Porcentaje de Germinación de Semillas de Frijol, *Phaseolus vulgaris* Inoculadas con *Rhizoctonia solani* y Tratadas con *Trichoderma harzianum*

Percentage of germination of bean seeds, *Phaseolus vulgaris* inoculated with *Rhizoctonia solani* and treated with *Trichoderma harzianum*

Doris Alina Moreno-Bringas[1] y Leonor Mattos-Calderón

RESUMEN

El frijol es una leguminosa muy importante por ser un complemento nutricional indispensable en la dieta alimenticia. La pudrición de raíces causada por *Rhizoctonia solani* puede causar pérdidas de un 50% en el rendimientos de este cultivo. El propósito de esta investigación fue evaluar el porcentaje de germinación de semillas de frijol en suelo inoculado con diferentes concentraciones de *R. solani* tratadas con una composición de *Trichoderma harzianum.* Se sembró las semillas en tierra previamente inoculada con rodajas de 9cm de diámetro de *R. solani* y pasadas ocho horas, se aplicó suspensiones de *T. harzianum*. Los tratamientos que consistían en: una rodaja *R. solani* + 0,0108 g.ml^{-1} *T. harzianum*, una rodaja *R. solani* + 0,0324 g.ml^{-1} *T. harzianum* y una rodaja *R. solani* + 0,0756 g.ml^{-1} *T. harzianum* incitaron mayor porcentaje de germinación; mientras que los tratamientos con cinco rodajas *R. solani* + 0,0324 g.ml^{-1} *T. harzianum*, cinco rodajas *R. solani* + 0,0108 g.ml^{-1} *T. harzianum* y tres rodajas *R. solani* + 0,0108 g.ml^{-1} *T. harzianum* mostraron los más bajos porcentajes. Los tratamientos en los que *T. harzianum* tiene una concentración similar o superior a *R. solani* dieron mejores resultados en porcentajes de germinación.

Palabras clave: Frijol*, Rhizoctonia solani, Trichoderma harzianum.*

ABSTRACT

Bean is a very important legume because it is an essential nutritional supplement in the diet. Root rot caused by *Rhizoctonia solani* is a disease that affects this crop and can cause losses of 50% in yields. In this sense, the purpose of this research was to evaluate the percentage of germination of bean seeds in soil inoculated with different concentrations of phytopathogenand treated with a composition of *Trichoderma harzianum*. For this purpose, the seeds were planted in soil previously inoculated with slices of 9 cm diameter *R. solani* and after 8 hours suspensions of *T. harzianum* were applied. The treatments consisted of: 1 slice *R. solani* + 0,0108 g.ml^{-1} *T. harzianum*, 1 slice *R. solani* + 0,0324 g.ml^{-1} *T. harzianum* and 1 slice *R. solani* + 0,0756 g.ml^{-1} *T. harzianum* presented higher percentage of germination; while treatments with 5 slices *R. solani* + 0,0324 g.ml^{-1} *T. harzianum*, 5 slices *R. solani* + 0,0108 g.ml^{-1} *T. harzianum* and 3 slices *R. solani* + 0,0108 g.ml^{-1} *T. harzianum* showed the lowest percentages. Treatments in which *T. harzianum* has a concentration similar or superior to *R. solani* have better results in percentages of germination.

Keywords: Bean, *Rhizoctonia solani, Trichoderma harzianum.*

[1]Universidad Nacional Agraria La Molina. La Molina. Lima. Perú.

INTRODUCCIÓN

Phaseolus vulgaris es la especie más conocida del género Phaseolus en la familia Fabaceae con unas cincuenta especies de plantas, todas nativas de América. Es una especie anual de la familia de las leguminosas, que se cultiva en todo el mundo. Existen numerosas variedades y de ella se consumen tanto las vainas verdes como los granos secos. El género Phaseolus incluye aproximadamente 35 especies, de las cuales cuatro se cultivan, son*: P. vulgaris L.; P. lunatus L.; P. coccineus L. y P. acutifolius* (Arias *et al.*, 2007).

En el grupo de las leguminosas comestibles, el frijol común (*Phaseolus vulgaris L.*) es una de las más importantes debido a su distribución en los cinco continentes y por ser complemento nutricional indispensable en la dieta alimenticia. El frijol ha sido un elemento tradicionalmente importante en América Latina y en general en una gran cantidad de países en vías de desarrollo en los cuales se cultiva (Martínez *et al.,* 2009).

Las enfermedades representan uno de los principales problemas para la producción de frijol, son comunes y muy limitantes, entre otras: Pudrición de raíces, Marchitez, Tizón sureño, Mustia hilachosa, Mancha angular, Falsa mancha angular, Antracnosis, Roya, Tizón común y Mosaico dorado (Araya, 2008 y Arias *et al.*, 2007).

Esta enfermedad puede causar pérdidas de un 50% en los rendimientos. Puede impedir la germinación de la semilla si su ataque es preemergente, causa la muerte de plántulas si su ataque es postemergente. (Mora y Blum, 1990) Las plantas afectadas por la pudrición radicular causada por *R. solani*, presentan síntomas como pequeñas lesiones necróticas, hundidas, de diferente tamaño y enrojecidas que aparecen en el hipocotílo, en la base de los tallos o en las vainas (chancros). El patógeno puede causar "damping off" en las plántulas. Frecuentemente la infección prosigue dentro de la médula de la planta, la cual toma una coloración rojo-ladrillo (CIAT, 1980 y Latorre, 2004).

Por esta razón es importante determinar un agente de control biológico que pueda reducir el propágulo y además que se multiplique y colonice el suelo donde se hallan las estructuras infectivas del fitopatógeno; estas características pueden encontrarse en hongos antagonistas como *Trichoderma* (Mathivanan *et al.*, citado por Hoyos *et al.*, 2008).

Se ha encontrado actividad micoparasítica contra *Rhizoctonia spp.* en aislamientos de *T. hamatum, T. harzianum, T. longibrachiatum, T. koningii, T. pseudokoningii, T. viride, T. virens y Trichoderma sp* (Howell *et al.*, Jakhar *et al.*, Jeffries y Young, Lewis *et al.* citados por Hoyos *et al.*, 2008).

El objetivo de esta investigación fue evaluar el porcentaje de germinación de semillas de *Phaseolus vulgaris* en suelo inoculado con diferentes concentraciones de *Rhizoctonia solani* y tratadas con una composición del hongo antagonista *Trichoderma harzianum.*

MATERIALES Y MÉTODOS

Propagación de *Rhizoctonia solani* (aislado de cultivos de frijol de campos de la Universidad Nacional Agraria La Molina)

Los aislamientos de *R. solani* se incrementaron sembrando micelio en placas Petri conteniendo Potato Dextrosa Agar (PDA), las que se incubaron por tres días a 25 °C, hasta que el micelio cubrió toda la superficie de las placas; luego estas fueron usadas para la inoculación en invernadero.

Preparación de suspensiones de *Trichoderma harzianum* (producto comercial)

El mismo día de la inoculación se procedió a preparar las suspensiones de *Trichoderma harzianum* cepa BK-Th001 a una concentración de $1x10^7$ conidias/g en agua destilada estéril y siguiendo la concentración correspondiente a

Instalación del experimento

Cada bandeja de polietileno fue llenada con 1kg de tierra esterilizada (1:1:1 de tierra, arena y compost) y rotulada de acuerdo al tratamiento y repetición. Se inoculó la tierra de las bandejas con rodajas de 9 cm de diámetro de *Rhizoctonia solani* en medio PDA, para esto se trituraron las rodajas y luego se mezclaron con la tierra revolviendo por completo el contenido de cada bandeja. Se sembraron 20 semillas (proporcionadas por el Programa de Semillas de la Universidad Nacional Agraria La Molina) por bandeja dispuestas en filas de cinco por columnas de cuatro semillas, las que previamente fueron desinfestadas con hipoclorito de sodio al 1% por cinco minutos. A las ocho horas de haber sembrado las semillas e inoculado la tierra se procedió a aplicar las suspensiones de *T. harzianum* en drench en el sitio donde fueron sembradas las semillas. (Tabla 1)

Tabla 1. Tratamientos y dosis empleados en semillas de frijol (*P.vulgaris*) en suelo inoculado con *Rhizoctonia solani* y tratado con *Trichoderma harzianum*.

Tratamientos	Dosis
T2	Testigo absoluto (sin nada)
T3	0.0108g/ml Trichoderma harzianum
T1	1 rodaja (9cm de diámetro) de Rhizoctonia solani
T4	1 rodaja (9cm) de *R. solani* +0.0108g/ml de *T. harzianum*
T5	3 rodajas (9cm) de *R. solani* +0.0108g/ml de *T. harzianum*
T6	5 rodajas (9cm) de *R. solani* +0.0108g/ml de *T. harzianum*
T7	1 rodaja (9cm) de *R. solani* +0. 0324g/ml de *T. harzianum*
T8	3 rodajas (9cm) de *R. solani* +0. 0324g/ml de *T. harzianum*
T9	5 rodajas (9cm) de *R. solani* +0. 0324g/ml de *T. harzianum*
T10	1 rodaja (9cm) de *R. solani* +0.054g/ml de *T. harzianum*
T11	3 rodajas (9cm) de *R. solani* +0.054g/ml de *T. harzianum*
T12	5 rodajas (9cm) de *R. solani* +0.054g/ml de *T. harzianum*
T13	1 rodaja (9cm) de *R. solani* +0.0756g/ml de *T. harzianum*
T14	3 rodajas (9cm) de *R. solani* +0.0756g/ml de *T. harzianum*
T15	5 rodajas (9cm) de *R. solani* +0.0756g/ml de *T. harzianum*

Evaluación

Se evaluó el desarrollo de las semillas durante 10 días, teniendo en cuenta las siguientes variables: semillas germinadas y semillas germinadas con síntomas.

Diseño experimental

El diseño empleado fue el de diseño completamente al azar (DCA); considerando quince tratamientos con cuatro repeticiones y veinte unidades experimentales por repetición. El análisis de datos para todos los parámetros de evaluación se realizó con la prueba de comparación de medias de Tukey, con un nivel de significancia de 0,05, empleando el software estadístico SAS, versión 9.1.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Porcentaje de semillas germinadas

a germinación de semillas de frijol fue evaluada durante 10 días y se observó que la mayoría de semillas germinaron, algunas dieron origen a plántulas grandes y sanas; mientras que, otras a plántulas más pequeñas y con presencia de síntomas (Fig. 1).

Figura 1. Germinación de semillas de frijol (*Phaseolus vulgaris).*

De acuerdo al análisis de varianza existe diferencia estadística altamente significativa entre los tratamientos. En el cuadro 2 y figura 2 se observa que el porcentaje de emergencia de los tratamientos 9 y 5 mostraron los valores más bajos; esto puede estar relacionado a que el patógeno desarrolló más rápido que el biocontrolador y a que la concentración del patógeno es superior a la de Trichoderma.

En los tratamientos: 4, 7 y 13 se observa mayor

En los tratamientos: 4, 7 y 13 se observa mayor porcentaje de germinación de semillas debido a que se ha demostrado que una interacción Trichoderma – planta – patógeno donde hay mediación directa del antagonista sobre la planta para que el patógeno no la ataque; una revisión reciente del fenómeno la realizó Howell (2006), y en ella se exponen algunos mecanismos mediante los cuales la planta de algodón puede escapar del ataque de patógenos; *Trichoderma* modula o estimula algunas respuestas en la planta. *T. virens* elicita la producción de terpenoides sobre la planta de algodón, haciendo que esta se proteja contra la infección por *R. solani.* (Hanson y Howell citados por Hoyos *et al.*, 2008)

Además porque Trichoderma tiene la capacidad para producir secreciones enzimáticas tóxicas extracelulares que causan desintegración y muerte en hongos fitopatógenos que habitan el suelo, en la degradación de paredes celulares de las hifas de hongos patogénicos, en la producción de químicos volátiles y antibióticos antifungales, en la colonización directadel hongo por penetración hifal, en la competencia por oxígeno, nutrientes y espacio en el suelo y por su gran adaptabilidad y rápido crecimiento.

N°	TRATAMIENTO	EMERGENCIA (%)	SIGNIFICANCIA
2	**Testigo absoluto**	**87,5**	**a**
3	**0.0108g/ml *Trichoderma harzianum***	**82,5**	**a**
1	1 rodaja (9cm)de *Rhizoctonia solani*	45,0	b
4	1 rodaja (9cm) *R. solani*+ 0.0108g/ml *T. harzianum*	43,75	bc
7	1 rodaja (9cm) *R. solani* + 0.0324g/ml *T. harzianum*	38,75	bc
13	1 rodaja (9cm) *R. solani*+ 0.0756g/ml *T. harzianum*	36,25	bc
10	1 rodaja (9cm) *R. solani*+ 0.054g/ml *T. harzianum*	27,5	ce
14	3 rodajas (9cm) *R. solani* + 0.0756g/ml *T. harzianum*	26,25	e
11	3 rodajas (9cm) *R. solani*+ 0.054g/ml *T. harzianum*	12,5	ef
15	5 rodajas(9cm) *R. solani* + 0.0756g/ml *T. harzianum*	11,25	ef
12	5 rodajas (9cm) *R. solani*+ 0.054g/ml *T. harzianum*	8,75	f
8	3 rodajas(9cm) *R. solani*+ 0.0324g/ml *T. harzianum*	6,25	f
9	5 rodajas(9cm) *R. solani*+ 0.0324g/ml *T. harzianum*	5,0	f
6	5 rodajas(9cm) *R. solani* + 0.0108g/ml *T. harzianum*	5,0	f
5	3 rodajas(9cm) *R. solani* + 0.0108g/ml *T. harzianum*	5,0	f

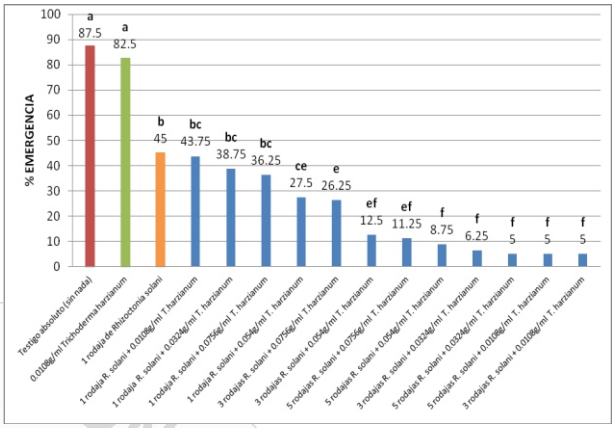

Figura 2. Porcentaje de germinación de semillas de frijol (*Phaseolus vulgaris*) en suelo inoculado con *Rhizoctonia solani* y tratado con *Trichoderma harzianum.*

Porcentaje de semillas germinadas con síntomas:

Las plántulas y semillas mostraron lesiones hundidas de distintas dimensiones, estas lesiones se caracterizaron por ubicarse al nivel del cuello de la plántula y ser de color rojizo- ocre. (Figura 3) También se observó que algunas lesiones eran más profundas; mientras que, otras fueron casi superficiales.

Figura 3. Lesiones en cuello de raíz de frijol (*Phaseolus vulgaris)* en plántulas correspondientes al tratamiento 1 (1 rodaja de *Rhizoctonia solani*).

De acuerdo al análisis de varianza existe diferencia estadística altamente significativa entre los tratamientos. En el cuadro 3 y figura 4 se observa que, en el porcentaje de germinación de semillas con síntomas, los tratamientos 9, 6 y

5 muestran menor porcentaje de semillas germinadas con síntomas, con 5%, mientras que el tratamiento 7 el mayor porcentaje de semillas germinadas con síntomas. Esto significa que la presencia de síntomas no implica que la plántula deje de crecer ya que en estudios realizados se determinó que no siempre existe una relación inversa entre el índice de infección y el crecimiento en plántulas individuales; puede observarse plántulas con alto índice de infección y alto crecimiento simultáneamente, lo cual podría deberse a que la presencia del hongo en la planta hace que está entre en "estado de alerta", y active mecanismos naturales de resistencia, tales como acelerar su tasa de crecimiento y evadir de esta forma la acción detrimental de *R. solani*. (Cardoso y Echandi citados por Mora y Blum, 1990)

Tabla 3. Prueba de Tukey (α=0,05) para porcentaje de germinación de semillas de frijol (*P. vulgaris*) que presentaron síntomas en suelo inoculado con *Rhizoctonia solani* y tratado con *Trichoderma harzianum*.

N°	TRATAMIENTO	EMERGENCIA (%)	SIGNIFICANCIA
1	**1 rodaja de *Rhizoctonia solani***	**42,5**	**b**
2	Testigo absoluto (sin nada)	6,25	d
3	0.0108g/ml *Trichoderma harzianum*	75	a
4	1 rodaja *R. solani* + 0.0108g/ml *T.harzianum*	37,5	bc
5	3 rodajas R. solani + 0.0108g/ml T. harzianum	5	d
6	5 rodajas R. solani + 0.0108g/ml T. harzianum	5	d
7	**1 rodaja *R. solani* + 0.0324g/ml *T. harzianum***	**45**	**b**
8	3 rodajas R. solani + 0.0324g/ml T. harzianum	6,25	d
9	5 rodajas R. solani + 0.0324g/ml T. harzianum	5	d
10	1 rodaja *R. solani* + 0.054g/ml *T. harzianum*	30	c
11	3 rodajas R. solani + 0.054g/ml T. harzianum	12,5	d
12	5 rodajas R. solani + 0.054g/ml T. harzianum	8,75	d
13	1 rodaja *R. solani* + 0.0756g/ml *T. harzianum*	33,75	bc
14	3 rodajas *R. solani* + 0.0756g/ml *T.harzianum*	26,25	c
15	5 rodajas R. solani + 0.0756g/ml T. harzianum	8,75	d

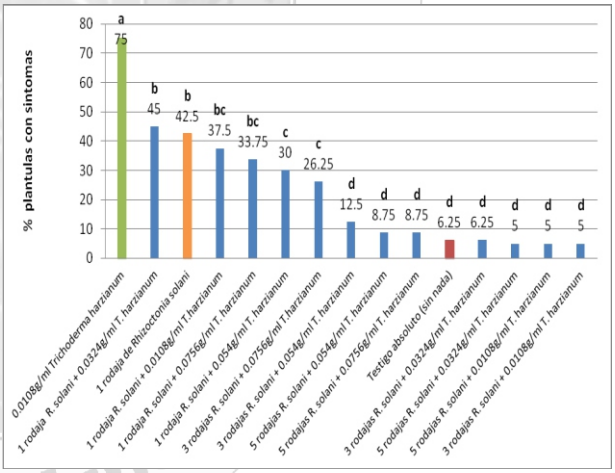

Figura 4. Porcentaje de germinación de semillas de frijol (*Phaseolus vulgaris*) que presentaron síntomas en suelo inoculado con *Rhizoctonia solani* y tratado con *Trichoderma harzianum*.

CONCLUSIONES

Las plántulas con los tratamientos que consistían en: una rodaja de *R. solani* + 0,0108 g.ml^{-1} de *T. harzianum,* una rodaja de *R. solani* + 0,0324 g.ml^{-1} de *T. harzianum* y una rodaja de *R. solani* + 0,0756 g.ml^{-1} de *T. harzianum* presentaron mayor

porcentaje de emergencia.

Los tratamientos de: cinco rodajas de *R. solani* + 0,0324 g.ml^{-1} de *T. harzianum,* cinco rodajas de *R. solani* + 0,0108 g.ml^{-1} de *T. harzianum* y tres rodajas de *R. solani* + 0,0108 g.ml^{-1} de *T. harzianum* mostraron los más bajos porcentajes de germinación de semillas de frijol.

Los tratamientos en los que *T. harzianum* tiene una concentración similar o superior a *R. solani* tienen mejores resultados en porcentajes de germinación.

BIBLIOGRAFÍA

Araya, C. (2008). Guía de identificación y manejo integrado de enfermedades del frijol en América Central. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. Nicaragua. Recuperado de http://redsicta.org/PDF_Files/Enfermedades_Frijol.pdf.

Arias, J., Rengifo, T. y Jaramillo, M. (2007). Manual: Buenas Prácticas Agrícolas, en la Producción de Frijol Voluble. Gobernación de Antioquia. Colombia. Recuperado de http://www.fao.org.co/manualfrijol.pdf.

Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). (1980). Enfermedades del frijol. Recuperado de http://redsicta.org/PDF_Files/Enfermedades_Frijol.pdf.

Hoyos, L., Chaparro, P., Abramsky, M., Chet, I y Orduz, S. (2008). Evaluación de aislamientos de *Trichoderma spp.* contra *Rhizoctonia solani* y *Sclerotium rolfsii* bajo condiciones in vitro y de invernadero. Agronomía Colombiana 26(3): 451-458. Recuperado de http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/pdf/1803/180314731010.pdf.

Latorre, B. (2004). Enfermedades de las plantas cultivadas. Santiago de Chile, Chile: Ed. Universidad Católica de Chile.

Martínez, D. *et al.* (2009). Guía técnica para el cultivo de frijol. Nicaragua. Recuperado de redsicta.org/PDF_Files/guiaTecnicaFrijol_Boaco.pdf.

Mora, F. y Blum, L. (1990). Virulencia de aislamientos locales de *Rhizoctonia solani* en frijol (*Phaseolus vulgaris*) en invernadero. Agronomía Costarricense: 14(2): 247-250. Recuperado de http://www.mag.go.cr/rev_agr/v14n02_247.pdf.

CORRESPONDENCIA

Doris Alina Moreno Bringas
Calle Capitán Quiñones N° 185 – Pueblo Nuevo. Jaén. Cajamarca. Perú.
alina1509@gmail.com