

# DETERMINACION DE HONGOS INTERNOS, PRESENTES EN LA SEMILLA DE POROTO<sup>1</sup>

## Identification of internal fungi, present in bean seeds

Jorge Nitsche M.<sup>2</sup> y Claudio Cafati K.<sup>2</sup>

### SUMMARY

Seed samples of bean cultivars currently grown in Chile were harvested from fields in commercial farms and experimental stations (INIA), located between the Metropolitan Region and the VIII Region, at different phenological periods of the crop: 15, 30 and 45 days after physiological maturity.

The seed internal fungi were subjected to *in vitro* and paper towel analyses and their counts were recorded. The isolated fungi were used in pathogenicity tests.

Results showed excellent sanitary conditions of the seeds, specially in samples of the second harvest period.

The isolated fungi, that demonstrated to be pathogens on beans, were: *Rhizopus stolonifer* Lind, *Rhizoctonia solani* Kuhn, *Botrytis cinerea* Pers.; and *Fusarium oxysporum* Schlecht.

Some saprophytic fungi genera were also isolated; *Alternaria*, *Stemphylium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Epicoccum*, *Sclerotium*, *Macrophomina*, *Helminthosporium* and *Chaetomium*.

### INTRODUCCION

Aproximadamente el 50% de los agentes causantes de las enfermedades más importantes del cultivo del poroto pueden ir dentro de la semilla y, por lo tanto, éstas pueden constituir un significativo medio de diseminación, así como una fuente de inóculo primario de estas enfermedades (Ellis y Gálvez, 1980).

Por otra parte, uno de los principales problemas de este cultivo es el ataque de diversas especies de hongos, que causan desde pudriciones en la semilla hasta la muerte de plantas adultas. Numerosos investigadores (Baker, 1972; Chorin y Halfon—Meiri, 1962; Dhingra, 1978; Ellis, Gálvez y Sinclair, 1976a, b y c; Prasad, 1979) revelan que la mayoría de estos hongos patógenos pueden infectar internamente a la semilla.

La mayor parte de los hongos alojados en el interior de la semilla se encuentra dentro de la testa, registrándose relativamente pocas infecciones en el cotiledón o en el embrión (Bolkan, R. de Silva y Cupertino, 1976). Especies del género *Fusarium* se concentran en el integumento superficial, hilum y cotiledones (Díaz, 1970).

Otros hongos saprófitos, de los géneros *Aspergillus*, *Mucor*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Alternaria* y *Stemphylium*, se encuentran en la mayoría de los casos en el integumento superficial (Bolkan y otros, 1976; Díaz, 1970).

*Macrophomina phaseoli* se localiza en cotiledones y embriones; *Rhizoctonia solani* se encuentra con mayor frecuencia en lesiones externas o cotiledonares (Díaz, 1970).

Debido a que muchos de estos hongos han sido determinados en Chile (Mujica y Vergara, 1980) y causan daño al cultivo del poroto, el presente estudio tuvo por objeto:

1. Obtener antecedentes sobre la presencia de hongos patógenos en el interior de la semilla de poroto,

<sup>1</sup> Recepción de originales: 8 de agosto de 1984.

Parte de la tesis presentada por el primer autor, para optar al grado de Licenciado en Ciencias Agrícolas de la Escuela de Agronomía de la U. de Chile. Profesor Guía: Claudio Cafati K. (segundo autor).

<sup>2</sup> Estación Experimental La Platina (INIA), Casilla 5427, Santiago, Chile.

producida bajo condiciones normales de cultivo en el país; y

2. Precisar posibles factores de variación de esta contaminación interna, por medio de un análisis descriptivo de muestras de semillas de poroto obtenidas en Chile.

### MATERIALES Y METODOS

Los análisis se realizaron en los laboratorios e invernaderos de la Estación Experimental La Platina (INIA) y en el laboratorio de semillas de la Escuela de Agronomía de la U. de Chile.

Las 35 muestras de semillas se obtuvieron en cultivos comerciales de poroto y en siembras realizadas en estaciones experimentales del INIA, a lo largo del Llano Central, desde la Región Metropolitana hasta la Región del Biobío, entre los meses de enero y abril de 1982 (Cuadro 1). Cada variedad fue muestreada en tres épocas.

— La época I (15 días después de la madurez fisiológica del cultivo) coincide con el momento en que el grano presenta un contenido de humedad adecuado para su cosecha (15 — 160/o).

**CUADRO 1. Descripción de los cultivos de poroto muestreados**

**TABLE 1. Description of the bean crops sampled**

Región	Muestra No	Variedad	Hábito de crecimiento	Ubicación del Cultivo
Metropolitana	1	Orfeo INIA	Tipo II	La Platina (Santiago)
	2	Tórtola Diana	Tipo III	La Platina (Santiago)
	3	Apolo	Tipo I	La Platina (Santiago)
	4	Negro Argel	Tipo II	La Platina (Santiago)
	5	Arroz-3	Tipo II	La Granja (Santiago)
	6	Coscorrón Tuniche	Tipo III	La Granja (Santiago)
Sexta	7	Coscorrón Tuniche	Tipo III	San Francisco de Mostazal
	8	Tórtola INIA	Tipo III	Graneros
	9	Tórtola	Tipo III	Graneros
	10	Tórtola Diana	Tipo III	Olivar Alto (Rancagua)
	11	Negro Argel	Tipo II	Olivar Alto (Rancagua)
	12	Apolo	Tipo I	Olivar Alto (Rancagua)
	13	Francisca	Tipo I	Rosario
	14	Cristal Bayo	Tipo I	Rosario
	15	Apolo	Tipo I	Rosario
	16	Orfeo INIA	Tipo II	San Fernando
	17	Coscorrón	Tipo III	Chimbarongo
	18	Arroz-3	Tipo II	Chimbarongo
	19	Negro Argel	Tipo II	Chimbarongo
	20	Tórtola	Tipo III	Chimbarongo
Séptima	21	Tórtola Diana	Tipo III	Teno
	22	Tórtola INIA	Tipo III	Teno
	23	Negro Argel	Tipo II	Linares
Octava	24	Blanco INIA	Tipo I	Cato (Chillán)
	25	Seaway	Tipo I	Cato (Chillán)
	26	Arroz-3	Tipo II	Cato (Chillán)
	27	Apolo	Tipo I	Cato (Chillán)
	28	Tórtola	Tipo III	Cato (Chillán)
	29	Tórtola Diana	Tipo III	Cato (Chillán)
	30	Tórtola INIA	Tipo III	Cato (Chillán)
	31	Hallados Alemanes 114	Tipo I	Cato (Chillán)
	32	Orfeo INIA	Tipo II	Cato (Chillán)
	33	Negro Argel	Tipo II	Cato (Chillán)
	34	Red Mexican	Tipo II	Cato (Chillán)
	35	Redcloud	Tipo I	Cato (Chillán)

- La época II (30 días después de la madurez fisiológica del cultivo) corresponde al momento en que generalmente se cosecha el poroto, en un cultivo tradicional en Chile.
- La época III (45 días después de la madurez fisiológica del cultivo) representa una cosecha tardía, común en nuestros campos, donde el poroto queda mucho tiempo en el terreno, expuesto a contaminaciones.

Se definió como madurez fisiológica del cultivo el momento en que el 90% de las vainas en una población ha cambiado de color verde a color amarillo. En esta etapa, el llenado de las vainas está prácticamente concluido y queda determinado el rendimiento final (Bascur, 1981).

Cada muestra estuvo formada por los granos limpios y sin daños visibles, producto de 200 vainas recolectadas en un total de 100 plantas (dos vainas por planta), escogidas aleatoriamente de la totalidad de la área cultivada. Para uniformar la altura de obtención de las vainas, entre cultivares, se recolectaron aquéllas desarrolladas en la parte más baja de la planta, que no estaban en contacto con el suelo.

**Análisis de las muestras:** Cada muestra se dividió en dos submuestras: 25 semillas destinadas al análisis *in vitro* y 50 semillas destinadas al análisis en papel secante corrugado. Para lograr la aislación de hongos presentes en el interior de las semillas, se siguió el método de desinfección propuesto por Ellis y otros (1976b), utilizando una solución de hipoclorito de sodio (2,5%) durante 2,5 min y, luego, alcohol etílico al 70%, por 2 min.

**Análisis *in vitro*:** Cada submuestra de 25 semillas y previamente desinfectada externamente, se sembró en cinco placas Petri con ADP (agar—papa—dextrosa) más ácido láctico, hasta llegar a un pH de 5,5. Estas placas se incubaron en estufa de cultivo a 24° C.

Los hongos desarrollados a partir de cada semilla, se aislaron e identificaron hasta el nivel de género. Se contabilizó el porcentaje de granos contaminados, en total y por cada género de hongos.

**Análisis en papel secante corrugado:** Las 50 semillas de cada muestra, desinfectadas externamente, se sembraron en bandejas plásticas, con papel secante corrugado mojado a saturación con agua destilada estéril. Las bandejas se ubicaron en cámaras húmedas a 24° C. Los recuentos y aislaciones se realizaron cuando las plantas tenían sus hojas primarias completamente desarrolladas.

Se contabilizaron los porcentajes de semillas germinadas que dieron origen a plántulas sanas y normales, es decir, que no presentaban síntomas o signos que evidenciaron la presencia de hongos ni daños o malformaciones, en ninguna de sus estructuras. Además, se contabilizaron los porcentajes totales de plántulas atacadas y los de plántulas atacadas por cada género de hongos.

**Pruebas de Patogenicidad:** Se probó la patogenicidad de las aislaciones obtenidas en los análisis *in vitro* y en papel secante corrugado.

Cada aislación se multiplicó en avena, para luego inocular tres vasos con arena estéril, en cada uno de los cuales se sembraron 15 semillas de poroto cv. Tórtola—INIA. Previamente, la semilla se desinfectó por inmersión en agua a 55° C por 10 minutos. En la misma forma se sembró un testigo, con avena sin inocular.

Las aislaciones más virulentas se enviaron a identificar al Commonwealth Mycological Institute (Londres).

## RESULTADOS Y DISCUSION

Como se puede apreciar en las figuras 1 y 2, no se encontraron diferencias claras en la contaminación interna de las semillas entre las distintas regiones analizadas. Solamente en el análisis *in vitro*, en la primera época de muestreo, tienden a aumentar los porcentajes de contaminación en la Región del Biobío (VIII); esto no se reflejó de igual forma en el análisis en papel secante corrugado.

Los porcentajes de contaminación obtenidos *in vitro* fueron siempre mayores que aquéllos obtenidos en papel. Esto se debió a que en el primer método las semillas se ubican en un medio nutritivo, sobre el cual pueden desarrollarse fácilmente los hongos, en su mayoría saprófitos; en el análisis en papel, no existe este medio nutritivo, disminuyendo enormemente la recuperación de hongos, sobre todo saprófitos, que no se desarrollan bajo estas condiciones.

En los cuadros 2 y 3 se exponen las frecuencias de obtención de los distintos niveles (%) de contaminación interna por hongos; se puede apreciar que la semilla producida en Chile tiene niveles de contaminación interna extraordinariamente bajos, en general.

El análisis *in vitro* mostró que alrededor del 80% de las muestras presentaban porcentajes de contaminación interna menores al 8% y alrededor del 40% de ellos estaban completamente libres de hongos en su interior (Cuadro 2). El análisis en papel secante corrugado, que por sus características tiende a favorecer la

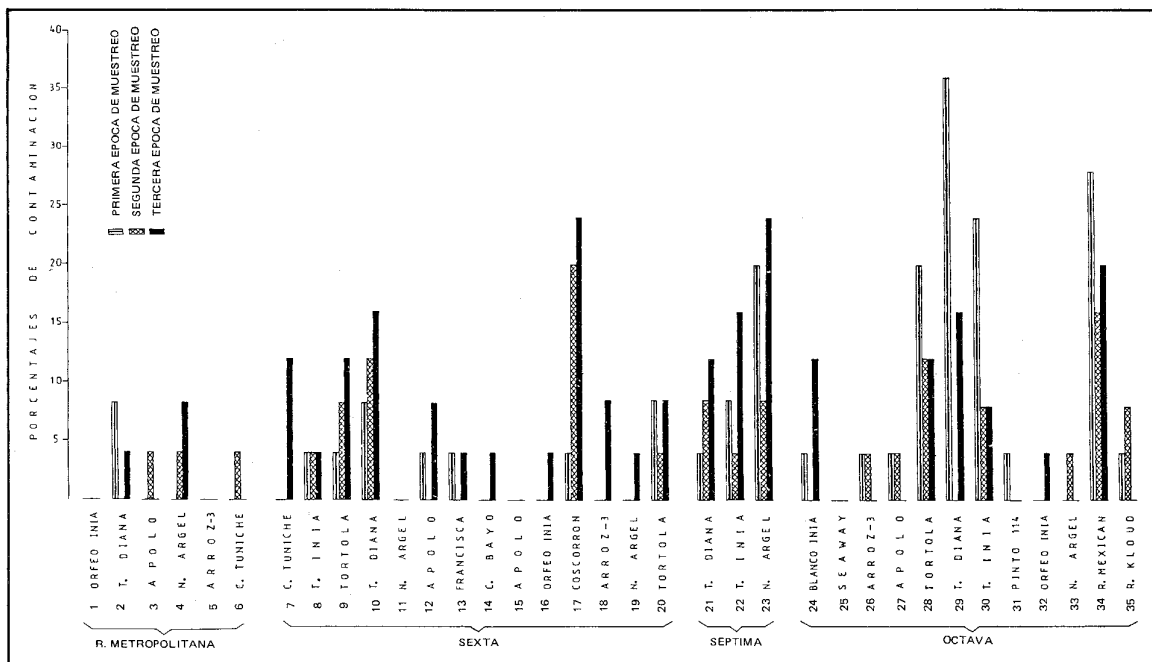


FIGURA 1. Analisis in vitro. Porcentajes de semillas de poroto contaminadas internamente por hongos.  
 FIGURE 1. In vitro Analysis. Percentages of bean seeds internally contaminated by fungi.

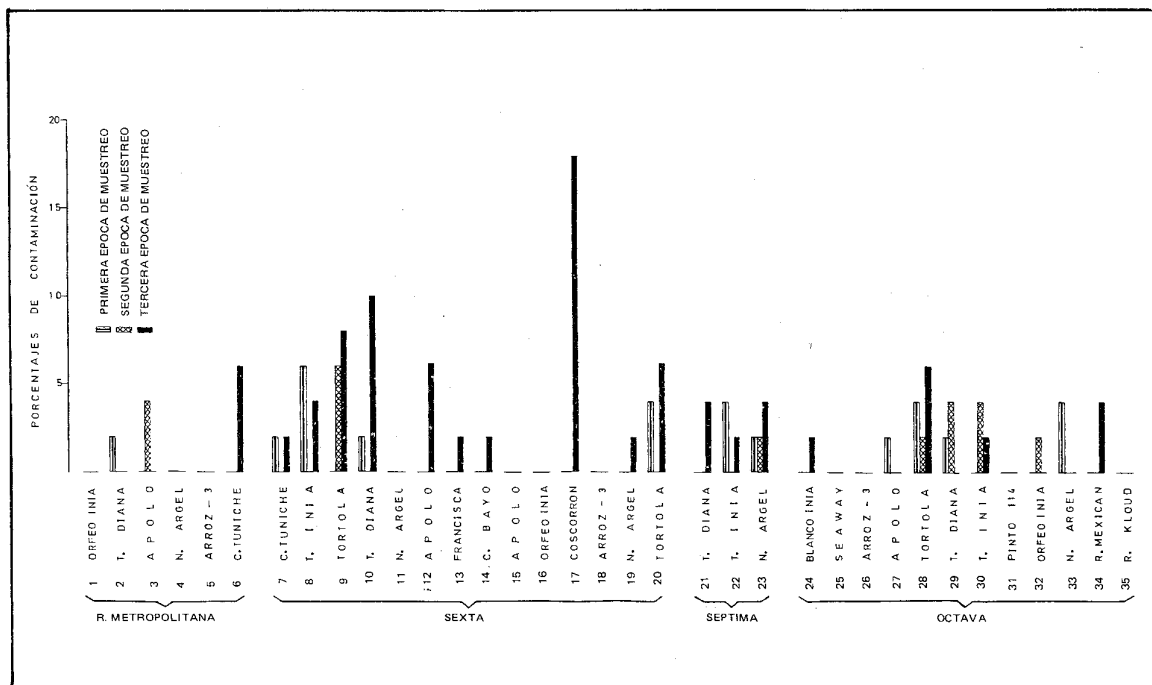


FIGURA 2. Analisis en papel secante corrugado. Porcentajes de semillas de poroto contaminadas internamente por hongos.  
 FIGURE 2. Analysis in corrugated blotting paper. Percentages of bean seeds internally contaminated by fungi.

recuperación de hongos patógenos y dificulta el desarrollo de los saprófitos, indicó que entre el 50 y 80% de las muestras estaban completamente libres de contaminaciones internas de la semilla (Cuadro 3).

Por otra parte, se encontraron diferencias claras en los porcentajes de contaminación interna de la semilla, al variar la época de cosecha. En la época III (tardía), aumenta el número de muestras que se ubican en los porcentajes más altos de contaminación. En cambio, en las épocas I (temprana) y II (normal), las muestras tienden a concentrarse en los porcentajes más bajos de contaminación.

Con los dos tipos de análisis, el mayor número de muestras sin contaminación se encontró en la época II. Esto pudo deberse a que el grano alcanzó menores porcentajes de humedad que en la época I, lo que dificultó la penetración de hongos a la semilla y afectó la viabilidad de los que ya están en su interior. En

la época III, aumentó la incidencia de precipitaciones, lo que facilitó la contaminación por hongos.

Los porcentajes de germinación promedios fueron de 96,7; 97,1 y 94,8%, en las épocas I, II, y III, respectivamente. Los más bajos encontrados fueron: 92% en la muestra N° 20 de la época I, 92% en las muestras N°s 9 y 21 de la época II, y 72% en la muestra N° 17 de la época III. Estos resultados comprueban las excelentes condiciones en que se encuentra en Chile la semilla de poroto al momento de la cosecha, sobre todo si se tiene el cuidado de no dejar el grano un tiempo excesivo en el campo, expuesto a precipitaciones y a variaciones en su porcentaje de humedad.

En los cuadros 4 y 5 se expone el número de aislaciones patógenas y total de cada género de hongos, en los análisis *in vitro* y en papel secante corrugado, respectivamente.

**CUADRO 2. Análisis *in vitro*. Frecuencia de porcentajes de contaminación interna, por hongos, en 35 muestras de poroto recolectadas entre la Región Metropolitana y la VIII, en tres épocas de muestreo**

**TABLE 2. *In vitro* analysis. Frequency of different percentages of internal fungi contamination in 35 bean samples, collected between the Metropolitan and VIII Regions, in three sampling periods**

Contaminación (o/o)	EPOCA I		EPOCA II		EPOCA III	
	Nº	o/o	Nº	o/o	Nº	o/o
0	15	42,9	17	48,6	12	34,3
4-8	15	42,9	14	40,0	12	34,3
12-16	0	0,0	3	8,5	8	22,8
≥20	5	14,2	1	2,9	3	8,6
TOTAL	35	100,0	35	100,0	35	100,0

**CUADRO 3. Análisis en papel secante corrugado. Frecuencia de porcentajes de contaminación interna por hongos, en 35 muestras de poroto recolectadas entre la Región Metropolitana y la VIII, en tres épocas de muestreo**

**TABLE 3. Analysis in corrugated blotting paper. Frequency of different percentages of internal fungi contamination in 35 bean samples, collected between the Metropolitan and VIII Regions in three sampling periods**

Contaminación (o/o)	EPOCA I		EPOCA II		EPOCA III	
	Nº	o/o	Nº	o/o	Nº	o/o
0	24	68,5	28	80,0	17	48,6
2-4	10	28,6	6	17,1	11	31,4
6-8	1	2,9	1	2,9	5	14,3
≥10	0	0,0	0	0,0	2	5,7
TOTAL	35	100,0	35	100,0	35	100,0

**CUADRO 4. Análisis *in vitro*. Aislaciones patógenas y totales, obtenidas en 35 muestras de poroto recolectadas entre la Región Metropolitana y la VIII Región en tres épocas de muestreo**

**TABLE 4. *In vitro* analysis. Pathogenic and total isolations obtained from 35 bean samples collected between the Metropolitan and VIII Regions, in three sampling periods**

Género	Total aislaciones	Aislaciones patógenas	Porcentaje patógenas
<i>Alternaria</i>	52	0	0,0
<i>Stemphylium</i>	29	0	0,0
<i>Rhizoctonia</i>	13	11	84,6
<i>Botrytis</i>	9	9	100,0
<i>Rhizopus</i>	12	9	75,0
<i>Penicillium</i>	10	0	0,0
<i>Aspergillus</i>	8	0	0,0
<i>Epicoccum</i>	5	0	0,0
<i>Sclerotium</i>	2	0	0,0
<i>Helminthosporium</i>	1	0	0,0
<i>Macrophomina</i>	1	0	0,0
<i>Chaetomium</i>	1	0	0,0
TOTAL	151	29	19,2

**CUADRO 5. Análisis en papel secante corrugado. Aislaciones patógenas y totales, obtenidas en 35 muestras de poroto recolectadas entre la Región Metropolitana y la VIII Región, en tres épocas de muestreo**

**TABLE 5. Analysis in corrugated blotting paper. Pathogenic and total isolations obtained from 35 bean samples collected between the Metropolitan and VIII Region, in three sampling periods**

Género	Total aislaciones	Aislaciones patógenas	Porcentaje patógenas
<i>Rhizopus</i>	24	16	66,7
<i>Alternaria</i>	23	0	0,0
<i>Fusarium</i>	10	4	40,0
<i>Rhizoctonia</i>	6	6	100,0
<i>Stemphylium</i>	6	0	0,0
<i>Botrytis</i>	4	4	100,0
TOTAL	73	30	41,0

*In vitro*, sólo demostraron ser patógenas aislaciones de *Botrytis*, *Rhizoctonia* y *Rhizopus*.

En papel secante corrugado, cuatro géneros mostraron patogenicidad al poroto; *Alternaria* y *Stemphylium* resultaron completamente inocuos.

Estos dos últimos géneros tienen la particularidad de contaminar la testa de la semilla y pueden desarrollarse sobre ella, sin causar daño a la semilla en germinación, cuando existen condiciones de alta humedad y temperatura. De aquí el gran número de aislaciones de estos géneros obtenidos en los dos tipos de análisis.

*In vitro*, muchos hongos patógenos son enmascarados o inhibidos en su desarrollo por el crecimiento violento de los saprófitos, que aprovechan en mejor forma las sustancias nutritivas del medio. El análisis en papel tiende a favorecer el desarrollo de hongos patógenos, capaces de penetrar y utilizar los tejidos vegetales vivos como sustrato (Cuadros 4 y 5).

Es importante hacer notar el elevado número de aislaciones y la patogenicidad que mostraron *Rhizopus* y *Botrytis*, en relación a los otros géneros. Hasta la fecha, no existían referencias en Chile de que estos géneros estuvieran causando daños a las semillas y plán-

tulas de poroto (Mujica y Vergara, 1980), aun cuando numerosos investigadores los citan como contaminantes internos de las semillas, (Bolkan y otros, 1976; Ellis y Gálvez, 1980; Ellis y otros, 1976a y b; Prasad, 1979).

Las aislaciones patógenas del género *Rhizopus* correspondieron a *R. stolonifer* Lind (C.M.I.). Este hongo causó pudriciones húmedas del hipocotilo y yema terminal de las plántulas, que redujeron al 50% o el porcentaje de emergencia en las aislaciones más virulentas. Las plantas que no alcanzaron a ser atacadas antes de emerger, no presentaron, posteriormente, ningún tipo de daño en su parte aérea o radicular.

Las aislaciones del género *Botrytis* correspondieron a *B. cinerea*; Pers (C.M.I.) y se caracterizaron por ser todas patógenas a las semillas y plántulas. Esto no ocurrió con los géneros *Rhizoctonia*, *Fusarium* y *Rhizopus*, en los cuales existieron aislaciones no patógenas.

*Botrytis cinerea* causó muerte de pre y post emergencia. El síntoma típico en las plántulas fue una pudrición húmeda, localizada en el hipocotilo, inmediatamente bajo los cotiledones. También hubo pudriciones del ápice y de las hojas primarias. Sobre las pudriciones, se desarrollaron abundantes conidios de color gris y aspectos pulverulento.

Las aislaciones patógenas de *Rhizoctonia* correspondieron a *R. solani* Kuhn (C.M.I.) y causaron muerte de pre y post emergencia. En aquellas plantas que no murieron, se encontraron en los tallos chancros de diversos tamaños y bordes bien definidos, de color café-rojizo.

Las aislaciones patógenas del género *Fusarium* correspondieron a *F. oxysporum* Schlecht y causaron atraso en la emergencia, muerte de pre y post emergencia, muerte de raicillas y daños en el cuello y raíz principal de las plantas. Esta especie no había sido descrita en Chile como patógena del poroto.

## CONCLUSIONES

1. No existen variaciones claras en la contaminación interna de la semilla de poroto, al avanzar desde la Región Metropolitana a la del Biobío (VIII). Desgraciadamente, en el año en estudio, la VIII Región presentó una precipitación bajo lo normal durante la época de cultivo, lo que pudo incidir en una disminución de las contaminaciones de las muestras provenientes de ella.
2. Los niveles de contaminación interna de la semilla son extremadamente bajos en Chile, y están constituidos principalmente por hongos no patógenos a las semillas o plántulas de poroto, lo que se traduce en elevados porcentajes de germinación de aquéllas.
3. La III época de cosecha (45 días después de la madurez fisiológica del cultivo), mostró aumentos en los porcentajes de contaminación interna por hongos. No existieron diferencias claras entre la I y II época de cosecha (15 y 30 días después de la madurez fisiológica del cultivo, respectivamente).
4. Los géneros de hongos que presentaron aislaciones patógenas fueron: *Rhizoctonia*, *Rhizopus*, *Botrytis* y *Fusarium*. Además, se realizaron aislaciones saprófitas de los géneros *Alternaria*, *Stemphylium*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Epicoccum*, *Sclerotium*, *Helminthosporium*, *Macrophomina* y *Chaetomium*.
5. Las aislaciones patógenas correspondieron a los hongos *Rhizoctonia solani* Kuhn; *Rhizopus stolonifer* Lind; *Botrytis cinerea* Pers. y *Fusarium oxysporum* Schlecht.
6. El análisis *in vitro* favorece el desarrollo y facilita la aislación de los hongos saprófitos que se encuentran en el interior de la semilla.
7. El análisis en papel secante corrugado dificulta el desarrollo de la mayoría de los hongos saprófitos y facilita la aislación de hongos patógenos, desde semillas o plántulas atacadas.

## RESUMEN

Se analizaron muestras de semillas de poroto, de variedades cultivadas actualmente en Chile, para detectar la presencia de hongos patógenos en su interior.

Las muestras se obtuvieron en cultivos comerciales y siembras en estaciones experimentales del INIA, entre la Región Metropolitana y la del Biobío (VIII), en tres épocas de cosecha: 15, 30 y 45 días después de la madurez fisiológica del cultivo.

Se realizaron análisis *in vitro* y en papel secante corrugado, para contabilizar y aislar los hongos presentes en el interior de las semillas. Con estas aislaciones, se realizaron pruebas de patogenicidad.

Los análisis mostraron una extraordinaria sanidad de las semillas, sobre todo en los muestreos correspondientes a la segunda época de cosecha.

Los hongos aislados, que resultaron patógenos al poroto, fueron: *Rhizopus stolonifer* Lind, *Rhizoctonia solani* Kuhn, *Botrytis cinerea* Pers. y *Fusarium oxysporum* Schlecht. Además, se obtuvo un bajo número de aislaciones saprófitas, de los géneros *Alternaria*, *Stemphylium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Epicoccum*, *Sclerotium*, *Macrophomina*, *Helminthosporium* y *Chaetomium*.

## LITERATURA CITADA

- BAKER, K.F. 1972. Seed Pathology. En: Seed Biology, T.T. Kozlowski, Univ. of Wisconsin, Madison, WI. Vol. II. 447 p.
- BASCUR, G. 1981. Conceptos básicos sobre la fisiología del fréjol. Curso de producción de fréjol. Santiago, Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA). 22 p.
- BOLKAN, H.A.; R. de SILVA, A. and CUPERTINO, F.A. 1976. Fungi associated with soybean and bean seeds and their control in central Brazil. Plant Disease Reporter 60 (6): 545-548.
- CHORIN, M. and HALFON-MEIRI, A. 1962. Losses caused by *Rhizoctonia solani* borne on bean seed. Plant Disease Reporter 46 (11): 790-791.
- DHINGRA, O.D. 1978. Internally seedborne *Fusarium semitectum* and *Phomopsis* sp. affecting dry and snap bean seed quality. Plant Disease Reporter 62 (6): 509-512.
- DIAZ, P.C. 1970. Contribución al estudio de la microflora en semilla de *Phaseolus vulgaris* L. Agronomía Tropical (Venezuela) 20 (2): 97-107.
- ELLIS, M.A. y GALVEZ, G.E. 1980. Patología de la semilla. En: Problemas de Producción del Fréjol. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). 1980. Ed. Schwartz, H. F. y Gálvez, G.E. p: 301-314.
- ELLIS, M.A.; GALVEZ, G.E. and SINCLAIR, J.B. 1976a. Effect of foliar applications of systemic fungicides and late harvest on seed quality of dry bean (*Phaseolus vulgaris*). Plant Disease Reporter 60 (12): 1073-1076.
- ELLIS, M.A.; GALVEZ, G.E. and SINCLAIR, J.B. 1976b. Effect of pod contact with soil on fungal infection of dry bean seeds. Plant Disease Reporter 60 (1): 974-976.
- ELLIS, M.A.; GALVEZ, G.E. y SINCLAIR, J.B. 1976c. Efecto de tres fungicidas sobre la germinación de semilla infectada de fréjol (*Phaseolus vulgaris*). Turrialba 26: 399-402.
- MUJICA, F. y VERGARA, C. 1980. Revisado y actualizado por Oehrens, E. Flora Fungosa Chilena. Santiago, U. de Chile, Facultad de Agronomía, Ciencias Agrícolas N° 5. 308 p.
- PRASAD, D. 1979. Effects of genotypic variation and delayed harvest upon seed quality in *Phaseolus vulgaris* L. under conditions of internal seed-borne fungal infection. M.S. thesis, Michigan State University, Dep. of Crop and Soil Sciences. 91 p.