

EFFECTO DIFERENCIAL DE SEIS AISLAMIENTOS DE *Trichoderma* SOBRE LA SEVERIDAD DE *Rhizoctonia solani*, DESARROLLO RADICAL Y CRECIMIENTO DE PLANTAS DE MAÍZ

Yuleidy López¹, Juan B. Pineda¹, Alexander Hernández¹ y Dilcia Ulacio¹

RESUMEN

La mancha bandeada de la hoja en maíz, *Rhizoctonia solani* Kuhn, ha incrementado su incidencia en Venezuela y ocasiona considerables pérdidas en la producción. En muchos casos la microbiota del suelo sirve para proteger a la planta del ataque de patógenos y contribuye a su mayor desarrollo. Para estudiar medidas de biocontrol de *R. solani* se seleccionaron seis aislamientos de *Trichoderma* provenientes de la rizósfera de plantas de maíz colectadas en varias localidades de los estados Portuguesa y Yaracuy, las cuales fueron utilizadas en pruebas de antagonismo en vivero con un sustrato esterilizado. En el sustrato se hicieron dos hoyos y en ellos se colocaron dos granos de arroz esterilizados y 2 mL de solución de esporas del antagonista a $3\text{-}7 \times 10^6$ conidios·mL⁻¹. Luego se colocó una semilla de maíz híbrido D2000 en cada hoyo y dos esclerocios de *R. solani*, se adicionaron 3 mL de la solución del antagonista y se cubrió con suelo esterilizado. Con relación a la sobrevivencia de plantas, hubo un efecto positivo en los tratamientos donde se utilizaron las cepas de *Trichoderma*, obteniéndose valores entre 70 y 90 %. En cuanto a la severidad de la enfermedad en la planta hasta los 60 días, se obtuvieron valores de 82,5 % en el testigo y 16,2 % en el mejor tratamiento con *Trichoderma*. Para un aislamiento proveniente de Píritu-estado Portuguesa se produjo el avance de la enfermedad fue el menor. Este aislamiento, seguido por el procedente de Yaritagua-estado Yaracuy, propiciaron un mayor crecimiento de la planta y mayor desarrollo radical.

Palabras clave adicionales: Fitopatología, mancha bandeada, nivel de infección, *Zea mays*

ABSTRACT

Differential effect of six *Trichoderma* isolates on root development, plant growth and severity of *Rhizoctonia solani* on maize

The banded leaf spot disease on maize, *Rhizoctonia solani* Kuhn, has increased its incidence in Venezuela, causing considerable damages and yield reduction. In many cases, soil microbiota can protect the plant from the pathogen attack and contributes to better plant development. In order to study forms of biocontrol of *R. solani*, six isolations of *Trichoderma* obtained from maize plant rhizosphere were collected in several localities of Portuguesa and Yaracuy States; the isolations were used in antagonism tests on a sterilized substrate in nursery. Two orifices were made in the substrate and sterilized grains of rice were placed on them, covering with 2 mL of spore solution of the antagonist ($3\text{-}7 \times 10^6$ conidia mL⁻¹). Later, one maize of seed hybrid D2000 and two sclerotia of *R. solani* was placed in each hole and added 3 mL of the solution of the antagonist, covering with sterilized soil. In relation to plant survival, there was a positive effect of the treatments where *Trichoderma* was used, obtaining values between 70 and 90 %. As far as plant disease severity up to 60 days, it was obtained a value of 82.5 % in the control and 16.2 % in the best treatment with *Trichoderma*. For the isolation coming from Píritu-Portuguesa State, the advance of the disease was the smallest. This isolation, followed by the one coming from Yaritagua-Yaracuy State, promoted a greater plant growth and better root development.

Additional key words: Plant pathology, banded leaf spot, infection level, *Zea mays*

INTRODUCCIÓN

La planta de maíz es afectada por un grupo de enfermedades que desmejoran la calidad y la cantidad de la cosecha, entre ellas la conocida como mancha bandeada de la hoja, causada por *Rhizoctonia solani* Kuhn, la cual ha

incrementado su incidencia en Venezuela, causando daños considerables y pérdidas en la producción del cultivo (Cardona et al., 1999). En otros países donde se cultiva maíz se ha estudiado la incidencia de esta enfermedad sobre la producción de grano, así Summer y Minton (1989) en Georgia, USA, evaluaron durante tres años el

Recibido: Noviembre 14, 2008

Aceptado: Diciembre 15, 2009

¹ Posgrado de Agronomía, Decanato de Agronomía, Universidad Centroccidental “Lisandro Alvarado”. Apdo. 400. Barquisimeto-Venezuela. e-mail: jpineda@ucla.edu.ve

efecto de la pudrición causada por *Rhizoctonia* sobre el rendimiento del maíz, encontrando reducciones hasta del 47 % en parcelas con un alto nivel de inóculo.

Actualmente el control de la Rhizoctoniosis en maíz se realiza mediante la aplicación de productos químicos y en menor escala con algunos productos biológicos (Pineda et al., 2005). La habilidad saprofítica del hongo y la formación de estructuras de resistencia que pueden mantenerse viables por varios años en el suelo, dificultan su erradicación y las prácticas de control con fungicidas tienden a ser ineficientes y altamente costosas, ya que los patógenos tienen la capacidad de permanecer en el suelo mediante los órganos de resistencia, aun bajo condiciones adversas. Las experiencias de aplicaciones sucesivas de productos químicos resultan muchas veces en la aparición de aislamientos tolerantes a éstos; al respecto, Ariena y Arneson (1984) señalan que *R. solani* ha adquirido resistencia a fungicidas orgánicos PCNB, Captan, Dichlone, Maneb y Thiram, así como también a fungicidas sistémicos como Carboxin y Benomyl.

Las continuas siembras de material susceptible pueden incrementar, en el tiempo, la cantidad de propágulos en el suelo, con lo cual se incrementa la enfermedad. Sin embargo, cabe destacar que en el suelo se encuentra una gran cantidad de microorganismos con alta capacidad saprofítica competitiva, tal como señalan Ulacio et al. (2002), que pueden ser utilizados para el control de patógenos. Martin (1977) indica que la cantidad de hongos encontrados en la rizósfera y rizoplaneo va a depender de la cantidad de nutrientes y otros materiales que se acumulen alrededor del área radical, señalando que la comunidad de la rizósfera está compuesta principalmente por microorganismos no patógenos, pero la intensa interacción biológica entre microorganismos dañinos, benéficos y neutrales, puede guiar a la eliminación o supresión de los patógenos y bajo ciertas condiciones ellos pueden ser benéficos.

En muchos casos la rizósfera puede ser considerada como la zona de amortiguación microbiológica en la cual la microbiota sirve para proteger a la planta del ataque de los patógenos. Sawant et al. (1995) reportaron que *Trichoderma harzianum* y *Gliocladium virens*,

mostraron antagonismo sobre *R. solani*. Durman y Godeas (1999) evaluaron a *Trichoderma* spp como antagonista de *R. solani* *in vitro* y como biocontrolador, señalando que disminuyó la supervivencia del patógeno y el desarrollo de esclerocios.

Esta investigación tuvo como objetivo evaluar agentes con potencial antagónico, seleccionados de la microbiota de raíces de plantas de maíz, para el control biológico de *R. solani*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las pruebas realizadas en esta investigación fueron conducidas en el Laboratorio de Micología y en vivero de las instalaciones del Posgrado de Fitopatología de la UCLA, ubicado en Tarabana, estado Lara. Se utilizaron bolsas de polietileno negro de 30 cm de alto x 23 cm diámetro, un sustrato esterilizado en proporción 2:1:1 (suelo de campo: arena: cascarilla de arroz), semillas de maíz híbrido D 2000, esclerocios de *R. solani* y los antagonistas seleccionados T-2: aislamiento procedente de Guama-estado Yaracuy; T-3 y T-4: aislamientos de Píritu-estado Portuguesa; T-5: aislamiento de Turén-estado Portuguesa; T-6: aislamiento de Yaritagua-estado Yaracuy; y T-7: aislamiento de Agua Blanca-estado Portuguesa. Se asignó la sigla T-1 al tratamiento testigo (sin antagonista). Los aislamientos fueron identificados en el Laboratorio de Micología como pertenecientes al género *Trichoderma*, sin determinarse las especies a las cuales pudieran pertenecer.

La densidad de conidios utilizada en solución se estimó en una cámara de Neubauer, para aplicar un promedio de $3-7 \times 10^6$ conidios·mL⁻¹ más la adición de 5 % de sacarosa por cada antagonista. Para la realización de las siguientes pruebas se utilizaron cinco bolsas de polietileno por cada tratamiento (cinco repeticiones) en las cuales se sembraron dos semillas de maíz por bolsa, para un total de diez plantas por tratamiento.

Inoculación con *R. solani* y los antagonistas. En el sustrato que contenía cada bolsa se hicieron dos orificios de aproximadamente 5 cm de profundidad, allí se colocaron granos de arroz esterilizados y luego se adicionaron 2 mL de la solución de esporas de los antagonistas sobre los granos de arroz. Posteriormente, se colocó una

semilla de maíz en cada orificio y a cada lado de ésta se colocó un esclerocio de *R. solani* (2 esclerocios por hoyo). Luego se adicionó 3 mL de la solución del antagonista y se cubrió con suelo esterilizado. Esto se realizó para cada tratamiento. El testigo contenía, además de la semilla, solamente los dos esclerocios del patógeno.

Porcentaje de plantas muertas, incidencia y severidad de la enfermedad. A los 60 días después de la siembra se evaluó el porcentaje de plantas muertas por *R. solani*. Para ello se contaron las plantas muertas de cada tratamiento y se procedió a calcular los porcentajes. Para la evaluación de la incidencia de la enfermedad se contó el número de plantas enfermas por tratamiento a los 60 días después de la siembra, utilizando como criterio para definir la planta enferma cuando se presentó el síntoma de la mancha bandeada característico de *R. solani* en el tallo y las hojas inferiores. Posteriormente se procedió a calcular los porcentajes de incidencia.

El porcentaje de severidad se determinó a través de la relación existente entre el nivel de incidencia de la enfermedad y la altura de la planta a los 60 días, definiendo por nivel de incidencia el nivel alcanzado por la enfermedad en la longitud del tallo, desde el cuello hasta la altura alcanzada por la mancha en la parte superior. Los datos colectados fueron introducidos en la ecuación $S=100(\text{NIE})/h$, donde S representa la severidad en porcentaje, NIE es el nivel de incidencia (longitud del avance) de la enfermedad en las plantas evaluadas y h es la altura de las plantas de cada tratamiento.

Desarrollo radical y altura de plantas. El desarrollo radical se determinó a los 65 días después de la siembra, siguiendo estos pasos: se separó la bolsa plástica que contenía la planta y se disgregó el suelo, cuidando de no dañar las raíces. Una vez extraída la planta, se procedió a medir la longitud de las raíces, desde el cuello de la planta hasta el extremo de la raíz más larga y se determinó la expansión lateral de las raíces. Se determinó también el peso de las raíces secadas al aire a las 48 horas de extraídas.

La altura de las plantas se midió a los 60 días después de la siembra. La medición se realizó

desde la superficie del suelo hasta la hoja más nueva.

La determinación de la efectividad de los antagonistas, sobre *R. solani* en plantas de maíz se realizó bajo un diseño completamente al azar con seis tratamientos y un testigo, con cinco repeticiones. La duración de este ensayo fue de 2 meses. Los resultados obtenidos de cada ensayo, fueron analizados con el paquete estadístico Statistix versión 8.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Sobrevivencia de plantas a los 60 días. Se encontró un efecto positivo en todos los tratamientos donde se utilizaron las cepas de *Trichoderma*, obteniéndose valores de sobrevivencia entre 70 - 90 %, mientras que para el testigo fue solamente de un 20%, lo que indica que dichas cepas influyeron sobre el patógeno *R. solani*, limitando su efecto (Cuadro 1). En otros cultivos se ha encontrado resultados similares con el uso de *Trichoderma*, tanto en el control de *R. solani* como de otros patógenos habitantes del suelo. Herrera (2005) señaló que el bioantagonista *T. harzianum* controló a los fitopatógenos *R. solani* y *Fusarium oxysporum* en plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum* L.); Pineda (2001) encontró que aplicaciones de *T. harzianum* al suelo o a la semilla disminuyeron el porcentaje de plantas muertas por *Macrophomina phaseolina* en ajonjolí (*Sesamum indicum* L.).

Porcentaje de severidad de la enfermedad. Se observó un efecto estadísticamente significativo entre los tratamientos y el testigo, obteniéndose los máximos valores para el tratamiento testigo con 82,5 % y los mínimos para el tratamiento con el aislamiento T4, con 16,2 % (Cuadro 1). Según Marshall y Rush (1980) la severidad de la enfermedad está directamente relacionada con la formación de estructuras de infección y al respecto señalaron que esta habilidad es estimulada por el hospedante.

Las diferencias demuestran que las cepas de *Trichoderma* tuvieron un efecto sobre este patógeno, disminuyendo los niveles de infección, lo que se atribuye a una competencia antagónica. Cherif y Benhamou (1990) señalan que las especies de *Trichoderma* poseen buenas posibilidades como hiperparásitos competitivos, produciendo

metabolitos antifúngicos y enzimas hidrolíticas para el control de patógenos del suelo, principalmente de los géneros *Rhizoctonia*, *Fusarium* y *Sclerotium*, entre otros.

Cuadro 1. Supervivencia de plantas y severidad de daño en maíz ante *R. solani* a los 60 días de aplicar diferentes tratamientos con *Trichoderma*

Tratamiento	Supervivencia (%)	Severidad (%)
<i>R. solani</i> (T-1)	20	82,5 c
<i>R. solani</i> + T-2	90	23,1 ab
<i>R. solani</i> + T-3	70	36,2 b
<i>R. solani</i> + T-4	90	16,2 a
<i>R. solani</i> + T-5	90	21,9 ab
<i>R. solani</i> + T-6	80	21,3 ab
<i>R. solani</i> + T-7	90	22,2 ab
C.V. (%)		19,75

Valores seguidos de la misma letra no mostraron diferencias significativas según la prueba de Tukey ($P \leq 0,05$)

La respuesta obtenida en el aislamiento T4 (Cuadro 1) en comparación al T3, el cual manifestó el mayor porcentaje de severidad, puede deberse a diferencias en la actividad

metabólica de éstos. Así lo señalan algunos investigadores como Gómez et al. (1990), que determinaron que cepas de *T. viride* y *T. harzianum* poseen actividad enzimática, comparable con la de *T. reesei*, mientras que Royer (1990) estudió la especie *T. longibrachiatum* y determinó que ésta necesita estimulantes para la producción enzimática.

Desarrollo radical de plantas tratadas con cepas de *Trichoderma*. En general, el comportamiento de las cepas de *Trichoderma* en cuanto a desarrollo de raíces en plantas de maíz, tuvo un efecto significativo al compararlo con el del testigo, el cual presentó un desarrollo radical mucho más bajo (Cuadro 2), estableciéndose que al inocular con *Trichoderma* se favorece el desarrollo del sistema radical, tal y como se observó especialmente en los aislamientos T-4 y T-6. Similares resultados con relación al desarrollo de raíces han sido encontrados al utilizar el bioantagonista *T. harzianum* en tomate (Santander et al., 2003; Jiménez et al., 2003; Montealegre et al., 2005). El peso de las raíces también fue favorecido cuando se utilizó *T. harzianum* en suelos infectados con *Pyrenochaeta lycopersici* (Montealegre et al., 2005).

Cuadro 2. Desarrollo radical de plantas de maíz a los 60 días de edad, tratadas con *Rhizoctonia solani* y seis aislamientos de *Trichoderma*

Tratamiento	Longitud raíz (mm)	Diámetro radical (cm)	Peso seco raíz (g)
<i>R. solani</i> (T-1)	41,37 c	5,00 c	2,24 c
<i>R. solani</i> + T-2	63,03 ab	6,80 bc	3,15 bc
<i>R. solani</i> + T-3	56,14 bc	5,60 c	2,82 bc
<i>R. solani</i> + T-4	73,30 a	8,30 a	4,45 a
<i>R. solani</i> + T-5	60,24 b	6,40 c	2,87 bc
<i>R. solani</i> + T-6	64,90 ab	7,85 ab	3,28 ab
<i>R. solani</i> + T-7	60,56 ab	6,50 bc	3,08 bc
C.V. (%)	10,22	15,99	17,10

Valores dentro de cada columna seguidos de la misma letra no mostraron diferencias significativas según la prueba de Tukey ($P \leq 0,05$)

Altura de plantas. Se detectaron diferencias significativas ($P \leq 0,05$) para el crecimiento de las plantas, mostrando que los promedios oscilaron entre 90,01 cm para el aislamiento T4 como valor máximo y 51,87 cm (testigo) como valor mínimo (Cuadro 3). El aislamiento T5 presentó una altura de planta muy cercana estadísticamente a la del mejor tratamiento (T4); sin embargo, los restantes

estuvieron más cercanos al valor del testigo. La altura de planta podría ser considerada de importancia al evaluar la enfermedad y puede significar un escape a la severidad de ésta en maíz. Esto permite inferir que algunos tratamientos en donde se aplicó cepas de *Trichoderma* tuvieron un mayor crecimiento de plantas en comparación con el que sólo contenía *R. solani*.

Al respecto, Durman y Godeas (1999) señalan que al agregar al suelo cepas de *Trichoderma* se redujo significativamente al patógeno, además de promover el crecimiento en plantas de tomate.

Cuadro 3. Crecimiento de plantas de maíz a los 60 días, tratadas con *R. solani* y aislamientos de *Trichoderma*

Tratamiento	Altura de planta (cm)
<i>R. solani</i> (T-1)	51,87 c
<i>R. solani</i> + T-2	61,43 bc
<i>R. solani</i> + T-3	63,93 bc
<i>R. solani</i> + T-4	90,01 a
<i>R. solani</i> + T-5	80,81 ab
<i>R. solani</i> + T-6	78,33 abc
<i>R. solani</i> + T-7	76,25 abc
C.V. (%)	20,92

Valores seguidos de la misma letra no mostraron diferencias significativas según la prueba de Tukey ($P \leq 0,05$)

CONCLUSIONES

Todos los aislamientos de *Trichoderma* utilizados en estas pruebas permitieron bajar el porcentaje de severidad de la enfermedad causada por *R. solani* en maíz y mantener una alta sobrevivencia de plantas, con lo cual se comprueba la efectividad del hongo antagonista en el control de este patógeno; sin embargo, entre ellos se destacaron los aislamientos identificados como T4, colectado en Píritu-estado Portuguesa y T6, colectado en Yaritagua-estado Yaracuy.

Algunos de los tratamientos en donde se aplicó *Trichoderma* propiciaron un mayor crecimiento de la planta y desarrollo radical, específicamente los aislamientos T4 y T6.

AGRADECIMIENTO

Al Consejo de Desarrollo Científico, Humanístico y Tecnológico (CDCHT) de la Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado" por el financiamiento y apoyo brindado.

LITERATURA CITADA

1. Ariena, H.C. y P.A. Arneson. 1984. Resistance in *Rhizoctonia solani* to tolclofos-methyl. Netherlands Journal of Plant Pathology 90: 95-105.
2. Cardona, R., H. Rodríguez y H. Nass. 1999. Mancha bandeada en maíz causada por *Rhizoctonia solani* en Portuguesa, Venezuela. Fitopatol. Venez. 12: 32-33.
3. Cherif, M. y N. Benhamou. 1990. Cytochemical aspects of chitin breakdown during the parasitic action of a *Trichoderma* sp. on *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici*. Phytopathology 80: 1406-1414.
4. Durman, S. y A. Godeas. 1999. Evaluación de *Trichoderma* spp como antagonista de *R. solani* *in vitro* y con biocontroladores en plantas de tomate. Revista Argentina de Micología 31: 13-18.
5. Gómez, J., H. Esterbauer, I. Gómez y W. Steiner. 1990. Screening of some wild fungal isolates from cellulolytic activities. Lett. Appl. Microbiol. 8(2): 67-70.
6. Herrera, R. 2005. Control biológico de *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* y *Fusarium solani* en tomates bajo invernaderos. Facultad de Ciencias Agronómicas. Universidad de Chile. Santiago.
7. Jiménez, C., N. Sanabria, G. Altuna y M. Albarrancin. 2003. Pruebas de patogenicidad de diferentes cepas de *Trichoderma* spp. provenientes de varias localidades del estado Aragua. Fitopatol. Venez. 16(2): 48.
8. Marshall, D.S. y M.C. Rush. 1980. Infection cushions formation on rice sheaths by *Rhizoctonia solani* [Histological aspects of cultivar resistance]. Phytopathology 70(10): 947-950.
9. Martin, A. 1977. Introduction to Soil Microbiology. Wiley. New York.
10. Montealegre, J., R. Herrera, J.C. Velásquez, P. Silva, X. Besoain y L.M. Pérez. 2005. Biocontrol of root and crown rot in tomatoes under greenhouse conditions using *Trichoderma harzianum* and *Paenibacillus lentimorbus*: Additional effect of solarization. Electronic Journal of Biotechnology 8(3): 11-15.

- 249-257.
11. Pineda, J. 2001. Evaluación de métodos de aplicación de *Trichoderma harzianum* al suelo para el control de *Macrophomina phaseolina* en ajonjolí. Fitopatol. Venez. 14: 31-34.
12. Pineda, J.B., A. Hernández, A. González, V. Barrientos, H. Nass y E. Gil. 2005. Técnica de inoculación rápida y eficiente para la evaluación de materiales de maíz (*Zea mays* L.) ante *Rhizoctonia solani* Kuhn. Bioagro 17(2): 93-98.
13. Royer, J.C. 1990. Interrelationship of nylanase induction and cellulase induction of *Trichoderma longibrachiatum*. Appl. Environ. Microbiol. 56: 2535-2539.
14. Santander, C., J. Montealegre y R. Herrera. 2003. Control biológico de *Rhizoctonia solani* en tomate en suelos previamente sometidos a solarización y Bromuro de Metilo. Cien. Inv. Agr. 30 (2): 107-112.
15. Sawant, I.S, S.D. Sawant y M.M. Ganaphaty. 1995. Collar rot of passion fruit caused by *R. solani* and its control. Indian Phytopathology 48: 202-205.
16. Summer, D. y N. Minton. 1989. Crop losses in corn induced by *Rhizoctonia solani* AG-2-2 and nematodes. Phytopathology 79: 934-941.
17. Ulacio, D., P. Querales, J. Salas y M. Sanabria. 2002. Micobiota del suelo de zonas productoras de papa del estado Mérida y su relación con *Rhizoctonia solani*. Bioagro 14(1): 11-16.