

LA PUDRICIÓN CARBONOSA (*Macrophomina phaseolina*) EN SOYA Y SU MANEJO MEDIANTE APLICACIONES DE *Trichoderma* spp. Y *Rhizobium* sp.¹

José Agustín Torrealba^{2†}, Juan Pineda^{2†}, Dilcia Ulacio², Horci Escalante² y Alexander Hernández²

RESUMEN

La podredumbre carbonosa de la soya, causada por *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid, es una enfermedad de importancia económica que ocasiona daños de diversa magnitud en el cultivo de soya, y presenta alta incidencia y severidad en periodos prolongados de condiciones cálidas y secas. Es conocido que *Trichoderma* spp. es un hongo que puede parasitar otros hongos. Igualmente, la bacteria *Rhizobium* sp. puede controlar el ataque de patógenos. Se llevó a cabo una investigación para estudiar el efecto de la inoculación de soya con cepas de *Trichoderma* sp y una de *Rhizobium* sp. nativo, en presencia de *M. phaseolina*. Para ello, se realizaron experimentos de campo y umbráculo, cuyos datos fueron analizados con análisis univariados y de componentes principales. Los tratamientos simples y combinados de *Trichoderma* y *Rhizobium* superaron al testigo en cuanto a altura y biomasa de la planta, así como en la producción de nódulos. La inoculación de semillas de soya con cepas de *Trichoderma* sp y una de *Rhizobium* sp. nativo, al momento de la siembra, es una práctica que aumenta el vigor de la planta y protege de la infección por *M. phaseolina*.

Palabras clave adicionales: Biocontrol, biomasa, patrón espacial

ABSTRACT

The charcoal rot (*Macrophomina phaseolina*) in soybean and its management by applications of *Trichoderma* spp. and *Rhizobium* sp.

Charcoal rot of soybean, caused by *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid, is an economically important disease causing damage of varying magnitude in soybean, and shows high incidence and severity when prolonged periods of hot, dry conditions exist. It is known that *Trichoderma* spp. is a fungus that can parasitize other fungi. Similarly, the bacterium *Rhizobium* sp. can control the attack of pathogens. A research was conducted to study the effect of soybean inoculation with strains of *Trichoderma* sp. and native *Rhizobium* sp. in presence of *M. phaseolina*. To do this, experiments under field and shadehouse were performed, and the data were analyzed by univariate and principal components. Simple and combined treatments of *Trichoderma* and *Rhizobium* resulted in higher values than the control in terms of plant height and biomass, and nodule production. Inoculation of soybean seeds with strains of these microorganisms at the time of planting is a practice that increases plant vigor and protects from infection by *M. phaseolina*.

Additional key words: Biological control, biomass, spatial pattern

INTRODUCCIÓN

La soya (*Glycine max* (L.) Merrill.) es un cultivo importante a nivel mundial, por el área sembrada, por ser fuente de alimento con un contenido proteico. En Venezuela es utilizada como la principal materia prima en la

agroindustria (Solórzano, 2005) y su desarrollo en el país ayudaría a reducir las importaciones de aceites comestibles y concentrados proteicos en las que anualmente se consumen más de 1×10^6 Mg (Fedegro, 2015).

El cultivo es atacado por la podredumbre carbonosa, una enfermedad causada por

Recibido: Enero 26, 2015

Aceptado: Agosto 10, 2015

¹ Resultados parciales del trabajo de grado del primer autor para optar al título de Magíster Scientiarum en el Posgrado de Fitopatología de la Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado

² Posgrado de Fitopatología, Decanato de Agronomía, Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado. Apdo. 400. Barquisimeto. Venezuela

e-mail: josetorrealba84@hotmail.com; jpineda@ucla.edu.ve; dilciau@ucla.edu.ve; ahernandez@ucla.edu.ve

Macrophomina phaseolina (Tassi) Goid (Srivastava et al., 2001), un hongo polífago que afecta cerca de 500 especies, que se adapta a diferentes condiciones ambientales y con una amplia distribución geográfica gracias a su variabilidad morfológica, fisiológica, patogénica y genética y a que los esclerocios, estructuras de resistencia, sobreviven en el suelo y son difíciles de destruir (Cardona, 2006), lo que favorece el desarrollo bajo condiciones de déficit hídrico y altas temperaturas (Mihail, 1992).

Una de las formas de control del patógeno se basa en el antagonismo que existe entre *Trichoderma* sp. y *M. phaseolina*, lo cual fue señalado por Dhingra y Sinclair (1978). Según estos autores, *T. viride* y *T. lignorum* parasitan al patógeno, produciendo colapso y degradación de la pared celular. Del mismo modo, Lifshitz et al. (1986) demostraron que *T. koningii*, redujo la incidencia de la pudrición carbonosa en semillas de arveja (*Pisum sativum*). Pineda y Gonnella (1988), al tratar plantas de ajonjolí (*Sesamum indicum*) con esporas de *Trichoderma* sp., lograron la reducción del porcentaje de muerte de plantas. Así mismo Adekunle et al. (2001) observaron una resistencia a la presencia de éste patógeno, cuando se aplicó *T. harzianum* a las semillas de frijol, reduciéndose significativamente la germinación de esclerocios. *Trichoderma* sintetiza el ácido-3-indolacético (AIA), un metabolito secundario (MS) que actúa como hormona inductora del crecimiento ocasionando un incremento en la altura de las plantas, del peso seco y tamaño de las raíces (Kleifeld y Chet, 1992, Gravel et al., 2007), por lo tanto, representa una alternativa importante ante la creciente demanda de prácticas ecológicas para la disminución del uso de agroquímicos y fertilizantes sintéticos en la producción agrícola (Vinale et al., 2009, Ryder et al., 2012). Diferentes cepas de *Trichoderma* han sido caracterizadas molecularmente (Hernández et al., 2013).

Otra alternativa ecológica para controlar el ataque de patógenos consiste en el uso de rizobacterias, tales como *Rhizobium* sp., la cual puede competir por el sustrato y sintetizar compuestos inhibitorios contra el patógeno (Bais et al., 2004). Algunas de ellas pueden incluso metabolizar los carbamatos (Blanco et al., 2013). En la soya estas bacterias tienen la capacidad de fijar nitrógeno atmosférico por medio de simbiosis

con la planta.

Lo anteriormente planteado, justifica el estudio del efecto de cepas de *Trichoderma* sp y de *Rhizobium* sp. nativo, tomando en cuenta su antagonismo contra *M. phaseolina* y la inducción de crecimiento vegetal en plantas de soya. En este sentido, se planteó como objetivo de ésta investigación determinar el efecto de ambas alternativas en el control de la pudrición carbonosa de la soya evidenciando el patrón espacial de los esclerocios en el campo.

MATERIALES Y MÉTODOS

El área de estudio se ubicó en el campo experimental del Postgrado de Agronomía de la Universidad Centrocidental Lisandro Alvarado, en Tarbana, estado Lara, con antecedentes de presencia de la podredumbre carbonosa del tallo, causada por *M. phaseolina*, la misma se cuadrículó (40 cuadros de 5 m²) y se tomaron cuarenta muestra de 1 kg de suelo infectado, entre 0-20 cm de profundidad, las cuales fueron procesadas en el laboratorio de Micología para la determinación del nivel de inóculo (número de esclerocios por gramo de suelo), utilizando la técnica de dilución del suelo, la cual consistió en colocar 10 g de suelo en una botella de dilución que contenía 90 mL de agua destilada estéril (ADE), se agitó y se dejó reposar. Del sobrenadante, se tomó 1 mL y se vació en un tubo de ensayo con 9 mL de agua ADE. A partir del tubo anterior, 1 mL se vació a otro con 9 mL de ADE, repitiéndose el procedimiento de series. Los tres últimos 0,1 mL de la solución, se colocaron en tres cajas de Petri. La incubación fue a 35-37 °C, durante 24 h y todos los procedimientos se realizaron bajo condiciones de esterilidad.

Para el aislamiento de *Trichoderma* sp. nativo se utilizó la metodología de dilución del suelo ya descrita, y el método de trampeo, que consistió en colocar granos de arroz esterilizados en pequeñas bolsas hechas de tela de nylon, cerrada con hilo y enterrada en envases de plástico contentivos de suelo, manteniéndolas así por 10 días bajo condiciones de laboratorio. Una vez que se observó el micelio, se extrajeron los granos de arroz y se colocaron en cápsulas de Petri esterilizadas, incubadas a temperatura ambiente durante 7 días.

Torrealba et al. Pudrición carbonosa en soya y manejo con *Trichoderma* y *Rhizobium*

Para el aislamiento de *Rhizobium* sp. se lavaron raíces de plantas de soya y con la ayuda de un estereoscopio se determinó el tamaño, cantidad, distribución y color tanto externo e interno de los nódulos, seleccionando los más grandes sin daños y luego fueron desinfectados. El medio de cultivo se preparó con extracto de levadura-manitol-agar-rojo congo (ELMARC), el mismo se distribuyó en cajas Petri y se utilizaron con tres réplicas por muestra.

Los nódulos seleccionados previamente fueron macerados dentro de tubos que contenían agua estéril, del que fueron extraídos 100-200 μL de la solución y se depositaron en cajas Petri con el medio ELMARC, se esparcieron con una barra de vidrio estéril y se incubaron a 28 °C por 10-12 días. Luego se realizaron repiques sucesivos de colonias típicas de los géneros en estudio, hasta conseguir cultivos axénicos, pero esta vez en medio sólido de extracto de levadura-manitol-agar.

Para la producción masiva del inóculo de *Trichoderma* sp. se colocaron 100 g de granos de arroz en frascos de 500 cc, más 50 mL de agua destilada, se taparon con algodón y se sometieron a esterilización; posteriormente se inoculó con un disco de 5 mm de diámetro de *Trichoderma* sp. nativo, a temperatura ambiente, durante 10 días; cada 2 días fueron agitados para homogenizar y luego se extrajo el arroz con el cultivo y se secó al ambiente. La recuperación de las esporas se logró con la ayuda de un cedazo fino.

Los ensayos para el control de *M. phaseolina* sobre soya (Cigras-06 UCR-UCLA) se realizaron tanto en condiciones de campo como de ambiente cerrado (umbráculo). En el primer caso se sembraron 17 semillas de soya por metro lineal a 2 cm de profundidad en hileras de 3 m de largo; el riego se realizó dos veces por semana. El ensayo consistió en un diseño de bloques al azar, con 10 tratamientos y cuatro repeticiones, la unidad experimental conformada por tres hileras por tratamiento para evaluar la hilera central. Los tratamientos, cuya ubicación relativa en el campo se muestra en el Cuadro 1, fueron los siguientes: T1: *Trichoderma* sp comercial (Subiol) ($0,75 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ de semilla) aplicado a la semilla de soya (Tcs); T2: *Trichoderma* sp nativo (dosis 2×10^7 esporas/mL) aplicado a la semilla (Tns); T3: *Rhizobium* ($20 \text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$) aplicado a la semilla (Rs); T4: *Trichoderma* comercial + *Rhizobium* aplicado a la semilla (Tc+Rs); T5: *Trichoderma* sp nativo +

Rhizobium aplicado a la semilla (Tn+Rs); T6: *Rhizobium* aplicado a semilla + *Trichoderma* sp comercial aplicado a los 25 días (aporque) (Rs+Tca); T7: *Rhizobium* aplicado a semilla + *Trichoderma* sp nativo aplicado a los 25 días (aporque) (Rs+Tna); T8: *Trichoderma* sp comercial aplicado a la semilla y a los 25 días (aporque) (Tcsa); T9: *Trichoderma* sp nativo aplicado a la semilla y a los 25 días (aporque) (Tnsa) y T10: testigo (T_0R_0), correspondiente a plantas sin aplicación cultivadas en sustratos infestados con microesclerocios. Para determinar el comportamiento espacial de la pudrición carbonosa (independientemente de los tratamientos) y el arreglo de los microesclerocios de *M. phaseolina* encontrados de manera natural en el área experimental, se construyeron mapas bidimensionales utilizando el Programa surfer versión 7. Las variables determinadas fueron la incidencia de la enfermedad en porcentaje y el rendimiento en grano por parcela a los 125 días después de iniciado el ensayo.

Cuadro 1. Ubicación relativa de los tratamientos en el área experimental

Hilera	Bloques			
	1	2	3	4
1	Rs	Tc+Rs	Tcs	T_0R_0
2	Tnsa	Tns	Tcsa	Tnsa
3	Tn+Rs	Rs+Tna	Tn+Rs	Rs
4	T_0R_0	Rs+Tca	Tc+Rs	Rs+Tna
5	Tcs	Tcsa	Rs	Rs+Tca
6	Rs+Tna	Tnsa	Tns	Tcs
7	Tc+Rs	Tn+Rs	Rs+Tca	Tcsa
8	Rs+Tca	T_0R_0	Rs+Tna	Tns
9	Tcsa	Tcs	Tnsa	Tc+Rs
10	Tns	Rs	T_0R_0	Tn+Rs

En el ensayo dentro del umbráculo se cultivaron las plantas en bolsas de 4 kg de sustrato (suelo, arena y cascarilla de arroz, en volúmenes iguales) y se evaluaron los mismos tratamientos del ensayo en campo. Se emplearon 10 repeticiones donde la unidad experimental fue de una planta por bolsa. Se realizó infestación artificial con 800 microesclerocios por bolsa y las variables evaluadas fueron la altura de planta, número de nódulos, longitud de la raíz más larga, y biomasa seca a 70 °C del tallo y hojas, de las vainas, y de la raíz más nódulos. Por último, se determinó el índice relativo de clorofila en tres

hojas del plano medio de la planta, utilizando un medidor Minolta SPAD-502.

Los análisis univariados se discriminaron mediante la prueba de mínimas diferencias significativas. Se construyeron matrices de distancia para realizar análisis de componentes principales. Ambos tipos de análisis permitieron visualizar los efectos de los tratamientos evaluados. Todos fueron realizados usando el programa estadístico InfoGen (Univ. Córdoba, Argentina).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Comportamiento de la pudrición carbonosa en soya y su relación con el arreglo espacial de los microesclerocios en campo

La Figura 1A muestra el comportamiento espacial de las plantas con pudrición carbonosa (PC) donde se evidencian patrones en agregados (Campbell y Madden, 1990) pero que ocupan menor superficie que lo observado en el mapa de los microesclerocios del hongo (Figura 1B) con incidencias de la enfermedad entre 0 y 75 %; este último valor presente en el testigo. Estos patrones de mayor agregación de la enfermedad se establecieron en áreas con concentraciones mayores de 115 microesclerocios por gramo de suelo, evidenciado en las isolíneas y en la escala de grises (Figura 1B). Aquellas zonas con incidencia de la PC < 20 % coincidieron con los tratamientos donde se aplicó *Trichoderma* nativo (semilla y/o aporque) o combinado con *Rhizobium* a la semilla (Tns, Tn+Rs, Rs+Tna), aunque en algún caso puntual el tratamiento Tns resultó con los mayores valores de PC. Esto último pudo deberse a por problemas de taponamiento en las mangueras del riego por goteo establecido, donde algunas unidades experimentales permanecieron en condiciones más secas, favoreciendo al patógeno. Pineda y Gonnella (1988) evidenciaron que *M. phaseolina* puede igualar o superar la habilidad competitiva de *Trichoderma* cuando las condiciones no favorecen al antagonista. No obstante, también hubo zonas con saturación de agua, lo que resultó en ausencia de la enfermedad.

En zonas donde la incidencia de la PC fue más baja (<10 %) (Figura 1A), la concentración del inóculo de *M. phaseolina* fue variable oscilando entre 40 y 280 microesclerocios/g de suelo (Figura

1B), lo que representa una alta densidad de inóculo que se puede diseminar planta a planta a través de las raíces. Esto demuestra el control ejercido por los tratamientos sobre el hongo, principalmente los aplicados a la semilla. Los resultados contrastan en parte con lo detectado por Ulacio et al. (2012) en caraota, donde la aplicación de *Trichoderma* comercial resultó contraproducente al resultar mayor incidencia y severidad de la PC. Sin embargo, estos autores comprobaron que *Trichoderma* fue compatible con *Rhizobium* natural ya que éste logró producir nódulos en las raíces, lo que coincide con los resultados de Becquer (2004).

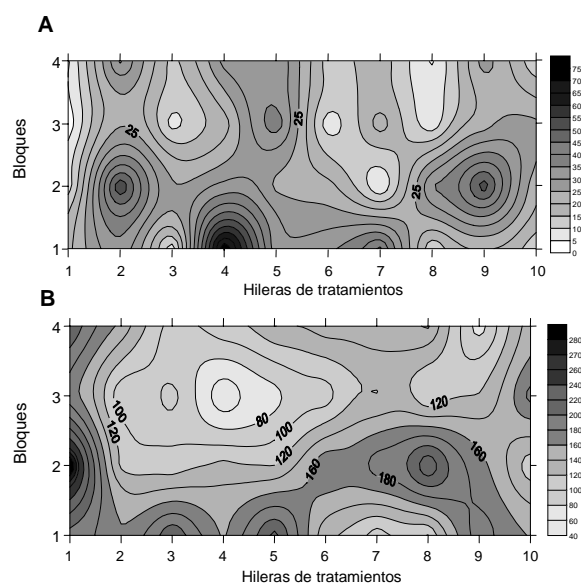


Figura 1. Comportamiento espacial de la incidencia (%) de pudrición carbonosa (A) en plantas de soya en los diferentes tratamientos y de los microesclerocios (B) de *M. phaseolina* (unidades por gramo de suelo) antes de la siembra en los cuatro bloques del área experimental. La ubicación de cada tratamiento en las hileras se muestra en el Cuadro 1

Dadas las diferencias en los mapas de la Figura 1, los resultados indican que hubo regulación de la PC pero no necesariamente debió disminuir la población del patógeno. Esto coincide con lo señalado por Ulacio et al. (2011) quienes evidenciaron a través de curvas de progreso de la PC, varios ciclos de infección durante el desarrollo de la caraota, lo cual fue indicativo de la diseminación del inóculo, independientemente

Torrealba et al. Pudrición carbonosa en soya y manejo con *Trichoderma* y *Rhizobium*

de la cantidad final y la velocidad de la enfermedad.

El mayor rendimiento de las plantas de soya correspondió al tratamiento Tcs (Cuadro 2), el cual superó estadísticamente a aquellos tratamientos con *Rhizobium* en semilla (Rs) o combinado con *Trichoderma* comercial aplicado en el aporque (Rs+Tca), con *Trichoderma* nativo también en el aporque (Rs+Tna), así como a Tcsa y el testigo (T₀R₀), resultando este último con el menor rendimiento. En general, los menores rendimientos correspondieron a aquellos tratamientos donde se aplicó *Rhizobium* a la semilla solo o combinado con *Trichoderma* incorporado en el aporque. Esta situación pareciera indicar un conflicto de competencia que causa estrés en la planta y por ende, gasto metabólico, tomando en cuenta que a los 25 dds (tiempo del aporque) la bacteria debe ya encontrarse establecida en la parte radical y es conocido que *Trichoderma* también coloniza a las raíces de las plantas actuando como simbiote (Harman et al., 2004; Benítez et al., 2004).

Este resultado sugiere que *Trichoderma* debe aplicarse de manera individual para que muestre sus propiedades como promotor de crecimiento y/o activador de la defensa de las plantas, tal como fue señalado por Jiménez et al. (2012) o simultáneamente con *Rhizobium* en la semilla. No obstante, el tratamiento que alcanzó el mayor rendimiento no fue el que resultó con la menor incidencia de PC (Cuadro 2). La infección más baja (7,42 %) se presentó en el Tn+Rs, tratamiento que se corresponde con el grupo de las plantas con mayor rendimiento ($P \leq 0,05$), mientras que la infección más alta (35,32 %) se presentó en el testigo el cual se corresponde con el grupo de plantas de menor rendimiento. Lo anterior indica que la asociación de *Trichoderma* y *Rhizobium* en la semilla resultó compatible y beneficiosa para la defensa de la planta y que en este caso no se produjo el conflicto de competencia antes mencionado. Los resultados de la evaluación indican la importancia de programar un manejo para el cultivo con *Trichoderma* y *Rhizobium* desde antes de la siembra, ayudando a la planta a potenciar su capacidad de producción independientemente de la presencia del patógeno, tal como lo han referido Harman et al. (2004) y Jiménez (2013).

En general, los mayores valores de biomasa

seca de hojas, tallos y vainas se alcanzaron con la aplicación combinada de *Trichoderma* y *Rhizobium*. *Trichoderma* aplicado a la semilla y en el aporque, favoreció significativamente la altura de la planta; sin embargo, no se justificaría la aplicación de *Trichoderma* en el aporque y bastaría con la aplicación a la semilla al momento de la siembra. Sin embargo, la aplicación sólo de *Rhizobium* a la semilla no superó al testigo en cuanto a altura de planta y biomasa de la parte aérea de la planta (Cuadro 3).

Cuadro 2. Rendimiento de soya y porcentaje de incidencia de *M. phaseolina* en plantas tratadas con *Trichoderma* y/o *Rhizobium* en condiciones de campo

Tratamiento	Rendimiento (g/planta)	Incidencia (%)
Tcs	17,893 a	24,86 ab
Tns	14,466 abc	19,33 ab
Rs	11,556 bcd	22,93 ab
Tc+Rs	15,175 abc	24,60 ab
Tn+Rs	15,570 ab	7,42 b
Rs+Tca	11,036 bcd	24,96 ab
Rs+Tna	10,751 cd	28,16 ab
Tcsa	12,828 bc	21,53 ab
Tnsa	15,027 abc	28,53 ab
T ₀ R ₀	8,129 d	35,32 a
CV (%)	23,84	16,18

Medias con la misma letra en cada columna no difieren de acuerdo a la prueba MDS ($P \leq 0,05$)

Control de *M. phaseolina* en condiciones de umbráculo

Para las variables evaluadas en la raíz y clorofila (Cuadro 4), el testigo presentó los menores promedios pero sólo fue superado simultáneamente por *Trichoderma* nativo para el número de nódulos, longitud de la raíz y biomasa seca de raíz más nódulos; asimismo, tuvo un comportamiento similar al resto de los tratamientos para el contenido relativo de clorofila. La nodulación observada en el tratamiento testigo o en aquellos donde no se aplicó *Rhizobium* se atribuye a que estas bacterias ya se encontrarían en la semilla de forma natural.

Una visión holística mediante el uso de las técnicas multivariadas de componentes principales (ACP) es representada en la Figura 2. Este análisis explica el 73,3 % de la variación total del experimento en el umbráculo. La CP1 explica el 42,7% de la variación y se relaciona con el efecto

que tienen los tratamientos sobre el desarrollo de la biomasa de la planta de soya y de los nódulos. Al extremo izquierdo, el testigo (T_0R_0), *Trichoderma* comercial y nativo aplicado a la semilla y en el aporque a los 25 días después de la siembra (Tcsa yTnsa) y sólo la inoculación con *Rhizobium*. Al extremo derecho *Trichoderma* comercial + *Rhizobium* (Tc+Rs) asociado con los mayores valores de biomasa de las vainas; *Rhizobium* + *Trichoderma* nativo aplicado a la semilla y en el aporque (Rs+Tna), relacionado con la biomasa de las hojas. En general la mayor cantidad de nódulos y plantas altas se asoció con los tratamientos *Rhizobium* + *Trichoderma* nativo ó comercial aplicado a la semilla. La CP2, que explica 30,6 % de la variación, se relaciona con el efecto de no aplicar *Rhizobium* ó *Trichoderma* y la aplicación individual de estos estimuladores. Se observa en los cuadrantes superiores como Rs, Tns y Tcs favorecen la elongación de la raíz y la producción de biomasa raíz+nódulo y mejora el verdor de las hojas al medir indirectamente el contenido de clorofila.

Cuadro 3. Variables vegetativas en plantas de soya infectadas con *M. phaseolina* y tratadas con *Trichoderma* y/o *Rhizobium* en condiciones de umbráculo

Tratamiento	AP (cm)	MsTH (g/planta)	MsV (g/planta)
Tcs	81,73 bcd	14,36 abc	7,82 abc
Tns	90,17 bcd	14,06 abc	7,13 bc
Rs	74,73 d	13,23 bc	6,68 c
Tc+Rs	91,97 abcd	14,91 ab	9,01 a
Tn+Rs	90,21 bcd	13,86 abc	8,05 abc
Rs+Tca	109,00 abc	14,09 abc	7,52 abc
Rs+Tna	110,87 ab	15,53 a	8,43 ab
Tcsa	121,40 a	12,85 c	7,18 bc
Tnsa	86,80 bcd	13,61 abc	6,95 bc
T_0R_0	79,20 cd	13,11 bc	7,27 bc
CV (%)	22,38	9,90	14,94

AP= Altura de planta; MsTH= biomasa seca tallo-hojas; MsV= biomasa seca vainas. Medias con la misma letra en cada columna no difieren de acuerdo a la prueba MDS ($P \leq 0,05$)

Los resultados de esta investigación se corresponden con lo señalado por varios autores (Pineda y Gonnella, 1988; Harman et al., 2004; Vinale et al., 2008) en cuanto a que la aplicación de *Trichoderma* favorece el crecimiento de las raíces de las plantas y en general aumentan su

biomasa. Las hifas de *Trichoderma*, en crecimiento continuo, penetran la corteza de las raíces y colonizan los tejidos de las plantas (Vinale et al., 2008). Esto favorece un nicho nutricional para *Trichoderma* y una simbiosis con la planta al protegerla de las enfermedades. En definitiva, creando una zona favorable para el biocontrol de patógenos e incrementando el antagonismo (Harman et al., 2004).

Cuadro 4. Crecimiento de la raíz, nodulación e índice de clorofila en plantas de soya infectadas con *M. phaseolina* y tratadas con *Trichoderma* y/o *Rhizobium* en condiciones de umbráculo

Tratamiento	LR (cm)	NNod/pl	Clf (SPAD)	MsR+Nod
Tcs	36,27 ab	7,00 ab	34,99 ab	11,08 ab
Tns	40,60 a	18,87 a	34,49 ab	11,55 a
Rs	37,93 ab	10,47 ab	35,67 ab	11,01 ab
Tc+Rs	31,58 b	23,33 a	33,94 b	10,59 ab
Tn+Rs	34,93 ab	12,93 a	35,37 ab	10,61 ab
Rs+Tca	33,87 ab	6,27 ab	34,36 ab	11,11 ab
Rs+Tna	35,73 ab	10,67 ab	36,10 a	11,30 a
Tcsa	34,80 ab	9,60 ab	33,96 b	9,98 ab
Tnsa	37,73 ab	9,73 ab	34,43 ab	10,63 ab
T_0R_0	31,40 b	4,27 b	34,31 ab	8,72 b
CV (%)	15,06	25,4	3,68	15,74

LR= largo de raíz; NNod/pl= número de nódulos por planta; MsR+Nod= masa seca raíz-nódulos; Clf= clorofila. Medias con la misma letra en cada columna no difieren de acuerdo a la prueba MDS ($P \leq 0,05$)

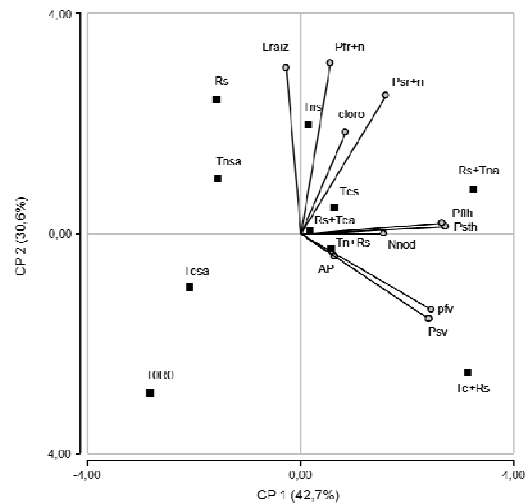


Figura 2. Representación gráfica del análisis de componentes principales (ACP) obtenida de la evaluación de la aplicación de *Trichoderma* y *Rhizobium* a plantas de soya en umbráculo

CONCLUSIONES

La inoculación de semillas de soya con cepas de *Trichoderma* sp y *Rhizobium* sp nativo, al momento de la siembra incrementa el vigor de la planta, protege de la infección por *M. phaseolina* y potenciar la producción de nódulos.

LITERATURA CITADA

- Adekunle A., K Cardwell, D. Florini y T. Ikotun. 2001. Seed treatment with *Trichoderma* species for control of damping-off of cowpea caused by *Macrophomina phaseolina*. *Biocontrol Science and Technology* 11: 449-457.
- Bais, H., S. Park, T. Weir, R. Callaway y J. Vivanco. 2004. How plants communicate using the underground information superhighway. *Trends in Plant Science* 9:26-32.
- Bécquer C., Y. Ramos, J. Nápoles y M. Arioza. 2004. Efecto de la interacción *Trichoderma-Rhizobium* en *Vigna luteola* SC-123. *Pastos y Forrajes* 27:139-145.
- Blanco, L., M.E. Marquina y Y. Castro. 2013. Respuestas a la aplicación de carbamatos en dos aislados rizobianos provenientes de Mucuchíes, estado Mérida, Venezuela. *Bioagro* 25(2): 117-128.
- Campbell C.L. y L.V. Madden. 1990. *Introduction to Plant Disease Epidemiology*. Wiley. NY. Cap 11.
- Cardona, R. 2006. Distribución vertical de esclerocios de *Macrophomina phaseolina* en un suelo infestado naturalmente en el estado Portuguesa. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)* 23: 284-291.
- Cupull, S., R. Andréu, C. Pérez, N. Delgado y M. Cupull. 2003. Efecto de *Trichoderma viride* como estimulante de la germinación, en el desarrollo de posturas de cafetos y el control de *Rhizoctonia solani* Kuhn. *Centro Agrícola* 30: 21-25.
- Dhingra O. y J. Sinclair. 1978. *Biology and pathology of Macrophomina phaseolina*. Universidad de Vicosa, Vicosa, Brasil. 166 p.
- FEDEAGRO. 2015. Estadística Agropecuaria. Volumen de producción de soya. Años 1997-2013. <http://www.fedeagro.org/produccion/Rubros.asp> (consulta del 3/08/2015).
- Gravel, V., H. Antoun, y R. Tweddell. 2007. Growth stimulation and fruit yield improvement of greenhouse tomato plants by inoculation with *Pseudomonas putida* or *Trichoderma atroviride*: Possible role of indole acetic acid (IAA). *Soil Biol. Biochemist.* 39: 1968-1977.
- Harman, G.E., C.R. Howell, A. Viterbo, I. Chet, y M. Lorito. 2004. *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews Microbiology* 2: 43-56.
- Hernández, A., M. Jiménez, A. Arcia, D. Ulacio y N. Méndez. 2013. Caracterización molecular de doce aislamientos de *Trichoderma* spp. mediante RAPD y rADN-ITS. *Bioagro* 25(3): 167-174.
- Jiménez M., A. Arcia, C. Ramis y Y. de Faría. 2013. Evaluación de *Trichoderma harzianum* Rifai como inductor de resistencia a la pudrición blanca *Sclerotium rolfsii*. Sacc de la caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) bajo condiciones controladas. *Journal of the Selva Andina Research Society* 4: 31-41.
- Jiménez M., A. Arcia, D. Ulacio y A. Hernández. 2012. Evaluación de *Trichoderma* spp. y Acibenzolar-S-Metil (Bion®) como inductores de resistencia a la pudrición blanca *Sclerotium cepivorum* Berk. en ajo (*Allium sativum* L.) bajo condiciones de campo. *Journal of the Selva Andina Research Society* 3: 14-25.
- Kleifeld O y I Chet. 1992. *Trichoderma harzianum* - interactions with plants and effect on growth response. *Plant and Soil* 144: 267-272.
- Lifshitz, R., M. Windhan y R. Baker. 1986. Mechanism of biological control of preemergence damping-off of pea by seed treatment with *Trichoderma* spp. *Phytopathology* 76: 720-725.
- Mihail, J.D. 1992. *Macrophomina*. In: L.L. Singleton, J.D. Mihail, y C.M. Rush (eds.). *Methods for Research on Soilborne Phytopathogenic Fungi*. APS Press. St. Paul, MN. pp. 134-136.
- Pineda J. y E. Gonnella. 1988. Evaluación del control biológico de *Macrophomina phaseolina* en ajonjolí (*Sesamum indicum* L.).

- Agronomía Tropical 38: 43-48.
19. Ryder L., B Harris, D. Soanes, M. Kershaw, N. Talbot y C. Thornton. 2012 Saprotrophic competitiveness and biocontrol fitness of a genetically modified strain of the plant-growth promoting fungus *Trichoderma hamatum* GD12. Microbiol. 158: 84-97.
20. Solorzano P., J. Muñoz y M. Gamboa. 2005. El cultivo de la soya en Venezuela. Agroisleña. Maracay, Venezuela. 188 p.
21. Srivastava A., T. Singh, T. Jana y D. Arora. 2001. Microbial colonization of *Macrophomina phaseolina* and suppression of charcoal rot of chickpea. In: A. Sinha Vedams (ed.). Microbes and Plants. eBooks. New Delhi. pp. 269-319.
22. Ulacio D., M. Jiménez y W. Perdomo. 2011. Estrategias de manejo integrado de *Sclerotium cepivorum* Berk. y la pudrición blanca del ajo en Carache, estado Trujillo, Venezuela. Bioagro 23: 105-114.
23. Ulacio D., M. Jiménez y W. Perdomo. 2012. Dinámica espacio-temporal en el patosistema pudrición blanca-ajo en carache, Trujillo, Venezuela. Bioagro 24: 205-212.
24. Vinale F., G. Flematti, K. Sivasithamparamb, M. Lorito y R. Marra. 2009. Harzianic acid, an antifungal and plant growth promoting metabolite from *Trichoderma harzianum*. J Nat Prod. 72: 2032-2035.
25. Vinale F., K. Sivasithamparamb, E. Ghisalberti, R. Marra, S. Woo y M. Lorito. 2008. *Trichoderma*-plant-pathogen interactions. Soil Biology & Biochemistry 40: 1-10.
26. Wink M. y O. Schimmer. 1999. Modes of action of defensive secondary metabolites. In: M. Wink (ed.). Functions of Plant Secondary Metabolites and their Exploitation in Biotechnology. Sheffield Academic Press. Sheffield, England. pp. 17-134.