

Efecto del hongo *Trichoderma harzianum* sobre la incidencia de la enfermedad pudrición carbonosa en ajonjolí

R. Cardona y H. Rodríguez

INIA-Portuguesa Km. 5 carretera Nacional Araure-Barquisimeto.
Apdo. 102 Acarigua 3301-A.

Resumen

Se estudió el efecto del hongo *Trichoderma harzianum* sobre la incidencia de la pudrición carbonosa en ajonjolí. Se evaluaron tres formas de usar el hongo *T. harzianum*, aplicación a la semilla; aplicación en gránulos de arcilla y aplicación en granos de arroz. La evaluación se realizó durante tres años en una parcela infestada naturalmente ubicada en el Campo Experimental Turén y durante un año en camas de infección ubicadas en el INIA Portuguesa, e inoculadas artificialmente con 400 esclerocios de *M. phaseolina* /g de suelo. El ANÁLISIS de varianza combinado para los tres años no mostró diferencias estadísticas entre años ni entre tratamientos pero si en la interacción año x tratamiento, evaluándose posteriormente cada año por separado obteniéndose inconsistencia en los resultados por no haber diferencias estadísticas entre los tratamientos para cada año. Igual resultado se observó en el análisis de los datos obtenidos en las camas de infección. Estos resultados evidencian que no hubo efecto de *T. harzianum* sobre la incidencia de la pudrición carbonosa, como también la necesidad de evaluar practicas culturales que mejoren las condiciones edáficas en las cuales se siembra el ajonjolí para así mejorar las condiciones ambientales que permitan a el hongo *T. harzianum* desarrollar toda su capacidad antagónica.

Palabras clave: Control biológico, *Sesamum indicum*, *Macrophomina phaseolina*.

Introducción

En el estado Portuguesa, el cultivo del ajonjolí (*Sesamum indicum* L.) constituye uno de los principales rubros agrícolas, sembrándose en esta

entidad la mayor cantidad de área en Venezuela. Las siembras de ajonjolí son frecuentemente afectadas por la enfermedad conocida como pudrición

carbonosa, cuyo agente causal es el hongo habitante del suelo *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid., el cual es capaz de ocasionar pérdidas considerables en los rendimientos del cultivo (1, 11, 13).

El combate eficaz de *M. phaseolina* es difícil, observándose que los tratamientos basados en el uso de herbicidas y fungicidas, han sido poco efectivos y con resultados poco alentadores (12). Sin embargo, una de las alternativas para el control de

enfermedades causadas por hongos habitantes del suelo, tales como *Sclerotium rolfsii* Sacc., *Rhizoctonia solani* Kühn y *Pytium* spp., es la utilización de hongos antagonistas como *Trichoderma harzianum* Rifai, (4, 6, 8, 10). De allí que el objetivo del presente trabajo fue el de evaluar, durante tres años en el campo, un año en camas de infección, el efecto de la aplicación de *T. harzianum* sobre la incidencia de la pudrición carbonosa en el cultivo del ajonjolí.

Materiales y métodos

La cepa utilizada de *T. harzianum* se aisló de plantas afectadas por pudrición carbonosa, colectadas en siembras de ajonjolí ubicadas en La Colonia Agrícola Turén, estado Portuguesa Una vez aislada, la cepa se conservó en tubos de ensayo conteniendo agar papa dextrosa acidificado (APDA) hasta su utilización.

La multiplicación de *T. harzianum* se realizó en granos de arroz pulido, los cuales fueron colocados en frascos de 500 mL a razón de 200 g de arroz/100 mL de agua destilada estéril para luego proceder a esterilizarlo en un autoclave por 15 min. a 121°C y 15 psi, luego fueron inoculados e incubados por 15 d en condiciones de laboratorio, transcurrido este tiempo se dejó secar al aire. Los gránulos secos fueron triturados en un homogenizador y cernidos en una criba de 250 mm. El material cernido se utilizó para la inoculación de la semilla y los gránulos de arcilla y el que quedó en el tamiz se uso para realizar el tratamiento al suelo.

En todas las pruebas, se utilizó semilla certificada de ajonjolí var. Píritu a razón de 4 kg/ha de semilla, cuantificándose la cantidad de plantas por parcela a los 35 días después de emergidas las plántulas y al final de la época de floración, para así poder determinar el porcentaje de plantas sanas.

Pruebas de campo: Durante los períodos de escasa precipitación (diciembre-abril) en los años 1993, 1994 y 1995, se realizaron tres ensayos con el propósito de determinar el efecto de la aplicación de *T. harzianum* sobre la incidencia de la pudrición carbonosa.

Para tales fines, se seleccionó una parcela infestada naturalmente con *M. phaseolina* en el Campo Experimental Turén (CET), ubicado en la Colonia Agrícola Turén, donde los suelos tienen textura franca, pH de 8.2 y con niveles de inóculo adecuados de *M. phaseolina* para que se produzca la epifitía de la enfermedad (1).

El diseño experimental utiliza-

do fue bloques completamente al azar con 4 tratamientos y 4 repeticiones. Las unidades experimentales de 14,4 m² (3,6 m X 4 m) estuvieron sembradas con 6 hilos de ajonjolí con 0,6 m de separación. Entre los bloques la separación fue de 1 m, siendo el área total del ensayo de 285 m². En cada unidad experimental se evaluaron los 4 hilos centrales.

Los tratamientos evaluados fueron los siguientes: 1) Tratamiento de la semilla con esporas de *T. harzianum* (ST); 2) Aplicación de esporas de *T. harzianum* a gránulos de arcilla (GA), [(obtenidos de suelo arcilloso triturado y pasado a través primero de una criba de 3 mm de diámetro, para luego ser esterilizado en autoclave dos veces por 1 h a 121°C y 15 psi). Tanto la semilla como los gránulos de arcilla fueron impregnados con una solución estéril de sacarosa al 5% (sustrato nutritivo para *T. harzianum*) y luego colocados en un envase con tapa contentivo de las esporas del hongo para impregnar la semilla y los gránulos de arcilla]. 3) Granos de arroz pulido colonizado por *T. harzianum* (GR) y 4) (testigo absoluto) semilla de ajonjolí sin tratar. Los tratamientos GA y GR se colocaron en el surco de siembra conjuntamente con la semilla de ajonjolí, a razón de 140 kg (9). Los tratamientos se aplicaron cada año.

Pruebas en canteros: En 1996, en el INIA-Portuguesa en los meses de diciembre a abril (época de escasas precipitaciones), se condujo un ensayo similar a los realizados en el CET, pero en canteros contaminados

artificialmente con esclerocios de *M. phaseolina*. Se aplicó un riego semanal para mantener baja la humedad

El ensayo se condujo en tres canteros de 16 m x 1,2 m (19,2 m²). Se dividieron cada 4 m de largo conformándose 4 unidades experimentales de 4 m x 1,2 m, sembrándose 4 hilos con ajonjolí separados 0,3 m, evaluándose los dos hilos centrales. El suelo de las camas fueron desinfectadas previamente utilizando formalina 5% e inoculadas a razón de 400 esclerocios de *M. phaseolina* por gramo de suelo (11).

La cepa del hongo inoculado fue obtenida de plantas enfermas de ajonjolí colectadas en el CET.

Para incrementar el inóculo, la cepa aislada fue multiplicada en caldo PDA acidificado por 15 días bajo condiciones de laboratorio, luego la masa de esclerocios y micelio se mezcló con agua destilada y se filtró dos veces. La masa lavada se extendió sobre papel de filtro y se dejó secar por 48 h a 30°C, asépticamente, para luego ser molida en un mortero, obteniendo *ca* 6x10⁵ unidades formadoras de colonias por gramo.

Para realizar la inoculación en los canteros, se mezclaron 2,5 g de esclerocios en 4 kg de suelo esterilizado (sustrato), en autoclave dos veces por una h, por cantero. Los tratamientos evaluados fueron los mismos señalados en la prueba de campo.

Los datos fueron analizados estadísticamente en un diseño de bloques al azar y la prueba de medias se hizo según la prueba de Rangos Múltiples de Duncan.

Resultados y discusión

Pruebas de campo. El análisis de varianza para los tres años evaluados en el CET, no mostró diferencias estadísticas entre los tratamientos ($P=0,5955$; $CV=9,74\%$) (cuadro 1)

El análisis de varianza para cada año por separado mostró para el primer año de evaluación diferencias estadísticas significativas entre tratamientos ($P=0,018$; $CV=6,61\%$), y al realizar la prueba de Rangos Múltiples de Duncan ($P<0,05$), se determinó que el mejor tratamiento fue el GA (97,23% de plantas sanas), con un nivel de confianza del 95%. Para el segundo año el análisis de varianza no determinó diferencias estadísticas entre los tratamientos ($P=0,7767$; $CV=8,39\%$). Mientras que para el último año, no se encontró diferencias entre los tratamientos evaluados ($P=0,4891$; $CV=11,99\%$).

Prueba en canteros. El análisis estadístico de los datos obtenidos

en esta prueba, no registró diferencias significativas entre los tratamientos ($CV=6,81\%$) (cuadro 2). Por otro lado, las cepas de *M. phaseolina* obtenidas en el CET han demostrado poseer excelente capacidad de producir esclerocios en caldo PDA y muy buena virulencia (14), logrando con esto garantizar una buena inoculación artificial en los canteros.

La prueba de medias para la interacción entre los tratamientos y los años de evaluación, determinó que el tratamiento GA (primer año) obtuvo mayor porcentaje de plantas sanas, y el tratamiento GA (tercer año) el menor porcentaje de plantas sanas. Los resultados anteriores aunados al hecho de no determinarse diferencias estadísticas entre los promedios de cada tratamiento, indica que el efecto de los tratamientos es inconsistente.

Por otra parte, al analizar los datos obtenidos durante los tres años de

Cuadro 1. Prueba de medias de los tres años de evaluación de las formas de aplicación de *Trichoderma harzianum* para determinar el efecto del hongo sobre la incidencia de la enfermedad pudrición carbonosa en el Campo Experimental Turén, estado Portuguesa.

Tratamiento ¹	Porcentaje de plantas sanas ²
ST	92,912 ^a
GR	93,332 ^a
GA	91,551 ^a
T	90,252 ^a

¹ST= aplicación de esporas de *T. harzianum* a la semilla. GR= granos de arroz pulidos donde se desarrolló *T. harzianum*. T= testigo absoluto. GA= aplicación de esporas de *T. harzianum* a gránulos de arcilla.

²Valores con la misma letra son estadísticamente iguales de acuerdo a la prueba de Rangos Múltiples de Duncan ($P<0,05$).

Cuadro 2. Prueba de medias de tratamiento del ensayo formas de aplicación de *Trichoderma harzianum* determinar su efecto sobre la incidencia de la pudrición carbonosa en camas de infección.

Tratamiento ¹	Porcentaje de plantas sanas ²
T	89,333 ^a
GR	85,045 ^a
ST	79,038 ^a
GA	74,730 ^a

¹ST= aplicación de esporas de *T. harzianum* a la semilla. GA= aplicación de esporas de *T. harzianum* a gránulos de arcilla. GR= granos de arroz pulido donde se desarrolla *T. harzianum*. T= testigo absoluto.

²Valores con la misma letra son estadísticamente iguales de acuerdo a la prueba de Rangos Múltiples de Duncan (P<0,05)

evaluación en el CET por separado se observa esa misma tendencia, ya que solo para el primer año existen diferencias significativas entre tratamientos, que al igual que para la interacción tratamiento por año fue GA.

En cuanto a los resultados obtenidos en el ensayo conducido en los canteros, se obtuvo igual respuesta a la de los ensayos de campo, por no existir diferencias estadísticas entre los tratamientos.

Los resultados reflejan que no hubo efecto por parte de *T. harzianum* sobre la incidencia de la enfermedad pudrición carbonosa. Así mismo, Pineda y Tortolero (13) reportan igual tendencia a los resultados obtenidos en este ensayo, donde para el primer año consiguen diferencias estadísticas con las aplicaciones de esporas de *T. harzianum* a la semilla de ajonjolí y en granos de arroz colonizados por el hongo, pero para el siguiente año no existen diferencias significativas entre los tratamientos evaluados.

De las formas de aplicación de

T. harzianum que se reportan, se señala que la aplicación de esporas de este hongo a las semillas de los cultivos, es el que aporta más beneficios, por que al colonizar las raíces las protege de enfermedades (2, 3, 7, 15), sin embargo, en el presente trabajo no resultó el mejor tratamiento.

Se puede inferir que los resultados observados se pueden explicar, al analizar los factores que favorecen el desarrollo de la enfermedad pudrición carbonosa. En sorgo (*Sorghum bicolor* [L.] Moench), la incidencia de la enfermedad es favorecido por la combinación de diferentes factores ambientales que causan estrés en la planta, como altas temperaturas y déficit hídricos (5). En ajonjolí esta enfermedad alcanza la mayor incidencia en plantas de 60 d de edad *ca* (11), que de acuerdo con la época de siembra de este cultivo en el estado Portuguesa (períodos de escasa precipitación diciembre-abril), coincide con altas temperaturas y déficit hídricos que provocan estrés en las plantas. Las

condiciones descritas predisponen a las plantas de ajonjolí a la enfermedad (11) y a su vez son factores

abióticos que desfavorecen el establecimiento en el suelo del antagonista *T. harzianum* (7).

Conclusiones

Los resultados obtenidos en el presente trabajo demuestran que *T. harzianum* en las condiciones de campo en las cuales se cultiva el ajonjolí, no evidencia reducción en la incidencia de la enfermedad pudrición carbonosa. Así mismo se evidencia la necesidad de repetir en el tiempo este tipo de prueba, para poder recomendar algún antagonista que se propon-

ga como alternativa para el control de la enfermedad. Es por eso, que las condiciones ambientales en las cuales se cultiva el ajonjolí en el estado Portuguesa, así como nuevas prácticas culturales, deben ser estudiadas con el fin de lograr obtener una reducción en la incidencia de la pudrición carbonosa.

Literatura citada

1. Cardona, R., H. Rodríguez y H. Nass. 1998. Dinámica poblacional de micoesclerocios de *Macrophomina phaseolina* en un suelo naturalmente infestado y bajo rotación de cultivo. *Fitopatol. Venez.* 11: 23-26
2. Baker, R., Y. Elad. y I. Chet. 1984. The controlled experiment in the scientific method with special emphasis on biological control. *Phytopathology* 74:1019-1021.
3. Chang, Y. C., Y. Chang, R. Baker, O. Kleifeld y I. Chet. 1986. Increased growth of plants in the presence of the biological control agent *Trichoderma harzianum*. *Plant Dis.* 70:145-148.
4. Cook, R.J. y K. F. Baker. 1983. The nature and practice of biological control of plant pathogen. *The American Phytopathological Society.* St. Paul, Minnesota, 53 p.
5. Edmunds, L.K. 1964. Combined relation plant maturity, temperature and soil moisture to charcoal stalk rot development in grain sorghum. *Phytopathology* 54: 514-517
6. Hadar, Y. y Y. Henis. 1979. Biological control of *Rhizoctonia solani* damping off with wheat bran culture of *Trichoderma harzianum*. *Phytopathology* 69: 64-68 pp.
7. Harman, G.E. 2000. Myths and dogmas of biocontrol. *Plant Dis.* 84: 377-393
8. Kommedahl, T. y C.E. Windels. 1978. Evaluations of biological seed treatment for controlling root disease of pea. *Phytopathology* 68: 1087-1095
9. Mujerki, K.G. y K.L. Garq. 1988. *Biocontrol of plant disease.* Vol. 1. CRC Press. 211 p.
10. Pineda, J.B. y C. Díaz. 1981. Control biológico de *Sclerotium rolfsii* en *Phaseolus vulgaris* mediante la utilización de *Penicillium notatum*. *Agron. Trop.* 31: 265-281
11. Pineda, J.B., H. Nass y H. Rodríguez. 1985. Efecto de la densidad de inóculo de *Macrophomina phaseolina* en la infección de plántulas de ajonjolí. *Agron. Trop.* 35: 133-138.

12. Pineda, J.B. y J. Avila. 1988. Alternativas para el control biológico de *Macrophomina phaseolina* y *Fusarium oxisporum* patógenos en ajonjolí (*Sesamum indicum* L.) Agron. Trop. 38: 79-84.
13. Pineda, J. y O. Tortolero. 1995. Estrategias para el uso de *Trichoderma* en el control de hongos fitopatógenos en el suelo. Revista Forestal Venezolana. 1:47
14. Simosa, N.C. y M. Delgado. 1991. Virulencia de cuatro aislamientos de *Macrophomina phaseolina* sobre cuatro variedades de ajonjolí (*Sesamum indicum*). Fitopatol. Venez. 4: 20-23
15. Windels, C.E. y T. Kommedhal. 1978. Factor affecting *Pennicillium oxalicum* as a seed protectant against seedling blight of pea. Phytopathology 68: 1656-1661