

EFFECTIVIDAD DE *TRICHODERMA* SPP. PARA EL CONTROL DE HONGOS PATÓGENOS DE LA SEMILLA Y EL SUELO EN EL CULTIVO DEL FRIJOL

Mercedes González Rodríguez,¹ Leónides Castellanos González,¹ María Ramos Fernández¹ y Grisell Pérez González²

¹ Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal. Carretera de Palmira Km 4 ½, Cienfuegos, CP 55100, c.e.: laprosavcf@sanvegcfg.co.cu

² Estación Experimental La Colmena. Carretera de Cumanayagua, Cienfuegos

RESUMEN

Se evaluó la efectividad in vitro y en campo del biopreparado de *Trichoderma* para el control de hongos patógenos de la semilla y del suelo en frijol. En la prueba de laboratorio se utilizaron tres tratamientos: biopreparado a base de *Trichoderma harzianum* (A-34), *Trichoderma viride* (C-66) y el testigo sin biopreparado. En cada variante se ensayaron como subtratamientos la inmersión y peletización de las semillas, donde 50 por réplica fueron evaluadas por el método tradicional de cámara húmeda con incubación a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ durante ocho días. Las cepas A-34 y C-66 obtuvieron similares resultados con efectividades superiores a 99% sobre *Rhizoctonia solani*, mientras sobre *Macrophomina phaseoli* fue más efectiva la C-66, con 97,4%. En condiciones de campo se probó la cepa C-66 en tratamientos de inmersión a la semilla, y al suelo antes y después de la siembra. La mejor alternativa de aplicación de *Trichoderma* resultó la que utilizó tratamiento al suelo en siembra y dos subsiguientes cada 15 días.

Palabras clave: *Trichoderma*, antagonistas, *Phaseolus vulgaris*, suelo

ABSTRACT

The effect of *Trichoderma* for the control of pathogen fungi on soil and bean seeds was evaluated "in vitro" and field conditions. In laboratory test, three treatments of *Trichoderma harzianum* (A-34), *Trichoderma viride* (C-66) and a control were proved with immersion and pelleting as sub-treatments in every variant. Fifty seeds for replica were tested by traditional method of wet chamber incubated for eight days at $25 \pm 1^\circ\text{C}$. The isolates A-34 and C-66 showed the same effectiveness results with more than 99 % on *Rhizoctonia solani*, while C-66 was more effective on *Macrophomina phaseoli* with 97,4%. Strain C-66 was probed in field with seed immersion, and treatments to soil before an after sowing. The best variant resulted a soil treatment of *Trichoderma* in sowing and two later every 15 days.

Key words: *Trichoderma*, antagonist, *Phaseolus vulgaris*, soil

INTRODUCCIÓN

La distribución mundial de leguminosas incluye un gran número de géneros desde el punto de vista botánico, donde el más importante es el género *Phaseolus*, y dentro de este la especie *Phaseolus vulgaris* L. (frijol). Esta planta es originaria de América, considerada como el centro más probable de diversificación primaria.

El frijol común puede ser cultivado ampliamente en zonas tropicales de América, zonas templadas de los hemisferios norte y sur, que incluyen Europa y el este de Asia [Zaumeyer y Thomas, 1957].

Sanders y Álvarez (1978) han informado que América Latina es la principal productora del frijol en el mundo, aunque el rendimiento promedio que se obtiene es bajo y no ha mostrado crecimiento en los últimos años.

Los lugares del continente donde se producen las mayores cantidades de frijol seco o común son América Cen-

tral y América del Sur, que representan el 34% de la producción mundial, incrementada cada año [Infante *et al.*, 1973].

CIAT (1998) informa que los avances han sido considerables. Con el desarrollo de tecnologías hoy es posible cultivarlo todo el año, lo cual ha permitido estabilizar los precios y tener disponibilidad del producto en cualquier época. En los últimos 10 años han lanzado 34 nuevas variedades de frijol adaptadas a diferentes regiones. En el aspecto económico se ha beneficiado el producto por la disminución de las pérdidas causadas por enfermedades, lo que permite adoptar tecnologías que, por su bajo costo, mejoran la producción y la productividad. El consumidor también obtiene beneficio por la estabilización de los precios, mayor variedad en la oferta y existencia del grano todo el año.

En Cuba el cultivo del frijol se ve afectado por diferentes enfermedades, las que limitan grandemente los rendimientos. Dentro de ellas se destacan las producidas por hongos patógenos del suelo, y se consideran más importantes las producidas por los géneros *Rhizoctonia*, *Macrophomina*, *Fusarium* y *Sclerotium*, entre otras. La importancia de estos hongos patógenos está determinada por las características que presentan bajo las condiciones de Cuba, con una importancia primordial en los factores climáticos que prevalecen en una u otra época (temprana y tardía), y también las características de los microclimas existentes en cada región donde se cultiva el frijol [González, 1984].

Dentro de los medios biológicos de mayor uso para el combate de los hongos patógenos en los diferentes cultivos y países se encuentra *Trichoderma* spp. En Cuba este biopreparado ha manifestado buena actividad contra hongos patógenos del suelo y la semilla en los cultivos tomate, pimiento, tabaco [Stefanova *et al.*, 1993; Sandoval *et al.*, 1995, 1998; Santana *et al.*, 1995; Castellanos *et al.*, 1995], pero todavía no se ha recomendado la utilización de este agente de biocontrol en el cultivo del frijol, por lo que se mantienen las siguientes alternativas: determinar la efectividad de diferentes métodos de tratamientos a la semilla de frijol con *Trichoderma* spp. y establecer la efectividad de diferentes esquemas de tratamiento del biopreparado en condiciones de campo.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se realizó en el Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal y en la Estación Experimental La Colmena, en Cienfuegos, durante el período 2001-2002. Para evaluar la efectividad del biopreparado *Trichoderma* sobre el control de hongos patógenos de la semilla se utilizaron tres tratamientos: a) biopreparado a base de *Trichoderma* cepa A-34; b) biopreparado a base de *Trichoderma* cepa C-66; c) testigo sin biopreparado. En cada variante se ensayaron dos subtratamientos: 1) inmersión de la semilla en una suspensión de conidios de *Trichoderma* de 10^8 con/mL (100 g del biopreparado sólido en 1 L de agua); 2) peletización de la semilla en una pasta de la suspensión del biopreparado al 10% con zeolita en polvo en la proporción 1:1 v/v como adherente. En el caso del testigo la inmersión y peletización se realizaron con agua destilada estéril.

La concentración de todas las cepas fue de $1,4 \times 10^8$ y $1,6 \times 10^8$ ufc/mL para las cepas A-34 y C-66, respectivamente. Se utilizó un diseño completamente aleatorizado con 50 semillas por cada una de cuatro réplicas, las cuales se evaluaron por el método tradicional de cámara húmeda, con incubación a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ y alternancia de ocho horas luz y 16 de oscuridad. Al concluir este período se cuantificó la presencia de *Rhizoctonia* y *Macrophomina* sobre la semilla. La efectividad técnica de cada variante se determinó por la fórmula modificada de Abbot [Cyba Geigy, 1979].

$$\% \text{ inhibición} = \frac{C_{\text{test}} - C_{\text{trat}}}{C_{\text{test}}}$$

donde:

C_{test} : Crecimiento de la colonia testigo

C_{trat} : Crecimiento de la colonia tratada

El ensayo de campo fue conducido con la variedad de frijol serrano, y se utilizaron seis variantes con *Trichoderma* (C-66) y un testigo sin tratamiento. Las variantes estudiadas fueron:

1. Tratamiento a la semilla (inmersión).
2. Tratamiento a la semilla + tratamiento de *Trichoderma* en siembra.
3. Tratamiento a la semilla + un tratamiento a los 15 días.
4. Tratamiento en siembra y posteriores cada 15 días hasta el final del ciclo del cultivo.
5. Tratamiento en siembra y dos posteriores cada 15 días.
6. Tratamiento en siembra y tres posteriores cada 15 días.
7. Testigo sin *Trichoderma*.

La inmersión de la semilla se realizó durante 10 min con la cepa C-66 a razón de 20 g/L antes de la siembra. El tratamiento en siembra se llevó a cabo con *Trichoderma* cepa C-66 dirigida al suelo, a razón de 20 g/L y una solución final de 400 L/ha. Se utilizó un diseño de bloques al azar con cuatro réplicas. Las parcelas tenían cinco surcos a 0,90 m y 4 m de longitud.

Para conocer la incidencia de los hongos patógenos se evaluaron quincenalmente 20 plantas en los tres surcos centrales de cada parcela, en los que se registró el número de plantas afectadas. Con estos datos de distribución de plantas enfermas por hongos patógenos del suelo se realizó un análisis de varianza. La efectividad técnica de cada variante se determinó por la fórmula modificada de Abbot [Cyba-Geigy, 1979].

Tanto para la prueba de laboratorio como la de campo, los datos en porcentaje fueron transformados en 2 arc sen para su análisis. Las medias fueron comparadas por el test de rangos múltiples de Duncan con un 5% de probabilidad de error. Se utilizó el paquete estadístico Statitcf.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La efectividad técnica del tratamiento a la semilla con *Trichoderma* fue de 96,5% y 97,5% por el método de inmersión y peletización respectivamente, sin que se presentara diferencias entre ellos (Tabla 1).

Es conocida la ventaja que ofrece la protección a las semillas con los biopreparados. En tal sentido Bhargava (1995), en estudios realizados con el tratamiento a las semillas de col y el uso de la peletización y el antagonista *Trichoderma longibrachiatum*, aumentó la germinación de estas y su establecimiento, así como se redujo el creci-

miento y transmisión del hongo patógeno *Alternaria brassicicola*. También Castellanos *et al.* (1995), en tratamiento realizado con la cepa A-34 a semillas de ají chay y tomate, obtuvieron gran efectividad en el control de hongos patógenos, principalmente con el uso de la peletización, mientras que Sandoval *et al.* (1995) determinaron que el tiempo de tratamiento de *T. harzianum* a las semillas durante 10 min y el secado al sol hasta tres días era óptimo para alcanzar una adecuada cobertura del biopreparado, con vistas al biocontrol de hongos parásitos.

Tabla 1. Efectividad de dos métodos de tratamiento de *Trichoderma* para el control de hongos de la semilla del frijol

Métodos	Efectividad (%)
Inmersión	96,5 ns
Peletización	97,5 ns
ET	0,13
CV (%)	4,13

Las cepas A-34 y C-66 obtuvieron similares resultados con efectividades superiores a 99% sobre el hongo patógeno *Rhizoctonia solani*, mientras que sobre *M. phaseoli* fue más efectiva la cepa C-66 con 97,4% de efectividad contra 78% para la cepa A-34 (Tabla 2).

Estos resultados concuerdan con lo obtenido por Lifshitz *et al.* (1986), quienes afirman que para el control del *damping off* causado por *R. solani*, el tratamiento a la semilla y suelo con *Trichoderma* reduce considerablemente la incidencia de esta enfermedad.

A los 37 días de plantado el cultivo todas las variantes tratadas con *Trichoderma* spp. diferían del testigo, y a su vez tenían un comportamiento similar a la variante con tratamiento a la semilla y a la de tratamiento a la semilla más tratamiento en siembra. A los 67 días solo la variante tratamiento a la semilla no difirió con el testigo, lo que no fue así con el resto de las variantes que estadísticamente presentaron igual comportamiento (Tabla 3).

Tabla 2: Porcentaje de efectividad técnica en semillas. Interacción tratamiento patógeno

Tratamientos	<i>Rhizoctonia solani</i>	<i>Macrophomina phaseoli</i>
	Efect. (t x p)	Efect. (t x p)
A-34	99,9 a	78,0 b
C-66	99,4 a	97,4 a
ET	0,34	
CV (%)	4,23	

Letras desiguales difieren para $p \leq 0,05$ según test de Duncan

Tabla 3: Porcentajes de plantas enfermas por hongos patógenos de suelo en condiciones de campo

No.	Tratamientos	Plantas enfermas (%)		Efectividad %
		37 días	67 días	67 días
1	Semilla	0,72 ab	1,75ab	47,74
2	S.+siembra	0,29 ab	1,16b	65,16
3	S+siembra.+ ltrat 15 d.	0,58b	1,14b	65,76
4	Siembra y c/15 d.	0,20b	0,43b	87,08
5	Siembra y 2 c/15 d.	0,14b	0,58b	82,25
6	Siembra y 3 c/15 d.	0,43b	0,56b	83,18
7	Testigo	1,31a	3,33a	
ET		0,03	0,08	
CV (%)		14,1	28	

Letras desiguales difieren para $p \leq 0,05$ según test de Duncan.

De las variantes estudiadas resultó mejor el tratamiento en siembra y aplicaciones cada 15 días hasta el final del ciclo del cultivo (cinco tratamientos), al mantener el menor índice de plantas afectadas por hongos patógenos del suelo durante todo el ciclo del cultivo con un 87% de efectividad. Iguales resultados presentaron las variantes de tratamiento en siembra y dos o tres tratamientos con 15 días de intervalo.

Estos resultados ponen en evidencia la posibilidad del uso del biopreparado de *Trichoderma* para el control de enfermedades del suelo y la semilla en plantaciones de frijol, al encontrarse efectividades técnicas entre 47 y 87% con respecto al testigo no tratado, aunque las mejores efectividades (> 80%) fueron para las variantes donde se realizaron tratamientos en siembra y entre dos y tres cada quince días durante el ciclo del cultivo.

Los resultados se corresponden con estudios realizados por Hadar *et al.* (1979 a,b), que aislaron del suelo a *Trichoderma harzianum*. Con este aislamiento se controló efectivamente el *damping off* en plantas de frijol, tomate y berenjena. También observaron en experimentos de cam-

po en frijol, después de aplicar al suelo una preparación de salvado de trigo inoculada con *T. harzianum*, que los índices de la enfermedad por *R. solani* registrados en la parcela testigo fue de 1 a 12%, y en las parcelas tratadas de 0,87%, además de incrementarse el rendimiento de las vainas en un 20%, comparada con el testigo. Por otra parte, Silveira (1995) encontró mejores resultados contra *S. rolfsii* en frijol, al tratar el suelo con biopreparado de *Trichoderma* TN-21, el cual redujo las afectaciones de la enfermedad en un 35,1%.

También Stefanova *et al.* (1993) obtuvieron registros promedio entre el 60 y 80% de reducción de la incidencia de enfermedades provocadas por *R. solani*, *P. parasítica*, *Pythium* spp., *Sclerotium rolfsii* y *Fusarium* spp. en semilleros de hortalizas, organopónicos e hidropónicos.

La valoración económica de las variantes utilizadas en condiciones de campo (Tabla 4) evidenció que la variante tratamiento en semilla resultó la más barata (8.00 pesos/ha); pero tuvo la menor efectividad, o sea, con solo este tratamiento no es suficiente para lograr niveles bajos de ataques por hongos del suelo.

Tabla 4: Costo de los tratamientos de *Trichoderma* en condiciones de campo

No.	Variantes en estudio	Número de Tratamiento	Consumo de <i>Trichoderma</i> (kg/ha)		
			Tratamiento a la semilla	Tratamiento al suelo	Costo total (pesos/ha)
1	Semilla	1	1,6	–	8,00
2	Semilla + siembra	2	1,6	8,0	48,03
3	Semilla+siembra+1 trat 15 días	3	1,6	16,0	88,00
4	Siembra y 4 cada 15 días	5	–	40,0	200,00
5	Siembra y 2 c/15 días	3	–	24,0	120,00
6	Siembra y 3 c/15 días	4	–	32,0	160,00

La variante 4, con tratamiento en siembra más tratamientos cada 15 días, tuvo un costo de 200 pesos/ha, pero las variantes 5 y 6, con tres y cuatro tratamientos a intervalos de 15 días, con similar efectividad (> 80%), fueron más económicas. Desde este punto de vista se puso de manifiesto que la mejor variante resultó la que tuvo en cuenta un tratamiento en siembra y dos tratamientos a intervalos de 15 días, la cual, unida a la variante tratamiento a la semilla, tendría un costo de 128 pesos/ha, con un ahorro de 80 pesos/ha equivalente a dos aplicaciones de *Trichoderma*.

CONCLUSIONES

- La efectividad de los métodos de tratamiento a la semilla osciló entre 96,5 y 97,5%.
- Desde el punto de vista técnico-económico la mejor alternativa de aplicación de *Trichoderma* en condiciones de campo resultó la que utilizó tratamiento al suelo en siembra y dos tratamientos subsiguientes a intervalos de 15 días.

REFERENCIAS

- Bhargava, Y. R.: «Pleiotropic Effect of Seed Pelleting in Controlling Seed Borne Fungal Disease in *Brassica oleraceae* var. *Capitata*», *Seed Pathology and Microbiology* 6:36, 1995.
- Castellanos, L.; M. González; T. Santana; I. Irimia: «Generalización de la producción y uso de *Trichoderma* spp. para el control de enfermedades». Segundo Encuentro Nacional Científico-Técnico de Bioplaguicidas, EXPO CREE, La Habana., 1995, p. 26.
- Ciba-Geigy: *Manual de ensayos de campo*. Basilea, Suiza, 1979, pp. 11-20.
- CIAT: Cultivando afinidades, Boletín sobre cooperación en investigación agrícola, Unidad de Comunicaciones, Cali, Colombia, 1998, p. 8.
- González, Mirta: *Enfermedades fungosas del frijol de Cuba*, Ed. Científico-Técnica, La Habana, 1984, pp. 39-60.
- Hadar, Y; I. Chet; R. Baker: «Biological Control of *Rhizoctonia solani* Damping off with Wheat from Culture of *Trichoderma harzianum*», *Phytopathology* 69: 64-68, 1979.
- Infante, M. A.; C. M. Scotie; U. Gutiérrez: «Producción y consumo de frijol seco y su contribución a la oferta de proteína a nivel mundial», Centro Internacional de Agricultura Tropical. Informe Anual, Cali, Colombia, 1975, p. 47.

- Lifshitz, R.; B. Windham, B.; R. Tand Baker: «Mechanism of Biological Control of Preemergence *Damping off* Pea by Seed Treatment with *Trichoderma* spp.», *Phytopathology* 76:720-725, 1986.
- Sanders, J.; C. Álvarez: *Evaluation of Beans Productions During the Last Year*, CIAT, 1978, p. 34.
- Sandoval, I.; M. Neyra; D. García; M. López; I. Mendoza: «*Trichoderma*: biocontrol de hongos fitopatógenos en el cultivo del tomate en hidropónico». Resúmenes. I Simposio Latinoamericano de Micología, La Habana, 1995, p. 61.
- Sandoval, I.; M. López; T. Bonilla; Y. Tomas: «Hongos del suelo que atacan al clavel y antagonismo *in vitro* con *Trichoderma* spp.», *Fitosanidad* 3 y 4 (2): 41, 1998.
- Santana, T.; M. Lorenzo: «Acción antagónica que ejercen diferentes cepas de *Trichoderma* contra *Sclerotium rolfsii* Sacc. aislado de Topinambur (*Helianthus tuberosum* L.)». Resúmenes. III Encuentro Nacional Científico-Técnico de Bioplaguicidas, EXPO CREE, 1995, p. 38.
- Silveira, N. S. S.; S.J. Michereffi; M. Meneses; G. M. Campos-Takaki: «Potential of *Trichoderma* spp. Isolates for the Control of *Sclerotium rolfsii* on Beans», *Seed Pathology and Microbiology* 6:36(296), 1995.
- Stefanova, Marusia: «Empleo de biopreparados de *Trichoderma* en el control de hongos fitopatógenos del suelo en tabaco, pimiento y tomate de hidropónico». Resúmenes. Forum de Ciencia y Técnica, INISAV, La Habana, 1993, p. 33.
- Zaumeyer, W. J.; H. R. Thomas: «Monography Study of Bean Diseases and Methods for Their Control», *Techn. Bull. U. S.*, Departament of Agriculture, 1957, p. 868.