo 035 de 2003 del Consejo Académico de la Universidad Nacional. «Reglamento sobre propiedad intelectual» y la Normatividad Nacional relacionada al respeto de los derechos de autor. Esta disertación representa mi trabajo original, excepto donde he reconocido las ideas, las palabras, o materiales de otros autores.

Cuando se han presentado ideas o palabras de otros autores en esta disertación, he realizado su respectivo reconocimiento aplicando correctamente los esquemas de citas y referencias bibliográficas en el estilo requerido.

He obtenido el permiso del autor o editor para incluir cualquier material con derechos de autor (por ejemplo, tablas, figuras, instrumentos de encuesta o grandes porciones de texto).

Por último, he sometido esta disertación a la herramienta de integridad académica, definida por la universidad.



Viviana Vargas Rojas

Fecha 31/05/2022

Agradecimientos

Al finalizar esta etapa en mi vida, quiero agradecer inmensamente a todas las personas que hicieron parte de alguna manera en la realización de esta tesis de maestría.

Gracias a los directores de tesis, Sandra Gomez y Hermann Restrepo por el apoyo y compromiso desde el primer día de mi maestría hasta el día de hoy. Gracias por los comentarios y correcciones realizados en este escrito.

Al profesor Gustavo Ligarreto, quien es parte importante de este trabajo.

A Nicolas Castro y Daniel Pantoja, por la confianza y el apoyo brindado en el trabajo de campo.

A Sebastian Chitiva por su tiempo dedicado a la realización de los experimentos de laboratorio.

Gracias a Diego Giraldo, compañero de maestría que con sus palabras de ánimo y apoyo durante el proceso académico.

A Cristhian Chávez y Mateo Bejarano por el apoyo con equipo y toma de datos en experimentos realizados en invernadero.

Al personal del invernadero de la Facultad y Centro Agropecuario Marengo por toda la colaboración brindada en los experimentos de campo.

A la Universidad Nacional por permitirme realizar mi maestría en sus instalaciones.

¡Muchas gracias!

Resumen

Influencia del silicio en el desarrollo de enfermedades foliares y respuestas fisiológicas y agronómicas de arveja (*Pisum sativum*)

Dentro de las principales limitantes del cultivo de arveja (*Pisum sativum* L.) están los patógenos foliares que pueden ocasionar pérdidas entre el 20 y 100%. La aplicación de bioestimulantes como el silicio (Si) se ha reportado como una alternativa para el manejo de enfermedades, sin embargo, la información sobre su uso en arveja aún es limitada. En esta investigación se evaluó el efecto del silicio básico y acidulado sobre el desarrollo de *Ascochyta* spp. *in vitro* y bajo condiciones de invernadero en plantas de arveja variedad Vizcaya. Así mismo, en condiciones de campo se realizaron dos experimentos, que evaluaron el efecto de la aplicación edáfica o foliar del Si (acidulado o básico) en el desarrollo de enfermedades ocasionadas por *Ascochyta* spp., *Peronospora viciae* y *Erysiphe pisi*. Adicionalmente, se determinaron las respuestas fisiológicas y agronómicas del cultivo en comparación con la aplicación única de fungicidas. Como variables, en condiciones *in vitro* se evaluó el crecimiento micelial de la colonia; bajo condiciones de invernadero y campo se evaluaron la severidad de cada enfermedad, contenido de clorofila, conductancia estomática (gs), pigmentos fotosintéticos, tasa relativa de crecimiento (TRC) y altura de la planta. Adicionalmente, se midió el rendimiento y sus componentes. Se encontró que los tratamientos de Si inhibieron el crecimiento micelial de *Ascochyta* spp. en medio de cultivo. Se presentaron diferencias significativas entre los niveles de severidad de las enfermedades evaluadas en tratamientos con Si con respecto al control, sin afectar el rendimiento del cultivo. Los tratamientos con aplicación edáfica de Si acidulado presentaron mayor eficacia con respecto a la aplicación de Si básico y los tratamientos foliares. Se encontró que con la aplicación de Si es posible reducir el uso de fungicidas comerciales para el manejo de las principales enfermedades foliares de arveja. Los resultados obtenidos son un aporte en la búsqueda de alternativas para el manejo de

enfermedades, que además mitiguen el efecto en la fisiología de la planta y contribuyan a su vez a la reducción del uso de fungicidas en el cultivo.

Palabras clave: bioestimulantes, tizón por *ascochyta*, mildew vellosa, mildew polvosa, silicio.

Abstract

Influence of silicon on the development of foliar diseases and physiological and agronomic responses of pea (*Pisum sativum*)

Among the main constraints of the pea (*Pisum sativum* L.) crop, the foliar pathogens may cause losses between 20 and 100%. The application of biostimulants such as silicon (Si) has been reported as an alternative for plant disease management, however, the knowledge on the effects of Si in pea plant is still scarce. In this research, the effect of basic and acidified Si on the *in vitro* mycelial growth of *Ascochyta* spp. and the disease development under greenhouse conditions on pea cv. Vizcaya was evaluated. Two experiments were carried out under field conditions to assess the effect of the edaphic and foliar Si (acidic and basic) application on the diseases caused by *Ascochyta* spp., *Peronospora viciae* and *Erysiphe pisi*. Additionally, physiological and agronomic responses of the crop were determined. Diameter of *Ascochyta* colony was measured under *in vitro* conditions; disease severity, chlorophyll content, stomatal conductance (gs), photosynthetic pigments, relative growth rate (RGR), plant height and crop yield components were recorded under greenhouse and field conditions. Si treatments were found to inhibit mycelial growth of *Ascochyta* spp. in culture medium. The lowest disease severity was observed in plants treated with Si, without negative effect on crop yield. Treatments with edaphic acidified Si application showed a higher efficiency in contrast to basic Si application and Si foliar treatments. The results suggest that the use of chemical fungicides on pea crops may be reduced by use of treatments based on silicon. Moreover, contribute to the search of alternatives of plant disease management, which not only mitigate their negative effect on plant physiology but also help to decrease the use of fungicides during the crop cycle.

Keywords: biostimulants, ascochyta blight, downy mildew, powdery mildew, silicon.

Contenido

Resumen	VII
Lista de figuras	XI
Lista de tablas	XIII
Introducción general.....	15
1. Capítulo I. Efecto del silicio sobre el crecimiento <i>in vitro</i> de <i>Ascochyta</i> spp. y el desarrollo del tizón por ascochyta en plantas de arveja variedad Vizcaya bajo condiciones de invernadero	20
1.1 Resumen.....	20
1.2 Introducción	21
1.3 Materiales y métodos	25
1.3.1 Muestras de material afectado y aislamiento del patógeno.....	25
1.3.2 Identificación morfológica y molecular de <i>Ascochyta</i> spp. y confirmación de la patogenicidad de los aislamientos.....	26
1.3.3 Efecto del silicio en el crecimiento micelial de <i>Ascochyta</i> spp. bajo condiciones <i>in vitro</i>	27
1.3.4 Efecto del silicio sobre el tizón por ascochyta en condiciones de invernadero	29
1.4 Resultados.....	31
1.4.1 Síntomas y signos asociados al tizón por ascochyta en plantas de arveja variedad Vizcaya.....	31
1.4.2 Aislamientos obtenidos a partir de síntomas de tizón por ascochyta.....	32
1.4.3 Identificación morfológica y molecular de aislamientos de <i>Ascochyta</i> spp.	33
1.4.4 Efecto del silicio sobre el crecimiento micelial de <i>Ascochyta</i> spp.....	35
1.4.5 Efecto del Silicio sobre el desarrollo del tizón por ascochyta en plantas	37
1.5 Discusión	40
1.6 Conclusiones.....	44
2. Capítulo II. Efecto del silicio en el desarrollo de enfermedades foliares y respuestas fisiológicas y agronómicas de arveja (<i>Pisum sativum</i> L.) en condiciones de campo	45
2.1 Resumen.....	45
2.2 Introducción	46
2.3 Materiales y métodos	48
2.3.1 Condiciones generales de estudio	48

X **Influencia del silicio en el desarrollo de enfermedades foliares y respuesta fisiológicas y agronómicas de arveja (*Pisum sativum*)**

2.3.2	Experimento 1: evaluación de la aplicación edáfica o foliar de Si básico o acidulado sobre el desarrollo de enfermedades foliares y el comportamiento agronómico del cultivo de arveja.....	49
2.3.3	Experimento 2: evaluación de la aplicación de Si acidulado y fungicidas según el nivel de severidad de enfermedades foliares del cultivo de arveja	50
2.3.4	Desarrollo del tizón por ascochyta, mildew vellosa y mildew polvosa en el cultivo de arveja.....	53
2.3.5	Determinación de variables fisiológicas en plantas de arveja	55
2.3.6	Parámetros de crecimiento de la planta	55
2.3.7	Concentración de nitrato, calcio y potasio en savia y concentración foliar de silicio.....	56
2.3.8	Componentes de rendimiento del cultivo.....	56
2.3.9	Diseño experimental y análisis estadístico	57
2.4	Resultados.....	57
2.4.1	Experimento 1: efecto del silicio sobre el desarrollo de enfermedades foliares y comportamiento agronómico del cultivo de arveja	59
2.4.2	Experimento 2: aplicación de Si acidulado y fungicidas según el nivel de severidad enfermedades foliares del cultivo de arveja	68
2.5	Discusión	72
2.6	Conclusiones	76
3.	Discusión general	78
4.	Conclusiones y recomendaciones.....	82
5.	Bibliografía	84
6.	Anexos	103
1.	Anexo: Informe de identificación de AMn03 – AIS3 basado en secuenciación y análisis filogenético de las regiones ITS, 18S, RPB2 y BTUB	103
2.	Anexo: Informe de identificación de AMn02 – AIS2 basado en secuenciación y análisis filogenético de las regiones ITS, 18S, RPB2 y BTUB	106
3.	Anexo: Informe de identificación de AMn01 – AIS1 basado en secuenciación y análisis filogenético de las regiones ITS, 18S, RPB2 y BTUB	109

Lista de figuras

Pág.

- Figura 1-1:** Sintomatología en tejido foliar de arveja variedad Vizcaya y estructuras reproductivas de *Ascochyta* spp. **A.** Manchas necróticas con borde definido y anillos concéntricos en hojas. **B.** Picnidios sobre lesiones necróticas. **C.** Manchas necróticas pequeñas irregulares, sin anillos concéntricos, presentes entre las nervaduras de las hojas. **D.** Identificación de picnidios (40x). **E.** Conidias (40x) **32**
- Figura 1-2:** Aislamientos de *Ascochyta* spp. en medio de cultivo PDA 20 días después del aislamiento, incubadas a 21°C. **A.** AMn01. **B.** AMn02. **C.** AMn03. **G.** Clamidosporas (40x) en los tres morfotipos obtenidos. En A, B y C, vista superior anverso de la colonia; parte inferior reverso de la colonia..... **33**
- Figura 1-3:** Árbol filogenético (*Maximum likelihood*) de las regiones ITS, 28S, BTUB y RPB2 construido con la base de datos Ribosomal Database Project a partir de los aislamientos Amn01, AMn02 y AMn03 **34**
- Figura 1-4:** Establecimiento y desarrollo de *Ascochyta* spp. en plantas de arveja variedad Vizcaya. **A.** Lesión necrótica sobre el haz de la hoja 5 DDI. **B.** Picnidios visibles en la superficie de la hoja. **C.** Conidias (40x) en los aislamientos AMn01 y AMn02. **35**
- Figura 1-5:** Efecto del Si acidulado y básico sobre el desarrollo de *Ascochyta* spp. en plantas de arveja variedad Vizcaya bajo condiciones de invernadero. **A.** Aislamiento AMn01. **B.** Aislamiento Amn03. Cp-: control sin Si y sin patógeno. Cp+: control con patógeno sin aplicación de Si. ASie: ASi edáfico. ASif: ASi foliar. BSie: BSi edáfico. BSif: BSi foliar. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos de acuerdo a la prueba de Tukey ($p \leq 0,05$). **37**
- Figura 1-6:** Efecto de la aplicación de Si acidulado y básico en el crecimiento de plantas de arveja variedad Vizcaya 15, 37 y 50 DDS bajo condiciones de invernadero. **A.** plantas inoculadas con el aislamiento AMn01. **B.** Plantas inoculadas con el aislamiento AMn03. Cp-: control sin Si y sin patógeno. Cp+: Control con patógeno sin aplicación de Si. ASie: ASi edáfico. ASif: ASi foliar. BSie: BSi edáfico. BSif: BSi foliar. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos de acuerdo a la prueba de Tukey ($p \leq 0,05$) **38**
- Figura 1-7:** Efecto de la aplicación de Si acidulado y básico sobre variables fisiológicas a los 0 y 10 DDI en plantas de arveja variedad Vizcaya inoculadas con dos aislamientos de *Ascochyta* spp. bajo condiciones de invernadero. **A.** Temperatura de la hoja (°C). **B.** Conductancia estomática (g) ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). **C.** Contenido relativo de clorofila (SPAD). **D.** Parámetro de fluorescencia NPQt (quenching no fotoquímico). Cp-: control sin Si y sin patógeno. Cp+: control con patógeno sin aplicación de Si. ASie: ASi edáfico. ASif: ASi

XII **Influencia del silicio en el desarrollo de enfermedades foliares y respuesta fisiológicas y agronómicas de arveja (*Pisum sativum*)**

foliar. BSie: BSi edáfico. BSif: BSi foliar. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos de acuerdo a la prueba de Tukey ($p \leq 0,05$) **40**

Figura 2-1: Síntomas de enfermedades y signos de patógenos foliares en plantas de arveja variedad Vizcaya. **A-B.** *Ascochyta* spp. **C.** Picnidios de *Ascochyta* spp. en tejido foliar. **D.** Picnidio de *Ascochyta* spp. en corte transversal de hoja (40x). **E.** Conidias de *Ascochyta* spp. (40x) **F.** Clamidosporas de *Ascochyta* spp. en medio PDA (40x). **G.** Síntomas ocasionados por *Peronospora viciae*. **H.** Detalle de la esporulación de *P. viciae* en hojas. **I.** Detalle de esporangioforos y esporangios de *P. viciae* en corte histológico (40x). **J.** Manchas blanquecinas polvosas por *Erysiphe pisi* en hojas. **K.** Detalle esporulación de *E. pisi*. **L.** Corte histológico de tejido de hoja afectada mostrando estructuras típicas de *E. pisi* (40x) **59**

Figura 2-2: **A.** Área foliar afectada (cm^2) por tizón por *ascochyta* en plantas de arveja variedad Vizcaya tratadas con silicio (0, 75, 50 y 25%) y diferentes frecuencias de aplicación de fungicidas (0, 25, 50, 75 y 100%). **B.** Eficacia de tratamientos bajo aplicación de silicio acidulado (ASi) y básico (BSi). Letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos de acuerdo con la prueba de Tukey ($p \leq 0,05$).. **64**

Figura 2-3: Concentración de elementos en savia y Si foliar en plantas de arveja tratadas con Si (0, 75, 50 y 25%) y diferentes frecuencias de aplicación de fungicidas (0, 25, 50, 75 y 100%). **A.** Nitrato (NO^{-3}). **B.** Calcio (Ca^{+2}). **C.** Potasio (K^{+}) y **D.** Silicio (Si^{+2}). Letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos de acuerdo a la prueba de Tukey ($p \leq 0,05$). NS, no significativo. **66**

Figura 2-4: Componentes de rendimiento en plantas de arveja variedad Vizcaya con aplicación de Si silicio (0, 75, 50 y 25%) y diferentes frecuencias de aplicación de fungicidas (0, 25, 50, 75 y 100%). **A.** Vainas por planta, peso fresco de 100 semillas (g). **B.** granos por vaina, longitud de vainas (cm) y rendimiento ($\text{t}\cdot\text{ha}^{-1}$). **C.** Vainas y granos de arveja con Si acidulado y básico bajo aplicación edáfica (s) y foliar (f) **67**

Lista de tablas

Pág.

Tabla 1-1: Crecimiento radial <i>in vitro</i> de colonias de <i>Ascochyta</i> spp. a los 21 DDI, área bajo la curva de crecimiento micelial (AUMGC) de los aislamientos AMn01, AMn02, AMn03 obtenidos a partir de hojas afectadas de arveja variedad Vizcaya, y eficacia de los tratamientos de Si acidulado (ASi) y básico (BSi) sobre <i>Ascochyta</i> spp.	36
Tabla 2-1: Tratamientos foliares y edáficos de dos fuentes de silicio [ácido (ASi) y básico (BSi)] en combinación con aplicación variable (100%, 75%, 50% y 25%) de fungicidas comerciales (F) con respecto al programa de manejo comercial del cultivo, las cuales fueron sustituidas por aplicaciones de silicio (Si).....	50
Tabla 2-2: Tratamientos foliares y edáficos de silicio ácido (ASi), en combinación con aplicación de fungicidas comerciales (F) en número de aplicación variable (75% y 50%) según el nivel de severidad de la enfermedad (\geq a 2). Aplicación al suelo (s); aplicación foliar (f).....	51
Tabla 2-3: Nombre químico de los ingredientes activos y nombre comercial de los fungicidas usados para la evaluación de la aplicación de silicio acidulado (ASi) y silicio básico (BSi) aplicado al suelo y foliar en diferentes frecuencias de aplicación (0, 25, 50, 75 y 100%).....	52
Tabla 2-4: Resumen del análisis de varianza del efecto de las fuentes de silicio (básico o acidulado), su forma de aplicación (edáfica o foliar) y la frecuencia de aplicación de fungicidas (0, 25, 75 y 100%) en el desarrollo de enfermedades foliares, variables fisiológicas y agronómicas de plantas de arveja.....	60
Tabla 2-5: Índice de severidad (DSI) de tizón por <i>ascochyta</i> y mildew veloso a los 104 DDS en el tercio bajo y medio de la planta de arveja variedad Vizcaya con aplicaciones de silicio edáfico y foliar (0, 75, 50 y 25%) y diferentes frecuencias de aplicación de fungicidas (0, 25, 50, 75 y 100 %).....	61
Tabla 2-6: Área bajo la curva de progreso de la enfermedad (AUDPC) de tizón por <i>ascochyta</i> y mildew veloso en el tercio bajo y medio de la planta de arveja variedad Vizcaya con aplicación de silicio (0, 75, 50 y 25%) y diferentes frecuencias de aplicación de fungicidas (0, 25, 50, 75 y 100%)	63
Tabla 2-7: Tasa relativa de crecimiento (TRC), conductancia estomática (gs), contenido relativo de clorofila (SPAD), parámetros fluorescentes (Phi2 y NPQt) de plantas de arveja a los 82 días después de la siembra bajo aplicaciones de silicio (0, 75, 50r y 25%) y diferentes frecuencias de aplicación de fungicidas (0, 25, 50, 75 and 100 %).....	65

XIV **Influencia del silicio en el desarrollo de enfermedades foliares y respuesta fisiológicas y agronómicas de arveja (*Pisum sativum*)**

Tabla 2-8: Desarrollo de tizón por ascochyta en plantas de arveja variedad Vizcaya bajo aplicaciones de Si edáfico y foliar (0, 75, 50 y 25%) y diferentes frecuencias de aplicación de fungicidas (0, 25, 50, 75 y 100 %).....**69**

Tabla 2-9: Efecto del silicio edáfico y foliar (75, 50 y 25%) y diferentes frecuencias de aplicación de fungicidas (0, 25, 50, 75 y 100 %) sobre variables fisiológicas y agronómicas del cultivo de arveja variedad Vizcaya.....**72**

Introducción general

A nivel global las leguminosas dentro de la familia Fabaceae, adquieren gran importancia por su alto valor nutritivo, lo que está asociado a beneficios en la salud humana (Khan et al., 2016; FAO, 2019; Ram et al., 2021). De otro lado, las leguminosas realizan el proceso de fijación biológica de nitrógeno, generado por la relación simbiótica entre plantas y bacterias presentes en los nódulos radiculares, donde el nitrógeno atmosférico es convertido en amoníaco (FAO, 2019). Por tanto, está reportado que las leguminosas tienen la capacidad de satisfacer hasta en un 90% sus propias necesidades de nitrógeno (Yuvaraj et al., 2020). Además, la presencia de leguminosas influye en la calidad del suelo, aumentando el contenido de materia orgánica, la porosidad, el reciclaje de nutrientes (Yuvaraj et al., 2020).

A nivel global las leguminosas más importantes por su alta demanda son el frijol (*Phaseolus vulgaris*), garbanzo (*Cicer arietinum*) y arveja (*Pisum sativum*) (FAO, 2019). La arveja ocupó el tercer lugar con una producción en seco de 14,6 millones de t·ha⁻¹ en el año 2020; en fresco para el mismo año la producción fue de 19,8 t·ha⁻¹, siendo Europa (30,7%), América (37,3%) y Asia (17,9%) los principales productores (FAOSTAT, 2021). Los centros de origen del cultivo de arveja son Asia central, Abisinia y la cuenca mediterránea (Ram et al., 2021). Se cultiva en países como China, India, Canadá, Estados Unidos, Francia, Reino Unido y Brasil, siendo Canadá el mayor productor de arveja seca (4 millones t·ha⁻¹), seguido de la Federación Rusa (2,4 millones t·ha⁻¹) y China (1,4 millones de t·ha⁻¹) (FAOSTAT, 2021).

La planta presenta un tallo primario y en ocasiones tallos secundarios que surgen a partir del nudo cotiledonar o nudos superiores, los cuales están determinados por las condiciones ambientales y características genéticas de los cultivares (Ligarreto y Ospina, 2009). Su óptimo desarrollo requiere temperaturas entre 13 y 20 °C, precipitaciones entre 150 y 380 mm de agua/ciclo (Galindo-Pacheco, 2020).

En Colombia, la arveja es considerada la segunda leguminosa más importante ya que contribuye a la seguridad alimentaria y la economía de pequeños agricultores (Torres-Martínez et al., 2020), contiene un alto valor nutritivo, lo que está asociado a beneficios en la salud humana por su contenido de proteínas, carbohidratos, azúcares solubles, fibra y minerales, bajo contenido de grasa y cero colesterol (Khan et al., 2016; FAO, 2019; Ram et al., 2021). Según Fenalce (2021), el área sembrada en el país en el 2020 fue de 16.332 ha con una producción de 75.692 t·ha⁻¹. Se cultiva en más de 11 departamentos para la producción en fresco, siendo Nariño, Boyacá y Cundinamarca los principales productores. El departamento de Nariño es el primer productor con 8.260 ha y una producción total de 41.878 t·ha⁻¹ (Fenalce, 2021). La diversidad de cultivares de arveja en Colombia es amplia, varios de los cuales han sido mejorados en características de rendimiento y calidad. Dentro de estos, la variedad Santa Isabel es la más cultivada por su alto rendimiento y características comerciales como grano y vaina grandes (Ligarreto y Ospina, 2009). Otras variedades de arveja como Alcalá, Horeb y Vizcaya son sembradas y aceptadas en el mercado. La variedad Vizcaya, de hábito de crecimiento indeterminado, con rendimientos de 8,6 t·ha⁻¹ son empleadas por su adaptación a altitudes de 2100 a 2750 msnm (Galindo-Pacheco, 2020).

El rendimiento del cultivo está limitado por factores bióticos y abióticos, y su impacto varía de acuerdo con el manejo del cultivo. Dentro de los factores bióticos, las principales enfermedades de arveja que limitan la producción y rendimiento del cultivo son *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi* (French, 2016), mildew polvoso (*Erysiphe pisi*) (French, 2016), mildew veloso por *Peronospora viciae* (French, 2016) y el complejo de enfermedad de la mancha negra o tizón por ascochyta causada por *Ascochyta pisi*, *Didymella pinodes* (*Mycosphaerella pinodes*) y *Phoma Pinodella* (Davidson et al., 2011; Dutt et al., 2020). Adicionalmente se ha reportado daños causados por *Pythium* spp. (Khan et al., 2016) y *Aphanomyces euteiches* f. sp. *pisi* (Khan et al., 2016), *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* (Khan et al., 2016), y *Phoma koolunga* (Davidson et al., 2011; Dutt et al., 2020) principalmente en Australia.

El manejo de enfermedades de arveja se centra en prácticas culturales, control biológico, resistencia genética y aplicación de fungicidas (Davidson y Kimber, 2007). Sin embargo, su dificultad radica en la falta de variedades resistentes, fungicidas efectivos y de bajo

costo, y prácticas agronómicas adecuadas (Barbetti et al., 2021), lo que causa incrementos en los costos de producción y disminución de rendimiento (Pacheco et al., 2010).

La aplicación de silicio (Si) en el control de enfermedades se considera un enfoque ecológico en la producción de cultivos (Kaushik y Saini, 2019). El Si es el segundo elemento más abundante en la naturaleza, sin embargo, no es considerado un elemento esencial para las plantas (Guntzer et al., 2012; Wang et al., 2017; Kaushik y Saini, 2019) dada la falta de evidencia que demuestre su papel directo en el metabolismo (Ma, 2004; Thakral et al., 2021). En los cultivos se suministran fuentes de Si sólido o líquido, aplicado de forma foliar o al suelo. Está reportado que, en condiciones de invernadero, cultivos hidropónicos y experimentos en campo, el Si interviene en el crecimiento y desarrollo de las plantas, aumentando la actividad fotosintética, la producción de biomasa, acumulación nutricional en la planta y aumento de la resistencia a factores de estrés biótico y abiótico (Ma, 2004; Debona et al., 2017; Basu y Kumar, 2021).

La acumulación de Si en las plantas reduce la severidad de enfermedades causadas por patógenos biótrofos, hemibiótrofos y necrótrofos (Debona et al., 2017; Feng et al., 2021; Song et al., 2021). Efecto relacionado con la formación de barreras físicas que inhiben la penetración y colonización de patógenos (Wang et al., 2017; Bakhat et al., 2018; Basu y Kumar, 2021). De otro lado, se generan respuestas mediadas por las vías de señalización para la producción de hormonas como el ácido salicílico (SA), ácido jasmónico (JA) y etileno (ET) y la activación de genes relacionados con la defensa de las plantas (Wang et al., 2017; Ahammed y Yang, 2021; Thakral et al., 2021).

En el control de enfermedades foliares se ha reportado el uso del Si en plantas mono y dicotiledóneas (Song et al., 2021). En monocotiledóneas, teniendo en cuenta que son consideradas acumuladoras de Si (Ma y Yamaji, 2006; Yan et al., 2018), el efecto del Si ha sido ampliamente estudiado. Por ejemplo, Dallagnol et al. (2009), Rezende et al. (2009), Santos et al. (2011) y Van et al. (2015) observaron un menor número de lesiones de la mancha café causada por *Bipolaris oryzae* en arroz, con aplicación de Si foliar o al suelo. La incorporación de Si al suelo redujo la severidad del tizón foliar causado por *Pyricularia oryzae* en arroz (Santos et al., 2011; Abed-Ashtiani et al., 2012; Domiciano et al., 2015; Gabr et al., 2017; Ng et al., 2020; 2021), en trigo (Silva et al., 2015), y en raigrás perenne (Nanayakkara et al., 2009). En sorgo, redujo el valor del área bajo la curva de progreso de la enfermedad (AUDPC) de antracnosis causado por *Colletotrichum sublineolum* (Resende

et al., 2012). En maíz, la aplicación de Si incrementó los compuestos fenólicos, redujo la presencia de hifas y tejido foliar afectado por *Stenocarpella macrospora* (mancha foliar en maíz) (Hawerth et al., 2018).

En dicotiledóneas, la aplicación edáfica o foliar de Si ha sido evaluada en la inhibición del desarrollo de patógenos como *Podosphaera xanthii*, agente causal de mildew polvoso en melón (Dallagnol et al., 2015), *Bremia lactucae* (mildew veloso) en lechuga (Weerahewa y Somapala, 2016), *Cercospora coffeicola* en café (Lopes et al., 2013), *Pestalotia longisetula* en fresa (Carré-Missio et al., 2010), *Botrytis fabae* en haba (Hasan et al., 2020) y *M. pinodes* en arveja (Dann y Muir, 2002). A nivel *in vitro* el Si se ha reportado en la inhibición de patógenos foliares y de suelo como *Monilinia fructicola* (Pavanello et al., 2016), *Phomopsis obscurans* (Abd-El-Kareem et al., 2019), *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum* (Zhou et al., 2018), *F. oxysporum* f. sp. *fragariae*, *Pestalotiopsis clavispora*, *Rhizoctonia solani* (Shen et al., 2010; Abd-El-Kareem et al., 2019) y *Macrophomina phaseolina* (El-Abdean et al., 2020).

Sobre la fisiología y rendimiento de la planta, también se ha observado el efecto positivo del Si, principalmente en plantas bajo condiciones de estrés abiótico y biótico (Dallagnol et al., 2020). En leguminosas como arveja y haba bajo estrés por salinidad, la aplicación de Si foliar favoreció el contenido de clorofila *a* y *b*, carotenoides y la conductancia estomática (gs) (Elrys y Merwad, 2017; Hafez et al., 2021), y componentes de rendimiento como número de vainas por planta, la longitud de las vainas, número de semillas por vaina, número de semillas por planta, peso de las semillas y el rendimiento total de plantas (Arafa et al., 2021; Hafez et al., 2021). Cabe destacar que, aunque se cuenta con una amplia información sobre el efecto del Si en diversos cultivos, específicamente la información del efecto del Si sobre el desarrollo de enfermedades en arveja es limitada.

Por lo tanto, este estudio se enfocó en evaluar si la utilización de Si acidulado o básico como una estrategia biorracional ayuda a disminuir los niveles de enfermedades foliares sin afectar el desempeño fisiológico de arveja. En este sentido, en el primer capítulo de esta investigación se abordó la evaluación del uso de dos fuentes de Si (acidulado o básico) sobre el crecimiento *in vitro* y severidad del tizón por *Ascochyta* (*Ascochyta* spp.) en condiciones controladas. En el segundo capítulo, se presentan los resultados de la evaluación comparativa del uso de fuentes y formas de aplicación de Si como

complemento al control químico de enfermedades foliares y su influencia sobre la fisiología y rendimiento del cultivo en condiciones de campo. Finalmente, se presenta la discusión general, conclusiones generales (mediante esquema) y recomendaciones.

1. Capítulo I. Efecto del silicio sobre el crecimiento *in vitro* de *Ascochyta* spp. y el desarrollo del tizón por *ascochyta* en plantas de arveja variedad Vizcaya bajo condiciones de invernadero

1.1 Resumen

La principal estrategia de manejo del tizón por *ascochyta* considera la rotación del cultivo, el uso de variedades resistentes y la aplicación de fungicidas de síntesis química, siendo esta última la más usada. Dentro de las alternativas de manejo se encuentran los bioestimulantes como el silicio (Si), los cuales favorecen el crecimiento y desarrollo de las plantas y mejoran la respuesta a factores de estrés biótico y abiótico. En este capítulo se evaluó el efecto de dos fuentes de silicio (acidulado o básico) sobre el crecimiento de *Ascochyta* spp. en condiciones *in vitro* y sobre el desarrollo de la enfermedad en plantas de arveja variedad Vizcaya en condiciones de invernadero bajo aplicación edáfica o foliar. El crecimiento micelial de *Ascochyta* spp. en tratamientos con Si acidulado o básico fue menor al control. En condiciones de invernadero, con la aplicación de Si, el área bajo la curva de progreso de la enfermedad (AUDPC) fue menor en comparación con el control negativo, siendo la aplicación de Si básico foliar la que presentó diferencias significativas. Así mismo, con respecto a variables fisiológicas, la conductancia estomática (gs) fue mayor en los tratamientos con Si en comparación al control inoculado. Los resultados obtenidos sugieren que la aplicación de Si es una alternativa potencial para el manejo de *Ascochyta* spp. en plantas de arveja variedad Vizcaya. Sin embargo, los resultados

obtenidos no mostraron diferencia clara entre los dos tipos de Si, por lo que la evaluación de su efectividad en campo es importante.

1.2 Introducción

El tizón por ascochyta o mancha negra es la enfermedad necrotrófica foliar más importante en el cultivo de arveja (*Pisum sativum*), ocasionando pérdidas a nivel mundial hasta del 75% (Barbetti et al., 2021). Es causada por un complejo que involucra tres especies dentro del género *Ascochyta*, las cuales pueden coinfectar una misma planta (Bretag et al., 2006). Dentro de estos, *Didymella pisi* (anamorfo: *Ascochyta pisi*) ocasiona principalmente manchas en hojas, tallo y vainas, *Mycosphaerella pinodes* (anamorfo: *Ascochyta pinodes*) asociado a manchas en hojas, tallos, vainas y pudrición del pie y *Didymella pinodella* (anamorfo: *Phoma pinodella*) generando manchas foliares, lesiones en el tallo y pudrición del pie (Bretag et al., 2006; Ahmed et al., 2015; Barbetti et al., 2021). *Phoma koolunga* también ha sido asociado a este complejo especialmente por su incidencia en Australia (Barbetti et al., 2021). La identificación de estas especies de hongos con base en parámetros morfológicos es difícil, dada las similitudes entre ellas. Sin embargo, algunas de las características usadas para distinguir entre estas especies son la coloración de las colonias, la presencia de pseudotecios y picnidios en *M. pinodes*, tamaño de las conidias (en *P. pinodella* son más pequeñas que en *A. pisi* y *M. pinodes*), la producción de esporas en diferentes medios de cultivo selectivos y la producción de clamidosporas (abundante en *P. pinodella* y ausentes en *A. pisi*) (Bretag et al., 2006; Davidson, 2012).

M. pinodes se encuentra reportada en 13 géneros de plantas y más de 30 especies incluidas principalmente leguminosas como arveja, arveja dulce (*Lathyrus odoratus*) y frijol común (*Phaseolus vulgaris*) (Skoglund et al., 2011). Esta especie ha sido considerada como la más destructiva del complejo de hongos que causan la enfermedad conocida como mancha negra o tizón por ascochyta en arveja. Por lo anterior, este hongo es considerado el patógeno principal del cultivo en países como Canadá, Australia y Francia (Barbetti et al., 2021). Afecta todos los órganos de la planta, generando necrosis extendida especialmente en hojas y órganos basales de la planta. Estos daños provocan reducción en el rendimiento ya que el número y tamaño de las semillas por planta se reduce (Fernández-Aparicio et al., 2010). Ahmed et al. (2015) reportaron pérdidas de rendimiento del cultivo entre 10% y 50%.

Las principales fuentes de inóculo de *M. pinodes* son las ascosporas producidas en pseudotecios y picnidiosporas en picnidios en su estado asexual. Genera pequeñas manchas necróticas sin margen definida, que en condiciones de alta humedad aumentan de tamaño, tomando coloraciones más oscuras y bordes definidos, ocasionando la muerte total de las hojas, las cuales se mantienen adheridas a la planta (Bretag et al., 2006; Ahmed et al., 2015). En el tallo, las lesiones son alargadas, aumentan de forma progresiva a lo largo de este y pueden coalescer necrosando todo el tallo; las flores infectadas son más pequeñas, se caen fácilmente, y las semillas pueden no presentar síntomas o tomar coloración marrón oscuro (Bretag et al., 2006; Skoglund et al., 2011). *M. pinodes* sobrevive en residuos de cosecha, en forma de micelio, esclerocios o clamidosporas (Bretag et al., 2006; Davidson et al., 2011). Cuando se utiliza semilla infectada, las plántulas presentan pudriciones de pie, que va desde el punto de unión de la semilla hasta el tallo y la raíz principal (Bretag et al., 2006; Skoglund et al., 2011).

A. pisi es considerado un patógeno cosmopolita, reportado en más de 20 géneros de plantas y más de 50 especies, incluidas leguminosas como arveja, arveja dulce, frijol común, soya (*Glycine max*), lenteja (*Lens culinaris*), alfalfa (*Medicago sativa*) y haba (*Vicia faba*) (Skoglund et al., 2011). Afecta principalmente hojas, tallos y vainas, generando manchas ligeramente hundidas, color marrón oscuro con borde definido, circulares en hojas y vainas y alargadas en tallos; generalmente con presencia de picnidios esféricos o globosos color marrón. A diferencia de *M. pinodes* y *P. pinodella*, *A. pisi* rara vez ataca la base de la planta y por lo general no causa pudriciones (Bretag et al., 2006; Ahmed et al., 2015). La principal vía de diseminación son las semillas infectadas y los picnidios producidos sobre los órganos afectados de la planta (Bretag et al., 2006). Dentro de los picnidios se producen las picnidiosporas, las cuales son septadas con una ligera constricción en el tabique, hialinas, ligeramente curvas y con extremos redondeados (Sivachandra-Kumar, 2016).

P. pinodella al igual que *A. pisi* es un patógeno cosmopolita, asociado a 11 géneros de plantas y 18 especies incluidas arveja, alfalfa, soya, lenteja, trébol rojo (*Trifolium pretense*), palma (*Trachycarpus fortunei*) y perejil (*Petroselinum crispum*) (Skoglund et al., 2011). Genera síntomas similares a *M. pinodes*, sin embargo, la pudrición del pie tiende a ser más severa que los daños presentados en hojas y tallos (Ahmed et al., 2015). Aunque también

forma picnidios, son menos abundantes que los producidos por *A. pisi* (Bretag et al., 2006). En la fase sexual, produce pseudotecios globosos y ascosporas hialinas, bicelulares con extremos redondeados (Sivachandra-Kumar, 2016). La principal fuente de diseminación son los residuos de plantas afectadas, donde el patógeno sobrevive ya sea en forma de micelio, esclerocios o clamidosporas como *M. pinodes* (Bretag et al., 2006; Davidson et al., 2011).

El manejo del tizón por *ascochyta* busca minimizar el riesgo de infección a través de la rotación de cultivos, tratamiento de semilla con fungicidas y siembra de variedades resistentes (French, 2016). Una vez el patógeno se ha establecido en el cultivo, el control se realiza principalmente con fungicidas (Galindo-Pacheco, 2020). En el manejo de enfermedades en leguminosas se han planteado alternativas al uso de fungicidas como son la implementación de prácticas culturales, el uso de agentes de control biológico (Singh et al., 2020) y la aplicación de bioestimulantes (Rouphael y Colla, 2020), sin embargo, en *Ascochyta* – arveja, la información es limitada, principalmente en Colombia.

Autores como du Jardin, (2015), Xu y Geelen, (2018) y Rouphael y Colla, (2020) definen los bioestimulantes como sustancias o microorganismos que modifican los procesos fisiológicos de la planta sin tener la función de nutrientes, mejoradores de suelo o acción pesticida. Los bioestimulantes favorecen el crecimiento y desarrollo de las plantas, la productividad y el uso eficiente de nutrientes, además de mejorar la respuesta a factores de estrés bióticos y abióticos (Xu y Geelen, 2018; Pylak et al., 2019; Rouphael y Colla, 2020). Dentro de los bioestimulantes más estudiados se encuentran las sustancias húmicas y fúlvicas, extractos de algas marinas, proteínas hidrolizadas, quitosan y silicio (du Jardin, 2015; Albrecht, 2019; Dong et al., 2020).

El silicio (Si) actualmente se considera uno de los elementos más importantes en la producción agrícola, por su uso para mitigar el efecto de estrés biótico y abiótico (Hafez et al., 2021). A pesar de ser el segundo elemento más abundante en la naturaleza, las plantas no lo pueden tomar dada la falta de disponibilidad en forma de ácido monosilícico (H_4SiO_4) (Thakral et al., 2021). Las plantas toman el Si del suelo en concentraciones que van de 0,005% a 11,3%, y su acumulación depende de la absorción y distribución a través de los tejidos de la planta. Inicialmente las plantas se clasificaron en poco acumuladoras, intermedias y altamente acumuladoras según el contenido de Si presente en el tejido foliar (Zellner et al., 2021). Las plantas contienen entre 0,1 a 10% de Si en la materia seca,

porcentaje que varía según la especie cultivada (Artyszak et al., 2021). Por ejemplo, los pastos de humedales acumulan entre 4,6% y 6,9%, los pastos de suelo seco entre 0,5% a 1,4% y las dicotiledóneas generalmente menos del 0,23% (Zellner et al., 2021). El transporte del Si se realiza de forma activa y pasiva; el transporte activo está dado desde las raíces hasta los brotes de la planta mediado por proteínas transportadoras, mientras que el transporte pasivo está impulsado por la corriente transpiratoria (Ahammed y Yang, 2021).

A nivel *in vitro*, el efecto del Si se ha reportado en la inhibición del crecimiento micelial, la germinación de conidias y el crecimiento del tubo germinativo de hongos fitopatógenos. Dentro de estos, se reportan *Monilinia fructicola* (pudrición de frutos de durazno) (Pavanello et al., 2016), *Alternaria solani* (tizón temprano en tomate y papa), *Colletotrichum gloeosporioides* (antracnosis en frutales) (Bekker et al., 2006; 2009) y *Phomopsis obscurans* (tizón foliar en fresa) (Abd-El-Kareem et al., 2019). El efecto del Si *in vitro*, también se ha evaluado sobre *Fusarium* spp., patógeno relacionado con la malformación y crecimiento irregular de hojas e inflorescencias en mango (Yadav y Bains, 2021), *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum* en pepino (Zhou et al., 2018), *F. oxysporum* f. sp. *fragariae*, *Pestalotiopsis clavispora* y *Rhizoctonia solani* en fresa (Shen et al., 2010; Abd-El-Kareem et al., 2019), *Macrophomina phaseolina* en sésamo (Siddiq et al., 2019) y soya (El-Abdean et al., 2020).

En condiciones de invernadero el efecto del Si aplicado al suelo ha sido reportado sobre el desarrollo de *M. pinodes* en plantas de arveja (Dann y Muir, 2002), *M. phaseolina* en soya (El-Abdean et al., 2020) y *Botrytis fabae* en haba (Hasan et al., 2020). Con respecto al efecto sobre rasgos de crecimiento vegetal, existen diversos reportes, dentro de estos, Olle (2019) menciona que la aplicación de Si favoreció la altura de plantas de lechuga (26%) en comparación con plantas sin Si. De otro lado, en plantas de soya la aplicación de Si favoreció parámetros fisiológicos como la tasa fotosintética, la conductancia estomática (gs) y el contenido de clorofila (Hussain et al., 2021), al igual que en plantas de haba sometidas a estrés abiótico (Hellal et al., 2012).

Teniendo en cuenta los reportes del efecto del Si sobre algunas enfermedades causadas por patógenos foliares y el efecto positivo en diferentes especies de plantas cultivadas, y dada la información limitada sobre los efectos en el desarrollo del tizón foliar en arveja, en

el presente estudio se evaluó el efecto del Si básico o acidulado sobre el desarrollo de *Ascochyta* spp. en condiciones *in vitro* y sobre la enfermedad en plantas de arveja variedad Vizcaya, en condiciones de invernadero.

1.3 Materiales y métodos

1.3.1 Muestras de material afectado y aislamiento del patógeno

A partir de un cultivo de arveja variedad Vizcaya establecido en el Centro Agropecuario Marengo (CAM) (4°41'48,3" N, 74°12'42,9" W) ubicado en Mosquera (Cundinamarca), durante el segundo semestre del 2019 se realizaron tres muestreos en los estadios fenológicos 55 (primeros botones florales individuales, visibles fuera de las hojas pero cerrados todavía), 65 (plena floración: 50% de flores abiertas) y 75 (50% de las vainas alcanzan la longitud típica) según la escala propuesta por Feller et al. (1995). Los muestreos se realizaron tomando sitios al azar dentro del cultivo (Sánchez y Sandoval, 2007). Se tomaron hojas con síntomas característicos del tizón por *ascochyta*, correspondientes a manchas necróticas con borde definido y presencia de anillos concéntricos, según lo reportado por Ahmed et al. (2015); Liu et al. (2016) y Sivachandra-Kumar y Banniza, (2017) para su posterior inspección en el laboratorio. Las muestras se guardaron en papel kraft y bolsas plásticas para su transporte y almacenamiento a 4 °C, hasta su procesamiento (ICA, 2019).

La descripción de los síntomas y el procesamiento de las muestras se llevaron a cabo en el laboratorio de Sanidad Vegetal de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Colombia sede Bogotá. La observación de la presencia de signos del patógeno en el tejido foliar se realizó bajo estereoscopio (Olympus® SZ61, Olympus, Japan) y microscopio (Olympus® CX31, Olympus, Japan) a partir de cortes histológicos. El aislamiento del patógeno se realizó a partir de las muestras inspeccionadas para la descripción de síntomas. Se tomaron explantes, a partir de manchas necróticas circulares con borde definido, anillos concéntricos y centros color marrón oscuro (síntoma 1) y de puntos necróticos irregulares, color marrón, presentes entre las nervaduras de las hojas (síntoma 2). Se realizó la desinfección de los explantes con etanol al 70% por 30 segundos, hipoclorito de sodio al 2% por 30 segundos y tres lavados de 1 minuto con agua destilada estéril (Ortiz et al., 2011). Los explantes se secaron en papel absorbente estéril en la cámara de flujo laminar, se sembraron en cajas de Petri con medio de cultivo Papa-

dextrosa-agar (PDA) (Oxoid®, Thermo Fisher Scientific, US), se incubaron por siete días a 21 °C y la frecuencia de aislamiento se registró siete días después de la siembra. Las colonias más representativas se transfirieron a nuevas cajas de Petri con PDA. Posteriormente, se realizó la siembra de las colonias en medio de cultivo Agar Agua (AA) (Oxoid®, Thermo Fisher Scientific, US), para su purificación siguiendo la técnica de transferencia de punta de hifas en medio de cultivo PDA (Cañedo y Ames, 2004).

1.3.2 Identificación morfológica y molecular de *Ascochyta* spp. y confirmación de la patogenicidad de los aislamientos

A partir de los cultivos puros obtenidos en medio PDA se realizó la identificación macro y microscópica de las colonias según lo descrito por Tadjia et al. (2009) y Liu et al. (2016) para *Ascochyta* spp. Los aislamientos obtenidos se agruparon en morfotipos dependiendo del color, aspecto y patrón de crecimiento de las colonias.

La identificación molecular de los aislamientos obtenidos se realizó en el Centro Nacional de Secuenciación Genómica, de la Universidad de Antioquia (Medellín, Colombia). El ADN genómico total se extrajo de micelio fresco de colonias de 7-14 días, utilizando el kit de purificación de ADN Wizard® (Promega, Madison, US), siguiendo los protocolos del fabricante. La identificación a nivel de género y especie se realizó por medio de la amplificación por PCR (Polymerase Chain Reaction) convencional de los marcadores: (i) región intergénica ribosomal *Internal Transcriber Spacer* (ITS), utilizando los oligonucleótidos ITS1: 5' TCCGTAGGTGAACCTGCGG 3' e ITS4: 5' TCCTCCGCTTATTGATATGC 3'; (ii) RPB2, amplificando los oligonucleótidos RPB2-6F: 5' TGGGGYATGGTNTGYCCYGC 3' e RPB2-71R: 5' CCCATRGCYTYTTMCCCATDGC 3'; (iii) BTUB con los oligonucleótidos Bt2a: 5' GGTAACCAAATCGGTGCTGCTTTC 3' y Bt2b: 5' ACCCTCAGTGTAGTGACCCTTGCC 3', y (iv) 28S con LR5: 5' TCCTGAGGGAACTTCG 3' y LR0R: 5' ACCCGCTGAACTTAAGC 3'. Los productos de PCR se sometieron a una reacción de secuenciamiento capilar en ambas cadenas y se obtuvo la secuencia consenso. Para el análisis filogenético se utilizó el algoritmo CLASSIFIER y la base de datos del Ribosomal Database Project. El árbol filogenético se construyó por medio de la metodología de *Maximum likelihood* que incluye 1000 réplicas de "bootstrap" usando el modelo de sustitución TIM2e+R2.

Con el fin de verificar la patogenicidad en plantas de arveja de los tres morfotipos obtenidos, y teniendo en cuenta que bajo condiciones *in vitro* no se generaron conidias ni picnidios, se llevaron a cabo las pruebas de patogenicidad en el laboratorio de Sanidad Vegetal de la Universidad Nacional de Colombia sede Bogotá. Para esto se usó semilla seleccionada de arveja variedad Vizcaya previamente hidratada en agua destilada estéril por 12 horas. Posteriormente, se sembraron en suelo autoclavado a tres cm de profundidad en bolsas plásticas de 14 cm de alto x 7 cm de ancho (Galindo-Pacheco, 2020), y fueron regadas manteniendo la humedad del suelo a capacidad de campo. Como tratamientos se evaluaron los morfotipos de *Ascochyta* spp. obtenidos y como control se usaron plantas sin inocular. En total se emplearon cinco plantas y 15 sitios de inoculación por tratamiento (tres sitios de inoculación por planta), y la inoculación se realizó 35 días después de la siembra, cuando las plantas alcanzaron entre cinco a siete hojas extendidas (Islam et al., 2021).

A partir de las colonias puras, se tomaron cilindros de PDA de 5 mm de diámetro del margen de crecimiento activo de la colonia (Liu et al., 2016; Bhunjun et al., 2021; Islam et al., 2021). Cada cilindro fue colocado directamente sobre hojas del tercio medio de la planta (un cilindro por hoja), de tal manera que el patógeno quedara en contacto directo con el tejido vegetal. Las plantas control se inocularon con PDA sin presencia del patógeno (Bhunjun et al., 2021). Posterior a la inoculación, las plantas se cubrieron con bolsas plásticas y se sellaron para mantener la humedad y facilitar la infección del patógeno. Las bolsas y cilindros de agar se retiraron tres días después de la inoculación (DDI), y se evaluó la presencia y desarrollo de los síntomas en cada sitio de inoculación. Ocho DDI o cuando las hojas inoculadas entraron en proceso de senescencia por el avance de la lesión, las hojas se desprendieron y se evaluó bajo estereoscopio, y en cortes histológicos al microscopio la presencia de picnidios. Las hojas sin evidencia de formación de picnidios se mantuvieron bajo condición de cámara húmeda por ocho días para su posterior inspección.

1.3.3 Efecto del silicio en el crecimiento micelial de *Ascochyta* spp. bajo condiciones *in vitro*

Se evaluó el efecto de dos fuentes de silicio (Si), cada una con diferente pH en su formulación sobre el crecimiento de la colonia de *Ascochyta* spp. en medio de cultivo PDA. Para esto, las fuentes de Si acidulado [ASi - producto comercial Misil-K (pH 5,2 a una

concentración de 240 g Si·L⁻¹) (Bioest S.A.S., Colombia) equivalente a la dosis comercial del producto (1,7 L·ha⁻¹)] o Si básico [BSi - producto comercial Tricho-sil enmienda (pH 11,2 a una concentración de 136 g Si·L⁻¹) (Agroser S.A., Colombia) a una dosis comercial equivalente de 3,0 L·ha⁻¹) se incorporaron al medio PDA, adaptando la metodología descrita por Nisa et al. (2011).

A partir de colonias puras de *Ascochyta* spp. en medio PDA de siete días, obtenidas previamente, se tomaron cilindros de agar de 5 mm de diámetro y se transfirieron al centro de cajas de Petri con medio PDA suplementado con ASi o BSi (Liu et al., 2016; Yadav and Bains, 2021). Las cajas se incubaron a 21 °C por 21 días, y el crecimiento micelial en mm se midió dos veces por semana a partir de los tres días después de la siembra (DDS), con un calibrador digital. En total se evaluaron nueve tratamientos correspondientes a tres aislamientos del patógeno diferenciados por color y patrón de crecimiento, dos fuentes de Si (ASi, BSi) y como controles se usaron cajas con medio PDA sin presencia de Si. Se mantuvieron cinco repeticiones (cajas de Petri) por cada tratamiento y 45 unidades experimentales en total y el experimento se repitió dos veces en el tiempo. Con los resultados obtenidos, para cada tratamiento se calculó el área bajo la curva del crecimiento micelial (AUMGC) según la fórmula descrita por (Campbell y Madden, 1990). La eficacia de los tratamientos se expresó como el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial (ICM), siguiendo la fórmula descrita por Siddiq et al. (2019), a los 21 DDI como se presenta en la ecuación 1.

$$\text{Ec. 1} \quad \text{Tasa de inhibición (\%)} = \frac{C-T}{C} \times 100$$

Donde, *C* es el crecimiento radial del patógeno en el tratamiento control y *T* corresponde al crecimiento radial del patógeno en los tratamientos con Si.

El análisis estadístico se realizó en el software Statistix v 9,0 (Analytical Software, Tallahassee, FL, USA), las gráficas se desarrollaron en SigmaPlot 12,0 (Systat Software, San Jose, CA, USA). Cuando el análisis de varianza (ANOVA) mostró diferencias significativas ($p \leq 0,05$) se aplicó la prueba de Tukey para comparación de medias.

1.3.4 Efecto del silicio sobre el tizón por *ascochyta* en condiciones de invernadero

Material vegetal y condiciones generales del experimento. Semilla seleccionada de arveja variedad Vizcaya previamente hidratadas en agua destilada estéril por 12 horas (Lutts et al., 2016), se sembraron a tres cm de profundidad en bolsas plásticas con 0,5 Kg de suelo previamente autoclavado (Galindo-Pacheco, 2020). El experimento se llevó a cabo en los invernaderos de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Colombia (4°35'56" y 74°04'51") sede Bogotá. Las condiciones generales del experimento fueron temperatura día/noche de 25/20 °C, humedad relativa de 60 a 80% y fotoperiodo natural de 12 h. Ocho días después de la siembra (DDS) las plantas se fertilizaron con fertilizante líquido Nutriponic® (Walco SA, Colombia) a una dosis de 5 mL·L⁻¹ de agua. El riego se realizó tres veces por semana, suministrando 50 mL de agua por planta manteniendo la humedad del suelo a capacidad de campo.

Aplicación de tratamientos. Teniendo en cuenta que se buscó evaluar el efecto del Si sobre el desarrollo del tizón por *ascochyta*, la aplicación de las dos fuentes de Si (ASi o BSi) de forma foliar (atomizador) o al suelo (atomizador sin boquilla) a dosis comerciales de 1,7 mL·L⁻¹ (ASi) y 3,0 mL·L⁻¹ (BSi) se realizó 15 DDS, suministrando un volumen de agua de 42 ml por tratamiento (8 ml/planta) en los dos casos. Como control se consideraron plantas libres de alguna fuente de Si comercial. Se realizaron tres aplicaciones de Si, manteniendo intervalos de ocho días entre cada aplicación. Teniendo en cuenta los resultados de la fase *in vitro* como similitud morfológica y tendencia similar de crecimiento micelial de los aislamientos AMn01 y AMn02, en esta fase del trabajo se usaron los aislamientos AMn01 y AMn03 de *Ascochyta* spp., para un total de 12 tratamientos evaluados. Por cada aislamiento del patógeno se probaron seis tratamientos, los cuales correspondieron a: (i) aplicación de ASi foliar + patógeno (ASif+), (ii) aplicación de ASi edáfico + patógeno (ASie+), (iii) aplicación de BSi foliar + patógeno (BSif+), (iv) aplicación de BSi edáfico + patógeno (BSie+), y como control negativo (v) plantas sin aplicación de Si + patógeno (Cp+) y como control absoluto (vi) plantas sin Si y sin patógeno (Cp-).

Inoculación de *Ascochyta* spp. Ocho días después de la última aplicación de Si (35 DDS) se realizó la inoculación de las plantas. A partir de colonias puras en medio PDA de los aislamientos AMn01 y AMn03, los cuales en el bioensayo *in vitro* presentaron un crecimiento significativamente menor en el tratamiento con Si (Asi o BSi) en comparación

con el control no tratado, se tomaron cilindros de agar de 5 mm de diámetro de crecimiento activo del patógeno y se pusieron en contacto directo con las hojas (Liu et al., 2016; Bhunjun et al., 2021; Islam et al., 2021); las plantas control se inocularon con cilindros de agar sin el patógeno. Para la inoculación se tomaron 25 sitios en hojas desplegadas por tratamiento del tercio medio de la planta, seleccionando cinco hojas por cada planta. Posterior a la inoculación, las plantas se cubrieron con bolsas plásticas y se sellaron para mantener la humedad. Las bolsas plásticas y los cilindros de agar se retiraron tres DDI. Después de la inoculación, las plantas se mantuvieron bajo polisombra, evitando la radiación solar directa con el fin de mantener una temperatura estable y evitar altas temperaturas.

Desarrollo del tizón por ascochyta en plantas de arveja. El desarrollo de la enfermedad se evaluó cada dos días a partir de los 3 DDI por un periodo de 10 días. En cada evaluación se midió el avance del área foliar afectada por tratamiento. Este registro se realizó en cada sitio de inoculación mediante la toma de imágenes RGB que posteriormente se analizaron en el programa de procesamiento de imágenes Java (Image J; National Institute of Mental Health, Bethesda, MD, USA), siguiendo el protocolo descrito por Pride et al. (2020) donde el producto final es el valor del área foliar afectada.

Parámetros de crecimiento de las plantas de arveja. La altura de las plantas (cm) se registró manualmente con cinta métrica, tomando la lectura desde la base hasta el ápice (Han et al., 2018). Las mediciones se registraron semanalmente desde la primera aplicación (15 DDS) de tratamientos con Si hasta el final del experimento (50 DDS).

Variables fisiológicas. Como variables de respuesta fisiológica de plantas de arveja a los diferentes tratamientos se evaluó la temperatura de la hoja (°C), la conductancia estomática (gs), el contenido relativo de clorofila y parámetros de fluorescencia de la clorofila como el rendimiento cuántico del fotosistema II (Φ_2) y el quenching no fotoquímico (NPQt). La gs se estimó con un porómetro portátil (SC-1, METER Group Inc., US) a partir de una hoja completamente extendida en la parte media del dosel (Chávez-Arias et al., 2020). El contenido relativo de clorofila se determinó con un clorofilómetro (AtLeaf, FT Green LLC Wilmington, US) en las mismas hojas donde se determinó la gs (Castro-Duque et al., 2020). La temperatura de la hoja, el Φ_2 y el NPQt se midieron con un fluorímetro de campo MultispeQ (Photosynq, Michigan, US) (Fernández-Calleja et al.,

2020). Las anteriores mediciones se realizaron entre las 9 y 11 am, antes de la inoculación (34 DDS) y después de la inoculación de las plantas (50 DDS).

Diseño experimental y análisis de datos. Se implementó un diseño completamente al azar con una planta como unidad experimental y donde cada tratamiento constó de cinco repeticiones. Cuando el análisis de varianza (ANOVA) mostró diferencias significativas ($p \leq 0,05$) se realizó la prueba de Tukey para comparación de medias. Los datos fueron analizados en el software Statistix v 9,0 (Analytical Software, Tallahassee, FL, USA) y las gráficas se realizaron en SigmaPlot 12,0 (Systat Software, San Jose, CA, USA). El experimento se repitió dos veces en el tiempo.

1.4 Resultados

1.4.1 Síntomas y signos asociados al tizón por *ascochyta* en plantas de arveja variedad Vizcaya

La sintomatología presente en las plantas de arveja variedad Vizcaya correspondió a manchas necróticas color marrón, circulares, con borde definido, anillos concéntricos y en ocasiones presencia de picnidios sobre la superficie del tejido vegetal (Figura 1-1A-B). Adicionalmente, se observaron manchas necróticas color marrón, irregulares, presentes entre las nervaduras de las hojas, sin anillos concéntricos ni presencia de picnidios (Figura 1-1C). Las muestras recolectadas en diferentes estadios de la planta permitieron asociar a *Ascochyta* spp. a la presencia de manchas necróticas durante todo el ciclo del cultivo, afectando el tejido foliar y las vainas. En cortes histológicos de hojas se observó la presencia de estructuras reproductivas del patógeno como picnidios (Figura 1-1D) y conidias características de *Ascochyta* spp. correspondientes a conidias, hialinas, ligeramente curvas con extremos circulares (Figura 1-1E).

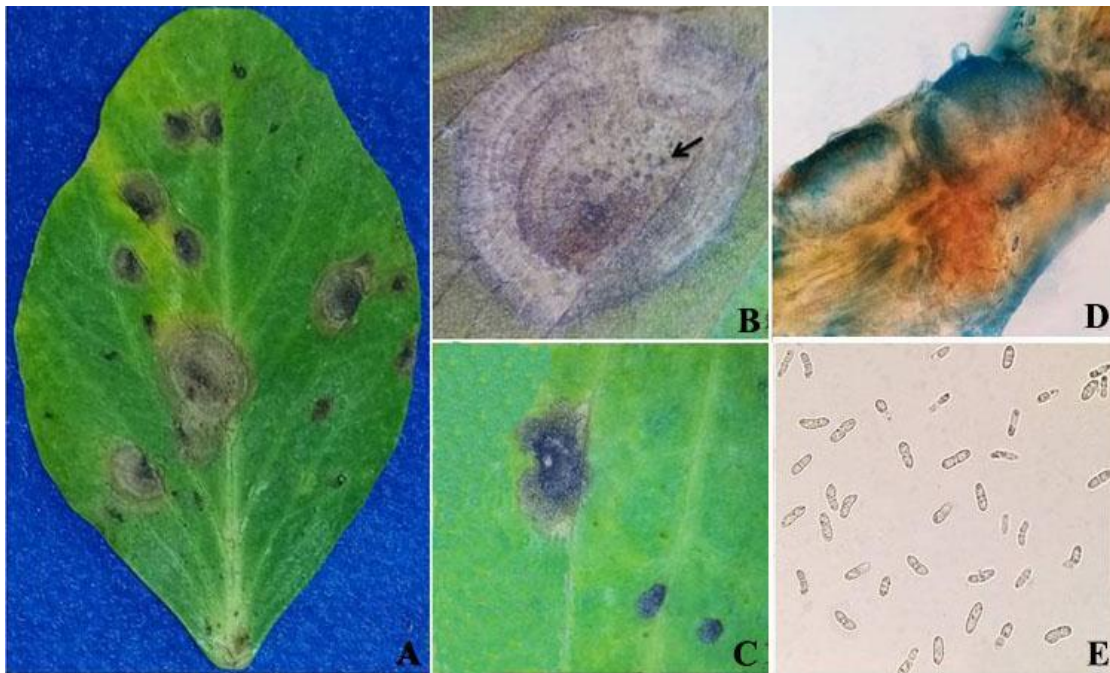


Figura 1-1. Sintomatología en tejido foliar de arveja variedad Vizcaya y estructuras reproductivas de *Ascochyta* spp. **A.** Manchas necróticas con borde definido y anillos concéntricos en hojas (sintomatología 1). **B.** Picnidios sobre lesiones necróticas. **C.** Manchas necróticas irregulares, sin anillos concéntricos, presentes entre las nervaduras de las hojas (sintomatología 2). **D.** Identificación de picnidios (40x). **E.** Conidias (40x).

1.4.2 Aislamientos obtenidos a partir de síntomas de tizón por *ascochyta*

A partir del material vegetal con las distintas sintomatologías observadas, aislado en medio PDA, a los 7 DDS se obtuvieron colonias de crecimiento lento, de micelio color blanco y algodonoso en el anverso de las cajas de Petri. En el reverso, las colonias presentaron diferentes patrones de coloración, se observaron colonias color crema en su totalidad y colonias con centros y anillos color café. La frecuencia de aislamiento de colonias típicas de *Ascochyta* a partir de 50 explantes por sintomatología observada fue del 70 y 76,6%, en el estadio 65 (muestreo 2). En los estadios 55 y 75 (muestréos 1 y 3) la frecuencia de aislamiento alcanzó el 60 y 56% para el síntoma 1, y 53,3 y 52% para el síntoma 2, respectivamente. Lo anterior, permite observar en el estadio de 50% de floración (estadio 65) una mayor afectación de la planta por *Ascochyta* spp.

1.4.3 Identificación morfológica y molecular de aislamientos de *Ascochyta* spp.

A partir de las alteraciones observadas se recolectaron muestras que se analizaron y se describieron los síntomas. Se verificó la presencia de estructuras fúngicas y se hicieron aislamientos en medio de cultivo PDA. Se obtuvieron tres morfotipos (AMn01, AMn02 y AMn03) de hongos cultivables, caracterizados por la coloración tanto en el anverso como reverso de la colonia en PDA en cajas de Petri, y el patrón de crecimiento (Figura 1-2A-C). Los aislamientos AMn01 y AMn02 se obtuvieron a partir de la sintomatología 1 y el aislamiento AMn03 de la sintomatología 2. En los tres morfotipos se observó crecimiento de micelio hialino septado y formación de clamidosporas hialinas o pigmentadas color marrón, globosas, intercaladas, unicelulares, dispuestas en solitario o en cadena (Figura 1-2D). Dado que ninguno de los tres morfotipos de las colonias del hongo obtenido formaron picnidios y conidias sobre el medio de cultivo 30 DDI a 21 °C durante el periodo de incubación, se determinó la importancia de realizar las pruebas de patogenicidad.

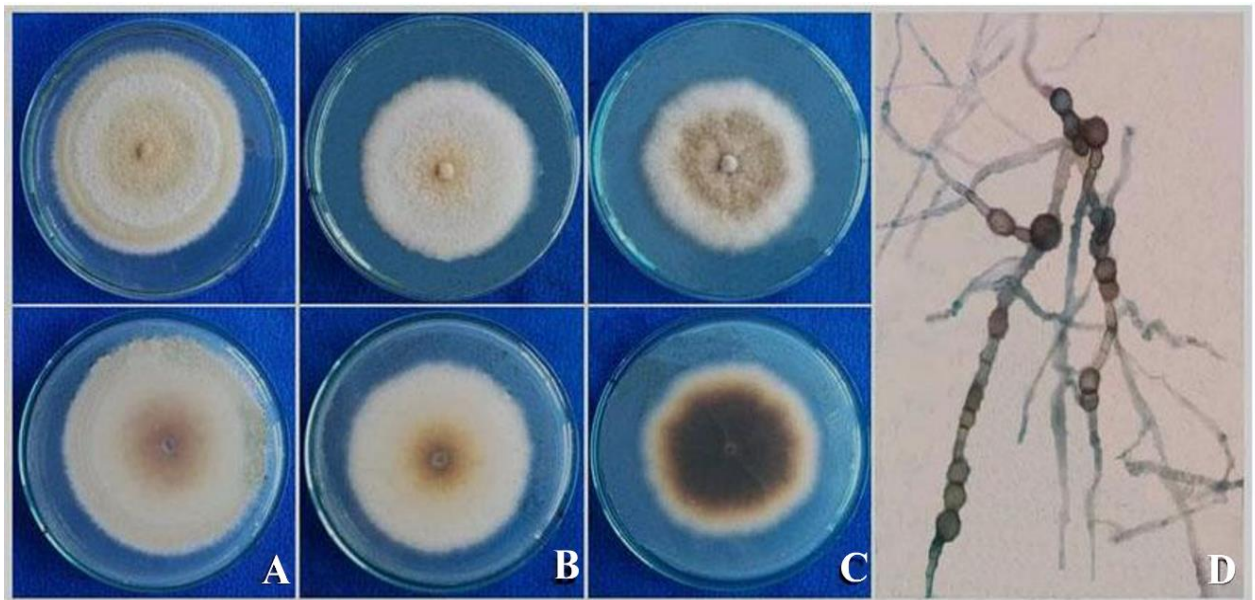


Figura 1-2. Aislamientos de *Ascochyta* spp. en medio de cultivo PDA 20 días después de la incubación a 21°C. **A.** AMn01. **B.** AMn02. **C.** AMn03. **D.** Clamidosporas (40x) en los tres morfotipos obtenidos. En A, B y C, vista superior anverso de la colonia; parte inferior reverso de la colonia.

Mediante herramientas moleculares para la identificación del hongo aislado se encontró que los tres morfotipos obtenidos correspondían al género *Didymella* (fase sexual de *Ascochyta*) con un 100% de identidad. La región ITS amplificó un fragmento aproximado de 560 pares de bases (bp). La secuencia consenso de la región ITS para cada aislamiento se muestra en los anexos 1, 2 y 3. Adicionalmente, los marcadores RPB2, BTUB y 28S amplificaron fragmentos de 372, 319 y 812 bp, respectivamente. Sin embargo, no se obtuvo la resolución taxonómica suficiente para la clasificación hasta nivel de especie. El árbol filogenético (*Maximum likelihood*) de las regiones ITS, 28S, BTUB y RPB2 de los tres aislamientos se presentan en la Figura 1-3. En este, se observan las especies con las menores distancias genéticas, que en los tres casos fueron *Didymella lethalis* CBS_103,25 y *Didymella pinodella* CBS_351,34. Teniendo en cuenta los resultados anteriormente mencionados, los aislamientos se seguirán denominando como AMn01, AMn02 y AMn03.

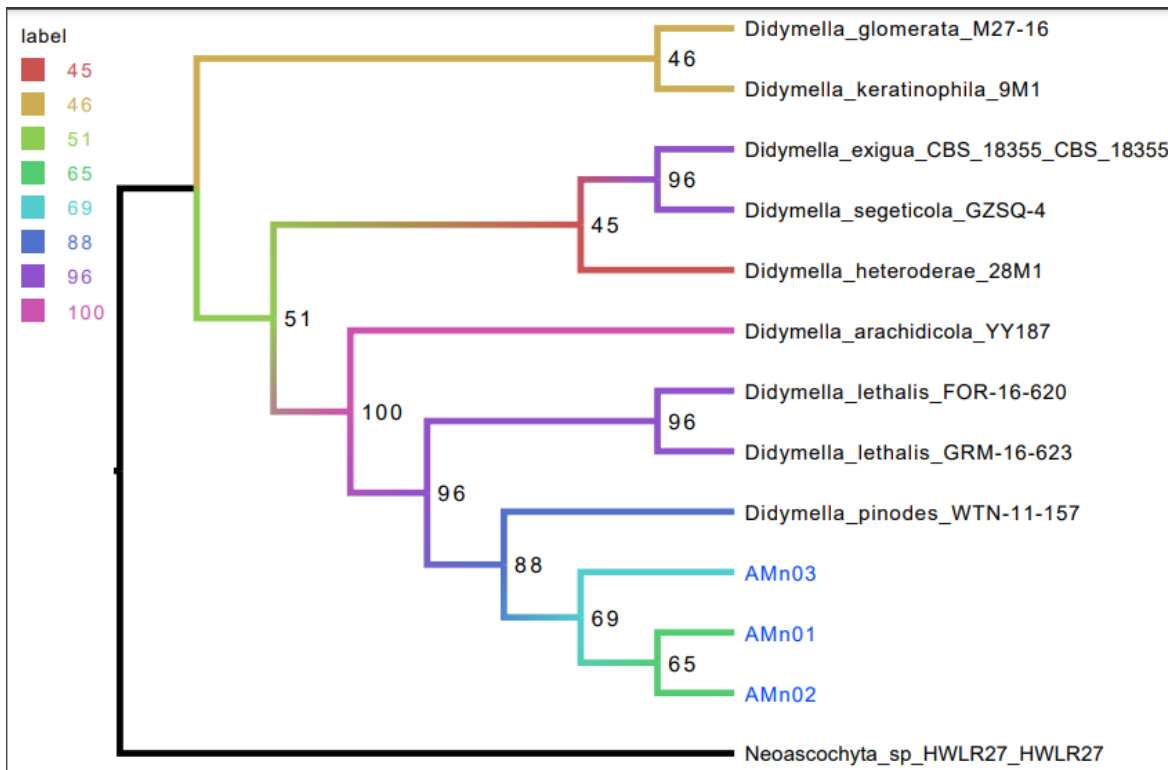


Figura 1-3. Árbol filogenético (*Maximum likelihood*) de las regiones ITS, 28S, BTUB y RPB2 construido con la base de datos Ribosomal Database Project a partir de los aislamientos Amn01, AMn02 y AMn03.

Con respecto a las pruebas de patogenicidad, los tres aislamientos obtenidos fueron patogénicos en plantas de arveja (Figura 1-4A), donde se apreciaron síntomas característicos de la enfermedad como lesiones necróticas (3 DDI) y senescencia de hojas inoculadas a los 10 DDI y evidenciando la patogenicidad de los tres morfotipos en la planta hospedera. La formación de picnidios fue escasa y se observó luego de someter las hojas inoculadas a cámara húmeda por un periodo de ocho días (Figura 1-4B y C).

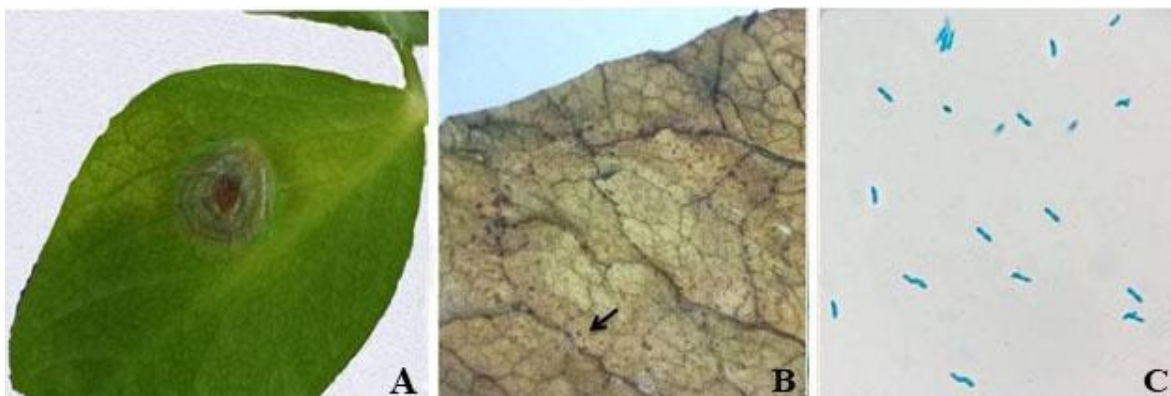


Figura 1-4. Establecimiento y desarrollo de *Ascochyta* spp. en plantas de arveja variedad Vizcaya. **A.** Lesión necrótica sobre el haz de la hoja 3 DDI. **B.** Picnidios visibles en la superficie de la hoja. **C.** Conidias (10x) en los aislamientos AMn01 y AMn02.

Los resultados mencionados previamente permitieron la identificación de los tres morfotipos de *Ascochyta* aislados, clasificados por su color en el anverso y reverso de la colonia y patrón de crecimiento, por lo cual, en las siguientes secciones de este capítulo se presentará el efecto del Si sobre su crecimiento micelial *in vitro* y el desarrollo de la enfermedad en plantas de arveja bajo condiciones de invernadero.

1.4.4 Efecto del silicio sobre el crecimiento micelial de *Ascochyta* spp.

Las dos fuentes de Si (acidulado o básico) redujeron el crecimiento micelial *in vitro* de los tres aislamientos de *Ascochyta* con respecto al control crecido en medio de cultivo en ausencia de fuentes de Si (Tabla 1-1). En los aislamientos AMn01 y AMn02 las dos fuentes de Si evaluadas no presentaron diferencias significativas con respecto al área bajo la curva de crecimiento micelial (AUMGC) [732,63 (ASi) y 744,85 (BSi)], pero mantuvieron diferencias ($p \leq 0,05$) con el tratamiento control (947,64). En contraste, en el aislamiento

AMn03 las fuentes de Si evaluadas mostraron diferencias ($p \leq 0,05$) entre sí. En este caso, el AUMGC en el tratamiento con ASi fue menor (520,17), en comparación con BSi (707,95) y el control (988,95). La eficacia de los tratamientos 21 DDI muestra que, los tratamientos de ASi y BSi redujeron el crecimiento micelial de las colonias de *Ascochyta*. Sin embargo, no se presentó una tendencia clara entre los dos tipos de Si evaluados. En el aislamiento AMn03 se presentaron diferencias significativas ($p \leq 0,05$), donde el efecto de ASi (34,55%) con respecto al BSi (10,36%) fue mayor (Tabla 1-1).

Tabla 1-1. Crecimiento radial *in vitro* de colonias de *Ascochyta* spp. a los 21 DDI, área bajo la curva de crecimiento micelial (AUMGC) de los aislamientos AMn01, AMn02, AMn03 obtenidos a partir de hojas afectadas de arveja variedad Vizcaya, y eficacia de los tratamientos de Si acidulado (ASi) y básico (BSi) sobre *Ascochyta* spp.

Aislamiento	Tratamiento	Crecimiento micelial (mm)			AUMGC	Eficacia (%)
		7 ddi	15 ddi	21 ddi		
AMn01	Asi	35,59 b	42,71 c	49,23 C	704,04 b	27,04 a
	Bsi	30,83 c	51,68 b	63,49 B	768,49 b	20,68 a
	Control	41,43 a	63,36 a	78,25 A	975,23 a	---- -
AMn02	Asi	36,52 b	47,97 b	55,07 B	761,23 b	17,11 a
	Bsi	28,47 c	49,21 b	57,15 B	721,21 b	21,26 a
	Control	41,17 a	58,67 a	70,67 A	920,06 a	---- -
AMn03	ASi	25,54 b	31,92 b	37,35 B	520,17 c	34,55 a
	BSi	32,08 a	45,15 a	53,89 A	707,95 b	10,36 b
	Control	34,63 a	49,61 a	64,07 A	988,95 a	---- -

Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos de acuerdo a la prueba de Tukey ($p \leq 0,05$).

Con base en los resultados anteriores, ASi a nivel *in vitro* presentó una mayor eficacia sobre el crecimiento micelial de *Ascochyta* spp. De otro lado, teniendo en cuenta que en los aislamientos AMn01 y AMn02 no se presentaron diferencias estadísticas entre los tipos de Si (ASi o BSi) y dado que morfológicamente presentan características similares, en el análisis bajo invernadero solo se usaron los aislamientos AMn01 y AMn03.

1.4.5 Efecto del Silicio sobre el desarrollo del tizón por ascochyta en plantas

En todos los tratamientos inoculados con el patógeno se desarrollaron los síntomas típicos reportados para el tizón por ascochyta a los tres DDI. El AUDPC para los dos aislamientos (AMn01 y AMn03) en los diferentes tratamientos se presentan en la Figura 1-5. Los tratamientos de BSi foliar o al suelo presentaron diferencias significativas ($p \leq 0,05$), con respecto al control negativo (plantas inoculadas sin Si). Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre la forma de aplicación (edáfica o foliar) de BSi, aunque la tendencia de valores más bajos se presentó con la aplicación foliar en los dos casos. Los tratamientos de ASi, no presentaron diferencias estadísticas ($p > 0,05$) con respecto al control negativo (Cp+), sin embargo, se presentó una tendencia a menores valores de AUDPC en los tratamientos con ASi. Durante el experimento, el control absoluto (Cp-) no presentó ninguna sintomatología.

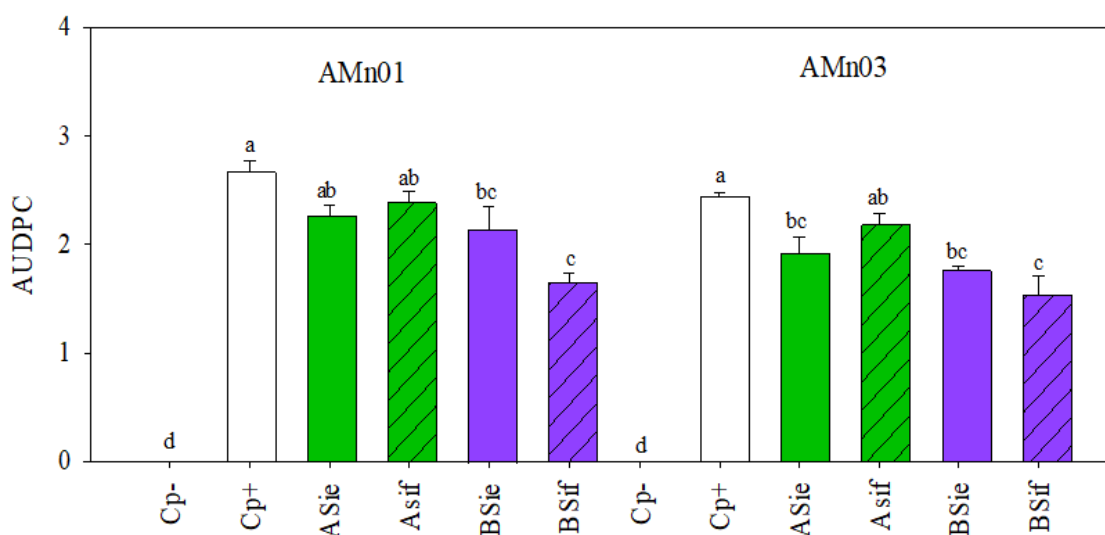


Figura 1-5. Efecto del Si acidulado y básico sobre el desarrollo de tizón por ascochyta en plantas de arveja variedad Vizcaya bajo condiciones de invernadero. Cp-: control sin Si y sin patógeno. Cp+: control con patógeno sin aplicación de Si. ASie: ASi edáfico. ASif: ASi foliar. BSie: BSi edáfico. BSif: BSi foliar. Los tratamientos que comparten la misma letra no presentan diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey ($p \leq 0,05$). Barras verticales en cada promedio indican el error estándar ($n = 60$).

Con respecto a la altura de la planta, el ANOVA mostró efectos significativos de los tratamientos sobre la altura de la planta al cabo de 50 DDS en el caso de las plantas

inoculadas con el aislamiento AMn01, y a los 37 DDS en el caso de las plantas inoculadas con el aislamiento AMn03. Los tratamientos con Si favorecieron el crecimiento de las plantas de arveja con respecto al control Cp+. Los tratamientos BSi foliar (68,2 cm) o ASi edáfico (66,3 cm), presentaron los mayores valores de altura en plantas inoculadas, seguidos de los demás tratamientos con Si, sin diferencias ($p > 0,05$) entre ellos a los 50 DDS (Figura 1-6). La altura de las plantas inoculadas con el aislamiento AMn01 y tratadas con los productos a base de silicio, no fue significativamente diferente ($p > 0,05$) a la altura de las plantas libres del patógeno y sin aplicaciones de Si. Sin embargo, la altura de las plantas del control negativo fue significativamente la más baja entre todos los tratamientos evaluados (57,8 cm) (Figura 1-6A). En el aislamiento AMn03 no se presentaron diferencias entre el control negativo (Cp+) y el absoluto (Cp-), siendo estos los que registraron los valores más bajos de altura de las plantas (57,9 y 57,3 cm, respectivamente) (Figura 1-6B).

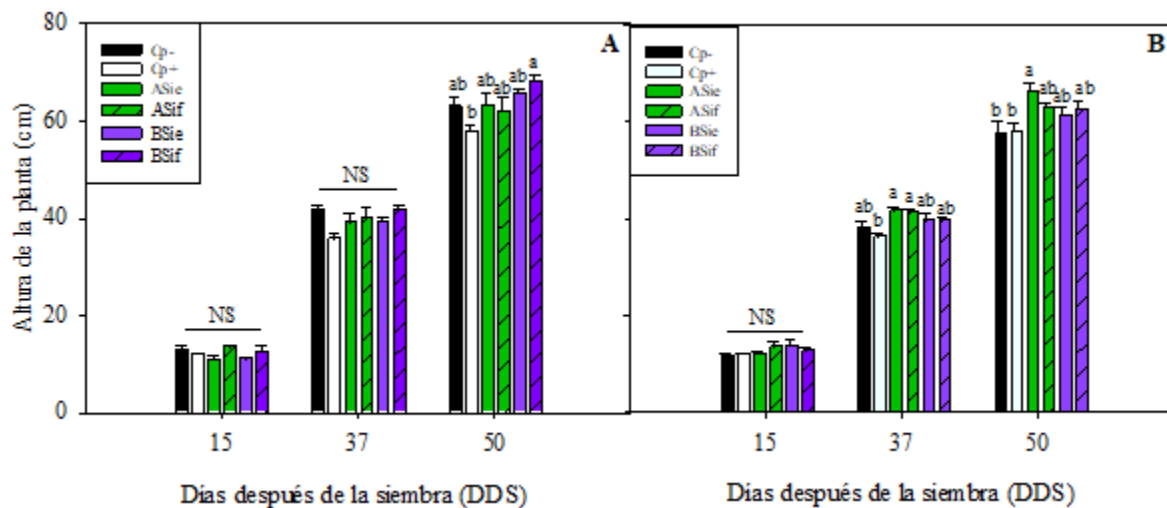


Figura 1-6. Efecto de la aplicación de Si acidulado y básico sobre la altura de plantas de arveja variedad Vizcaya 15, 37 y 50 DDS bajo condiciones de invernadero. **A.** plantas inoculadas con el aislamiento AMn01. **B.** Plantas inoculadas con el aislamiento AMn03. Cp-: control sin Si y sin patógeno. Cp+: Control con patógeno sin aplicación de Si. ASie: ASi edáfico. ASif: ASi foliar. BSie: BSi edáfico. BSif: BSi foliar. Los tratamientos que comparten la misma letra no presentan diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey ($p \leq 0,05$).

La temperatura de la hoja mostró un incremento bajo la inoculación artificial del patógeno, en comparación con el control absoluto, siendo el control Cp+ el que presentó la mayor temperatura de la hoja en ambos grupos de plantas (AMn01 y AMn03) a los 10 DDI (30,9 y 31,5 °C, respectivamente). En contraste, la temperatura de la hoja en las plantas no inoculadas con el patógeno (Cp-) fue significativamente la más baja (25,8 y 26,4 °C, respectivamente) (Figura 1-7A).

Un comportamiento similar se presentó con el contenido de clorofila medido por el equipo SPAD en plantas inoculadas con el aislamiento AMn01, donde tratamientos con Si a los 10 DDI presentaron una tendencia de valores inferiores con respecto al control Cp+ (39,61); sin embargo, la tendencia fue a valores más altos que en el control absoluto (31,25) (Figura 1-7C). Ambos grupos de plantas inoculadas con el patógeno (AMn01 y AMn03) y sin tratamiento (control negativo) presentaron valores más bajos de conductancia estomática (gs) (128,85 y 151,25 mmol m⁻² s⁻¹, respectivamente). Por lo anterior, la aplicación de Si incremento la gs, comparado con los valores presentados en el control absoluto (222,3 mmol m⁻² s⁻¹ en ambos casos), sin embargo, solo se presentaron diferencias estadísticas ($p \leq 0,05$) en el aislamiento AMn01 (Figura 1-7B). Esta tendencia también se observó con el quenching no fotoquímico (NPQt), donde los valores más altos se presentaron en el control absoluto y BSi foliar (4,52 y 5,42 para AMn01 y AMn03, respectivamente) y el más bajo se registró en el tratamiento ASi foliar (1,54). Los tratamientos restantes no presentaron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre ellos (Figura 1-7D). En el caso del rendimiento cuántico del fotosistema II (Phi2), no se presentaron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre los tratamientos evaluados.

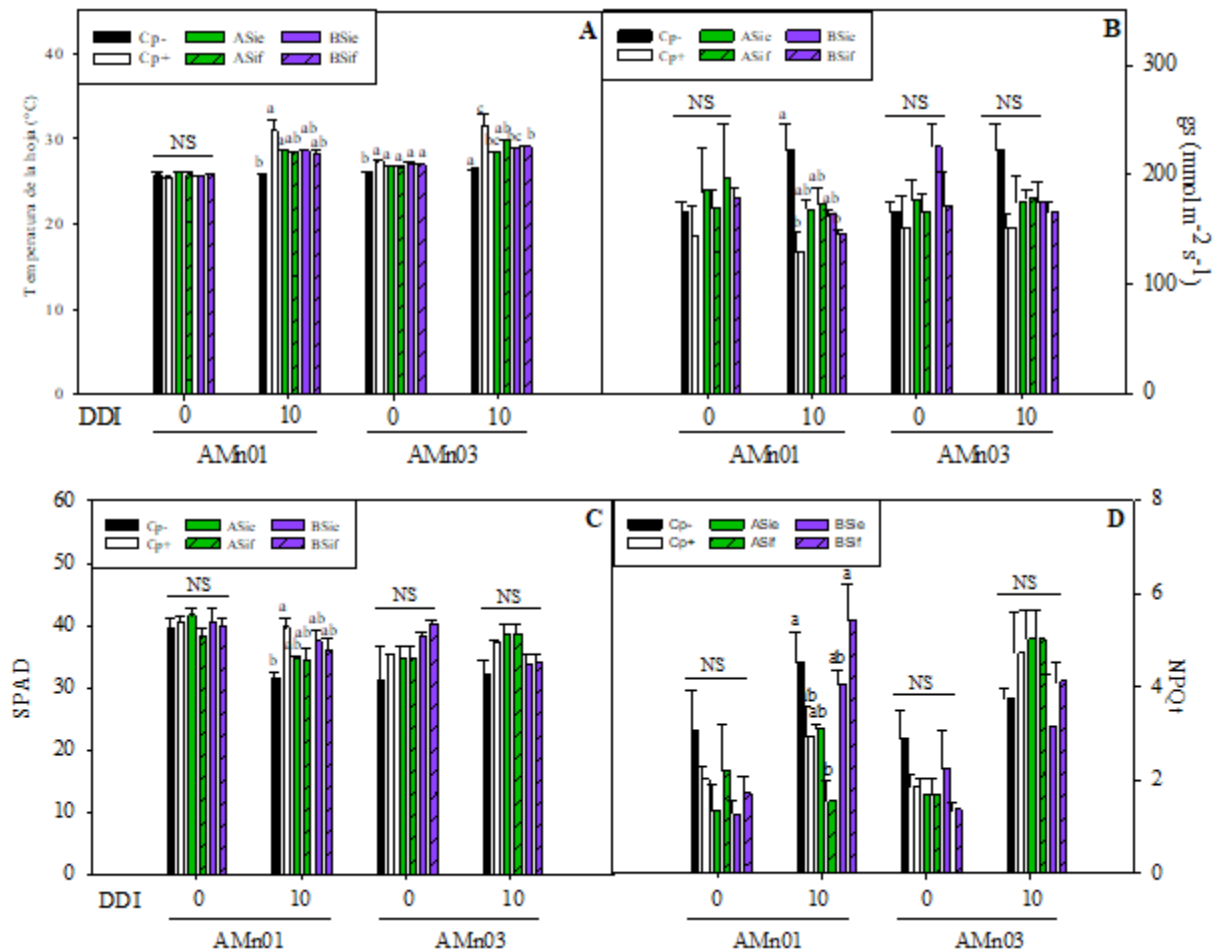


Figura 1-7. Efecto de la aplicación de Si acidulado y básico sobre variables fisiológicas a los 0 y 10 DDI en plantas de arveja variedad Vizcaya inoculadas con dos aislamientos de *Ascochyta* spp. bajo condiciones de invernadero. **A.** Temperatura de la hoja (°C). **B.** Conductancia estomática (g) (mmol m⁻² s⁻¹). **C.** Contenido relativo de clorofila (SPAD). **D.** Quenching no fotoquímico (NPQ). Cp-: control sin Si y sin patógeno. Cp+: control con patógeno sin aplicación de Si. ASie: ASi edáfico. ASif: ASi foliar. BSie: BSi edáfico. BSif: BSi foliar. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos de acuerdo con la prueba de Tukey ($p \leq 0,05$).

1.5 Discusión

A partir del material afectado con síntomas reportados para el tizón por *ascochyta* como lesiones necróticas, circulares con anillos concéntricos se obtuvieron tres diferentes

morfotipos del patógeno (Amn01, AMn02 y AMn03), definidos por los patrones de coloración de la colonia en medio PDA a 21 °C. Esta coloración está asociada posiblemente a la pigmentación de las hifas y clamidosporas formadas, ya que para ninguno de los aislamientos se obtuvo formación de picnidios y conidias en el medio de cultivo. Terbeche et al. (2015) mencionan que la temperatura es un factor importante en el crecimiento micelial de *Ascochyta*, ya que esta interfiere en el metabolismo químico y reacciones biológicas de las especies de este género. Por lo que la ausencia de picnidios y conidias en *Ascochyta* spp. en este estudio podría estar relacionado con las condiciones de oscuridad durante la incubación (Terbeche et al., 2015).

La identificación de especies dentro del complejo de *Ascochyta* por características morfológicas es compleja dada la similitud que hay entre ellas, por lo que se requiere de herramientas moleculares para su identificación. En este estudio, los tres aislamientos se identificaron como pertenecientes al género *Ascochyta* (teleomorfo: *Didymella*) por sus características morfológicas. Filogenéticamente, los tres aislamientos se asociaron a las especies *Didymella lethalis* y *Didymella pinodella*; sin embargo, la falta de secuencias del genoma completo para la especie *D. pinodella*, no permitió la identificación de los aislamientos obtenidos hasta el nivel de especie. *D. pinodella*, *D. lethalis* y *D. pinodes* presentan un alto grado de similitud morfológica y genética, y pueden presentarse en una misma planta teniendo en cuenta que ocupan nichos ecológicos similares (Šišić et al., 2022). Sin embargo, *D. pinodella* y *D. lethalis* no han sido reportadas como agentes fitopatógenos de arveja en Colombia (CABI, 2020), por lo tanto, los estudios realizados se han enfocado en la evaluación de resistencia a *A. pisi* (*D. pisi*) y *D. pinodes* (Valencia et al., 2012; Torrado-Martínez et al., 2020).

En las pruebas de patogenicidad realizadas en plantas de arveja variedad Vizcaya, el desarrollo de manchas necróticas circulares, color marrón, con anillos concéntricos en las hojas, se presentó a los 3 DDI con los tres aislamientos. 10 DDI se evidenció avance de la necrosis con zonas cloróticas. Lesiones en hojas, ocasionadas por *M. pinodes* y *P. pinodella* se reportan 2 y 4 DDI; con *A. pisi*, el desarrollo de síntomas se puede presentar entre 6 y 11 DDI, y manchas necróticas, circulares con formación de anillos concéntricos están asociadas principalmente con *A. pisi* (Bretag et al., 2006; Skoglund et al., 2011). La aparición de síntomas en plantas de arveja variedad Vizcaya fue de 3 DDI, lo que coincide con los rangos de aparición de síntomas reportados para el género *Didymella*, principalmente con las especies *D. pinodes* y *D. pinodella*.

El efecto *in vitro* del Si ha sido evaluado tanto en patógenos foliares como de suelo (Bekker et al., 2006; 2009). Las dos fuentes de Si (acidulado y básico) evaluadas inhibieron el crecimiento micelial de *Ascochyta* spp. en condiciones *in vitro*, lo que coincide con el efecto encontrado por Bekker et al. (2006; 2009) en *Colletotrichum coccodes*, *C. gloeosporioides*, *Alternaria solani* y *Curvularia lunata* usando silicato de potasio (SP) como fuente de Si. La inhibición del crecimiento micelial por SP, silicato de sodio (SS) y silicato de calcio (SC), también se ha reportado en *Phomopsis obscurans* agente causal del tizón foliar en fresa (Abd-El-Kareem et al., 2019). La aplicación de SP y SS sobre *Macrophomina phaseolina* en soya inhibieron el crecimiento micelial en un 36.11 y 41.11%, respectivamente (El-Abdean et al., 2020). En especies de *Fusarium* relacionadas con la malformación y crecimiento irregular de hojas e inflorescencias en plantas de mango, mostraron también reducción del crecimiento micelial con SP (Yadav y Bains, 2021). Estos resultados pueden estar relacionados con el efecto fungitoxico de los silicatos en los microorganismos (Zhou et al., 2018). Por otro lado, Yadav y Bains (2021) reportan que el Si está relacionado también con la reducción de la presión de turgencia de las células fúngicas dando como resultado la contracción y colapso de hifas y esporas.

Los dos tipos de Si evaluados en condiciones de invernadero redujeron el desarrollo de síntomas causados por *Ascochyta* spp. en hojas de plantas de arveja variedad Vizcaya, con respecto al control negativo, inoculado solamente con el patógeno (AMn01 y AMn03). Estos resultados coinciden con lo reportado por Dann y Muir (2002), donde lesiones ocasionadas por *M. pinodes* en plantas de arveja fueron menores en tratamientos con Si incorporados al sustrato de siembra en comparación con tratamientos control. Este resultado puede estar relacionado con la acumulación de Si y a su vez el aumento de las proteínas PR, quitinasas y β -1-3-glucanasa (Dann y Muir, 2002), relacionadas con la defensa de las plantas (Balasubramanian et al., 2012). En soya, la aplicación de Si al suelo, redujo la severidad de *M. phaseolina*, lo que fue atribuido principalmente a la absorción del Si a través del sistema radicular de la planta, lo cual se relaciona con la respuesta de defensa de las plantas al ataque de patógenos (El-Abdean et al., 2020). Resultados similares fueron observados por Hasan et al. (2020), donde la aplicación de nanopartículas de silicio en plantas de haba redujo la incidencia y la severidad de *Botrytis fabae*, en comparación con el tratamiento control.

El efecto positivo del Si puede estar asociado a su acumulación en el tejido foliar, creando barreras físicas que evitan la penetración de los patógenos y permiten mantener en su estado normal la pared celular, membrana plasmática y cloroplastos de la célula vegetal (Hasan et al., 2020). De otro lado, el Si afecta también los metabolitos primarios como la quitinasa, la β -1,3-glucanasa, la fenilalanina amoniaco liasa (PAL), la polifenol oxidasa (PPO), los cuales están asociados a la defensa de las plantas. El Si está relacionado además con la mayor producción de flavonoides, peroxidasa (POD) y quitinasa (CHT) en el hospedero en presencia de patógenos necrótrophos (Song et al., 2021). Las especies dentro del complejo *Ascochyta* son patógenos necrótrophos como lo reporta (Tivoli et al., 2007; Morkunas et al., 2013; Barilli et al., 2016), por lo cual posiblemente este efecto se asocie con el resultado positivo del Si sobre *Ascochyta* observado en plantas de arveja.

Las plantas inoculadas con los aislamientos de *Ascochyta* AMn01 y AMn03 y tratadas con Si, incrementaron su crecimiento en términos de altura de la planta (cm) con respecto a las plantas del control negativo. Estos resultados se pueden explicar debido a la elongación celular promovida por la acumulación del Si en la pared celular (Dehghanipoodeh et al., 2018). Lo encontrado en este trabajo coincide con lo reportado por Zhou et al. (2018), donde la aplicación edáfica de Si en plantas de pepino inoculadas con *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum*, incrementó la altura de las plantas y redujo la severidad de la enfermedad.

Con respecto a parámetros fisiológicos, en soya la aplicación foliar de Si incrementó los valores como la tasa fotosintética, la conductancia estomática y el contenido de clorofila (Hussain et al., 2021b). Estos, resultados coinciden con los observados en el presente estudio para arveja, donde la aplicación de Si disminuyó la temperatura de la hoja y aumentó la g_s con respecto a plantas control con presencia del patógeno (Cp+). Lo que puede darse teniendo en cuenta que las plantas bajo condiciones de estrés buscan minimizar la pérdida de agua por transpiración y mantener la homeostasis celular lo que a su vez genera un mayor aumento de la temperatura de la hoja (Mendoza-Vargas et al., 2021). Con respecto al contenido relativo de clorofila (SPAD), no se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos con Si con respecto a los tratamientos control. Este resultado contrasta con lo reportado por Bueno et al. (2017) en maíz, donde la aplicación de Si mejoró las condiciones del aparato fotosintético y tasa fotosintética al aumentar el contenido de clorofila. En ese estudio, plantas de maíz sin aplicación de Si inoculadas con *Monographella albescens* la destrucción de moléculas de clorofila redujo la fotosíntesis en las hojas. Con respecto a la fluorescencia de clorofila, se debe tener en

cuenta que la infección por patógenos puede aumentar o disminuir los procesos no fotoquímicos de disipación de energía (Suárez et al., 2022).

Los resultados obtenidos en este estudio a nivel *in vitro* e *in vivo* bajo condiciones de invernadero evidenciaron el efecto del Si en el crecimiento del patógeno y en el desarrollo del tizón por *ascochyta* y su efecto sobre variables fisiológicas de la planta. Este estudio muestra el potencial de la aplicación de Si para limitar el crecimiento del patógeno, reducir el área foliar afectada por *Ascochyta* y mitigar el estrés causado por la infección en plantas de arveja variedad Vizcaya. Sin embargo, se requieren estudios adicionales de la evaluación de la aplicación de Si bajo condiciones de campo, para validar los resultados obtenidos y determinar el mejor tipo de Si para su potencial recomendación a nivel comercial.

1.6 Conclusiones

- La aplicación de Si (acidulado o básico) reduce el crecimiento micelial y área foliar afectada de *Ascochyta* spp. y favorece el crecimiento de plantas de arveja bajo condiciones de estrés biótico.

2. Capítulo II. Efecto del silicio en el desarrollo de enfermedades foliares y respuestas fisiológicas y agronómicas de arveja (*Pisum sativum* L.) en condiciones de campo

2.1 Resumen

En plantas, la aplicación de silicio (Si) favorece el crecimiento y desarrollo, y su aplicación es considerada una estrategia dentro del manejo integrado en leguminosas. Sin embargo, en arveja la información sobre el uso de Si aún es limitada. Por consiguiente, en este capítulo se evaluó el efecto de la combinación de fungicidas y aplicaciones edáfica o foliar de Si (acidulado y básico sobre el desarrollo de enfermedades foliares causadas por *Ascochyta* spp., *Peronospora viciae* y *Erysiphe pisi*. Adicionalmente, se evaluó su efecto sobre la fisiología de las plantas y el rendimiento del cultivo de arveja variedad Vizcaya en condiciones de campo. Los valores de AUDPC, índice de severidad y área foliar afectada fueron menores en plantas bajo los tratamientos de Si, con respecto a lo observado en las plantas del control absoluto. La conductancia estomática (gs) y los componentes de rendimiento se vieron favorecidos con la aplicación de Si. Así mismo, el contenido de Si foliar en las plantas tratadas fue significativamente mayor con respecto a plantas sin ningún tratamiento (control absoluto negativo). Los resultados mostraron que la aplicación de Si contribuye a la reducción del daño por patógenos foliares de arveja variedad Vizcaya y a la reducción de la aplicación de fungicidas sin afectar el rendimiento ni la calidad del producto cosechado.

2.2 Introducción

En los últimos años, en el cultivo de arveja se ha registrado un aumento de la incidencia de enfermedades foliares, generando pérdidas que oscilan entre el 20 y 100% a nivel local y mundial (Cadena et al., 2020; Barbetti et al., 2021). Dentro de estas, las enfermedades foliares causadas por *Ascochyta* spp., *Peronospora viciae* y *Erysiphe pisi* adquieren una mayor importancia dado que afectan follaje, vainas y granos, limitando su producción y su posterior comercialización (Cadena et al., 2020). La infección de la lámina foliar de las plantas se puede dar directamente por aberturas naturales o heridas, según el patógeno (Grimmer et al., 2012). Este proceso de infección y colonización afecta la fisiología de la planta generando pérdidas de clorofila, reducción de la eficiencia fotosintética y tasa de fotosíntesis, aumento de la tasa respiratoria y actividad metabólica de la planta (Garry et al., 1998; Grimmer et al., 2012). Autores como Okorski et al. (2008) y Lobato et al. (2010) reportaron una reducción de la tasa fotosintética hasta en 75 y 77,3% debido a patógenos foliares en arveja y fríjol respectivamente. Por lo anterior, las enfermedades foliares representan la principal limitante de muchos cultivos, dentro de estos la arveja (Ahammed y Yang, 2021).

El silicio (Si) en las plantas es considerado un elemento benéfico y en algunas poáceas como arroz o caña de azúcar se ha determinado que es esencial (Wang et al., 2017; Albrecht, 2019). La aplicación de este elemento favorece el crecimiento y el desarrollo de las plantas, mejora la arquitectura de las raíces, interviene en procesos hídricos, y de fotosíntesis (Hafez et al., 2021), aumenta la interceptación de la luz, e incrementa la resistencia de la planta a condiciones de estrés (Savvas y Ntatsi, 2015; Albrecht, 2019). Además, genera cambios bioquímicos como la acumulación de compuestos fenólicos, ligninas y fitoalexinas, producción de enzimas relacionadas con la defensa de las plantas como la peroxidasa (POX), polifenoloxidasas (PPO), fenilalanina amoníaco liasa (PAL), lipoxigenasa (LPO), glucanasa y quitinasa (Ferreira et al., 2015; Castellanos-González et al., 2015; Wang et al., 2017; Basu y Kumar, 2021). Adicionalmente, el Si favorece la eliminación de especies reactivas de oxígeno (ROS) al inducir el sistema de defensa antioxidante, lo que contribuye a la homeostasis y en consecuencia favorece la resistencia a enfermedades de la planta (Basu y Kumar, 2021).

Diferentes publicaciones muestran los efectos positivos de la aplicación de Si en el manejo de enfermedades. El uso de Si edáfico y foliar inhibió el desarrollo de patógenos como *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* y *Podosphaera xanthii*, agentes causales de mildew polvoso en trigo y melón, respectivamente (Liang et al., 2005; Dallagnol et al., 2015), *Bremia lactucae* (mildew veloso) en lechuga (Weerahewa y Somapala, 2016), *Colletotrichum sublineolum* en soya (Resende et al., 2012) y *Mycosphaerella pinodes* en arveja (Dann y Muir, 2002). Además, tratamientos de Si en combinación con fungicidas mejoraron su eficacia, mostrando reducción significativa del índice de severidad de enfermedades como antracnosis (*Colletotrichum lindemuthianum*) y mildew polvoso (*Podosphaera aphanis*) en frijol y fresa, respectivamente (Polanco et al., 2014; Liu et al., 2020).

El efecto positivo del uso del Si también se ha reportado sobre la fisiología de las plantas principalmente en condiciones de estrés (Dallagnol et al., 2020). La aplicación de Si aumentó la concentración de pigmentos fotosintéticos, la tasa fotosintética neta y la concentración de clorofila total, e incrementó los valores del quenching no fotoquímico (NPQt) en plantas cultivadas en condiciones de estrés biótico por patógenos fúngicos como: *Blumeria graminis* f. sp. *tritici*, *Ramularia areola*, *C. lindemuthianum* y *C. sublineolum* (Debona et al., 2017; Dallagnol et al., 2020). El uso foliar de Si también mejoró los componentes de rendimiento (número de vainas por planta, la longitud de las vainas, el número de semillas por vaina, el número de semillas por planta, el peso de las semillas y el rendimiento total) de plantas leguminosas (arveja y haba) bajo condiciones de estrés abiótico (Arafa et al., 2021; Hafez et al., 2021).

El manejo integrado de enfermedades foliares en el cultivo de arveja considera el uso de agentes de control biológico y prácticas culturales. Sin embargo, la principal estrategia de manejo es la aplicación de fungicidas de síntesis química tanto a nivel local como mundial (Cadena et al., 2020; Villegas-Fernández et al., 2021), ya que los genotipos resistentes a estas enfermedades son limitados debido a una resistencia genética estrecha (Liu et al., 2016; Barbetti et al., 2021; Villegas-Fernández et al., 2021). No obstante, la aplicación excesiva de fungicidas en ocasiones incrementa los costos de producción, puede reducir la calidad, contribuir a la generación de cepas de patógenos resistentes y generar riesgos ambientales (Liu et al., 2016; Kannoja et al., 2019; Singh et al., 2020). Por tal motivo, el uso de Si como parte de la estrategia dentro de un manejo integrado de enfermedades foliares en leguminosas ha adquirido importancia en los últimos años, debido a que puede reducir la incidencia de las enfermedades, mejorar la fisiología de la planta y el rendimiento

del cultivo (Artyszak, 2018; Hasan et al., 2020; Arafa et al., 2021; Hafez et al., 2021). Sin embargo, la disponibilidad de alternativas a considerar en el plan de manejo de enfermedades foliares en arveja aún es limitada en el país. En consecuencia, en el presente estudio se planteó analizar de forma comparativa el uso de fuentes y formas de aplicación de Si como complemento al control químico de enfermedades foliares y su influencia sobre la fisiología y rendimiento del cultivo en condiciones de campo.

2.3 Materiales y métodos

2.3.1 Condiciones generales de estudio

El estudio se llevó a cabo en dos experimentos implementados entre los meses de septiembre del 2020 y julio del 2021 correspondientes a dos ciclos del cultivo en el Centro Agropecuario Marengo CAM (4°41'48,3" N, 74°12'42,9" W), Mosquera (Cundinamarca). Durante el periodo de estudio se presentaron temperaturas promedio entre 15 y 25 °C, humedad relativa entre 60 y 80% y una precipitación mensual promedio de 134,6 mm. En cada experimento, el cultivo se estableció a partir de semilla de arveja (*Pisum sativum* L.) variedad Vizcaya obtenida del programa de Investigación en Leguminosas Comestibles de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá. En los dos ciclos de cultivo, la semilla fue previamente tratada por inmersión en una mezcla de thiamethoxam + lambda-cyhalotrin (Galeón 247 SC, Agrosar S.A., Colombia) a una dosis de 3 ml de producto comercial·L⁻¹ de agua y azoxystrobin + difenoconazol (Cavalier 325 SC, Bogotá D.C., Colombia) a una dosis de 2 ml de producto comercial·L⁻¹ de agua durante 4 horas. Lo anterior, para evitar posibles daños por *Delia platura* y Damping-off en los primeros estadios de desarrollo del cultivo (Cadena et al., 2020). Los cultivos se establecieron en un suelo franco (CIC 28,8 meq·100g⁻¹, MO 5,6% y N 0,48%), a una densidad de 55000 plantas·ha⁻¹ y un marco de plantación de 0,15 m entre plantas y 1,2 m entre surcos. La fertilización se suministró de forma edáfica de acuerdo con los requerimientos del cultivo (Cadena et al., 2020) y según el análisis de suelo previo a la siembra. Esta se realizó en dos aplicaciones, a los 0 días después de la siembra (DDS) (70% de la fertilización edáfica requerida) y 35 DDS (30% restante requerido por el cultivo) con urea (100 Kg·ha⁻¹), DAP (125 Kg·ha⁻¹), KCl (75 Kg·ha⁻¹), Kieserita (150 Kg·ha⁻¹), Durasop elite (125 Kg·ha⁻¹), Nitrocalcio (25 Kg·ha⁻¹) y Agrimins (92 Kg·ha⁻¹). Como fuentes

de Si acidificado (ASi) se utilizó el producto comercial Misil-K (pH 5.2 a una concentración de 240 g Si·L⁻¹) (Bioest S.A.S., Colombia), a una dosis comercial de 1,7 L·ha⁻¹. Como fuente de Si básico (BSi) se usó el producto comercial Tricho-sil enmienda (pH 11,2 a una concentración de 136 g Si·L⁻¹) (Agroser S.A., Colombia) a una dosis comercial equivalente de 3,0 L·ha⁻¹.

2.3.2 Experimento 1: evaluación de la aplicación edáfica o foliar de Si básico o acidulado sobre el desarrollo de enfermedades foliares y el comportamiento agronómico del cultivo de arveja

El primer experimento se desarrolló entre septiembre del 2020 y febrero del 2021, buscando evaluar la aplicación de dos fuentes de Si en combinación con el uso alterno de fungicidas. Las aplicaciones de las dos fuentes de Si [acidulado (ASi) o básico (BSi)] en combinación con fungicidas fueron realizadas semanalmente desde los 28 DDS [desarrollo de las hojas (12): 2 hojas con estípulas desplegadas], hasta los 108 DDS [formación del fruto (78): 80% vainas alcanzan la longitud típica)]. El criterio del número de aplicaciones foliares se determinó siguiendo el manejo tradicional del cultivo de arveja (diez aplicaciones de fungicidas durante el ciclo del cultivo, aplicadas cada 5 días en temporada de lluvia y cada 8 o 15 en temporada seca) (Álvarez-Sánchez et al., 2020). Los diferentes tratamientos establecidos para estimar el efecto de diferentes frecuencias de aplicación de las dos fuentes de Si y fungicidas se presentan en la Tabla 2-1. Las aplicaciones de Si se alternaron con la aplicación de fungicidas en sus frecuencias correspondientes, de tal manera que estuvieran distribuidas durante todo el ciclo del cultivo.

En total, en este experimento se evaluaron 14 tratamientos dispuestos en parcelas de 18 m² (unidad experimental) y establecido bajo un diseño de parcelas subdivididas con cinco repeticiones por tratamiento, donde la parcela principal corresponde al tipo de Si (básico o acidulado), la subparcela a la forma de aplicación (edáfica o foliar) y la sub-subparcela a la frecuencia de aplicación del fungicida (0, 25, 50, 75 y 100%). En cada parcela experimental se tomaron 8 plantas como unidad de muestreo. Los ingredientes activos aplicados tanto de forma preventiva como curativa se seleccionaron de acuerdo con el nivel de enfermedad y blanco biológico (FRAC, 2020). Durante el experimento se emplearon los ingredientes activos presentados en la Tabla 2-3. Las aplicaciones incluyeron Alkil aril polieter (Surfatron, Agroser S.A., Colombia) como coadyuvante

tensioactivo a una dosis de 2 ml·L⁻¹. Todas las aplicaciones de Si (edáficas o foliares) y fungicidas se realizaron entre las 07:00 y 09:00 h empleando una fumigadora de aspersión manual de 20 L (Royal Condor®, Colombia).

Tabla 2-1. Tratamientos foliares o edáficos de dos fuentes de silicio [ácido (ASi) o básico (BSi)] en combinación con aplicación variable (100%, 75%, 50% y 25%) de fungicidas comerciales (F) con respecto al programa de manejo comercial del cultivo, las cuales fueron sustituidas por aplicaciones de silicio (Si).

Tratamiento	Denotación	Descripción
1	0Si + 0F	Control negativo (0% Si + 0% fungicidas)
2	0Si+100F	Control positivo (0% Si + 100% fungicidas)
3	75ASi+25F	75% ASi edáfico y 25% fungicidas
4	50ASi+50F	50% ASi edáfico + 50% fungicidas
5	25ASi+75F	25% ASi edáfico + 75% fungicidas
6	75BSi+25F	75% BSi edáfico y 25% fungicidas
7	50BSi+50F	50% BSi edáfico + 50% fungicidas
8	25BSi+75F	25% BSi edáfico + 75% fungicidas
9	75ASi+25F	75% ASi foliar y 25% fungicidas
10	50ASi+50F	50% ASi foliar y 50% fungicidas
11	25ASi+75F	25% ASi foliar y 75% fungicidas
12	75BSi+25F	75% BSi foliar y 25% fungicidas
13	50BSi+75F	50% BSi foliar y 50% fungicidas
14	25BSi+75F	25% BSi foliar y 75% fungicidas

2.3.3 Experimento 2: evaluación de la aplicación de Si acidulado y fungicidas según el nivel de severidad de enfermedades foliares del cultivo de arveja

El segundo experimento se estableció entre febrero y julio del 2021, teniendo en cuenta los resultados del primer experimento en campo (2.3.2). En este caso, se buscó evaluar los mejores tratamientos de Si con reducción de la aplicación de fungicidas. En el primer experimento, la fuente de Si acidulado (ASi) presentó los mejores resultados en la

inhibición del desarrollo de enfermedades foliares de arveja y por lo tanto fue la fuente usada. El ASi más la aplicación combinada de fungicidas fueron aplicados semanalmente (desde 28 DDS hasta 108 DDS). Sin embargo, en este segundo experimento la aplicación de fungicidas se realizó con valores de severidad de enfermedad \geq a 2 (3-6% de tejido foliar afectado por tizón por ascochyta, 10% de tejido foliar afectado por mildew veloso y pocas colonias contables de micelio y ligera esporulación de mildew polvoso sobre el tejido foliar). Los anteriores umbrales se tomaron con base en la afectación de la tasa respiratoria de la planta según estudios realizados por Garry et al. (1998) y Bassanezi et al. (2001). Los diferentes tratamientos establecidos en este experimento se describen en la Tabla 2-2. En total, se evaluaron diez tratamientos dispuestos en parcelas de 11,52 m² (unidad experimental) bajo un diseño de bloques completamente al azar con cinco repeticiones por tratamiento. En cada parcela experimental se tomaron cinco plantas como unidad de muestreo. Los ingredientes activos aplicados se seleccionaron de acuerdo con el nivel de enfermedad y blanco biológico (FRAC, 2020). Durante el experimento se emplearon los ingredientes activos presentados en la Tabla 2-3. Se incluyó Alkil aril polieter (Surfatron, Agroser S.A., Colombia) como coadyuvante tensioactivo a una dosis de 2 ml·L⁻¹. Todas las aplicaciones de Si (edáficas o foliares) y fungicidas se realizaron entre las 07:00 y 09:00 h empleando una fumigadora de aspersión manual de 20 L (Royal Condor[®], Colombia).

Tabla 2-2. Tratamientos de silicio ácido (ASi), en combinación con aplicación de fungicidas comerciales (F) en número de aplicación variable (75% y 50%) según el nivel de severidad de la enfermedad (\geq a 2). Aplicación al suelo (s); aplicación foliar (f).

Tratamiento	Denotación	Descripción
1	0Si + 0F	Control negativo (0% Si + 0% fungicidas)
2	0Si+100F	Control positivo (0% Si + 100% fungicidas)
3	100Si+0F (s)	100% Si - edáfico + 0% fungicidas
4	50Si+50F (s)	50% Si edáfico + 50% fungicidas
5	25Si+75F (s)	25% Si edáfico + 75% fungicidas
6	100Si+0F (f)	100% Si - foliar + 0% fungicidas
7	50Si+50F (f)	50% Si foliar + 50% fungicidas
8	25Si+75F (f)	25% Si foliar + 75% fungicidas
9	50Si+50F (s-f)	50% Si (2 aplicaciones edáficas, 2 foliares) + 50% fungicidas
10	25Si+75F (s-f)	25% Si (3 aplicaciones edáficas, 3 foliares) + 75% fungicidas

Tabla 2-3. Nombre químico de los ingredientes activos y nombre comercial de los fungicidas usados para la evaluación de la aplicación de silicio acidulado (ASi) y silicio básico (BSi) aplicado al suelo y foliar en diferentes frecuencias de aplicación (0, 25, 50, 75 y 100%).

Nombre del ingrediente activo	Modo de acción (FRAC)	Actividad biológica	Tiempo de aplicación (DAS)	Dosis de producto	Nombre comercial (Fabricante)
Experimento 1					
Mancozeb	M	<i>Ascochyta</i> spp. <i>Peronospora</i> spp.	28 and 36	2,5 g·L ⁻¹	Fungitane (Agroser S.A., Bogotá D.C., Colombia)
Chlorothalonil	M	<i>Ascochyta</i> spp.	42 and 89	0,5 L·ha ⁻¹	Daconil (Syngenta, Bogotá D.C., Colombia)
Metalaxyl + Mancozeb	A1 + M	<i>Peronospora</i> spp.	51	2,5 kg·ha ⁻¹	Duclase gold (Agroser S.A., Bogotá D.C., Colombia)
Azoxystrobin + Difenconazol	C3 + G1	<i>Ascochyta</i> spp. <i>Eryshipe</i> spp.	62 and 80	0,4 L·ha ⁻¹	Cavalier (Agroser S.A., Bogotá D.C., Colombia)
Propamocarb	F4	<i>Peronospora</i> spp.	72	1,5 L·ha ⁻¹	Propamba (Agroser S.A., Bogotá D.C., Colombia)
Dimethomorph	H5	<i>Peronospora</i> spp.	97	0,6 kg·ha ⁻¹	Gaitero (Agroser S.A., Bogotá D.C., Colombia)
Metalaxyl + Propamocarb	A1 + F4	<i>Peronospora</i> spp.	110	0,9 kg·ha ⁻¹	Surrender (Agroser S.A., Bogotá D.C., Colombia)
Experimento 2					
Mancozeb	M	<i>Ascochyta</i> spp. <i>Peronospora</i> spp.	46	2,5 g·L ⁻¹	Fungitane (Agroser S.A., Bogotá D.C., Colombia)
Isoprothiolane + Carbendazim	F2 + B1	<i>Ascochyta</i> spp. <i>Eryshipe</i> spp.	66	0,5 L·ha ⁻¹	King SC (Agroser S.A., Bogotá D.C., Colombia)
Cymoxanil + Propineb	U + M	<i>Peronospora</i> spp.	81	1,5 kg·ha ⁻¹	Funnomil (Agroser S.A., Bogotá D.C., Colombia)
Azoxystrobin + Difenconazol	C3 + G1	<i>Ascochyta</i> spp. <i>Eryshipe</i> spp.	101	0,4 L·ha ⁻¹	Cavalier (Agroser S.A., Bogotá D.C., Colombia)

2.3.4 Desarrollo del tizón por ascochyta, mildew veloso y mildew polvoso en el cultivo de arveja

La incidencia y severidad del tizón foliar, de mildew veloso y de mildew polvoso en los experimentos 1 y 2 se determinó semanalmente (a partir de los 28 DDS hasta los 104 DDS en el experimento 1, y a partir de los 49 DDS hasta 112 DDS para el experimento 2), mediante inspección visual de las plantas en cada tratamiento considerando la presencia de los síntomas de cada enfermedad. La evaluación de tizón foliar por ascochyta [complejo que involucra los patógenos *Ascochyta pisi*, *Mycosphaerella pinodes* y *Phoma medicaginis* (Sivachandra y Banniza, 2017) se hizo mediante la identificación de manchas irregulares de color marrón oscuro, borde indefinido y forma irregular o manchas circulares ligeramente hundidas con centro de color marrón claro, borde oscuro definido y presencia de picnidios (Liu et al., 2016; Sivachandra y Banniza, 2017). En mildew veloso (*Peronospora viciae*) se evaluó la presencia de manchas cloróticas en el haz de las hojas y presencia de estructuras del patógeno de aspecto afelpado en el envés de estas, y síntomas en tallos y vainas (Liu et al., 2013; Soylu et al., 2020). La presencia de mildew polvoso (*Erysiphe pisi*) se evaluó como manchas de color blanco de aspecto polvoso (Fondevilla y Rubiales, 2012).

Adicionalmente, se recolectaron muestras de material vegetal afectado por las tres enfermedades y se llevaron al laboratorio de Sanidad Vegetal de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Colombia sede Bogotá, para la inspección de síntomas y confirmación de la presencia del posible agente causal. La confirmación de *P. viciae* y de *E. pisi* en el material muestreado se realizó mediante inspecciones histológicas y observación de las estructuras del patógeno (Gilchrist-Saavedra et al., 2005). El aislamiento de *Ascochyta*, se realizó a partir de tejido afectado en el medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA) (Oxoid®, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, US) siguiendo el protocolo de Ortiz et al. (2011).

La evaluación de las enfermedades se realizó en el tercio bajo, medio y alto de la planta mediante el uso de escalas de severidad reportadas para las enfermedades de interés en ambos experimentos. La escala de severidad propuesta por Torres et al. (2017) se utilizó para el tizón por ascochyta donde: 0) sin evidencia visible de la enfermedad; 1) 0-3%; 2) 3-6%; 3) 6-12%; 4) 12-25%; 5) 25-50%; 6) 50-75% y 7) > 75% de tejido afectado. Mildew veloso se evaluó siguiendo la escala reportada por Falloon et al. (1995) donde: 0) 0% de

área foliar afectada; 1) 5%; 2) 10%; 3) 15%; 4) 20%; 5) 33%; 6) 46%; 7) 60%; 8) 73%; 9) 86% y 10) 100% de área foliar afectada. La severidad de mildew polvoso se evaluó siguiendo la escala propuesta por Sun et al. (2016) donde: 0) hojas sin signos visibles, 1) pocas colonias con una película de crecimiento de micelio y micelio con poca esporulación, 2) pocas colonias contables con evidente crecimiento de micelio y micelio con ligera esporulación, 3) colonias incontables con abundante crecimiento de micelio y micelio con moderada a pesada esporulación y 4) hojas afectadas totalmente cubiertas de micelio. Posteriormente, para cada una de las enfermedades se determinó el índice de severidad (DSI) usando la ecuación 1 descrita por Chiang et al. (2017).

$$\text{Ec. 1} \quad DSI = (\sum(nv)/V)$$

Donde, n es el nivel de afectación según la escala, v es el número de plantas presentes en cada nivel y V es el número total de plantas evaluadas.

El área bajo la curva del progreso de la enfermedad (AUDPC) en cada tratamiento durante el ciclo del cultivo, se determinó siguiendo el método de integración trapezoidal con la ecuación 2 (Campbell y Madden, 1990):

$$\text{Ec. 2} \quad AUDPC = \left\{ \sum_{i=1}^{n-1} [(y_i + y_{i+1})/2] * (t_{i+1} - t_i) \right\}$$

Donde n es el número de evaluaciones, y_i y y_{i+1} son los valores de la escala de severidad presentados en cada tiempo de evaluación y $(t_{i+1} - t_i)$ corresponde al intervalo de tiempo entre evaluaciones.

Adicionalmente, se evaluó el área foliar afectada por *Ascochyta* spp. en cada tratamiento para los dos experimentos. Para esto, se evaluaron diez hojas de la planta tomadas al azar a los 80, 92 y 104 DDS (experimento 1) y a los 91, 98 y 104 DDS (experimento 2) en etapa de floración y maduración de vainas. Las hojas muestreadas se llevaron al laboratorio para el registro fotográfico y posteriormente se calculó el área afectada usando el programa de procesamiento de imágenes Java (Image J; National Institute of Mental Health, Bethesda, MD, USA). Teniendo en cuenta el protocolo descrito por Pride et al.

(2020), se determinó el valor del área foliar afectada con base en la diferencia entre el área total de las hojas y el área foliar sana.

La eficacia de los tratamientos fue calculada teniendo en cuenta el DSI a los 104 DDS del tratamiento control (0 Si + 0 F) con respecto a cada tratamiento, utilizando la ecuación 3 descrita por Shabana et al. (2017).

$$\text{Ec. 3} \quad \text{Eficiencia (\%)} = \left[\frac{(DSI \text{ 0 Si + 0 F}) - (DSI \text{ Tx})}{(DSI \text{ 0 Si + 0 F})} \right] * 100$$

Donde, $(DSI \text{ 0 Si + 0 F})$ es el índice de severidad del tratamiento $0 \text{ Si} + 0 \text{ F}$ y $DSI \text{ Tx}$ corresponde al índice de severidad del tratamiento para el cual se determina la eficacia.

2.3.5 Determinación de variables fisiológicas en plantas de arveja

Como variables de respuesta fisiológica de las plantas a los diferentes tratamientos se evaluó la conductancia estomática (gs), contenido relativo de clorofila y parámetros de fluorescencia de la clorofila (Φ_2 y NPQt). La gs se estimó con un porómetro portátil (SC-1, METER Group Inc., EE. UU.) a partir de una hoja completamente extendida en la parte media del dosel (Chávez-Arias et al., 2020). El contenido relativo de clorofila se determinó con un clorofilómetro (AtLeaf, FT Green LLC Wilmington, US) en las mismas hojas donde se determinó la gs (Castro-Duque et al., 2020). Finalmente, se estimó el rendimiento cuántico del fotosistema II (Φ_2) y quenching no fotoquímico (NPQt) con un fluorímetro de campo MultispeQ (Photosynq, Michigan, US) (Fernández-Calleja et al., 2020). Las mediciones se realizaron a los 87 y 120 DDS (experimento 1) y 84 DDS (experimento 2).

2.3.6 Parámetros de crecimiento de la planta

Como variables de crecimiento y desarrollo, en cada tratamiento se evaluó la tasa relativa de crecimiento (TRC) y la altura de la planta. La TRC fue evaluada únicamente en el experimento 1. Para esto, desde los 43 hasta los 80 DDS se midió semanalmente la longitud de una rama lateral de la parte media de la planta. Posteriormente, se calculó la TRC mediante la ecuación 4 descrita por Wang et al. (2014).

$$\text{Ec. 4} \quad TRC = \frac{\ln LT \text{ T2} - \ln LT \text{ T1}}{DM2 - DM1}$$

Donde, $LT T2$ es la longitud de la rama (cm) en el tiempo 2, $LT T1$ es la longitud de la rama (cm) en el tiempo 1 y $DM2 - DM1$ son el número de días entre el muestreo 2 y el muestreo 1.

La altura de la planta (cm) fue evaluada únicamente en el experimento 2. Se registró manualmente con cinta métrica, tomando la longitud desde la base (nivel del suelo) hasta el ápice de la planta (Han et al., 2018). Las mediciones se registraron semanalmente desde los 28 hasta los 104 DDS.

2.3.7 Concentración de nitrato, calcio y potasio en savia y concentración foliar de silicio

Se muestrearon diez peciolos del tercio medio de la planta por parcela a los 120 DDS (experimento 1) y 94 DDS (experimento 2). Para obtener la concentración de NO_3^- , Ca^{+2} y K^+ se realizó la extracción de la savia con una prensa mecánica y la respectiva lectura se realizó en un ionómetro para cada elemento (Horiba, Kioto, JA). Para la concentración foliar de Si, se recolectaron del tercio medio entre 30 a 40 hojas al azar por unidad experimental, se dejaron secar a 65 °C por 72 h, se molieron y tamizaron y posteriormente se determinó la concentración de Si por medio de análisis colorimétrico utilizando 0,1 g de tejido seco (Bueno et al., 2017).

2.3.8 Componentes de rendimiento del cultivo

A los 120 DDS en ambos experimentos se tomaron cuatro plantas por tratamiento para la evaluación de los componentes de rendimiento. En cada planta se evaluó el número de vainas por planta, la longitud de las vainas (diez vainas), el número de granos por vaina (diez vainas) y el peso de 1000 semillas en fresco (Melo y Ligarreto, 2010; Ejaz et al., 2020). El rendimiento del cultivo se determinó siguiendo la ecuación 5 descrita por Önder et al. (2013).

$$\text{Ec. 5} \quad \text{Rendimiento} = \frac{(VP*NP)*NGV*P1000S}{100.000}$$

Donde, VP es el número de vainas por planta, NP es el número de plantas en un m^2 (6.6 plantas· m^2), NGV es el número de granos por vaina y $P1000S$ corresponde al peso fresco de 1000 semillas.

2.3.9 Diseño experimental y análisis estadístico

En el primer experimento los tratamientos consistieron en la aplicación de Si (0, 75, 50 y 25%) y diferentes frecuencias de aplicación de fungicidas (0, 25, 50, 75 y 100%). En el segundo experimento se realizó la aplicación de Si acidulado (0, 25, 50 y 100%) y la aplicación de fungicidas según el monitoreo y nivel de severidad de la enfermedad. Los datos obtenidos fueron analizados siguiendo un diseño de parcelas subdivididas (experimento 1) y bloques completamente al azar (experimento 2) donde cada tratamiento consideró cinco repeticiones (parcelas). El análisis de datos de todos los experimentos se realizó con el software Statistix v 9.0 (Software analítico, Tallahassee, FL, US) y sometidos a un análisis de varianza (ANOVA). Cuando se encontraron diferencias significativas ($p \leq 0,05$) de los tratamientos sobre la variable medida, se aplicó la prueba de Tukey para comparación de medias de los tratamientos. Finalmente, las gráficas se realizaron en el programa SigmaPlot 12.0 (Systat Software, San Jose, CA, US).

2.4 Resultados

En los dos experimentos las plantas de arveja presentaron los síntomas característicos generados por *Ascochyta* spp., *P. viciae* y *E. pisi*. Estas enfermedades se observaron en los diferentes tratamientos evaluados tanto con aplicaciones edáficas como foliares y en los controles. Mediante observaciones al microscopio se confirmó la morfología característica para cada género de los tres fitopatógenos blanco. Para el caso de las manchas necróticas, circulares, color marrón de borde definido y presencia de anillos concéntricos, se confirmó la presencia de picnidios color marrón oscuro, globosos, con su ostiolo en la parte superior, con picnidiosporas hialinas de dos células, según lo reportado por Davidson (2012) y Padder et al. (2012). En medio de cultivo PDA se observaron colonias de color blanco de aspecto algodonoso, crecimiento lento, micelio septado y la formación de clamidosporas pigmentadas, de color marrón oscuro, esféricas, dispuestas en solitario o en cadena (Figura 2-1A-F), con lo cual se confirmó a *Ascochyta* spp. como el agente causal asociado a los síntomas mencionados anteriormente.

La presencia de manchas cloróticas en el haz de las hojas y estructuras reproductivas en el envés se asociaron con *P. viciae*. En cortes histológicos de hojas afectadas se observaron esporangióforos hialinos, delgados, rectos o ligeramente curvos, con ramificaciones dicotómicas y esporangios hialinos en la parte terminal del esporangióforo, estructuras que coinciden con lo reportado por Soylu et al. (2020) (Figura 2-1G-I). La presencia de *E. pisi* asociado a manchas blancas de aspecto polvoso tanto en el haz como envés de las hojas se confirmó por la presencia de conidias unicelulares, basipetalas, agrupadas en cadena, hialinas formadas sobre conidióforos cortos y simples, hialinos, y cleistotecios de forma esférica, según lo descrito por Parthasarathy et al. (2017) (Figura 2-1J-L).

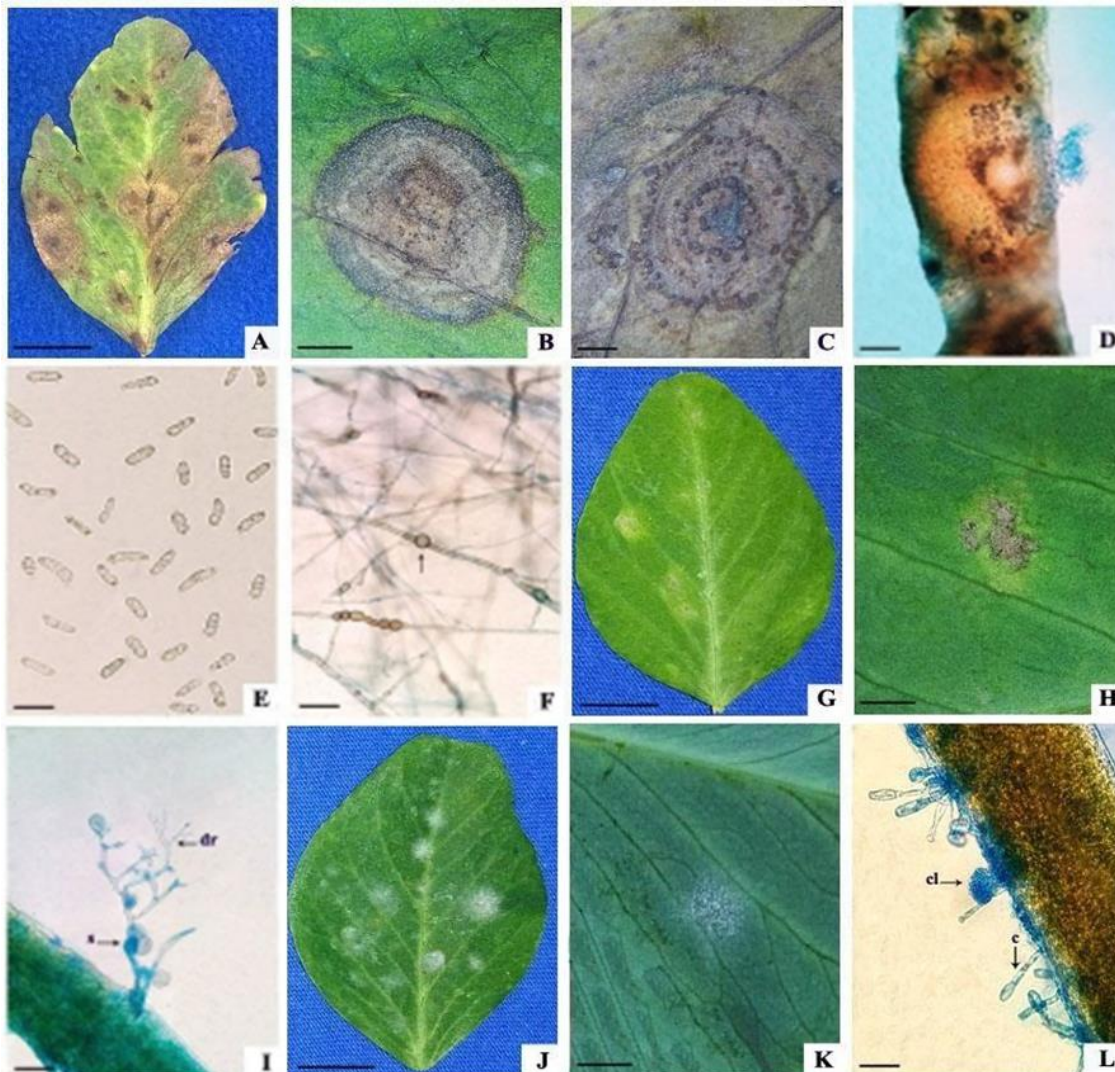


Figura 2-1. Síntomas y signos de las enfermedades foliares que se presentaron en las plantas de arveja variedad Vizcaya. **A-B.** *Ascochyta* spp. **C.** Picnidios de *Ascochyta* spp. en tejido foliar. **D.** Picnidio de *Ascochyta* spp. en corte transversal de hoja (40x). **E.** Conidias de *Ascochyta* spp. (40x) **F.** Clamidosporas de *Ascochyta* spp. en medio PDA (40x). **G.** Síntomas ocasionados por *Peronospora viciae*. **H.** Detalle de la esporulación de *P. viciae* en hojas. **I.** Detalle de esporangioforos y esporangios de *P. viciae* en corte histológico (40x). **J.** Manchas blanquecinas polvosas por *Erysiphe pisi* en hojas. **K.** Detalle esporulación de *E. pisi*. **L.** Corte histológico de tejido de hoja afectada mostrando estructuras típicas de *E. pisi* (40x). Esporangios (s); esporangios con ramificaciones dicotómicas (dr); conidias (c); cleistotecios en formación (d). Barra de magnitud: A, G, J = 10 mm; B, H, K = 5 mm; C, D, I, L = 50 μ m; E, F = 50 μ m.

2.4.1 Experimento 1: efecto del silicio sobre el desarrollo de enfermedades foliares y comportamiento agronómico del cultivo de arveja

El resumen del análisis de varianza del efecto de los tratamientos con Si más fungicidas y su interacción con el desarrollo de enfermedades y la fisiología de las plantas de arveja para este experimento, se muestra en la Tabla 2-4. Mildew polvoso se presentó al final del experimento, por tanto, los datos no fueron representativos. Como resultado se encontró que los tratamientos con Si incidieron en el desarrollo de las distintas enfermedades evaluadas.

Tabla 2-4. Resumen del análisis de varianza del efecto de las fuentes de silicio (básico o acidulado), su forma de aplicación (edáfica o foliar) y la frecuencia de aplicación de fungicidas (0, 25, 75 y 100%) en el desarrollo de enfermedades foliares, variables fisiológicas y agronómicas de plantas de arveja.

			Fuente de variación						
			Fuente de Silicio	Forma aplicación	Fungicida	Fungicida x Silicio	Fungicida x forma	Forma x Silicio	Fungicida x forma x silicio
AUDPC	Tizón por ascochyta	Tercio bajo	**	NS	**	NS	NS	NS	NS
		Tercio medio	NS	NS	**	NS	NS	**	NS
	Mildeo veloso	Tercio bajo	NS	**	**	NS	NS	NS	NS
		Tercio medio	NS	**	**	NS	**	NS	NS
Índice de severidad (104 DDS)	Tizón por ascochyta	Tercio bajo	**	NS	**	NS	NS	**	NS
		Tercio medio	NS	NS	**	NS	**	NS	NS
	Mildeo veloso	Tercio bajo	NS	NS	**	NS	**	NS	NS
		Tercio medio	NS	**	**	NS	**	NS	NS
Área afectada por ascochyta (104 DDS)			NS	**	**	NS	NS	NS	NS
Eficacia	Tizón por ascochyta		**	NS	**	NS	NS	**	NS
Tasa relativa de crecimiento (TRC)			NS	**	**	NS	NS	NS	NS
Fisiología	Gs		NS	**	**	NS	**	NS	NS
	SPAD		NS	NS	**	NS	NS	NS	NS
	Phi2		NS	**	NS	NS	NS	NS	**
	NPQt		NS	NS	**	NS	NS	NS	NS
Concentración de elementos en savia y Si foliar	NO-3		**	**	**	NS	NS	NS	NS
	Ca+2		NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
	K+		NS	**	**	NS	NS	NS	NS
	Si+2		NS	NS	**	NS	NS	NS	NS
Rendimiento	Vainas por planta		NS	**	**	NS	**	NS	NS
	Granos por vaina		NS	NS	**	NS	NS	NS	NS
	Peso fresco de 100 semillas		NS	**	**	NS	NS	NS	NS
	longitud de vainas		NS	NS	**	NS	NS	NS	NS
	Rendimiento de semillas		NS	NS	**	NS	**	NS	NS

** indican diferencias significativas entre los tratamientos de acuerdo con la prueba de Tukey ($p \leq 0,05$). NS, no significativo.

La enfermedad tizón por ascochyta se presentó desde las hojas más viejas hacia las más jóvenes de la planta, por lo que el nivel de severidad (DSI) a los 104 DDS, fue más alto en el tercio bajo de planta (entre 2,76 a 3,76 para el tercio bajo y entre 0,63 a 1,60 en el tercio medio). Las diferencias entre los tratamientos con distintas frecuencias de aplicación y la forma de aplicación se representan en la Tabla 2-5. Con respecto a la aplicación edáfica o foliar de Si, el DSI del tizón por ascochyta en el tercio bajo a los 104 DDS no presentó diferencias significativas ($p > 0,05$) entre tratamientos. Sin embargo, en el tercio medio se presentaron diferencias significativas, siendo el control positivo (0Si+100F) el de menor DSI (0,63), seguido de los tratamientos 75Si+25F (edáfico) y 25Si+75F (foliar) con un valor de 0,73 en los dos casos; el control negativo (0Si+0F) presentó el mayor DSI (1,60).

Tabla 2-5. Índice de severidad (DSI) de tizón por ascochyta y mildew veloso a los 104 DDS en el tercio bajo y medio de la planta de arveja variedad Vizcaya con aplicaciones de silicio edáfico y foliar (0, 75, 50 y 25%) y diferentes frecuencias de aplicación de fungicidas (0, 25, 50, 75 y 100 %). Los datos presentados corresponden a las dos fuentes de silicio acidulado y básico (ASi y BSi) según la tabla 2-4.

Tratamiento	Tizón por ascochyta		Mildew veloso	
	Tercio bajo	Tercio medio	Tercio bajo	Tercio medio
<i>Aplicación edáfica</i>				
0Si+0F	3,73 a	1,60 a	0,08 a	0,90 a
75Si+25F	2,85 a	0,73 c	0,01 b	0,64 b
50Si+50F	2,84 a	0,86 bc	0,06 b	0,70 ab
25Si+75F	2,76 a	0,79 bc	0,03 b	0,58 b
0Si+100F	2,78 a	0,63 c	0,03 b	0,63 b
<i>Aplicación foliar</i>				
0Si+0F	3,73 a	1,60 a	0,08 a	0,90 a
75Si+25F	3,09 a	1,18 b	0,06 b	0,89 a
50Si+50F	2,85 a	0,84 bc	0,01 b	0,81 ab
25Si+75F	2,85 a	0,73 c	0,05 b	0,76 ab
0Si+100F	2,78 a	0,63 c	0,03 b	0,63 b

Letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos de acuerdo con la prueba de Tukey ($p \leq 0,05$). Mismas letras, no significativo.

En el caso de mildew velloso, aunque se presentó desde las hojas más viejas hacia las más jóvenes, el nivel de severidad fue más alto en el tercio medio de la planta (entre 0,01 a 0,08 para el tercio bajo y entre 0,58 a 0,90 para el tercio medio). En el tercio bajo el DSI solo presentó diferencias ($p \leq 0,05$) con respecto al control negativo 0Si+0F (0,8). En el tercio medio, los tratamientos con Si edáfico 25Si+75F, 50Si+50F y 75Si+25F presentaron los valores más bajos de DSI (0,58, 0,70 y 0,64 respectivamente) con relación a los tratamientos foliares 25Si+75F, 50Si+50F y 75Si+25F (0,76, 0,81 y 0,89 respectivamente); el control negativo registró los valores más altos de DSI (0,90).

Para el caso del área bajo la curva del progreso de la enfermedad según la severidad (AUDPC) (Tabla 2-6), para el tizón por ascochyta se observaron valores más altos en el tercio bajo de la planta (entre 35,19 a 211,99 en el tercio bajo y entre 5,10 a 12,74 en el tercio medio), y en el caso de mildew velloso los valores más altos de AUDPC se presentaron en el tercio medio de la planta (entre 2,44 a 5,40 en el tercio bajo y entre 8,46 a 15,43 en el tercio medio). En el tercio bajo se presentaron diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre los tratamientos para las dos enfermedades. En este caso, las plantas del control positivo (0Si+100F) tuvieron los valores más bajos de tizón por ascochyta y mildew velloso (35,19 y 2,44 respectivamente), seguido del tratamiento 25Si+75F (45,83 y 3,85 respectivamente), esto con respecto al control negativo (0Si+0F) (211,99 y 4,92 respectivamente).

En el tercio medio de la planta también se presentaron diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre tratamientos para estas dos enfermedades. En el caso de mildew velloso se observaron tendencias similares a las encontradas en el tercio bajo, sin embargo, el tratamiento 25Si+75F registró el menor valor de AUDPC (8,46), seguido del control positivo (0Si+100F) y los tratamientos 75Si+25F y 50Si+50F (9,18, 9,91 y 10,35 respectivamente); el valor más alto en este caso se presentó en el control 0Si+0F (15,43). Con respecto al tizón por ascochyta, los tratamientos 25Si+75F y 50Si+50F presentaron los menores valores (5,10 y 5,46 respectivamente), seguido del control positivo (0Si+100F) y el tratamiento 75Si+25F (6,20 y 6,80 respectivamente). El valor más alto de AUDPC se presentó nuevamente en el control negativo (12,74).

Tabla 2-6. Área bajo la curva de progreso de la enfermedad (AUDPC) con respecto a la severidad de tizón por *ascochyta* y de mildew vellosa en el tercio bajo y medio de la planta de arveja variedad Vizcaya con aplicación de silicio (0, 75, 50 y 25%) y diferentes frecuencias de aplicación de fungicidas (0, 25, 50, 75 y 100%). Los datos presentados corresponden a las dos fuentes de silicio acidulado y básico (ASi y BSi) y las formas de aplicación (foliar o edáfica) según la tabla 2-4).

Tratamiento	Tizón por <i>ascochyta</i>		Mildew vellosa	
	Tercio bajo	Tercio medio	Tercio bajo	Tercio medio
0Si+0F	211,99 a	12,74 a	4,92 ab	15,43 a
75Si+25F	54,89 b	6,80 b	4,30 ab	9,91 b
50Si+50F	51,07 b	5,46 b	5,40 a	10,35 b
25Si+75F	45,83 bc	5,10 b	3,74 ab	8,46 b
0Si+100F	35,19 c	6,20 b	2,44 b	9,18 b

Letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos por tercio de acuerdo con la prueba de Tukey ($p \leq 0,05$).

Con respecto al área foliar afectada (AFA) por *Ascochyta* spp. no se presentaron diferencias significativas ($p > 0,5$) entre los tratamientos con aplicaciones de Si y el control 0Si+100F. Con respecto al control negativo (0Si+0F) se encontraron diferencias significativas, siendo este último el que presentó el valor más alto (1,41 cm²) (Figura 2-2A). Por otro lado, en la eficacia se presentaron diferencias con respecto a la fuente de Si aplicado, observándose una tendencia de mayor eficacia hacia el ASi con respecto al BSi. La mayor eficacia de la aplicación de Si ante la presencia del tizón por *ascochyta* se observó en los tratamientos 50ASi+50F (25,84%), 25ASi+75F (24,98%) y 25BSi+75F (23,96), con respecto a los tratamientos 75BSi+25F (16,04) y 50BSi+50F (21,29%), donde se presentó el porcentaje de eficacia más bajo. La eficacia del control con aplicación de fungicidas (0Si+100F) fue del 34,11% (Figura 2-2B).

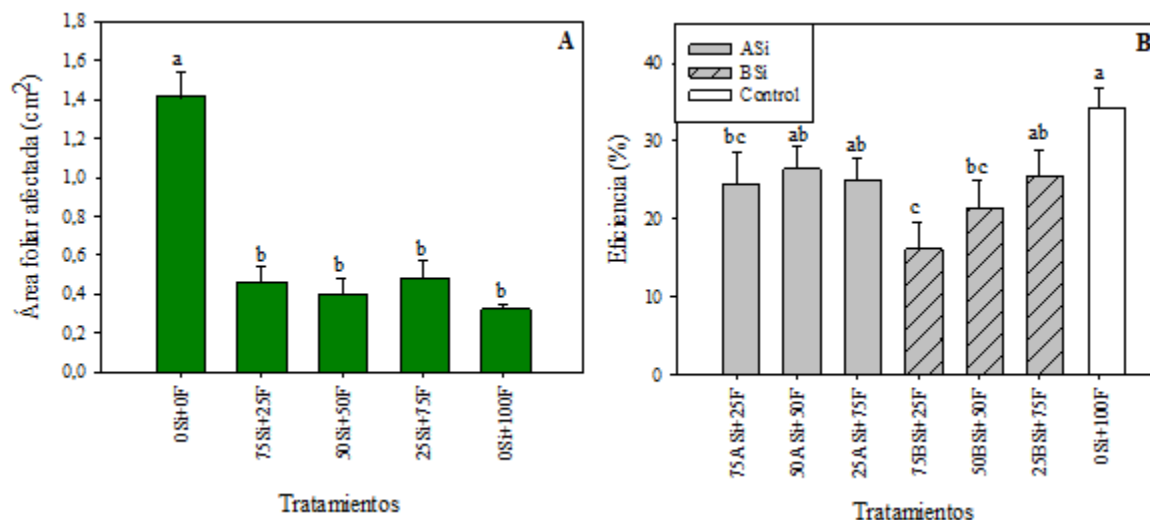


Figura 2-2. A. Área foliar afectada (cm^2) por tizón por ascochyta en plantas de arveja variedad Vizcaya tratadas con silicio (0, 75, 50 y 25%) y diferentes frecuencias de aplicación de fungicidas (0, 25, 50, 75 y 100%). **B.** Eficacia de tratamientos bajo aplicación de silicio acidulado (ASi) y básico (BSi). Letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos de acuerdo con la prueba de Tukey ($p \leq 0,05$).

El efecto del Si sobre la TRC y parámetros fisiológicos a los 82 DDS se presentan en la Tabla 2-7. El control negativo (0Si+0F) presentó un valor de $6,95 \text{ cm} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ de TRC, siendo el valor más bajo. En este sentido, los tratamientos 25Si+75F y 75Si+25F favorecieron la TRC, teniendo en cuenta que presentaron los valores de TRC más altos ($11,96$ y $11,25 \text{ cm} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, respectivamente), comparados con el tratamiento de aplicación única de fungicidas donde la TRC fue tan solo de $9,79 \text{ cm} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$. Sobre la conductancia estomática (gs), el valor más alto se presentó en el control positivo 0Si+100F ($340,55 \text{ mmol m}^{-1} \cdot \text{s}^{-2}$). Los tratamientos con aplicación de Si favorecieron la gs, aumentando está en las plantas de arveja con respecto al control negativo ($255,46 \text{ mmol m}^{-1} \cdot \text{s}^{-2}$). En cuanto al contenido relativo de clorofila (SPAD), se presentaron diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre tratamientos. En los tratamientos en los que se suministró alguna concentración de Si se presentaron valores SPAD más bajos ($37,37$, $38,57$ y $38,11$) con respecto a los controles 0Si+0F y 0Si+100F ($39,68$ y $40,84$ respectivamente). Para el parámetro de fluorescencia NPQt, los tratamientos con Si presentaron los valores más altos ($1,09$, $0,91$ y $1,28$) y los respectivos controles mostraron los valores más bajos ($0,64$ y $0,77$).

Finalmente, para el parámetro Phi2 no se presentaron diferencias ($p > 0,05$) entre los tratamientos evaluados.

Tabla 2-7. TRC, gs, SPAD, Phi2 y NPQt de plantas de arveja a los 82 días después de la siembra bajo aplicaciones de silicio (0, 75, 50 y 25%) y diferentes frecuencias de aplicación de fungicidas (0, 25, 50, 75 and 100 %).

Tratamiento	TRC	Gs	SPAD	Phi2	NPQt
0Si+0F	6.95 b	255.46 d	39.68 ab	0.61 NS	0.64 d
75Si+25F	11.25 ab	303.59 b	37.37 c	0.56 NS	1.09 ab
50Si+50F	7.60 ab	272.47 cd	38.57 bc	0.57 NS	0.91 bc
25Si+75F	11.96 a	286.34 bc	38.11 bc	0.54 NS	1.28 a
0Si+100F	9.79 ab	340.55 a	40.84 a	0.61 NS	0.77 cd

Letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos de acuerdo con la prueba de Tukey ($p \leq 0,05$). NS, no significativo.

TCR - tasa relativa de crecimiento.

gs - conductancia estomática.

SPAD - contenido relativo de clorofila.

Phi2 – eficiencia del fotosistema II.

NPQt – quenching no fotoquímico.

La concentración de elementos en savia como nitrato y potasio (Figura 2-3A, C), presentaron diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre tratamientos, siendo el tratamiento 75Si+25F en el que se encontró un mayor contenido de estos elementos (373,13 y 2925,00 mg L⁻¹ respectivamente). En contraste, los contenidos de calcio (Figura 2-3B), no presentaron diferencias significativas ($p > 0,05$). En la Figura 2-3D se presenta la concentración foliar de Si, donde los tratamientos 75Si+25F, 50Si+50F y 25Si+75F presentan el porcentaje más alto (0,16%, 0,19% y 0,16%) a diferencia de los controles donde la concentración de Si fue de 0,11% y 0,12% respectivamente.

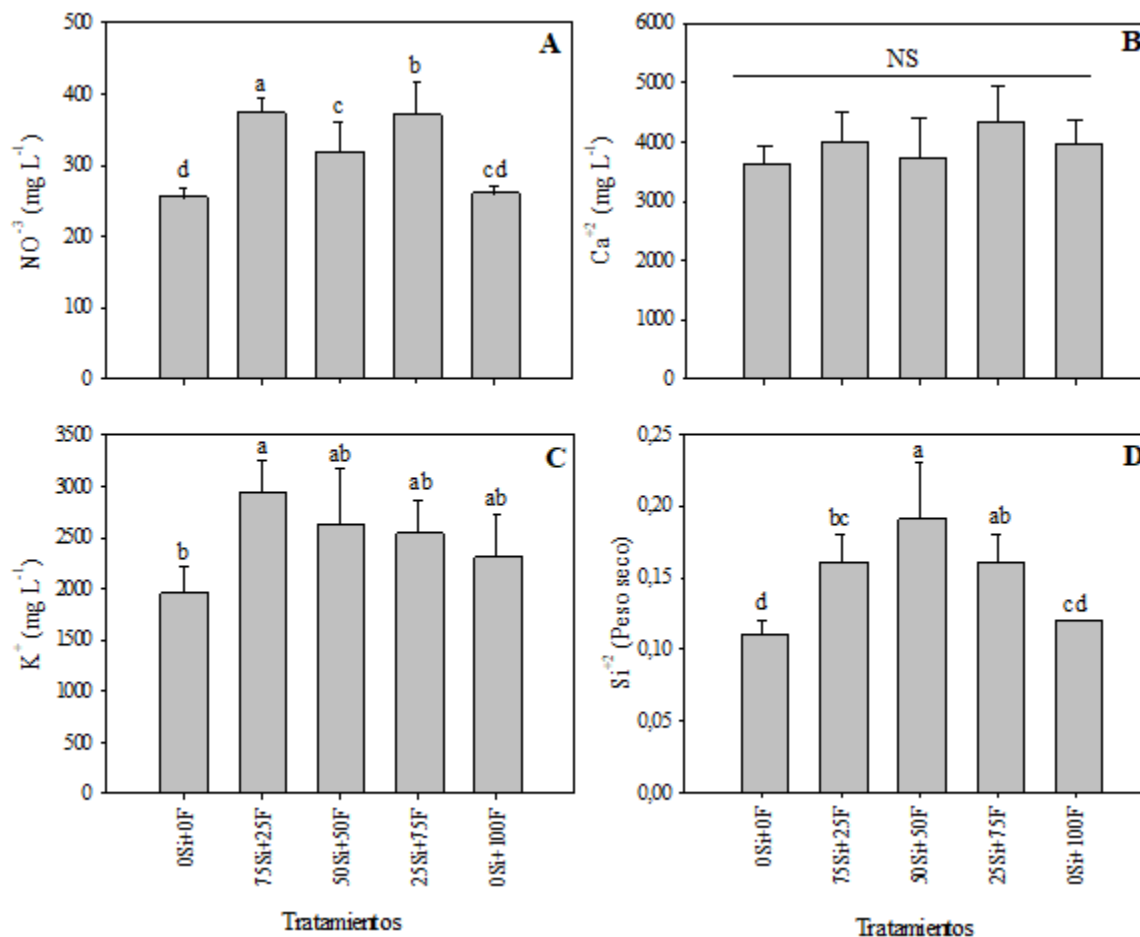


Figura 2-3. Concentración de nitratos, calcio y potasio en savia y concentración de silicio foliar en plantas de arveja tratadas con Si (0, 75, 50 y 25%) y diferentes frecuencias de aplicación de fungicidas (0, 25, 50, 75 y 100%). **A.** Nitrato (NO³⁻). **B.** Calcio (Ca²⁺). **C.** Potasio (K⁺) y **D.** Silicio (Si²⁺). Letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos de acuerdo con la prueba de Tukey ($p \leq 0,05$). NS, no significativo.

Las variables de rendimiento como vainas/planta, número de granos/vaina, peso fresco de 100 semillas, longitud de vainas y rendimiento/planta se presentan en la Figura 2-4A-B. El número de vainas/planta en los diferentes tratamientos con aplicación de Si fue mayor con respecto al tratamiento control 0Si+0F (34 vainas/planta) pero, menor al observado en el control 0Si+100F (53 vainas/planta). Situación similar se presentó en las variables peso fresco de 100 granos y rendimiento, donde el valor más bajo se registró en el control 0Si+0F (64 g y 5,12 t·ha⁻¹). Con respecto al número de granos/vaina y longitud de vainas

se presentaron diferencias significativas entre tratamientos ($p \leq 0,05$); sin embargo, el valor promedio se mantuvo en 7 granos/vaina y 9 cm respectivamente entre los tratamientos evaluados, excepto el control 0Si+0F donde se obtuvo 6,61 granos/vaina y 8,64 cm de longitud. El aspecto y color de las vainas cosechadas en plantas bajo tratamientos de Si fue similar a las obtenidas en las plantas con control químico 0Si+100F (Figura 2-4C).

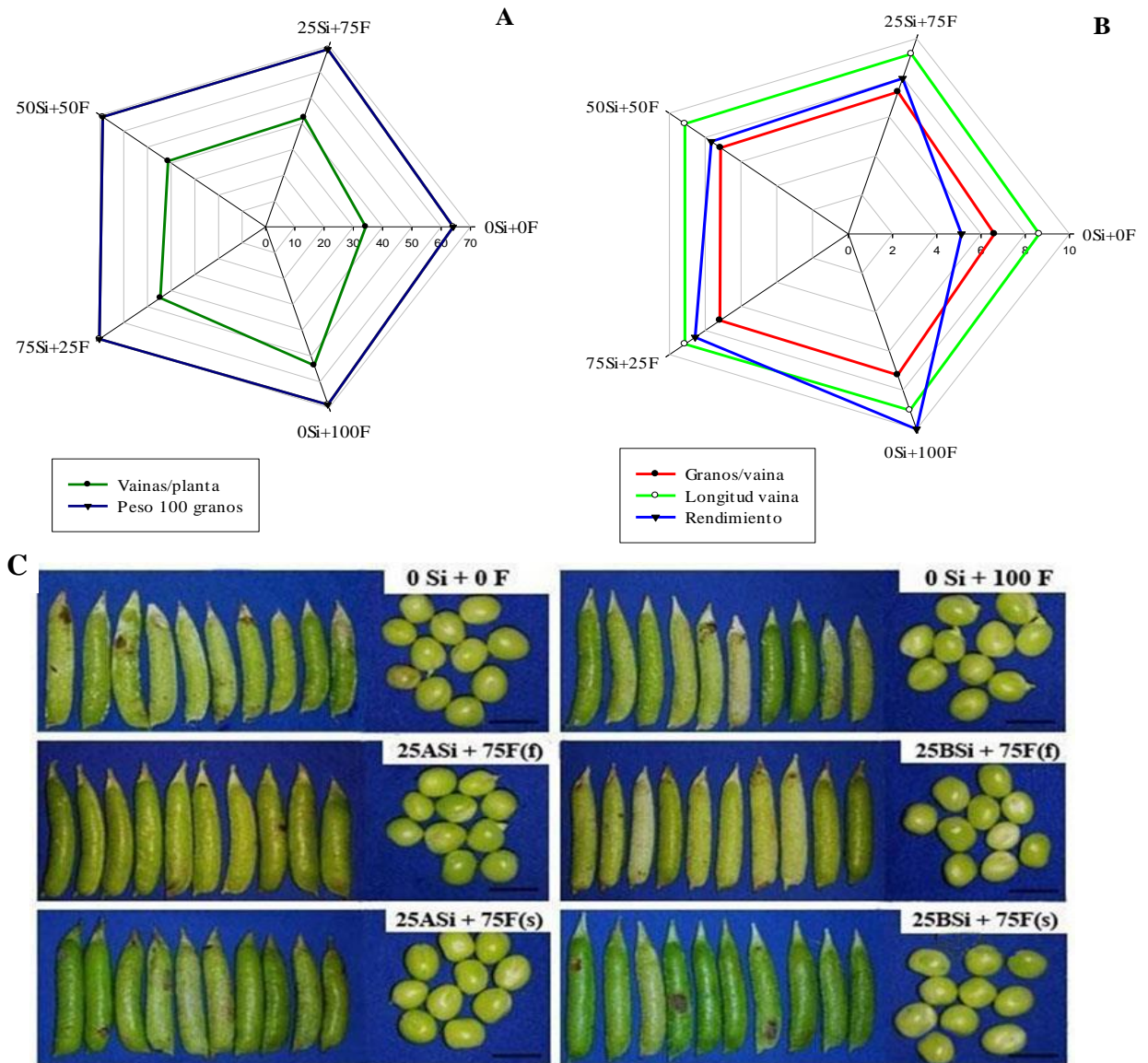


Figura 2-4. Componentes de rendimiento en plantas de arveja variedad Vizcaya con aplicación de silicio (Si) (0, 75, 50 y 25%) y diferentes frecuencias de aplicación de fungicidas (0, 25, 50, 75 y 100%). **A.** Vainas por planta, peso fresco de 100 semillas (g).

B. granos por vaina, longitud de vainas (cm) y rendimiento ($t \cdot ha^{-1}$). **C.** Vainas y granos de arveja con Si acidulado y básico bajo aplicación edáfica (s) y foliar (f).

2.4.2 Experimento 2: aplicación de Si acidulado y fungicidas según el nivel de severidad enfermedades foliares del cultivo de arveja

En este experimento se presentaron las tres enfermedades, *Ascochyta* spp., mildew veloso causado por *P. viciae* y mildew polvoso causado por *E. pisi* durante toda la etapa del cultivo; sin embargo, el análisis de datos no arrojó diferencias significativas ($p > 0,05$) entre las variables de enfermedad evaluadas para mildew veloso y mildew polvoso. Para el caso del tizón por *ascochyta*, el DSI a los 112 DDS y el AUDPC presentaron diferencias significativas ($p \leq 0,05$) principalmente en el tercio bajo de la planta. De acuerdo con los niveles de severidad, se realizaron en total cuatro aplicaciones de fungicidas para esta enfermedad durante el ciclo del cultivo. Los tratamientos con aplicación edáfica de Si no presentaron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre sí, en el valor de AUDPC con respecto al control 0Si+100F (139,16) (Tabla 2-8). El valor más bajo de AUDPC se presentó en el tratamiento foliar 50Si+50F (136,50), el cual no fue significativamente diferente ($p > 0,05$) del control positivo (0Si+100F). En el control negativo (0Si+0F) se observó el AUDPC más alto (169,26) con diferencias significativas con respecto al resto de los tratamientos evaluados. Con respecto a los valores de DSI a los 112 DDS (Tabla 2-8), los tratamientos control 0Si+0F y 0Si+100F presentaron los valores más altos (5,56 y 4,76 respectivamente). El DSI más bajo se presentó en el tratamiento edáfico 25Si+75F (4,20).

Tabla 2-8. Desarrollo de tizón por ascochyta en plantas de arveja variedad Vizcaya bajo aplicaciones de Si edáfico y foliar (0, 75, 50 y 25%) y diferentes frecuencias de aplicación de fungicidas (0, 25, 50, 75 y 100 %).

Tratamiento	Tizón por ascochyta			
	AUDPC Tercio Bajo	DSI (112 DDS) Tercio Bajo	Área foliar afectada (cm ²)	Eficacia (%)
0Si+0F	169.26 a	5.56 a	2.42 a	-----
0Si+100F	139.16 b	4.76 ab	1.08 b	14.28 NS
100Si+0F (edáfico)	137.2 b	4.68 b	1.06 b	15.9 NS
50Si+50F (edáfico)	139.44 b	4.6 b	1.06 b	17.44 NS
25Si+75F (edáfico)	139.72 b	4.2 b	1.07 b	24.57 NS
100Si +0F (foliar)	145.88 b	4.52 b	1.16 b	18.55 NS
50Si+50F (foliar)	136.5 b	4.76 ab	0.96 b	14.44 NS
25Si+75F (foliar)	148.12 ab	4.72 b	1.07 b	14.98 NS
50Si+50F (foliar+edáfico)	146.86 ab	4.56 b	0.98 b	17.81 NS
25Si+75F (foliar+edáfico)	147.28 ab	4.56 b	0.89 b	17.92 NS

Letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos de acuerdo a la prueba de Tukey ($p \leq 0,05$). NS, no significativo.

Los resultados para el AFA por tizón por ascochyta se presentan en la Tabla 2-8. Para esta variable, tratamientos con aplicación de Si edáfico, foliar o en combinación no presentaron diferencias significativas ($p > 0,05$) con respecto al control, pero si con respecto al control negativo, el cual presentó el mayor valor de área foliar afectada (2,42 cm²). En la variable eficacia de tratamientos no se registraron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre los diferentes tratamientos evaluados. Por lo tanto, los tratamientos 100Si+0F (al suelo o foliar) o en combinación con fungicidas no se alejan de la eficacia en control de tizón por ascochyta alcanzado en el control positivo (0Si+100F).

VARIABLES DE CRECIMIENTO COMO ALTURA DE LA PLANTA Y FISIOLÓGICAS COMO FLUORESCENCIA (Phi2 y NPQt) A LOS 84 DDS Y DE RENDIMIENTO A LOS 105 DDS SE PRESENTAN EN LA TABLA 2-9. EL CRECIMIENTO DE LA PLANTA SE VIO FAVORECIDO EN TRATAMIENTOS CON APLICACIONES DE SI Y/O FUNGICIDA, TENIENDO EN CUENTA QUE EL CONTROL SIN APLICACIONES 0Si+0F PRESENTÓ LA MENOR ALTURA DE LA PLANTA (86,54 ± 2,40cm). LOS TRATAMIENTOS CON APLICACIÓN EDÁFICA DE SI 25Si+75F Y APLICACIÓN COMBINADA DE SI (EDÁFICA O FOLIAR) 50Si+50F PRESENTARON LOS VALORES

más altos ($103,68 \pm 1,57$ y $107,76 \pm 1,06$ cm) con respecto a los demás tratamientos. En los tratamientos 100Si+0F (edáfico), 50Si+50F (edáfico y foliar) y 25Si+75F (edáfico y foliar) el parámetro de fluorescencia Phi2 disminuyó significativamente ($p \leq 0,05$), mientras que para el NPQt se observaron los valores más altos ($1,36 \pm 0,26$, $1,64 \pm 0,23$ y $1,77 \pm 0,67$ respectivamente). Para estas variables, en los controles se observaron valores de $0,57 \pm 0,02$ y $0,60 \pm 0,02$ para Phi2 (0Si+0F y 0Si+100F respectivamente) y $1,28 \pm 0,28$ y $0,81 \pm 0,08$ en NPQt (0Si+0F y 0Si+100F respectivamente).

Tratamientos con aplicación de Si edáfico como 50Si+50F y 25Si+75F presentaron mayor número de vainas/planta, granos/vaina y longitud de vainas (cm) con respecto al control con aplicación de fungicidas (0Si+100F). El peso fresco de 100 granos (g) fue menor en el tratamiento 25Si+75F ($59,00 \pm 0,50$ g), pese a esto los dos tratamientos mantienen el rendimiento más alto ($12,71 \pm 1,88$ y $10,85 \pm 1,84$ t·ha⁻¹) en comparación con los controles 0Si+0F y 0Si+100F, donde se observaron valores de $7,18 \pm 1,50$ y $10,39 \pm 2,50$ t·ha⁻¹ respectivamente (Tabla 2-9).

Tabla 2-9. Efecto del silicio edáfico y foliar (75, 50 y 25%) y diferentes frecuencias de aplicación de fungicidas (0, 25, 50, 75 y 100 %) sobre variables fisiológicas y agronómicas del cultivo de arveja variedad Vizcaya.

Tratamiento	Variables fisiológicas			Variables de rendimiento				
	Altura de la planta	Phi2	NPQt	Vainas por planta	Granos por vaina	Peso fresco 100 semillas (g)	Longitud de vainas (cm)	Rendimiento (t·ha ⁻¹)
0Si+0F	86.54±2.4	0.56±0.0ab	1.28±0.3ab	33.33±7.8	6.00±0.4	54.50±0.6	8.62±0.0	7.18±1.5
0Si+100F	93.44±2.0	0.60±0.0a	0.81±0.1b	38.39±6.6	6.55±0.5	60.83±1.1	8.89±0.1	10.39±2.5
100Si+0F (e)	89.76±2.3	0.53±0.0ab	1.36±0.3ab	34.28±0.7	6.40±0.1	62.00±0.6	8.93±0.1	9.05±0.1
50Si+50F (e)	97.84±1.8	0.59±0.0ab	0.87±0.1b	44.83±7.0	6.87±0.2	62.17±1.9	9.23±0.2	12.71±1.9
25Si+75F (e)	103.68±1.6	0.60±0.0a	0.79±0.2b	40.72±8.1	6.85±0.1	59.00±0.5	9.15±0.1	10.85±1.8
100Si +0F (f)	98.40±1.1	0.57±0.0ab	1.25±0.3ab	35.50±1.6	6.53±0.2	61.00±1.5	8.96±0.2	9.48±0.9
50Si+50F (f)	95.96±1.2	0.57±0.0ab	1.10±0.3ab	37.89±2.3	6.62±0.2	61.50±0.8	9.21±0.2	10.24±0.5
25Si+75F (f)	96.92±2.3	0.57±0.0ab	1.10±0.3ab	38.11±7.8	6.47±0.1	62.33±1.5	9.13±0.2	10.31±2.3
50Si+50F (f+e)	107.76±1.1	0.53±0.0ab	1.54±0.2ab	36.00±2.7	6.86±0.4	62.83±0.7	9.15±0.1	10.25±0.4
25Si+75F (f+e)	94.20±1.7	0.47±0.0b	2.54±0.7 ^a	36.50±5.7	6.48±0.1	60.83±7.6	8.99±0.1	9.64±1.7

Letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos de acuerdo con la prueba de Tukey ($p \leq 0,05$).
 \pm indican el error estándar de los tratamientos.

2.5 Discusión

Los resultados obtenidos en plantas de arveja variedad Vizcaya confirman los efectos positivos de la aplicación de Si en el control de enfermedades. La aplicación de Si (foliar o edáfico) limitó el desarrollo del tizón foliar en arveja causado por *Ascochyta* spp., reduciendo el valor de AUDPC con respecto al control negativo (0Si+0F) en ambos experimentos. Estos resultados, coinciden con lo reportado por Dann y Muir (2002), quienes observaron una reducción del 40 al 70% de lesiones ocasionadas por *M. pinodes* en plantas de arveja cultivadas en dos tipos de sustrato con alto contenido de Si disponible para las plantas. En fríjol, la aplicación foliar de Si también redujo el AUDPC de *C. lindemuthianum* en un 23 y 34%, y la severidad disminuyó en 32% con respecto a plantas no tratadas con Si (Polanco et al., 2014; Rodrigues et al., 2015). Además, en ese mismo estudio, la severidad de la mancha angular de la hoja de fríjol causada por *Pseudocercospora griseola* se redujo en un 30 a 42% en tratamientos con aplicación de Si (Rodrigues et al., 2010).

La severidad del tizón por *ascochyta* se redujo en tratamientos con aplicación de Si edáfico y foliar, en comparación con el control 0Si+0F. Los resultados de este estudio coinciden con lo encontrado por Nolla et al. (2006) en plantas de soya cultivadas en suelo con alto contenido de Si, donde la incidencia de manchas por *Cercospora sojina* fue menor en comparación con el control. Por otro lado, Hasan et al. (2020) observaron una reducción de la severidad de la mancha chocolate causada por *Botrytis fabae* en plantas de haba con aplicación de nanopartículas de Si. En fresa, la aplicación foliar de Si redujo el desarrollo de manchas causadas por *Pestalotia longisetula* (Carré-Missio et al., 2010); además, la aplicación de Si edáfico y la combinación edáfico-foliar redujo el desarrollo del tizón foliar causado por *Phomopsis obscurans* (Abd-El-Kareem et al., 2019).

La resistencia a enfermedades inducida por el Si también se ha relacionado con la producción e incremento de enzimas como la polifenoloxidasas (PPO), la peroxidasa (PO) y fenilalanina amoniaco liase (PAL) en el hospedero, las cuales contribuyen a la activación de la biosíntesis de metabolitos secundarios (Ng et al., 2020). En el presente estudio, mildew polvoso se presentó al final de los experimentos (84 DDS en el experimento 1 y 91 DDS en el experimento 2). Sin embargo, la efectividad del Si ha sido ampliamente evaluada

en enfermedades causadas por patógenos obligados como mildew polvoso causado por *Podosphaera xanthii* en zucchini (Savvas et al., 2009), calabaza (Lepolu-Torlon et al., 2016) y melón (Dallagnol et al., 2015), *Erysiphe cichoracearum* en arabis, donde se observó la inhibición de la incidencia y severidad de la enfermedad con incorporación de Si al material de siembra (Ghanmi et al., 2004).

El desarrollo de mildew veloso causado por el oomycete *P. viciae* en arveja se redujo por la aplicación de Si foliar o edáfica reduciendo los porcentajes de severidad y los valores de AUDPC, lo cual coincide con lo reportado por Nolla et al. (2006) en soya con la aplicación de Si edáfico, la cual redujo la severidad de mildew veloso causado por *Peronospora manshurica*. En mijo común, la aplicación de Si en forma de dióxido de silicio (SiO_2) tanto foliar como edáfico, también redujo la incidencia e índice de severidad de *Sclerospora graminicola* (Deepak et al., 2008). En lechuga, la aplicación de silicato de p redujo el nivel de severidad de *Bremia lactucae*, sin embargo, este resultado estuvo relacionado con la adición de NaCl para mejorar la conductividad eléctrica de la planta (Garibaldi et al., 2012). En pimiento, la incorporación de Si al sustrato redujo, además, la severidad del tizón causado por *Phytophthora capsici* (French-Monar et al., 2010).

Los valores de AUDPC de las tres enfermedades evaluadas de arveja con aplicación foliar o edáfica de Si fueron similares, sin embargo, la eficacia de la aplicación edáfica de silicio fue mayor en contraste con las aplicaciones foliares. Estos resultados, pueden ser atribuidos al modo de acción del Si en sus diferentes formas de aplicación. En melón y pepino, la aplicación edáfica de Si redujo la severidad de mildew polvoso ocasionado por *P. xanthii*, teniendo en cuenta que la planta absorbe el Si por la raíz y este es transportado y depositado en las partes aéreas de la planta, inhibiendo la colonización del patógeno (Liang et al., 2005; Dallagnol et al., 2015). En pepino, además, la aplicación de Si a la raíz mejoró la actividad de quinasa, peroxidasa (POD) y PPO, situación atribuida a la estimulación del Si en el mecanismo y biosíntesis de lignina en la pared celular; sin embargo, esto solo se observó en presencia de *P. xanthii* (Liang et al., 2005). De acuerdo con Rodrigues et al. (2015) y Ng et al. (2020), el Si depositado en la superficie de la hoja forma una capa superficial que actúa como barrera física a través del recubrimiento de las hojas y formación de una doble capa cuticular.

En este estudio, la mezcla Si con fungicidas, redujo el desarrollo del tizón foliar por ascochyta; sin embargo, el control positivo (0Si+100F) fue más eficiente (34%) en el

experimento 1. Este resultado contrasta con lo reportado en frijol y fresa, donde la aplicación combinada de Si y fungicidas mejoró la eficacia de aplicación de los fungicidas en el control de *C. lindemuthianum* y *P. aphanis* y la eficacia de la aplicación única de fungicidas fue la menor (Polanco et al., 2014; Liu et al., 2020). Sin embargo, en el experimento 2, el control positivo (aplicación única de fungicidas) presentó la tendencia de valores de eficacia más bajos (14,28%) sin diferencias estadísticas con respecto a los demás tratamientos.

Los tratamientos en arveja variedad Vizcaya con diferentes frecuencias de aplicación de Si favorecieron parámetros de crecimiento y fisiológicos de la planta, aumentando la TRC, altura de la planta y conductancia estomática (gs), en comparación con el control 0Si+0F. Resultados similares fueron reportados en plantas de lupino y frijol, donde la implementación de cal (diatomita) en el sustrato de siembra favoreció la gs (Zuccarini 2008; Abdalla, 2011a). En soya, además incrementó el contenido de clorofila a y b (Hussain et al., 2021a; 2021b). En plantas de haba, la aplicación foliar favoreció el contenido de unidades SPAD y la gs (Hafez et al., 2021), al igual que el contenido de clorofila total en trébol de alejandría con aplicación de diatomita en el sustrato de siembra (Abdalla, 2011b). Por otro lado, en tratamientos con Si los valores de NPQt fueron más altos con respecto al control 0Si+0F y control químico (0Si+100F), lo que indicaría que la aplicación de Si no contribuyó a mantener las propiedades ópticas del tejido foliar bajo la infección del patógeno (Bueno et al., 2017).

En el presente estudio, la aplicación de Si favoreció la concentración de elementos como NO^{-3} y K^{+} , resultados similares fueron obtenidos por Etesami y Jeong (2018), quienes encontraron que el Si en forma de metasilicato de sodio en cultivos de frijol caupí y trigo mejoró la absorción, nodulación y fijación de N_2 . Este efecto se vio reflejado con el incremento del contenido de N, la disponibilidad de K^{+} y los niveles de Ca^{+2} , situación atribuida a la disminución de la permeabilidad de la membrana plasmática e incremento de H^{+} - ATPasa en la membrana plasmática en presencia del Si. Sin embargo, la concentración de Ca^{+2} en plantas de arveja no presentó diferencias significativas ($p > 0,05$) entre tratamientos con o sin aplicación de Si, lo que coincide con lo observado en soya, donde la aplicación foliar de Si no afectó el contenido nutricional de la planta manteniendo los rangos considerados para el cultivo (Crusciol et al., 2013). La acumulación y absorción de Ca depende de la planta, condiciones experimentales, condiciones de estrés y cantidad

de Si suministrada, sin embargo, la baja o no acumulación de Ca, puede estar también relacionada con la reducción de la transpiración causada por la deposición de Si en las hojas (Pavlovic et al., 2021).

En el presente estudio, un incremento de la concentración de Si en el tejido foliar de la planta de arveja se observó en tratamientos con alguna aplicación de Si, en comparación a los tratamientos 0Si+0F y 0Si+100F. Etesami y Jeong (2020), reportan que la aplicación de Si edáfico tiende a tener una mayor favorabilidad en la reducción de enfermedades foliares, incremento en el crecimiento vegetal, la fisiología y el rendimiento de la planta, lo que puede estar asociado a que el Si absorbido por la raíz genera alteraciones en la arquitectura del sistema radicular, mejorando la absorción y transporte de agua y nutrientes en la planta. En el patosistema soya – *P. pachyrhizi*, la aplicación de Si edáfico y foliar aumentó la concentración de este elemento, sin embargo, la concentración fue mayor en tratamientos edáficos (Lemes et al., 2011). Contrario a esto, Haroon et al. (2020) encontraron un mayor contenido de Si en tratamientos bajo aplicación foliar y no edáfica en el patosistema cebolla – *Alternaria porri*. En soya, frijol y maní, también se ha reportado que la aplicación foliar de Si aumenta su contenido en las hojas (Crusciol et al., 2013). Estos resultados confirman que la concentración de Si en el tejido foliar de la planta aumenta bajo la aplicación de Si, sin embargo, la forma de aplicación tiene un efecto variable dependiendo posiblemente de la especie de planta y de las condiciones del cultivo.

Los resultados obtenidos mostraron que el peso fresco de vainas y granos presentaron diferencias estadísticas por la aplicación de Si edáfico o foliar o bajo la aplicación conjunta de Si-fungicida, en comparación al control 0Si+0F donde se presentó el rendimiento más bajo. Por lo anterior, los resultados obtenidos muestran que la sustitución de aplicación de fungicidas de síntesis química por Si durante el ciclo del cultivo de arveja podría contribuir al rendimiento. Esto coincide con Merwad et al. (2018), quienes demostraron que la aplicación de Si en diferentes dosis aumenta el peso fresco de vainas, materia seca y semillas de arveja; además, encontraron un incremento del peso de los granos hasta en un 97%. En soya, frijol y maní el Si también aumentó el rendimiento en términos del número de vainas por planta (Crusciol et al., 2013). En fresa, la aplicación combinada de Si edáfico o foliar favoreció el rendimiento y producción de las plantas (Abd-El-Kareem et al., 2019). Lemes et al. (2011) atribuyeron el aumento del rendimiento de las plantas tratadas con Si a factores como incremento del crecimiento de estas, equilibrio nutricional y resistencia mecánica a enfermedades generadas por el Si.

Con relación a la aplicación de Si y fungicidas, la mezcla de fungicidas–Si, redujo el desarrollo del tizón foliar por *Ascochyta*; sin embargo, el tratamiento de solo fungicida mostró los mayores valores de eficiencia en el control de la enfermedad. Polanco et al. (2014) reportaron que el control de *C. lindemuthianum* con azoxistrobin fue más eficiente en la reducción de la enfermedad en comparación a la aplicación de solo Si. Lopes et al. (2014) observaron en café un comportamiento similar en la interacción Si - triadimenol, el cual presentó una menor severidad en el desarrollo de *H. vastatrix* agente causal de la roya del café. Resultados similares son reportados por Resende et al. (2012) en la interacción Si - fungicida en el control de la antracnosis ocasionada por *C. sublineolum* en sorgo. Estos resultados concuerdan con lo encontrado en la presente investigación en la interacción Si - fungicidas en el control de enfermedades foliares en arveja.

Los resultados obtenidos en el presente estudio muestran que la aplicación de Si en el cultivo de arveja variedad Vizcaya contribuye a la reducción de los niveles de las principales enfermedades foliares del cultivo. Estos resultados son un avance en la búsqueda de alternativas para el manejo de patógenos limitantes del cultivo y muestran que es posible reducir el número de aplicaciones de fungicidas hasta en un 50% sin afectar el rendimiento. Si bien se encontró un efecto positivo de las aplicaciones de Si en la reducción de los niveles de enfermedades foliares, es necesario profundizar en los mecanismos de activación génica y vías de señalización que involucran Si y que promueven el efecto observado. Así mismo, se debe determinar el efecto de la aplicación de Si sobre las características de la cutícula de la hoja, formación de papilas, y acumulación de compuestos antifúngicos, que limitan la penetración y colonización de patógenos. Lo anterior, permitirá profundizar en el conocimiento del efecto positivo de la aplicación de Si en arveja encontrado en este estudio.

2.6 Conclusiones

- El uso del Si edáfico o foliar puede ser considerado como una estrategia en el manejo de enfermedades foliares de arveja, con reducciones en el número de aplicaciones de fungicidas sin afectar el rendimiento de la planta.

- Con Si acidulado se encontró una mayor eficacia en la reducción de tizón por ascochyta en arveja variedad Vizcaya.
- La aplicación de Si edáfico acidulado y fungicidas según la severidad de la enfermedad, permitió reducir el número de aplicaciones de fungicidas hasta un 50%, sin afectar el rendimiento del cultivo de arveja.

3. Discusión general

En el cultivo de arveja, las enfermedades foliares causadas por *Ascochyta* spp. *P. viciae* y *E. pisi* se han convertido a nivel mundial en la principal limitante en las áreas de producción. Dentro de estas, el tizón por ascochyta es la que presenta mayor relevancia, dado que son patógenos necrótrofos que secretan enzimas y toxinas que degradan las células del tejido de la planta hospedera (Tivoli et al., 2007; Morkunas et al., 2013; Barilli et al., 2016). Esta enfermedad está conformada por un complejo que involucra las especies *A. pisi*, *M. pinodes* y *P. pinodella*, las cuales pueden afectar conjuntamente una misma planta (Liu et al., 2016; Šišić et al., 2022). El manejo de enfermedades del cultivo en Colombia se enfoca principalmente en el uso de insumos de síntesis química. Algunas investigaciones han evaluado prácticas de manejo como el control biológico (Torrado-Martínez et al., 2020), variedades moderadamente resistentes (Valencia et al. 2012; Checa-Coral et al., 2020) y el uso de bioestimulantes (Rouphael y Colla, 2020). Sin embargo, a pesar de los efectos positivos de los bioestimulantes en el control de fitopatógenos hasta donde se conoce, el efecto del Si sobre enfermedades en el cultivo de arveja en Colombia no ha sido estudiado. En esta investigación, se evidenció el efecto negativo del Si sobre el crecimiento micelial de *Ascochyta* spp. en condiciones *in vitro*, y sobre el desarrollo de las enfermedades foliares, tizón por ascochyta y mildew vellosa, además, se demostró el efecto positivo sobre la fisiología de la planta de arveja.

La reducción del crecimiento micelial (*in vitro*) de *Ascochyta* spp. fue el primer efecto observado cuando el Si fue incorporado al medio de cultivo. Este efecto puede estar explicado debido a que el Si genera una reducción en la presión de turgencia de las células del patógeno, lo que a su vez conlleva a un colapso y contracción de hifas, asociadas posiblemente a la formación de cavidades dentro de las células y engrosamiento anormal de la pared celular (Yadav y Bains, 2021). La evaluación del efecto del Si sobre enfermedades de plantas causadas tanto por patógenos foliares como de suelo es amplia; sin embargo, predominan los estudios sobre patógenos de suelo como *Rhizoctonia solani* y *Fusarium solani* (Abd-El-Kareem et al., 2019), *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum* (Zhou et al., 2018) y *F. oxysporum* f. sp. *fragariae* (Shen et al., 2010). Estudios sobre biótrofos y necrótrofos (Wang et al., 2017; Song et al., 2021) también se han publicado, lo cual muestra el amplio espectro de enfermedades para las cuales el Si puede tener aplicación.

Bajo condiciones de invernadero, también se observó el efecto de las dos fuentes de Si (acidulada y básica) sobre el desarrollo de la enfermedad causada por dos aislamientos de *Ascochyta* spp. inoculados en las plantas de arveja. En ambos casos, el efecto del Si fue similar, aunque el efecto del Si de pH básico (BSi) no fue significativamente diferente al observado con el producto de pH ácido (ASi). La efectividad del Si bajo estas condiciones puede estar relacionada con la posible acumulación del Si en el tejido de plantas y a su vez provocar el aumento de las proteínas PR, quinasas y β -1-3-glucanasa (Dann y Muir, 2002), las cuales están asociadas con la defensa de las plantas ante patógenos necrotróficos como *Ascochyta* spp. (Song et al., 2021). En el estudio realizado por Dann y Muir (2002) en arveja, lesiones ocasionadas por *M. pinodes* en plantas de arveja también fueron menores en tratamientos con Si en comparación a tratamientos control. Estos dos trabajos confirman el potencial del uso de Si para el manejo de patógenos asociados al tizón por ascochyta.

En condiciones de campo en dos ciclos de cultivo, los resultados confirmaron el efecto positivo observado a nivel *in vitro* e *in vivo* del Si sobre el desarrollo de enfermedades el tizón foliar por ascochyta en arveja. Bajo condiciones de cultivo semi-comercial, la aplicación de Si limitó el desarrollo del tizón por ascochyta, mildew veloso y mildew polvoso. La aplicación edáfica tuvo tendencia a presentar un mayor efecto sobre las aplicaciones foliares. Lo observado en campo coincidió con resultados reportados para enfermedades foliares en otras especies leguminosas; en soya la severidad de *Cercospora sojina* fue menor en plantas cultivadas en suelo con alto contenido de Si (Nolla et al., 2006). En fríjol, Polanco et al. (2014) y Rodrigues et al. (2015) reportaron reducción de los valores de AUDPC de *C. lindemuthianum* en un 23 y 34% y la severidad de la enfermedad en 32% en plantas bajo aplicación foliar de Si con respecto a plantas control sin Si. Resultados similares se observaron con el patosistema haba – *Botrytis fabae* bajo aplicación de nanopartículas de Si (Hasan et al., 2020). Los resultados encontrados están posiblemente relacionados con la acumulación del Si en la planta y formación de barreras físicas en el tejido foliar que inhiben la penetración de los patógenos, además de incrementar la actividad enzimática y compuestos fenólicos involucrados en la defensa de la planta (Abd-El-Kareem et al., 2019).

Los tratamientos en arveja variedad Vizcaya con diferentes frecuencias de aplicación de Si favorecieron parámetros de crecimiento como la TRC y altura de la planta, y parámetros fisiológicos como la temperatura de la hoja y gs. El efecto observado se puede asociar al

aumento de la absorción y transporte de agua y nutrientes en la planta; además de favorecer la actividad de enzimas antioxidantes, fotosíntesis y relaciones hídricas (Hafez et al., 2021; Verma et al., 2021). En legumonas tratadas con fuentes de Si como soya, la tasa fotosintética, gs y contenido de clorofila aumentaron en comparación a plantas sin Si (Hussain et al., 2021b). Al igual que en plantas de lupino y fríjol, donde se vio el incremento de la gs (Zuccarini 2008; Abdalla, 2011a). En plantas de haba, la aplicación foliar favoreció el contenido de unidades SPAD y gs (Hafez et al., 2021), como también, el contenido de clorofila total en trébol de alejandría con aplicación de diatomita en el sustrato de siembra (Abdalla, 2011b).

La aplicación de Si en este estudio, favoreció la concentración de elementos como NO_3^- , K^+ y Ca^{+2} en savia y Si en el tejido foliar. Lo que puede estar asociado a la disminución de la permeabilidad de la membrana plasmática e incremento de H^+ - ATPasa en presencia del Si (Etesami y Jeong, 2020). En el patosistema soya – *P. pachyrhizi*, la aplicación de Si edáfico y foliar aumentó la concentración del mismo en las hojas, sin embargo, la concentración fue mayor en tratamientos edáficos (Lemes et al., 2011). Contrario a esto, Haroon et al. (2020) encontraron un mayor contenido de Si en tratamientos bajo aplicación foliar y no edáfica en el patosistema cebolla – *Alternaria porri*. En trigo – *B. graminis* f. sp. *tritici* la aplicación edáfica o foliar de Si también aumentó la concentración de este elemento, y la mayor la concentración se observó en tratamientos edáficos (Guével et al., 2007), al igual que en lo reportado por Cacique et al. (2013) en arroz - *P. oryzae*.

La calidad y rendimiento del cultivo se vieron favorecidos con la aplicación de Si con respecto al control 0Si+0F. Como lo reporta Crusciol et al. (2013) en soya, fríjol y maní bajo la aplicación de Si. El aumento del rendimiento en plantas tratadas con Si es atribuido a un mejor desarrollo del sistema radicular y por ende mayor absorción de agua y nutrientes (Etesami y Jeong, 2020), lo que a su vez resulta en el incremento del crecimiento de las plantas, equilibrio nutricional y resistencia mecánica a enfermedades (Lemes et al., 2011).

El manejo de enfermedades foliares del cultivo de arveja con aplicación de Si edáfico y foliar interviene en el desarrollo y crecimiento de los patógenos, sin disminuir el rendimiento de las plantas con respecto al tratamiento control 0Si+0F. Por lo cual, los resultados obtenidos muestran que la reducción de aplicaciones de fungicidas de síntesis química durante el ciclo del cultivo de arveja es posible para el manejo de las principales

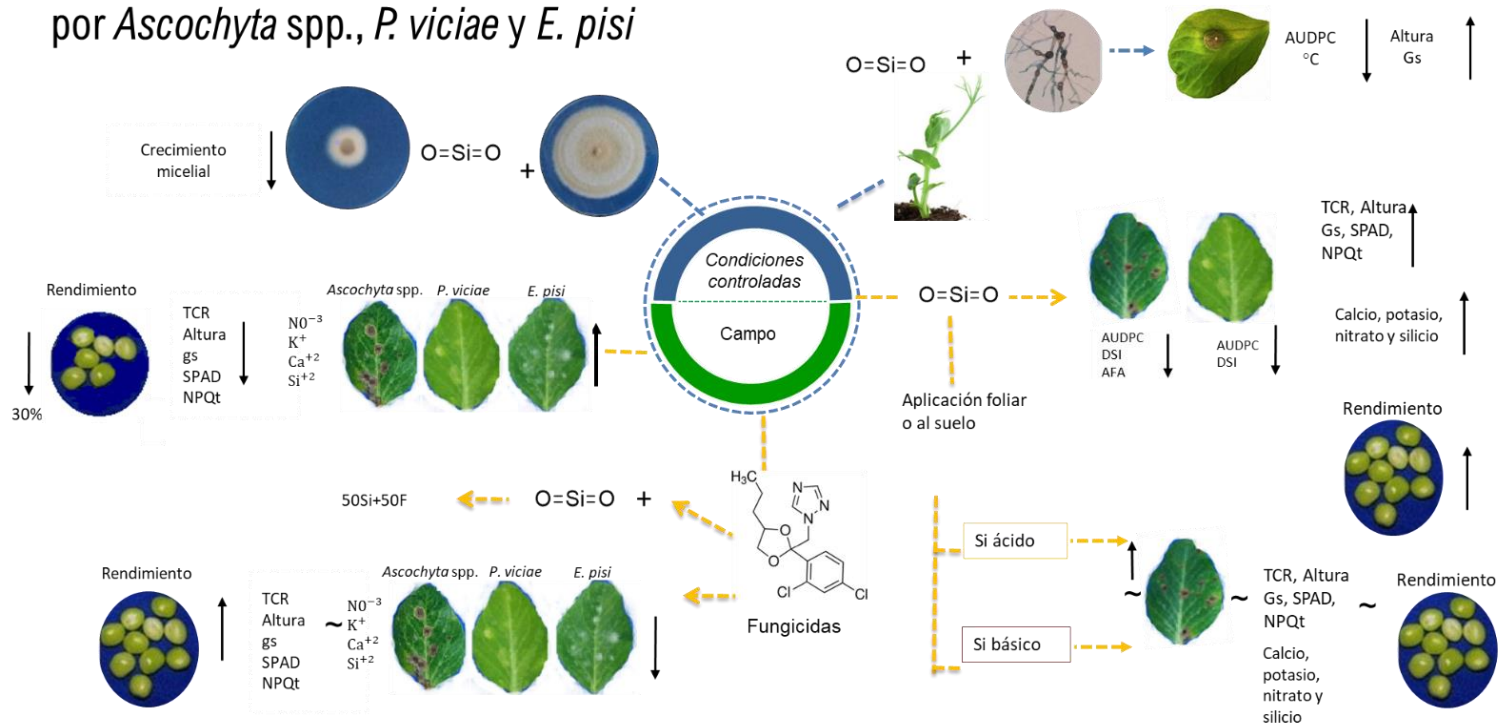
enfermedades, sin reducir el rendimiento del mismo. Los resultados de campo mostraron valores eficacia de la aplicación de Si para el control del tizón por *Ascochyta* en niveles cercanos a los alcanzados bajo la aplicación de fungicidas de síntesis, lo que muestra su uso potencial en programas de manejo de enfermedades del cultivo de arveja. Adicionalmente, este estudio mostró la utilidad del manejo de las enfermedades foliares del cultivo según su nivel de severidad y con esto la posibilidad de optimizar el manejo evitando la aplicación calendario de fungicidas. Si bien los resultados obtenidos mostraron el potencial de la aplicación de SI en el cultivo de arveja, el desarrollo de este trabajo muestra la necesidad de profundizar sobre el efecto del Si sobre variables fisiológicas de la planta y del cultivo y su evaluación en diferentes condiciones de cultivo.

4. Conclusiones y recomendaciones

Conclusiones

Las conclusiones de esta investigación se presentan de manera diagramática en el siguiente esquema:

Arveja, silicio y enfermedades foliares causadas por *Ascochyta* spp., *P. viciae* y *E. pisi*



Recomendaciones

Como producto del desarrollo de este trabajo se plantean las siguientes recomendaciones con el fin de profundizar en el estudio del Si en arveja y su potencial aplicación en el manejo integrado del cultivo.

- Evaluar un mayor número de concentraciones de Si sobre el desarrollo de enfermedades foliares, en otras variedades y zonas productoras.
- Determinar el costo beneficio del uso de Si en el cultivo de arveja.
- Evaluar el uso del Si en combinación con otros bioproductos en el desarrollo de plantas de arveja bajo estrés biótico.
- Evaluar el efecto del Si sobre otros patógenos asociados al cultivo de arveja.

5. Bibliografía

- Abdalla, M. M. (2011a). Beneficial effects of diatomite on the growth, the biochemical contents and polymorphic DNA in *Lupinus albus* plants grown under water stress. *Agriculture and Biology Journal of North America*. <http://www.scihub.org/ABJNA>
- Abdalla, M. M. (2011b). Impact of diatomite nutrition on two *Trifolium alexandrinum* cultivars differing in salinity tolerance. *International Journal of Plant Physiology and Biochemistry*, 3(13). <https://doi.org/10.5897/ijppb11.040>
- Abd-El-Kareem, F., Elshahawy, I. E., y Abd-Elgawad, M. M. M. (2019). Effectiveness of silicon and silicate salts for controlling black root rot and induced pathogenesis-related protein of strawberry plants. *Bulletin of the National Research Centre*, 43(1). <https://doi.org/10.1186/s42269-019-0139-1>
- Abed-Ashtiani, F., Kadir, J.-B., Selamat, A.-B., Husni, A., Hanif, B.-M., y Nasehi, A. (2012). Effect of foliar and root application of silicon against rice blast fungus in MR219 rice variety. *Plant Pathol. J*, 28(2), 164–171. <https://doi.org/10.5423/PPJ.OA.02.2012.0022>
- Ahammed, G. J., y Yang, Y. (2021). Mechanisms of silicon-induced fungal disease resistance in plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 165, 200–206. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.05.031>
- Ahmed, H., Chang, K. F., Hwang, S. F., Fu, H., Zhou, Q., Strelkov, S., Conner, R., y Gossen, B. (2015). Morphological characterization of fungi associated with the ascochyta blight complex and pathogenic variability of *Mycosphaerella pinodes* on field pea crops in central Alberta. *Crop Journal*, 3(1), 10–18. <https://doi.org/10.1016/j.cj.2014.08.007>
- Albrecht, U. (2019). Plant Biostimulants: definition and overview of categories and effects. *University of Florida*. <https://edis.ifas.ufl.edu>
- Álvarez-Sánchez, D., Chaves-Morillo, D., Gómez-López, E., y Hurtado-Benavides, A. (2020). Estimación del riesgo ambiental causado por plaguicidas en cultivos de arveja de Ipiales, Nariño-Colombia. *Tecnológicas*, 23(47), 77–91. <https://doi.org/10.22430/22565337.1404>

- Arafa, S. A., Attia, K. A., Niedbała, G., Piekutowska, M., Alamery, S., Abdelaal, K., Alateeq, T. K., Ali, M. A. M., Elkelish, A., y Attallah, S. Y. (2021). Seed priming boost adaptation in pea plants under drought stress. *Plants*, *10*(10). <https://doi.org/10.3390/plants10102201>
- Artyszak, A. (2018). Effect of silicon fertilization on crop yield quantity and quality—A literature review in Europe. *Plants*, *7*(3). <https://doi.org/10.3390/plants7030054>
- Artyszak, A., Kondracka, M., Gozdowski, D., Siuda, A., y Litwińczuk-Bis, M. (2021). Impact of foliar application of various forms of silicon on the chemical composition of sugar beet plants. *Sugar Tech*, *23*(3), 546–559. <https://doi.org/10.1007/s12355-020-00918-8>
- Bakhat, H. F., Bibi, N., Zia, Z., Abbas, S., Hammad, H. M., Fahad, S., Ashraf, M. R., Shah, G. M., Rabbani, F., y Saeed, S. (2018). Silicon mitigates biotic stresses in crop plants: A review. *Crop Protection*, *104*, 21–34. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2017.10.008>
- Balasubramanian, V., Vashisht, D., Cletus, J., y Sakthivel, N. (2012). Plant β -1,3-glucanases: their biological functions and transgenic expression against phytopathogenic fungi. *Biotechnology Letters*, *34*(11), 1983–1990. doi:10.1007/s10529-012-1012-6
- Barbetti, M. J., Khan, T. N., Pritchard, I., Lamichhane, J. R., Aubertot, J.-N., Corrales, D. C., y You, M. P. (2021). Challenges with managing disease complexes during application of different measures against foliar diseases of field pea. *Plant Disease*. <https://doi.org/10.1094/PDIS-07-20-1470-RE>
- Barilli, E., Cobos, M. J., y Rubiales, D. (2016). Clarification on host range of *Didymella pinodes* the causal agent of pea ascochyta blight. *Frontiers in Plant Science*, *7*. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00592>
- Bassanezi, R. B., Amorim, L., Filho, A. B., Hau, B., y Berger, R. D. (2001). Accounting for photosynthetic efficiency of bean leaves with rust, angular leaf spot and anthracnose to assess crop damage. *Plant Pathology*, *50*, 443–452. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3059.2001.00584.x>
- Basu, S., y Kumar, G. (2021). Exploring the significant contribution of silicon in regulation of cellular redox homeostasis for conferring stress tolerance in plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, *166*, 393–404. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.06.005>

- Bekker, T. F., Kaiser, C., y Labuschagne, N. (2009). The antifungal activity of potassium silicate and the role of pH against selected plant pathogenic fungi in vitro. *South African Journal of Plant and Soil*, 26(1), 55–57. <https://doi.org/10.1080/02571862.2009.10639934>
- Bekker, T. F., Kaiser, C., Merwe, R., y Labuschagne, N. (2006). *In vitro* inhibition of mycelial growth of several phytopathogenic fungi by soluble potassium silicate. *South African Journal of Plant and Soil*, 23(3), 169–172. <https://doi.org/10.1080/02571862.2006.10634750>
- Bhunjun, C. S., Phillips, A. J. L., Jayawardena, R. S., Promputtha, I., y Hyde, K. D. (2021). Importance of molecular data to identify fungal plant pathogens and guidelines for pathogenicity testing based on Koch's postulates. *Pathogens*, 10(9). <https://doi.org/10.3390/pathogens10091096>
- Bretag, T. W., Keane, P. J., y Price, T. V. (2006). The epidemiology and control of ascochyta blight in field peas: A review. *Australian Journal of Agricultural Research*, 57(8), 883–902. <https://doi.org/10.1071/AR05222>
- Bueno, A. C. S. O., Castro, G. L. S., Silva Junior, D. D., Pinheiro, H. A., Filippi, M. C. C., y Silva, G. B. (2017). Response of photosynthesis and chlorophyll a fluorescence in leaf scald-infected rice under influence of rhizobacteria and silicon fertilizer. *Plant Pathology*, 66(9), 1487–1495. doi:10.1111/ppa.12690
- CABI. (2020). *Invasive Species Compendium*. Consultado en: <https://www.cabi.org/isc/datasheet/>
- Cacique, I. S., Domiciano, G. P., Moreira, W. R., Rodrigues, F. Á., Cruz, M. F. A., Serra, N. S., y Català, A. B. (2013). Efeito da aplicação radicular e foliar de silício solúvel sobre o desenvolvimento da brusone em arroz. *Bragantia, Campinas*, 72(3), 304–309. <https://doi.org/10.1590/brag.2013.032>
- Cadena, M., Yepes, D., y Merchancano, J. (2020). *Manual técnico para producción artesanal de semilla de arveja*. <https://doi.org/10.21930/agrosavia.manual.7403459>
- Campbell, C., y Madden, L. V. (1990). *Introduction to Plant Disease Epidemiology*. Wiley-Interscience: New York, p. 532.

- Cañedo, V., y Ames, T. (2004). *Manual de laboratorio para el manejo de hongos entomopatógenos*. Centro Internacional de la Papa. www.cipotato.org
- Carré-Missio, V., Ávila Rodrigues, F., Augusto Schurt, D., Carvalho Rezende, D., Barbosa Ribeiro, N., y Zambolim, L. (2010). Aplicação foliar de silicato de potássio, acibenzolar-S-metil e fungicidas na redução da mancha de *Pestalotia* em morango. *Tropical Plant Pathology*, 35, 182–185. www.sbfito.com.br
- Castellanos-González, L., Mello-Prado, R. de, y Silva-Campos, C. N. (2015). El silicio en la resistencia de los cultivos a las plagas agrícolas. *Cultivos Tropicales*, 36, 16–24.
- Castro-Duque, N. E., Chávez-Arias, C. C., y Restrepo-Díaz, H. (2020). Foliar glycine betaine or hydrogen peroxide sprays ameliorate waterlogging stress in cape gooseberry. *Plants*, 9(5). <https://doi.org/10.3390/plants9050644>
- Chávez-Arias, C. C., Gómez-Caro, S., y Restrepo-Díaz, H. (2020). Physiological responses to the foliar application of synthetic resistance elicitors in cape gooseberry seedlings infected with *Fusarium oxysporum* f. sp. *physali*. *Plants*, 9(2). <https://doi.org/10.3390/plants9020176>
- Checa-Coral, Ó. E., Getial-Pantoja, J. A., y Rodríguez-Rodríguez, D. M. (2020). Evaluación de ocho líneas de arveja arbustiva (*Pisum sativum* L.) en seis ambientes de la zona cerealista de Nariño. *Revista U.D.C.A Actualidad and Divulgación Científica*, 23(1). <https://doi.org/10.31910/rudca.v23.n1.2020.1211>
- Chiang, K. S., Liu, H. I., y Bock, C. H. (2017). A discussion on disease severity index values. Part I: warning on inherent errors and suggestions to maximize accuracy. *Annals of Applied Biology*, 171(2), 139–154. <https://doi.org/10.1111/aab.12362>
- Crusciol, C. A. C., Peres-Soratto, R., Amaral-Castro, G., Martins da Costa, C., y Ferrari-Neto, J. (2013). Aplicação foliar de ácido silícico estabilizado na soja, feijão e amendoim. *Revista Ciência Agronômica*, 44, 404–410. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=195325760025>
- Dallagnol, L. J., Elizabeth, A., Ramos, R., Da, K., y Dorneles, R. (2020). *Silicon use in the integrated disease management of wheat: current knowledge*. www.intechopen.com
- Dallagnol, L. J., Rodrigues, F. Á., Mielli, M. V. B., Ma, J. F., y Datnoff, L. E. (2009). Defective active silicon uptake affects some components of rice resistance to brown spot. *Phytopathology*, 99(1), 116–121. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-99-1-0116>

- Dallagnol, L. J., Rodrigues, F. A., Pascholati, S. F., Fortunato, A. A., y Camargo, L. E. A. (2015). Comparison of root and foliar applications of potassium silicate in potentiating post-infection defenses of melon against powdery mildew. *Plant Pathology*, 64(5), 1085–1093. <https://doi.org/10.1111/ppa.12346>
- Dann, E. K., y Muir, S. (2002). Peas grown in media with elevated plant-available silicon levels have higher activities of chitinase and β -1,3-glucanase, are less susceptible to a fungal leaf spot pathogen and accumulate more foliar silicon. *Australasian Plant Pathology*, 31(1), 9–13. <https://doi.org/10.1071/AP01047>
- Davidson, J. (2012). *Epidemiology and management of ascochyta blight of field pea (Pisum sativum) in South Australia*. School of Agriculture, Food and Wine, Faculty of Sciences, The University of Adelaide.
- Davidson, J., Krysinska-Kaczmarek, M., Wilmshurst, C. J., McKay, A., Herdina, y Scott, E. S. (2011). Distribution and survival of ascochyta blight pathogens in field-pea-cropping soils of Australia. *Plant Disease*, 95(10), 1217–1223. <https://doi.org/10.1094/PDIS-01-11-0077>
- Davidson, J., y Kimber, R. B. E. (2007). Integrated disease management of ascochyta blight in pulse crops. *European Journal of Plant Pathology*, 119, 99–110. doi:10.1007/s10658-007-9132-x
- Debona, D., Rodrigues, F. A., y Datnoff, L. E. (2017). Silicon's role in abiotic and biotic plant stresses. *Annu. Rev. Phytopathol.* <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080516>
- Deepak, S., Manjunath, G., Manjula, S., Niranjana-Raj, S., Geetha, N. P., y Shetty, H. S. (2008). Involvement of silicon in pearl millet resistance to downy mildew disease and its interplay with cell wall proline/hydroxyproline-rich glycoproteins. *Australasian Plant Pathology*, 37(5), 498–504. <https://doi.org/10.1071/AP08047>
- Dehghanipoodeh, S., Ghobadi, C., Baninasab, B., Gheysari, M., y Shiranibidabadi, S. (2018). Effect of silicon on growth and development of strawberry under water deficit conditions. *Horticultural Plant Journal*, 4(6), 226–232. <https://doi.org/10.1016/j.hpj.2018.09.004>
- Domiciano, G. P., Cacique, I. S., Freitas, C. C., Filippi, M. C. C., DaMatta, F. M., do Vale, F. X. R., y Rodrigues, F. Á. (2015). Alterations in gas exchange and oxidative metabolism in rice

- leaves infected by *Pyricularia oryzae* are attenuated by silicon. *Phytopathology*, 105(6), 738–747. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-10-14-0280-R>
- Dong, C., Wang, G., Du, M., Niu, C., Zhang, P., Zhang, X., Ma, D., Ma, F., y Bao, Z. (2020). Biostimulants promote plant vigor of tomato and strawberry after transplanting. *Scientia Horticulturae*, 267. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109355>
- du Jardin, P. (2015). Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. *Scientia Horticulturae*, 196, 3–14. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.021>
- Dutt, A., Andrivon, D., Jumel, S., le Roy, G., Baranger, A., Leclerc, M., y Le May, C. (2020). Life history traits and trade-offs between two species of the ascochyta blight disease complex of pea. *Plant Pathology*. <https://doi.org/10.1111/ppa.13180>
- Ejaz, S., Batool, S., Anjum, M. A., Naz, S., Qayyum, M. F., Naqqash, T., Shah, K. H., y Ali, S. (2020). Effects of inoculation of root-associative *Azospirillum* and *Agrobacterium* strains on growth, yield and quality of pea (*Pisum sativum* L.) grown under different nitrogen and phosphorus regimes. *Scientia Horticulturae*, 270. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109401>
- El-Abdean, W. Z., Abo-Elyousr, K. A. M., Hassan, M. H. A., y El-sharkawy, R. M. A. (2020). Effect of silicon compounds against *Macrophomina phaseolina* the causal agent of soybean charcoal rot disease. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 53(20), 983–998. <https://doi.org/10.1080/03235408.2020.1808266>
- Elrys, A., y Merwad, A.-R. (2017). Effect of alternative spraying with silicate and licorice root extract on yield and nutrients uptake by pea plants. *Egyptian Journal of Agronomy*, 279–292. <https://doi.org/10.21608/agro.2017.1429.1071>
- Etesami, H., y Jeong, B. R. (2018). Silicon (Si): review and future prospects on the action mechanisms in alleviating biotic and abiotic stresses in plants. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 147, 881–896). <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.09.063>
- Etesami, H., y Jeong, B. R. (2020). Importance of silicon in fruit nutrition: agronomic and physiological implications. In *Fruit Crops: Diagnosis and Management of Nutrient Constraints* (pp. 255–277). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818732-6.00019-8>

- Falloon, R. E., Viljanen-Rollinson, S. L. H., Coles, G. D., y Poff, J. D. (1995). Disease severity keys for powdery and downy mildews of pea, and powdery scab of potato. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 23(1), 31–37. <https://doi.org/10.1080/01140671.1995.9513865>
- FAO. (2019). *The Global Economy of Pulses* (V. Rawal y D. K. Navarro, Eds.). FAO. <https://doi.org/10.4060/l7108EN>
- FAOSTAT, 2021. Cultivos y productos de ganadería. Disponible en: <https://www.fao.org/faostat/es/#data/QCL/visualize>
- Feller, C., Bleiholder, H., Buhr, L., Hack, H., Hess, M., Klose, R., Meier, U., Stauss, R., Boom, T., y Weber, E. (1995). Phenological growth stages of vegetable crops. II. Fruit vegetables and pulses. Coding and description according to the extended BBCH scale with illustrations. *Nachrichtenblatt Des Deutschen Pflanzenschutzdienstes*, 47, 217–232.
- Fenalce, 2021. Federación Nacional de Cultivadores de Cereales, Leguminosas y soya. Disponible en: <https://fenalce.co/estadisticas/>
- Feng, Y., Hu, Y., Fang, P., Zuo, X., Wang, J., Li, J., Qian, W., y Mei, J. (2021). Silicon alleviates the disease severity of sclerotinia stem rot in rapeseed. *Frontiers in Plant Science*, 12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.721436>
- Fernández-Aparicio, M., Amri, M., Kharrat, M., y Rubiales, D. (2010). Intercropping reduces *Mycosphaerella pinodes* severity and delays upward progress on the pea plant. *Crop Protection*, 29(7), 744–750. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2010.02.013>
- Fernández-Calleja, M., Monteagudo, A., Casas, A. M., Boutin, C., Pin, P. A., Morales, F., y Igartua, E. (2020). Rapid on-site phenotyping via field fluorimeter detects differences in photosynthetic performance in a hybrid—parent barley germplasm set. *Sensors*, 20(5). <https://doi.org/10.3390/s20051486>
- Ferreira, H. A., Nascimento, C. W. A. do, Datnoff, L. E., Nunes, G. H. de S., Preston, W., Souza, E. B. de, y Mariano, R. de L. R. (2015). Effects of silicon on resistance to bacterial fruit blotch and growth of melon. *Crop Protection*, 78, 277–283. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2015.09.025>

- Fondevilla, S., y Rubiales, D. (2012). Powdery mildew control in pea. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 32(2), 401–409. <https://doi.org/10.1007/s13593-011-0033-1>
- FRAC. (2020). Mode of Action Groups for Recommendations. Consultado en: <https://www.frac.info/>
- French, R. J. (2016). Field pea: agronomy. *Reference Module in Food Sciences*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.00196-7>
- French-Monar, R. D., Rodrigues, F. A., Korndörfer, G. H., y Datnoff, L. E. (2010). Silicon suppresses *Phytophthora* blight development on bell pepper. *Journal of Phytopathology*, 158(8), 554–560. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2009.01665.x>
- Gabr, W. E., Hassan, A. A, Hashem, I. M, y Kalboush, Z. A. (2017). Effect of biogenic silica nanoparticles on blast and brown spot diseases of rice and yield component. In *J. Plant Production, Mansoura Univ*, 8. 10.21608/jpp.2017.40884
- Galindo-Pacheco, J. R. (2020). *Arveja (Pisum sativum L.): Manual de recomendaciones técnicas para su cultivo en el departamento de Cundinamarca*. <http://hdl.handle.net/20.500.12324/36823>
- Garibaldi, A., Gilardi, G., Cogliati, E. E., y Gullino, M. L. (2012). Silicon and increased electrical conductivity reduce downy mildew of soilless grown lettuce. *European Journal of Plant Pathology*, 132(1), 123–132. <https://doi.org/10.1007/s10658-011-9855-6>
- Garry, G., Jeuffroy, M. H., y Tivoli, B. (1998). Effects of ascochyta blight (*Mycosphaerella pinodes* Berk. y Blox.) on biomass production, seed number and seed weight of dried-pea (*Pisum sativum* L.) as affected by plant growth stage and disease intensity. *Annals of Applied Biology*, 132, 49–59. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1998.tb05184.x>
- Ghanmi, D., McNally, D. J., Benhamou, N., Menzies, J. G., y Bélanger, R. R. (2004). Powdery mildew of *Arabidopsis thaliana*: a pathosystem for exploring the role of silicon in plant-microbe interactions. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 64(4), 189–199. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2004.07.005>
- Gilchrist-Saavedra, L., Fuentes-Dávila, G., Martínez-Cano, C., López-Atilano, R. M., Duveiller, E., Singh, R. P., Henry, M., y García, I. (2005). *Guía práctica para la identificación de*

algunas enfermedades de trigo y cebada (Segunda edición).
<http://chilorg.chil.me/download-doc/328996>

Grimmer, M. K., Foulkes, M. J., y Paveley, N. D. (2012). Foliar pathogenesis and plant water relations: a review. *Journal of Experimental Botany*, 63(12), 4321–4331. <https://doi.org/10.1093/jxb/err313>

Guével, M. H., Menzies, J. G., y Bélanger, R. R. (2007). Effect of root and foliar applications of soluble silicon on powdery mildew control and growth of wheat plants. *European Journal of Plant Pathology*, 119(4), 429–436. <https://doi.org/10.1007/s10658-007-9181-1>

Guntzer, F., Keller, C., y Meunier, J. D. (2012). Benefits of plant silicon for crops: A review. In *Agronomy for Sustainable Development*, 32, 201–213. <https://doi.org/10.1007/s13593-011-0039-8>

Hafez, E. M., Osman, H. S., Abd El-Razek, U. A., Elbagory, M., Omara, A. E. D., Eid, M. A., y Gowayed, S. M. (2021). Foliar-applied potassium silicate coupled with plant growth-promoting rhizobacteria improves growth, physiology, nutrient uptake and productivity of faba bean (*Vicia faba* L.) irrigated with saline water in salt-affected soil. *Plants*, 10(5). <https://doi.org/10.3390/plants10050894>

Han, X., Thomasson, J. A., Bagnall, G. C., Pugh, N. A., Horne, D. W., Rooney, W. L., Jung, J., Chang, A., Malambo, L., Popescu, S. C., Gates, I. T., y Cope, D. A. (2018). Measurement and calibration of plant-height from fixed-wing UAV images. *Sensors*, 18. <https://doi.org/10.3390/s18124092>

Haroon, M., Bhat, A. S., Prakash, N. B., Rangaswamy, K. T., y Lingaiah, H. B. (2020). Effect of silicon on incidence and severity of purple blotch disease (*Alternaria porri*) in Onion (*Allium cepa* L.). *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 9(2), 429–439. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2020.902.053>

Hasan, K. A., Soliman, H., Baka, Z., y Shabana, Y. M. (2020). Efficacy of nano-silicon in the control of chocolate spot disease of *Vicia faba* L. caused by *Botrytis fabae*. *Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences*, 7(1), 53–66. <https://doi.org/10.1080/2314808x.2020.1727627>

- Hawerth, C., Araujo, L., Bermúdez-Cardona, M. B., Silveira, P. R., Wordell Filho, J. A., y Rodrigues, F. A. (2018). Silicon-mediated maize resistance to macrospora leaf spot. *Tropical Plant Pathology*, *44*(2), 192–196. <https://doi.org/10.1007/s40858-018-0247-8>
- Hellal, F. A., Abdelhameid, M., Abo-Basha, D. M., y Zewainy, R. M. (2012). Alleviation of the adverse effects of soil salinity stress by foliar application of silicon on faba bean (*Vicia faba* L.). *Journal of Applied Sciences Research*, *8*(8), 4428–4433. <http://www.aensiweb.com/old/jasr/jasr/2012/4428-4433>
- Hou, L. W., Groenewald, J. Z., Pfenning, L. H., Yarden, O., Crous, P. W., y Cai, L. (2020). The phoma-like dilemma. *Studies in Mycology*, *96*, 309–396. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2020.05.001>
- Hussain, S., Mumtaz, M., Manzoor, S., Shuxian, L., Ahmed, I., Skalicky, M., Brestic, M., Rastogi, A., Ulhassan, Z., Shafiq, I., Allakhverdiev, S. I., Khurshid, H., Yang, W., y Liu, W. (2021). Foliar application of silicon improves growth of soybean by enhancing carbon metabolism under shading conditions. *Plant Physiology and Biochemistry*, *159*, 43–52. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.11.053>
- Hussain, S., Shuxian, L., Mumtaz, M., Shafiq, I., Iqbal, N., Brestic, M., Shoaib, M., Sisi, Q., Li, W., Mei, X., Bing, C., Zivcak, M., Rastogi, A., Skalicky, M., Hejnak, V., Weiguo, L., y Wenyu, Y. (2021). Foliar application of silicon improves stem strength under low light stress by regulating lignin biosynthesis genes in soybean (*Glycine max* L.). *Journal of Hazardous Materials*, *401*. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123256>
- ICA. (2019). *Guía para la toma, transporte y envío de muestras para análisis y diagnóstico fitosanitario*. <https://www.ica.gov.co/getattachment/Areas/laboratorios/>
- Islam, M. R., Akanda, A. M., Hossain, M. M., y Hossain, M. M. (2021). First characterization of a newly emerging phytopathogen, *Sclerotinia sclerotiorum* causing white mold in pea. *Journal of Basic Microbiology*, *61*(10), 923–939. <https://doi.org/10.1002/jobm.202100223>
- Kannoja, P., Choudhary, K. K., Srivastava, A. K., y Singh, A. K. (2019). PGPR Bioelicitors. In *PGPR Amelioration in Sustainable Agriculture* (pp. 67–84). <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-815879-1.00004-5>
- Kaushik, P., y Saini, D. K. (2019). Silicon as a Vegetable Crops Modulator—A Review. *Plants*, *8*. <https://doi.org/10.3390/plants8060148>

- Khan, T. N., Meldrum, A., y Croser, J. S. (2016). Pea: Overview. In *Encyclopedia of Food Grains: Second Edition*, 1(4), 324–333. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394437-5.00037-1>
- Lemes, E. M., MacKowiak, C. L., Blount, A., Marois, J. J., Wright, D. L., Coelho, L., y Datnoff, L. E. (2011). Effects of silicon applications on soybean rust development under greenhouse and field conditions. *Plant Disease*, 95(3), 317–324. <https://doi.org/10.1094/PDIS-07-10-0500>
- Lepolu Torlon, J., Heckman, J. R., Simon, J. E., y Wyenandt, C. A. (2016). Silicon soil amendments for suppressing powdery mildew on pumpkin. *Sustainability (Switzerland)*, 8(4). <https://doi.org/10.3390/su8040293>
- Liang, Y. C., Sun, W. C., Si, J., y Römheld, V. (2005). Effects of foliar- and root-applied silicon on the enhancement of induced resistance to powdery mildew in *Cucumis sativus*. *Plant Pathology*, 54(5), 678–685. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2005.01246.x>
- Ligarreto, G. A., y Ospina, A. (2009). Análisis de parámetros heredables asociados al rendimiento y precocidad en arveja voluble (*Pisum sativum* L.) tipo Santa Isabel. *Agronomía Colombiana*, 27, 333–339. <https://www.redalyc.org/pdf/1803/180316242006>
- Liu, B., Davies, K., y Hall, A. (2020). Silicon builds resilience in strawberry plants against both strawberry powdery mildew *Podosphaera aphanis* and two-spotted spider mites *Tetranychus urticae*. *PLoS ONE*, 15(12). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0241151>
- Liu, J., Cao, T., Chang, K. F., Hwang, S. F., y Strelkov, S. E. (2013). Virulence and diversity of *Peronospora viciae* f. sp. *pisi* in Alberta, Canada. *Crop Protection*, 43, 18–26. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2012.07.012>
- Liu, N., Xu, S., Yao, X., Zhang, G., Mao, W., Hu, Q., Feng, Z., y Gong, Y. (2016). Studies on the control of ascochyta blight in field peas (*Pisum sativum* L.) caused by *Ascochyta pinodes* in Zhejiang Province, China. *Frontiers in Microbiology*, 7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00481>
- Lobato, A. K. S., Gonçalves-Vidigal, M. C., Vidigal Filho, P. S., Andrade, C. A. B., Kvitschal, M. v., y Bonato, C. M. (2010). Relationships between leaf pigments and photosynthesis in common bean plants infected by anthracnose. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 38(1), 29–37. <https://doi.org/10.1080/01140671003619308>

- Lopes, U. P., Zambolim, L., do Nascimento Lopes, U., Alberto Rios, J., Silva Silveira Duarte, H., y Ivo Ribeiro Júnior, J. (2013). Silicate slag combined with tebuconazole in management of brown eye spot in coffee. *Coffee Science*, 8(2), 221-226. <http://www.sbicafe.ufv.br:80/handle/123456789/7975>
- Lopes, U., Zambolim, L., Souza, P., Duarte, H., Ribeiro, J., Souza, A., y Rodrigues, F. (2014). Silicon and triadimenol for the management of coffee leaf rust. *J. Phytopathol.* 162, 124-128.
- Lutts, S., Benincasa, P., Wojtyla, L., Kubala, S., Pace, R., Lechowska, K., Quinet, M., y Garnczarska, M. (2016). Seed priming: new comprehensive approaches for an old empirical technique. In S. Araujo y A. Balestrazzi (Eds.), *New challenges in Seed biology - basic and translational research driving seed technology*. <http://dx.doi.org/10.5772/64420>
- Ma, J. F. (2004). Role of silicon in enhancing the resistance of plants to biotic and abiotic stresses. *Soil Science and Plant Nutrition*, 50(1), 11–18. <https://doi.org/10.1080/00380768.2004.10408447>
- Ma, J. F., y Yamaji, N. (2006). Silicon uptake and accumulation in higher plants. *Trends in Plant Science*, 11(8), 392–397. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2006.06.007>
- Melo, I. A., y Ligarreto, G. A. (2010). Contenido de taninos en el grano y características agronómicas en cultivares de frijol común “tipo reventón.” *Agronomía Colombiana*, 28(2), 147-154.
- Mendoza-Vargas, L. A., Villamarín-Romero, W. P., Cotrino-Tierradentro, A. S., Ramírez-Gil, J. G., Chávez-Arias, C. C., Restrepo-Díaz, H., y Gómez-Caro, S. (2021). Physiological response of cape gooseberry plants to *Fusarium oxysporum* f. sp. *physali*, fusaric acid, and water deficit in a hydroponic system. *Frontiers in Plant Science*, 12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.702842>
- Morkunas, I., Formela, M., Marczak, Ł., Stobiecki, M., y Bednarski, W. (2013). The mobilization of defense mechanisms in the early stages of pea seed germination against *Ascochyta pisi*. *Protoplasma*, 250(1), 63–75. <https://doi.org/10.1007/s00709-012-0374-x>
- Nanayakkara, U. N., Uddin, W., y Datnoff, L. E. (2009). Soil silicon amendment for managing gray leaf spot of perennial ryegrass turf on golf courses in Pennsylvania. *Can. J. Plant Pathol.* 31. <https://doi.org/10.1080/07060660909507616>

- Ng, L. C., Nura Adila, Z., Shahrul Hafiz, E., Aziz, A., y Razi Ismail, M. (2020). Foliar sprayed-silicon to induce defense-related enzymatic activity against *Pyricularia oryzae* infection in aerobic rice. *Malays. Appl. Biol* (Vol. 49, Issue 4). 10.55230/mabjournal.v49i4.1622
- Ng, L. C., Nura Adila, Z., Shahrul Hafiz, E. M., y Aziz, A. (2021). Foliar spray of silicon enhances resistance against *Pyricularia oryzae* by triggering phytoalexin responds in aerobic rice. *European Journal of Plant Pathology*, 159(3), 673–683. <https://doi.org/10.1007/s10658-020-02197-1>
- Nisa, T.-U., Wani, H. A., Mohd, Y. B., Pala, S. A., y Mir, R. A. (2011). *In vitro* inhibitory effect of fungicides and botanicals on mycelial growth and spore germination of *Fusarium oxysporum*. *Journal of Biopesticides*, 4(1), 53–56.
- Nolla, A., Korndörfer, G. H., y Coelho, L. (2006). Efficiency of calcium silicate and carbonate in soybean disease control. *Journal of Plant Nutrition*, 29(11), 2049–2061. <https://doi.org/10.1080/01904160600932658>
- Okorski, A., Olszewski, J., Pszczółkowska, A., y Kulik, T. (2008). Effect of fungal infection and the application of the biological agent EM 1™ on the rate of photosynthesis and transpiration in pea (*Pisum Sativum* L.) leaves. *Polish Journal of Natural Science*, 23(1), 35–47. <https://doi.org/10.2478/v10020-008-0003-5>
- Olle, M. (2019). The effect of silicon on the organically grown leaf lettuce growth and quality. *Agraarteadus*, 30(2), 99–102. <https://doi.org/10.15159/jas.19.08>
- Önder, M., Ali, K., y Ercan, C. (2013). Correlation and path analysis for yield and yield components in common bean genotypes (*Phaseolus vulgaris* L.). *Ratarstvo i Povrtarstvo*, 50(2), 14–19. <https://doi.org/10.5937/ratpov50-3958>
- Ortiz, H., León, J., Rivero, M., y Hoyos-Carvajal, L. (2011). *Manual de prácticas de fitopatología general*. Universidad Nacional de Colombia.
- Pacheco, C. A., Vergara Holguín, M. C., y Ligarreto Moreno, G. A. (2010). Clasificación de 42 Líneas Mejoradas de Arveja (*Pisum sativum* L.) por Caracteres Morfológicos y Comportamiento Agronómico. *Revista Facultad Nacional de Agronomía*, 63, 5543–5553. <http://www.scielo.org.co/pdf/rfnam/v63n2/a08v63n01>

- Padder, B. A., Kapoor, V., Kaushal, R. P., y Sharma, P. N. (2012). Identification and genetic diversity analysis of *Ascochyta* species associated with blight complex of pea in a northwestern hill state of India. *Agricultural Research*, 1(4), 325–337. <https://doi.org/10.1007/s40003-012-0033-7>
- Parthasarathy, S. (2017). Studies on morphological characterization of *Erysiphe pisi* causing powdery mildew of pisum sativum by environmental scanning electron microscope. *International Journal of Pure and Applied Bioscience*, 5(6), 1348–1355. <https://doi.org/10.18782/2320-7051.6036>
- Pavanello, E. P., Brackmann, A., da Costa, I. F. D., Both, V., y Ludwig, V. (2016). Uso de metassilicato de sódio no manejo da podridão parda do pessegueiro. *Pesquisa Agropecuaria Tropical*, 46(3), 245–253. <https://doi.org/10.1590/1983-40632016v46a41221>
- Pavlovic, J., Kostic, L., Bosnic, P., Kirkby, E. A., y Nikolic, M. (2021). Interactions of silicon with essential and beneficial elements in plants. *Frontiers in Plant Science*. 12:697592. doi: 10.3389/fpls.2021.697592
- Polanco, L. R., Rodrigues, F. A., Nascimento, K. J. T., Cruz, M. F. A., Curvelo, C. R. S., Damatta, F. M., y Vale, F. X. R. (2014). Photosynthetic gas exchange and antioxidative system in common bean plants infected by *Colletotrichum lindemuthianum* and supplied with silicon. *Tropical Plant Pathology*, 39(1), 35–042. doi:10.1590/s1982-56762014000100005
- Pride, L., Vallad, G., y Agehara, S. (2020). *How to measure leaf disease damage using image análisis in ImageJ*. <https://edis.ifas.ufl.edu>
- Pylak, M., Oszust, K., y Fraç, M. (2019). Review report on the role of bioproducts, biopreparations, biostimulants and microbial inoculants in organic production of fruit. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, 18(3), 597–616. <https://doi.org/10.1007/s11157-019-09500-5>
- Ram, H., Hedau, N. K., Chaudhari, G. v., y Kant, L. (2021). Peas with zero shelling edible pods: A review. *Scientia Horticulturae*, 288. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110333>
- Resende, R. S., Rodrigues, F. Á., Costa, R. V., y Silva, D. D. (2012). Silicon and fungicide effects on anthracnose in moderately resistant and susceptible *Sorghum* Lines. *Journal of Phytopathology*, 161(1), 11–17. <https://doi.org/10.1111/jph.12020>

- Rezende, D. C., Rodrigues, F. Á., Carf-Missio, V., Schurt, D. A., Kawamura, I. K., y Korndrfer, G. H. (2009). Effect of root and foliar applications of silicon on brown spot development in rice. *Australasian Plant Pathology*, 38(1), 67–73. <https://doi.org/10.1071/AP08080>
- Rodrigues, F. A., Polanco, L. R., Duarte, H. S. S., Resende, R. S., y do Vale, F. X. R. (2015). Photosynthetic gas exchange in common bean submitted to foliar sprays of potassium silicate, sodium molybdate and fungicide and infected with *Colletotrichum lindemuthianum*. *Journal of Phytopathology*, 163(8), 554–559. <https://doi.org/10.1111/jph.12353>
- Rodrigues, F., Duarte, H., Rezende, D., Wordell, J., Korndörfer, G., y Zambolim, L. (2010). Foliar spray of potassium silicate on the control of angular leaf spot on beans. *Journal of Plant Nutrition*, 33, 2082–2093.
- Rouphael, Y., y Colla, G. (2020). Editorial: Biostimulants in agriculture. *Frontiers in Plant Science*, 11. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00040>
- Sánchez, G. E., y Sandoval, J. L. (2007). *Manual de pre-inspeccion Arveja china y dulce*. In L. Calderon y M. del Cid, (Eds.). <https://www.icta.gob.gt/publicacionesdearvejachina>
- Santos, G. R. dos, Neto, M. D. de C., Ramos, L. N., Sarmiento, R. A., Korndörfer, G. H., y Ignácio, M. (2011). Efeito de fontes de silício sobre as doenças e produtividade do arroz no estado do Tocantins, Brasil. *Acta Scientiarum - Agronomy*, 33(3), 451–456. <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v33i3.6573>
- Savvas, D., Giotis, D., Chatzieustratiou, E., Bakea, M., y Patakioutas, G. (2009). Silicon supply in soilless cultivations of zucchini alleviates stress induced by salinity and powdery mildew infections. *Environ. Exp. Bot.*, 65, 11–17.
- Savvas, D., y Ntatsi, G. (2015). Biostimulant activity of silicon in horticulture. *Scientia Horticulturae*, 196, 66–81. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.010>
- Shabana, Y. M., Abdalla, M. E., Shahin, A. A., El-Sawy, M. M., Draz, I. S., y Youssif, A. W. (2017). Efficacy of plant extracts in controlling wheat leaf rust disease caused by *Puccinia triticina*. *Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences*, 4(1), 67–73. <https://doi.org/10.1016/j.ejbas.2016.09.002>
- Shen, G., Xue, Q., Tang, M., Chen, Q., Wang, L. N., Duan, C. M., Xue, L., y Zhao, J. (2010). Inhibitory effects of potassium silicate on five soil-borne phytopathogenic fungi *in vitro*.

-
- Journal of Plant Diseases and Protection*, 117, 180–184.
<https://www.jstor.org/stable/43229124>
- Shen, X., Zhou, Y., Duan, L., Li, Z., Eneji, A. E., y Li, J. (2010). Silicon effects on photosynthesis and antioxidant parameters of soybean seedlings under drought and ultraviolet-B radiation. *Journal of Plant Physiology*, 167(15), 1248–1252.
<https://doi.org/10.1016/j.jplph.2010.04.011>
- Siddiq, J. A., Kalpana, K., Ebenezar, E. G., y Chinniah, C. (2019). *In vitro* efficacy of soluble silicon against sesame. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 8(2), 3532–3536.
- Silva, W. L. da, Cruz, M. F. A., Fortunato, A. A., y Rodrigues, F. Á. (2015). Histochemical aspects of wheat resistance to leaf blast mediated by silicon. *Scientia Agricola*, 72(4), 322–327.
<https://doi.org/10.1590/0103-9016-2014-0221>
- Singh, M., Srivastava, M., Kumar, A., Singh, A. K., y Pandey, K. D. (2020). Endophytic bacteria in plant disease management. *Microbial Endophytes: Prospects for Sustainable Agriculture*, 61–89. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818734-0.00004-8>
- Šišić, A., Oberhänsli, T., Baćanović-šišić, J., Hohmann, P., y Finckh, M. R. (2022). A novel real time PCR method for the detection and quantification of *Didymella pinodella* in symptomatic and asymptomatic plant hosts. *Journal of Fungi*, 8(1). <https://doi.org/10.3390/jof8010041>
- Sivachandra-Kumar, N. T., y Banniza, S. (2017). Assessment of the effect of seed infection with *Ascochyta pisi* on pea in western Canada. *Frontiers in Plant Science*, 8.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00933>
- Skoglund, L. G., Harveson, R. M., Chen, W., Dugan, F., Schwartz, H. F., Markell, S. G., Porter, L., Burrows, M. L., y Goswami, R. (2011). Ascochyta blight of peas. *Plant Health Progress*, 12(1). <https://doi.org/10.1094/php-2011-0330-01-rs>
- Song, X. P., Verma, K. K., Tian, D. D., Zhang, X. Q., Liang, Y. J., Huang, X., Li, C. N., y Li, Y. R. (2021). Exploration of silicon functions to integrate with biotic stress tolerance and crop improvement. *Biological Research*, 54(1). <https://doi.org/10.1186/s40659-021-00344-4>
- Soylu, S., Soylu, E. M., Kara, M., Kurt, Ş., y Choi, Y. J. (2020). first report of downy mildew disease caused by *Peronospora viciae* on common vetch (*Vicia sativa*) in Turkey. *Plant Disease*. <https://doi.org/10.1094/PDIS-12-19-2568-PDN>

- Suárez, J. C., Vanegas, J. I., Contreras, A. T., Anzola, J. A., Urban, M. O., Beebe, S. E., Rao, I. M. (2022). Chlorophyll fluorescence imaging as a tool for evaluating disease resistance of common bean lines in the western amazon region of Colombia. *Plants*, 11, 1371. <https://doi.org/10.3390/plants11101371>
- Sun, S., Fu, H., Wang, Z., Duan, C., Zong, X., y Zhu, Z. (2016). Discovery of a novel er1 allele conferring powdery mildew resistance in Chinese Pea (*Pisum sativum* L.) landraces. *PLoS ONE*, 11(1). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0147624>
- Tadja, A., Youcef-Benkada, M., Rickauer, M., Bendahmane, B. S., y Benkhelifa, M. (2009). Characterization of *Ascochyta* as pathological species of pea (*Pisum sativum* L.) at the North-West of Algeria. *Journal of Agronomy*, 8, 100–106. doi: 10.3923/ja.2009.100.106
- Terbeche, R., Karkachi, N. E., Gharbi, S., Kihal, M., y Henni, J. E. (2015). Isolation and physicochemical test studies of *Ascochyta pisi*. *International Journal of Biosciences*, 6(1), 9–19. <https://doi.org/10.12692/ijb/6.1.9-19>
- Thakral, V., Bhat, J. A., Kumar, N., Myaka, B., Sudhakaran, S., Patil, G., Sonah, H., Shivaraj, S. M., y Deshmukh, R. (2021). Role of silicon under contrasting biotic and abiotic stress conditions provides benefits for climate smart cropping. *Environmental and Experimental Botany*, 189. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2021.104545>
- Tivoli, B., y Banniza, S. (2007). Comparison of the epidemiology of ascochyta blights on grain legumes. *European Journal of Plant Pathology*, 119(1), 59–76. <https://doi.org/10.1007/s10658-007-9117-9>
- Torrado-Martínez, M., Castellanos-González, L., y Céspedes-Novoa, N. (2020). Evaluation of biological alternatives for the control of *Ascochyta* spp. in the pea crop, Pamplona, Norte de Santander. *Revista Ambiental Agua, Aire y Suelo*. <https://doi.org/10.24054/19009178.v1.n1.2020.353>
- Torres-Martínez, F. J., Rivadeneira-Miranda, C. N., y Castillo-Marín, Á. J. (2020). Producción y comercialización de arveja en el departamento de Nariño Colombia. *Agronomía Mesoamericana*, 31, 128–139. DOI: <https://doi.org/10.15517/am.v31i1.36776>

- Torres-Niño, A. M. (2017). *Generación y validación de escalas para la evaluación de la severidad de enfermedades limitantes de arveja (Pisum sativum L.) y lechuga (Lactuca sativa L.) en la sabana de Bogotá*. Universidad Nacional de Colombia.
- Valencia, A. A., Timaná Ch, Y., y Checa, O. C. (2012). Evaluación de 20 líneas de arveja (*Pisum sativum* L.) y su reacción al complejo de ascochyta. *Revista De Ciencias Agrícolas*, 29, 39–52. <https://revistas.udenar.edu.co/index.php/rfacia/article/view/455>
- Van-Bockhaven, J., Spíchal, L., Novák, O., Strnad, M., Asano, T., Kikuchi, S., Höfte, M., y de Vleeschauwer, D. (2015). Silicon induces resistance to the brown spot fungus *Cochliobolus miyabeanus* by preventing the pathogen from hijacking the rice ethylene pathway. *New Phytologist*, 206(2), 761–773. <https://doi.org/10.1111/nph.13270>
- Verma, K. K., Song, X. P., Zeng, Y., Guo, D. J., Singh, M., Rajput, V. D., Malviya, M. K., Wei, K. J., Sharma, A., Li, D. P., Chen, G. L., y Li, Y. R. (2021). Foliar application of silicon boosts growth, photosynthetic leaf gas exchange, antioxidative response and resistance to limited water irrigation in sugarcane (*Saccharum officinarum* L.). *Plant Physiology and Biochemistry*, 166, 582–592. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.06.032>
- Villegas-Fernández, M. H., Carpio-Granillo, M., Vargas-Hernández, E., Zuno-Cruz, F. J., y Sánchez-Cabrera, G. (2021). Una revisión general de las estructuras metal-orgánicas (MOF) dentro de la química inorgánica. *Boletín Científico de Ciencias Básicas e Ingenierías Del ICBI*, 8(16), 18–29. <https://doi.org/10.29057/icbi.v8i16.5775>
- Wang, M., Gao, L., Dong, S., Sun, Y., Shen, Q., y Guo, S. (2017). Role of silicon on plant–pathogen interactions. *Frontiers in Plant Science*, 8 <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00701>
- Wang, W., Yang, C., Tang, X., Gu, X., Zhu, Q., Pan, K., Hu, Q., y Ma, D. (2014). Effects of high ammonium level on biomass accumulation of common duckweed *Lemna minor* L. *Environmental Science and Pollution Research*, 21(24), 14202–14210. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3353-2>
- Weerahewa, D., y Somapala, K. (2016). role of silicon on enhancing disease resistance in tropical fruits and vegetables: a review. *OUSL Journal*, 11. <http://doi.org/10.4038/ouslj.v11i0.7347>
- Xu, L., y Geelen, D. (2018). Developing biostimulants from agro-food and industrial by-products. *Frontiers in Plant Science*, 871. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01567>

- Yadav, R., y Bains, G. (2021). *In vitro* investigation of potassium silicate on mycelial growth of *Fusarium* isolate. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 10(03), 233–240. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2021.1003.031>
- Yan, G. chao, Nikolic, M., Ye, M. jun, Xiao, Z. xi, y Liang, Y. chao. (2018). Silicon acquisition and accumulation in plant and its significance for agriculture. *Journal of Integrative Agriculture*, 17, 2138–2150. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(18\)62037-4](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(18)62037-4)
- Yuvaraj, M., Pandiyan, M., y Gayathri, P. (2020). Role of legumes in improving soil fertility status. In M. Hasanuzzaman (Ed.), *Legume Crops - Prospects, Production and Uses*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.93247>
- Zellner, W., Tubaña, B., Rodrigues, F. A., y Datnoff, L. E. (2021). Silicon's role in plant stress reduction and why this element is not used routinely for managing plant health. *Plant Disease*, 105(8). <https://doi.org/10.1094/PDIS-08-20-1797-FE>
- Zhou, X., Shen, Y., Fu, X., y Wu, F. (2018). Application of sodium silicate enhances cucumber resistance to *Fusarium* wilt and alters soil microbial communities. *Frontiers in Plant Science*, 9. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00624>
- Zuccarini, P. (2008). Effects of silicon on photosynthesis, water relations and nutrient uptake of *Phaseolus vulgaris* under NaCl stress. In *Biologia Plantarum*, 52(1). M. M. (2011a). Beneficial effects of diatomite on the growth, the biochemical contents and polymorphic DNA in *Lupinus albus* plants grown under water stress. *Agriculture and Biology Journal of North America*. <http://www.scihub.org/ABJNA>

6. Anexos

1. Anexo: Informe de identificación de AMn03 – AIS3 basado en secuenciación y análisis filogenético de las regiones ITS, 18S, RPB2 y BTUB



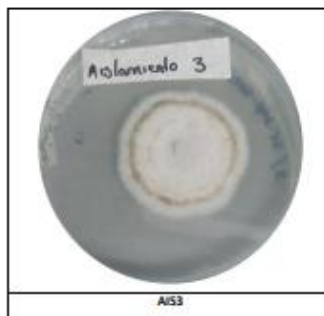
Centro Nacional de Secuenciación Genómica

10 de marzo de 2022

Informe de identificación de hongos basado en secuenciación y análisis filogenético de la regiones ITS, 18S, RPB2 y BTUB

Material recibido:

El 22/10/2021 se recibieron las caja de petri identificadas con el código: AIS3



Amplificación del marcador ribosomal ITS:

Se amplificó la región intergénica ribosomal ITS mediante PCR utilizando los oligonucleótidos **ITS1**: 5' TCCGTAGGTGAACCTGCGG 3' e **ITS4**: 5' TCCTCCGCTATTGATATGC 3', los cuales amplifican un fragmento aproximado de 560 pares de bases (bp). El producto de PCR se sometió a una reacción de secuenciamiento capilar en ambas cadenas. Las secuencias consensus obtenidas se presenta final del informe.

Amplificación de los marcadores RPB2, BTUB Y 28S:

Se amplificaron las regiones **RPB2**, **BTUB** Y **28S** mediante PCR utilizando los oligonucleótidos **RPB2-6F**: 5' TGGGGYATGGTNTGYCCYGC 3' e **RPB2-71R**: 5' CCCATRGCTGYTTMCCCATDGC 3', **Bt2a**: 5' GGTAACCAAAATCGGTGCTGCTTTC 3' y **Bt2b**: 5' ACCCTCAGTGTAGTGACCCCTGGC 3', **LRS**: 5' TCCTGAGGGAACTTCG 3' y **LROR**: 5' ACCCGCTGAACTTAAGC 3' los cuales amplifican fragmentos de 372, 319 y 812 pares de bases (bp), respectivamente. Los producto de PCR se sometieron a una reacción de secuenciamiento capilar en ambas cadenas. Las secuencias consensus obtenidas se presenta final del informe.



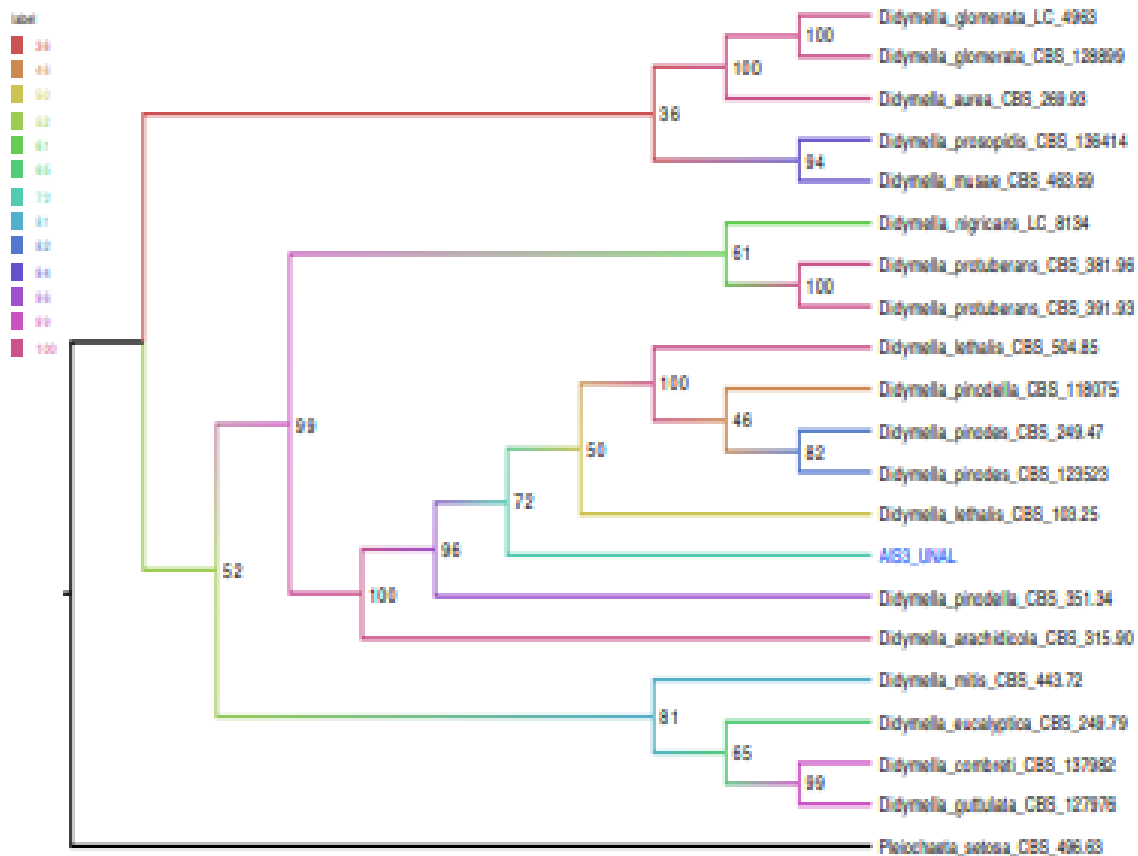


Centro Nacional de Secuenciación Genómica

Clasificación del microorganismo utilizando el algoritmo CLASSIFIER con la base de datos del Ribosomal Database Project:

AI53: Fungi(100%) Ascomycota(100%) Pezizomycotina(100%) Dothideomycetes(100%) Pleosporomycetidae(100%) Pleosporales(100%) Didymellaceae(100%) Didymella(75%)

Árbol filogenético (Maximum Likelihood) de las regiones ITS, 28S, BTUB y RPB2 del microorganismo: AI53



Modelo de sustitución: TN9+R2

Edificio 81U: Carrera 53 N.º 61 - 30
Teléfono: (574) 2196402 • Fax: (574) 219 6565 • NIT: 890980040-8 • Apartado: 1226
Web: <http://sai.udpa.edu.co> • Medellín - Colombia



2. Anexo: Informe de identificación de AMn02 – AIS2 basado en secuenciación y análisis filogenético de las regiones ITS, 18S, RPB2 y BTUB



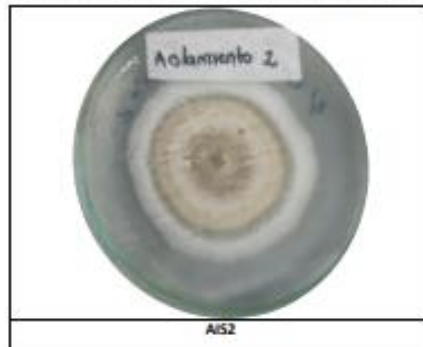
Centro Nacional de Secuenciación Genómica

7 de marzo de 2022

Informe de identificación de hongos basado en secuenciación y análisis filogenético de la regiones ITS, 18S, RPB2 y BTUB

Material recibido:

El 22/10/2021 se recibieron las caja de petri identificadas con el código: AIS2



Amplificación del marcador ribosomal ITS:

Se amplificó la región intergénica ribosomal ITS mediante PCR utilizando los oligonucleótidos **ITS1**: 5' TCCGTAGGTGAACCTGCGG 3' e **ITS4**: 5' TCCTCCGCTTATTGATATGC 3', los cuales amplifican un fragmento aproximado de 560 pares de bases (bp). El producto de PCR se sometió a una reacción de secuenciamiento capilar en ambas cadenas. Las secuencias consensus obtenidas se presenta final del informe.

Amplificación de los marcadores RPB2, BTUB Y 28S:

Se amplificaron las regiones **RPB2**, **BTUB** Y **28S** mediante PCR utilizando los oligonucleótidos **RPB2-6F**: 5' TGGGGYATGGTNTGYCCYGC 3' e **RPB2-71R**: 5' CCCATRGCTGYTTMCCCATDGC 3', **Bt2a**: 5' GGTAACCAATCGGTGCTGCTTC 3' y **Bt2b**: 5' ACCCTCAGTGTAGTGACCCTTGGC 3', **LRS**: 5' TCCTGAGGGAACTTCG 3' y **LRDR**: 5' ACCCGCTGAACCTAAGC 3' los cuales amplifican fragmentos de 372, 319 y 812 pares de bases (bp), respectivamente. Los producto de PCR se sometieron a una reacción de secuenciamiento capilar en ambas cadenas. Las secuencias consensus obtenidas se presenta final del informe.

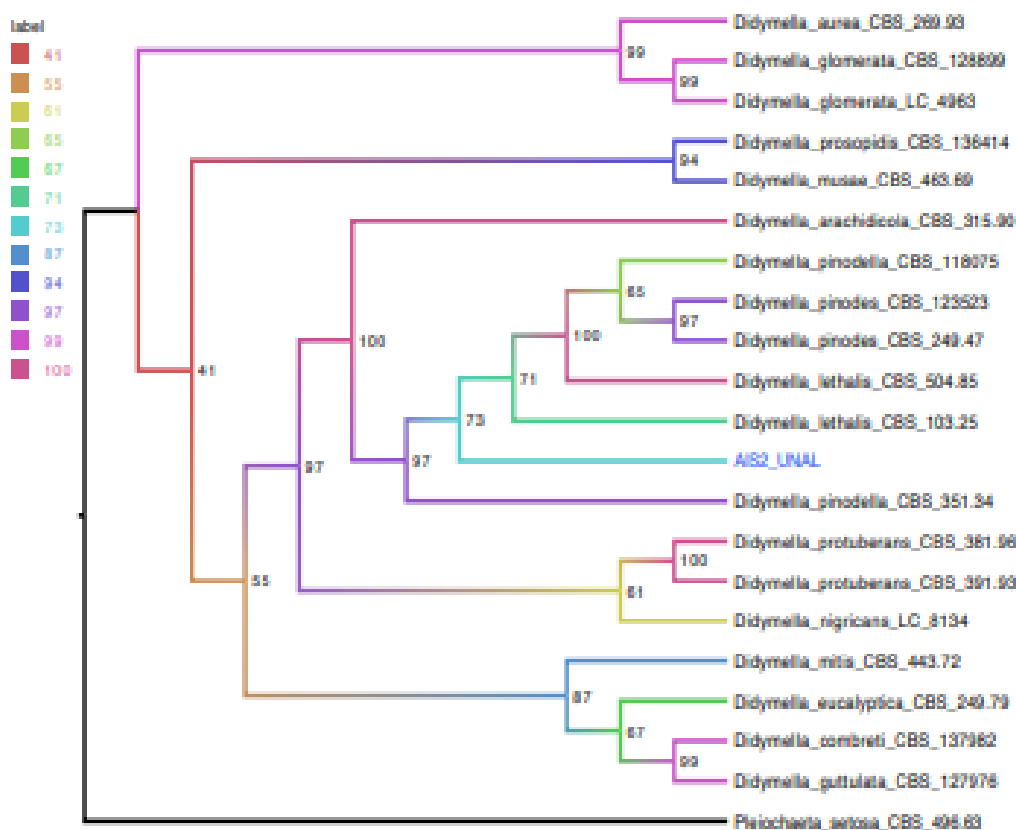


Centro Nacional de Secuenciación Genómica

Clasificación del microorganismo utilizando el algoritmo CLASSIFIER con la base de datos del Ribosomal Database Project:

AIS2: Fungi(100%) Ascomycota(100%) Pezizomycotina(100%) Dothideomycetes(100%) Pleosporomycetidae(100%) Pleosporales(100%) Didymellaceae(100%) Didymella(71%)

Árbol filogenético (Maximum Likelihood) de las regiones ITS, 28S, 5.8S y RPB2 del microorganismo: AIS2



Modelo de sustitución: TIM2+I2

Edificio SIU: Carrera 53 N.º 61 - 30
Teléfono: (574) 2196402 • Fax (574) 219 6665 • NIT: 890980040-8 • Apartado: 1226
Web: <http://siu.udaa.edu.co> • Medellín - Colombia



3. Anexo: Informe de identificación de AMn01 – AIS1 basado en secuenciación y análisis filogenético de las regiones ITS, 18S, RPB2 y BTUB



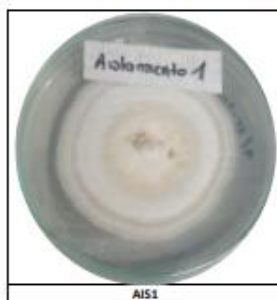
Centro Nacional de Secuenciación Genómica

10 de marzo de 2022

Informe de identificación de hongos basado en secuenciación y análisis filogenético de las regiones ITS, 18S, RPB2 y BTUB

Material recibido:

El 22/10/2021 se recibieron las caja de petri identificadas con el código: AIS1



Amplificación del marcador ribosomal ITS:

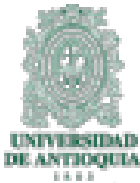
Se amplificó la región intergénica ribosomal ITS mediante PCR utilizando los oligonucleótidos **ITS1**: 5' TCCGTAGTGAACTGCGG 3' e **ITS4**: 5' TCCTCCGCTATTGATATGC 3', los cuales amplifican un fragmento aproximado de 560 pares de bases (bp). El producto de PCR se sometió a una reacción de secuenciamiento capilar en ambas cadenas. Las secuencias consenso obtenidas se presenta final del informe.

Amplificación de los marcadores RPB2, BTUB Y 28S:

Se amplificaron las regiones **RPB2**, **BTUB** y **28S** mediante PCR utilizando los oligonucleótidos **RPB2-6F**: 5' TGGGGYATGGTNTGYCCYGC 3' e **RPB2-71R**: 5' CCCATRGCTGYTTCATDGC 3', **Bt2a**: 5' GGTAACCAATGGTGCTGCTTTC 3' y **Bt2b**: 5' ACCCTAGTGTAGTGACCCCTGGC 3', **LRS**: 5' TCCTGAGGAAACTCG 3' y **LROR**: 5' ACCCGCTGAACCTAAGC 3' los cuales amplifican fragmentos de 372, 319 y 812 pares de bases (bp), respectivamente. Los producto de PCR se sometieron a una reacción de secuenciamiento capilar en ambas cadenas. Las secuencias consenso obtenidas se presenta final del informe.

Edificio BIIU: Carrera 53 N.º 61 - 30
Teléfono: (574) 2196402 • Fax (574) 219 6665 • NIT: 890980040-8 • Apartado: 1226
Web: <http://sku.unia.edu.co> • Medellín – Colombia



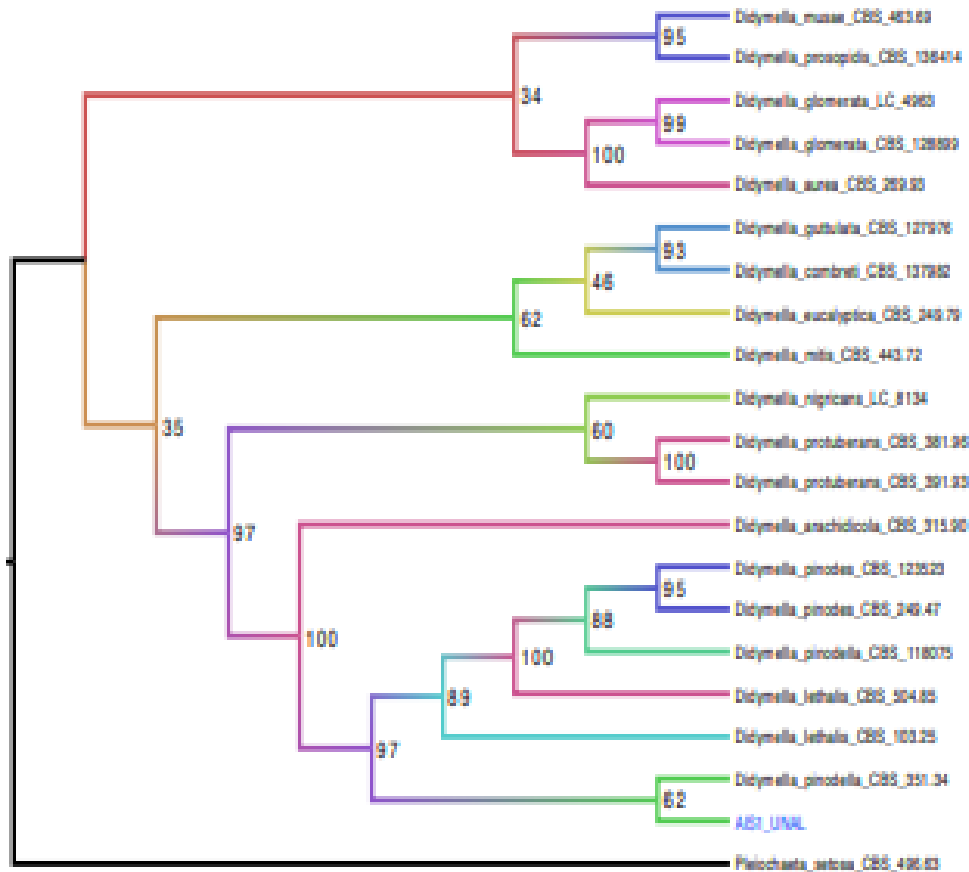


Centro Nacional de Secuenciación Genómica

Clasificación del microorganismo utilizando el algoritmo CLASSIFIER con la base de datos del Ribosomal Database Project:

AIS1: Fungi[100%] Ascomycota[100%] Pezizomycotina[100%] Dothideomycetes[100%] Pleosporomycetidae[100%] Pleosporales[100%] Didymellaceae[100%] Didymella[76%]

Árbol filogenético (Maximum Likelihood) de las regiones ITS, 28S, BTUB y RPB2 del microorganismo: AIS1



Modelo de sustitución: TIM2+R2

