

**Efecto de aislados nativos de *Trichoderma* spp. en la incidencia de *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid en sésamo (*Sesamum indicum* L.)**

**Effect of native isolates of *Trichoderma* spp. on the incidence of *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid in sesame (*Sesamum indicum* L.)**

**José María Garcete Gómez<sup>1</sup> y Aida Lorenza Orrego Fuente<sup>2\*</sup>**

<sup>1</sup> Ing.Agr. Egresado de la Orientación Protección Vegetal de la Facultad de Ciencias Agrarias (FCA), Universidad Nacional de Asunción (UNA). San Lorenzo, Paraguay.

<sup>2</sup> Prof. Ing. Agr. M.Sc., Docente Investigador, Dpto. Protección Vegetal, FCA, UNA. San Lorenzo, Paraguay.

\*Autor para correspondencia (aorrego@agr.una.py).

Recibido: 26/07/2011; Aceptado: 30/09/2011.

**RESUMEN**

Dos experimentos fueron realizados con el fin de estudiar el efecto de aislados nativos de *Trichoderma* spp. en la incidencia de *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid en sésamo (*Sesamum indicum* L.) variedad Escoba Blanca; el primero llevado a cabo en el Laboratorio de Fitopatología, y el segundo en el invernadero del Campo Experimental, ambos del Departamento de Protección Vegetal de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Asunción, Campus de San Lorenzo. En el estudio 1 fue aislado el hongo *Trichoderma* spp. de 20 muestras de suelos de diferentes localidades del Paraguay en donde no ha sido sembrado el sésamo, y colocado en cultivo pareado con *Macrophomina phaseolina*, con un Diseño Experimental de Bloques Completos al Azar, con el que se determinó que todos los aislados fueron antagonistas del patógeno, presentándose 5 con desarrollo más agresivo. En el estudio 2 se evaluó el efecto de los 5 mejores aislados, inoculados con una concentración de  $10^8$  ufc/cc en semillas de sésamo, previamente embebidas en una suspensión de *Macrophomina phaseolina* durante 10 minutos y secadas a temperatura ambiente por 2 horas. Posteriormente fueron sembradas en macetas, contándose con 6 tratamientos y 4 repeticiones; cada unidad experimental fue constituida por 12 macetas con 5 semillas, en un Diseño de Bloques Completos al Azar. Se determinó la incidencia del patógeno a los 20 días después de la siembra, encontrando una disminución de 33,33 % de la incidencia de la enfermedad respecto al testigo.

**Palabras clave:** *Trichoderma* spp., *Macrophomina phaseolina*, *Sesamum indicum*.

**ABSTRACT**

Two experiments were conducted to study the effect of native isolates of *Trichoderma* spp. in the incidence of *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid in sesame (*Sesamum indicum* L.) variety Escoba Blanca, the first was conducted in the Laboratory of Plant Pathology, and the second in the Experimental Field, both from the Department of Plant Protection, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Asunción, Campus of San Lorenzo. In the study 1, the fungus *Trichoderma* spp. was isolated from 20 soil samples from different areas of Paraguay where it has not been planted sesame, and placed in paired culture with *Macrophomina phaseolina*, with a Complete Randomized Blocks Design. It was determined that all isolated were antagonists of the pathogen, occurring 5 with a more aggressive development. In study 2, it was evaluated the effect of the 5 best isolated, inoculated with a concentration of  $10^8$  cfu/mL in sesame seeds, previously soaked in a suspension of *Macrophomina phaseolina* for 10 minutes and dried at room temperature for 2 hours. Afterwards they were planted in pots, with 6 treatments and 4 replications; each experimental unit was constituted of 12 pots with 5 seeds in a Complete Randomized Blocks Design. It was determined the incidence of the pathogen at 20 days after sowing, finding a decrease of 33.33% in the incidence of the disease compared with the control.

**Key words:** *Trichoderma* spp., *Macrophomina phaseolina*, *Sesamum indicum*.

## INTRODUCCIÓN

El sésamo (*Sesamum indicum* L.) es una planta oleaginosa que va adquiriendo importancia en el país, siendo las empresas privadas las principales productoras y difusoras de este rubro (León 2007). El cultivo se ve afectado por la enfermedad conocida como la pudrición carbonosa, causada por el hongo del suelo *Macrophomina phaseolina* (Cardona 2008), que puede llegar a reducir la producción entre el 16 al 40% (Smits y Delgado 1987).

Una vez establecido el cultivo, no se conoce un control químico eficiente debido principalmente a la ubicación del hongo en la planta. Además, el microorganismo permanece en el campo como micro esclerocios, es transmitido por semillas y puede causar la muerte a la planta desde la germinación (Laguna et al. 2009).

En la búsqueda de métodos de control, surge la idea de aplicación de organismos vivos para el manejo de enfermedades, lo que se conoce como control biológico. Las especies de *Trichoderma* son habitantes del suelo y la mayoría de los aislamientos se caracterizan por hiperparasitar diversos hongos y resultan efectivas en el control de diversas patologías (Sandoval y López 2000, Infante et al. 2009).

En este contexto, el propósito principal del trabajo fue evaluar el efecto de aislados nativos de *Trichoderma* spp. en la incidencia de *Macrophomina phaseolina* en el sésamo variedad Escoba Blanca, basándose en la premisa de que uno de los aislados del hongo *Trichoderma* presenta una acción antagónica contra el fitopatógeno, reduciendo la incidencia de la enfermedad, sin afectar negativamente el desarrollo de la planta.

## METODOLOGÍA

Fueron realizados dos experimentos denominados Estudio 1: Cultivo pareado de *Trichoderma* spp. con *Macrophomina phaseolina* y Estudio 2: Eficiencia de *Trichoderma* spp. en el control de *Macrophomina phaseolina*. Los trabajos fueron realizados en el Laboratorio de Fitopatología y el invernadero del Campo Experimental del Departamento de Protección Vegetal, de la FCA-UNA; sito en la ciudad de San Lorenzo, entre agosto a diciembre de 2010 y enero de 2011.

Se utilizaron aislados nativos del género *Trichoderma*, el patógeno *Macrophomina phaseolina* y semillas de sésamo variedad Escoba Blanca, proveídos por el Proyecto Kopia – IAN.

El Estudio 1 constituyó los aislados de *Trichoderma* spp.,

de diferentes localidades (Asunción, San Lorenzo, Capiatá, Itá y Caacupé), en cultivo dual con *M. phaseolina* aislada de semillas de sésamo.

De cada una de las 5 localidades se extrajeron 4 muestras de suelo, las cuales fueron procesadas en el laboratorio, obteniéndose 20 aislados de *Trichoderma* spp. que fueron puestos en cultivo pareado con *M. phaseolina*. Cada tratamiento contó con 4 placas de Petri, teniendo 80 placas para el cultivo dual; y 80 placas para la medición de la velocidad de crecimiento libre de los aislados de *Trichoderma* spp. El diseño estadístico utilizado fue el de Bloques Completos al Azar.

El aislamiento de *Trichoderma* spp. del suelo se obtuvo empleando el método de dilución adaptado de Fernández (1993). La identificación del género de interés se realizó mediante observaciones macro y microscópicas, para lo cual se utilizó el microscopio estereoscópico y el microscopio óptico respectivamente, así como las claves de Barnett (1998).

El hongo *M. phaseolina*, fue aislado a partir de semillas de sésamo variedad Escoba Blanca, que fueron cultivadas según la metodología adaptada de Fernández (1993) y French y Hebert (1980). Posteriormente se dejó incubar a 25 °C durante 5 días. De las semillas que presentaron formación de estructuras de propagación de *M. phaseolina*, se repicaron hifas del hongo hasta la obtención de colonia pura.

El efecto antagónico entre los hongos fue estudiado utilizando la técnica de cultivo pareado, descrito por Jackisch-Matsuura y Menezes (1999), de la siguiente manera:

- En cámara de flujo laminar, de las placas de Petri con cultivo puro, mediante un sacabocado, se obtuvieron discos de 5 mm de diámetro del crecimiento micelial de *M. phaseolina* y de los distintos aislados de *Trichoderma* spp.
- En las placas de Petri, con medio de cultivo PDA, fueron transferidos un disco de *M. phaseolina* y un disco de *Trichoderma* spp. en puntos opuestos, mediante ansa de platino flameada y enfriada.
- Las placas sembradas se dejaron incubar en la estufa a temperatura de 28°C.
- El crecimiento de los hongos en cultivo pareado fue evaluado cada 24 horas, durante 3 días para determinar la velocidad de crecimiento.

El mismo procedimiento fue realizado para cada uno de los aislados de *Trichoderma* spp. de las diferentes localidades muestreadas.

La velocidad de crecimiento fue determinada mediante la

observación directa de las placas, a partir del centro del disco de inoculación hasta el límite del área de crecimiento, para el efecto se utilizó una regla milimetrada. El momento de intercepción de colonias fue evaluado a los 3 días, y la sobreposición de colonias fue determinada mediante la observación directa de los cultivos pareados, hasta los 6 días de incubación, empleándose la escala adaptada de Jackish-Matsuura y Menezes (1999), indicada en la **Tabla 1**. La finalidad de este trabajo fue seleccionar 5 aislados más agresivos de *Trichoderma* antagonistas de *M. phaseolina*.

**Tabla 1.** Escala utilizada para evaluar la sobreposición de colonias en el Estudio 1: Cultivo pareado de *Trichoderma* spp. y *Macrophomina phaseolina*. San Lorenzo, Paraguay, 2011.

Escala	Interpretación
++	Sobreposición intensa de colonia de <i>Trichoderma</i> sobre <i>Macrophomina phaseolina</i> .
+	Sobreposición poco intensa de colonia de <i>Trichoderma</i> sobre <i>Macrophomina phaseolina</i> .
-	Ausencia de sobreposición de colonia de <i>Trichoderma</i> sobre <i>Macrophomina phaseolina</i> .

Fuente: Adaptado de Jackish-Mitsuura y Menezes (1999).

Para el estudio de la eficiencia de *Trichoderma* spp. en el control de *Macrophomina phaseolina*, del Experimento 2, los 5 mejores aislados de *Trichoderma* spp. fueron inoculados en semillas de sésamo variedad Escoba Blanca infestadas previamente con *M. phaseolina*. El experimento contó con 6 tratamientos (**Tabla 2**), 4 repeticiones, totalizando 24 unidades experimentales, cada unidad experimental se conformó de 12 macetas, totalizando 288 macetas. El diseño estadístico utilizado fue el de Bloques Completos al Azar.

**Tabla 2.** Número de aislado seleccionado y localidad muestreada para el Estudio 2: Eficiencia de *Trichoderma* spp. en el control de *Macrophomina phaseolina*. San Lorenzo, Paraguay, 2011.

Tratamiento	Nº Aislado ( <i>Trichoderma</i> spp.)	Localidad (Nº de muestra)
1	14	Itá (2)
2	17	Caacupé (1)
3	8	San Lorenzo (4)
4	5	San Lorenzo (1)
5	9	Capiatá (1)
6	Testigo	-

El inóculo fue preparado a partir de cultivo puro del hongo *M. phaseolina* siguiendo la metodología citada por Orrego et al. (2009), descrita a continuación:

- A las placas cultivadas con *M. phaseolina*, con 10

días de incubación, se agregó 20 mL de agua destilada esterilizada y se raspó superficialmente el crecimiento micelial mediante un cepillo de cerdas finas.

- El sobrenadante de la placa se vertió en un vaso de precipitado.
- Se pesó 500 g de semillas de sésamo variedad Escoba Blanca y se colocó en una bandeja de plástico y se adicionó 500 mL de la suspensión del hongo.
- Se dejó embeber las semillas en la suspensión durante 10 minutos y se procedió al secado de las mismas sobre papel filtro por 2 horas a temperatura ambiente.

El inóculo del biocontrolador fue preparado a partir de cultivo puro del hongo *Trichoderma* spp. adaptando la metodología para la preparación de inóculo de *M. phaseolina*, citada por Orrego et al. (2009), procediéndose de la siguiente manera:

- A las placas cultivadas con los mejores aislados de *Trichoderma* spp., con 10 días de incubación, se agregó 20 mL de agua destilada esterilizada y se raspó superficialmente el crecimiento micelial con conidios mediante un cepillo de cerdas finas.
- Se determinó la concentración de esporas en la Cámara de Neubauer, según la metodología citada por French y Hebert (1980), y de acuerdo a las lecturas realizadas se ajustó la suspensión a  $10^8$  unidades formadoras de colonias (ufc)/cc.
- Se pesó 500 g de semillas de sésamo variedad Escoba Blanca, previamente infestadas con *M. phaseolina*, acondicionando las mismas en una bandeja de plástico y adicionando 500 mL de la suspensión del hongo.
- Imbibición de las semillas en la suspensión durante 10 minutos y posterior secado sobre papel de filtro, por 2 horas, a temperatura ambiente.

En invernadero, se emplearon macetas de polietileno negro de baja densidad, de 30 x 40 cm., cargándose con sustrato constituido de arena y estiércol bovino en proporción 2:1. Posteriormente se procedió a la siembra en forma equidistante de 5 semillas de sésamo inoculadas con el patógeno y el biocontrolador. El riego manual fue realizado cada 72 horas.

La evaluación se realizó determinando la incidencia de la enfermedad en la emergencia de las plántulas de sésamo, mediante observaciones diarias hasta los 20 días después de la siembra. Se contabilizaron las plántulas emergidas y llevadas a porcentaje en relación al total de semillas sembradas.

Los datos obtenidos en ambos estudios fueron sometidos a análisis de varianza y las medias comparadas entre sí mediante el Test de Tukey al 5%.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Cultivo pareado de *Trichoderma* spp. y *Macrophomina phaseolina*

Los resultados expresados en la **Tabla 3** muestran el promedio de velocidad de crecimiento de los diferentes aislados de *Trichoderma* spp., los cuales mostraron diferencias significativas.

**Tabla 3.** Promedio de velocidad de crecimiento de diferentes aislados de *Trichoderma* spp. en cultivo *in vitro*. San Lorenzo, Paraguay, 2011.

Tratamiento	Localidad (Nº de muestra)	<i>Trichoderma</i> (cm/día)	
1	Asunción (1)	2,08	a
3	Asunción (3)	2,08	a
7	San Lorenzo (3)	2,08	a
9	Capiatá (1)	2,08	a
12	Capiatá (4)	2,08	a
14	Itá (2)	2,08	a
6	San Lorenzo (2)	2,07	a
8	San Lorenzo (4)	2,07	a
10	Capiatá (2)	2,07	a
11	Capiatá (3)	2,07	a
2	Asunción (2)	2,06	a
16	Itá (4)	2,00	b
17	Caacupé (1)	2,00	b
18	Caacupé (2)	2,00	b
19	Caacupé (3)	1,90	c
15	Itá (3)	1,88	c
4	Asunción (4)	1,81	d
13	Itá (1)	1,75	e
20	Caacupé (4)	1,70	f
5	San Lorenzo (1)	1,70	f

En las columnas, medias seguidas por la misma letra no difieren entre sí por el Test de Tukey al 5 %.

La mayor tasa de crecimiento fue de 2,08 cm/día, valor que obtuvieron los aislados de las muestras 1 de Asunción (T1), 3 de Asunción (T3), 3 de San Lorenzo (T7), 1 de Capiatá (T9), 4 de Capiatá (T12), y 2 de Itá (T14). Sin embargo, estos datos no presentan diferencias significativas con los obtenidos por los aislados de las muestras 2 de San Lorenzo (T6), 4 de San Lorenzo (T8), 2 de Capiatá (T10), 3 de Capiatá (T11), todos con 2,07 cm/día; y la muestra 2 de Asunción (T2) con 2,06 cm/día.

Los aislados 1 de San Lorenzo (T5) y 4 de Caacupé (T20) se desarrollaron con 1,70 cm/día, y se encuentra con el menor valor de crecimiento, presentando diferencias significativas con los demás tratamientos.

Siete aislados presentaron una velocidad de crecimiento entre 2,00 y 1,75 cm/día, valores que muestran diferencias significativas entre sí y con los demás tratamientos.

Los datos revelan que en cultivo *in vitro* el hongo *Trichoderma* spp. presentó un crecimiento rápido, en cambio, en cultivo pareado con *M. phaseolina*, la media

de velocidad de crecimiento se redujo, aunque no impidió el crecimiento del biocontrolador.

La **Tabla 4** presenta el promedio de velocidad de crecimiento de los diferentes aislados de *Trichoderma* spp. y *Macrophomina phaseolina* en cultivo pareado. Los análisis de varianza arrojaron diferencias significativas para el promedio de velocidad de crecimiento lineal de *Trichoderma* spp. en cultivo pareado con *M. phaseolina*; mientras que, en la evaluación del comportamiento de *M. phaseolina*, no se demostró diferencias significativas entre los tratamientos.

**Tabla 4.** Velocidad de crecimiento de los diferentes aislados de *Trichoderma* spp. y *Macrophomina phaseolina* en cultivo pareado. San Lorenzo, Paraguay, 2011.

Tratamientos	Localidad (Nº de muestra)	<i>Trichoderma</i> (cm/día)		<i>M. phaseolina</i> (cm/día) <sup>ns</sup>
17	Caacupé (1)	1,70	a	1,08
9	Capiatá (1)	1,63	ab	1,12
14	Itá (2)	1,58	abc	1,17
10	Capiatá (2)	1,52	abc	0,99
19	Caacupé (3)	1,48	abc	1,16
3	Asunción (3)	1,45	abc	1,07
13	Itá (1)	1,44	abc	1,26
16	Itá (4)	1,44	abc	1,22
2	Asunción (2)	1,43	abc	1,11
8	San Lorenzo (4)	1,42	abc	1,13
6	San Lorenzo (2)	1,40	abc	1,20
15	Itá (3)	1,40	abc	1,17
18	Caacupé (2)	1,40	abc	1,19
7	San Lorenzo (3)	1,39	abc	1,28
5	San Lorenzo (1)	1,38	abc	1,14
1	Asunción (1)	1,35	abc	1,12
20	Caacupé (4)	1,35	abc	1,32
12	Capiatá (4)	1,33	abc	1,14
11	Capiatá (3)	1,33	bc	1,09
4	Asunción (4)	1,25	c	1,14

En las columnas, medias seguidas por la misma letra no difieren entre sí por el Test de Tukey al 5 %.

ns= No significativo.

En la **Tabla 4** se observa que el aislado de la muestra 1 de Caacupé (T17) presentó el mayor crecimiento lineal diario con un promedio de 1,70 cm/día, siguiéndolo el aislado de la muestra 1 de Capiatá (T9) con 1,63 cm/día, aunque no se diferencian estadísticamente entre sí.

El T4, que corresponde al aislado 4 de Asunción, presentó uno de los menores valores de desarrollo *in vitro* con 1,25 cm/día, difiriendo estadísticamente de T17 y T9, no así con los demás tratamientos.

En la evaluación de la velocidad de crecimiento de *M. phaseolina* en cultivo pareado (**Tabla 4**), no presentó diferencia significativas entre los resultados, aunque se resalta que en el tratamiento 20 desarrolló mayor velocidad de crecimiento (1,32 cm/día) y el menor fue el

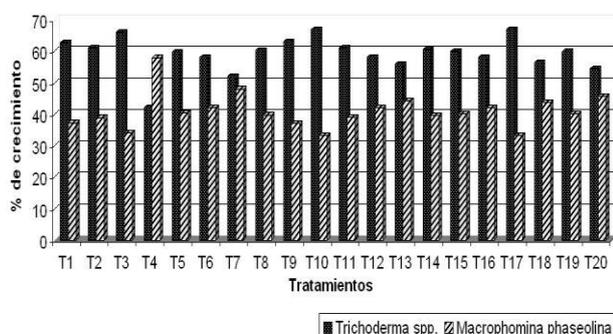
tratamiento 10 (0,99 cm/día). Los tratamientos intermedios se encuentran entre 1,28 y 1,07 cm/día. Al examinar los valores de la velocidad de crecimiento de aislados nativos de *Trichoderma* spp. y *M. phaseolina* en cultivo pareado se observa una marcada superioridad en cuanto a la competencia por el sustrato del biocontrolador frente al patógeno, debido a que los aislados de *Trichoderma* spp. crecieron con una mayor velocidad que *M. phaseolina*, efecto mencionado por Infante et al. (2009).

La mayor velocidad de crecimiento por día de *Trichoderma* spp. fue 1,70 cm/día, coincidiendo con los resultados obtenidos por Gómez y Segura (2002), estudiando en cultivo dual *Trichoderma* sp. con *M. phaseolina*. Sin embargo, para los mismos autores, la menor velocidad de crecimiento del biocontrolador fue de 0,50 cm/día, mientras en este estudio el menor valor fue de 1,25 cm/día.

El patrón de comportamiento de velocidad de crecimiento de los hongos en el estudio de cultivo pareado, independientemente al valor de crecimiento de los mismos, fue que *Trichoderma* spp. presentó una marcada superioridad frente a *M. phaseolina*; situación que coincide con lo obtenido por Sandoval y López (2000), que informaron un elevado nivel de competencia por el sustrato de cepas de *Trichoderma* spp. respecto a *M. phaseolina*, determinando que *T. harzianum* presentó una relación 1:1,4 en la velocidad crecimiento patógeno-controlador. Así también, Ramezani (2008), encontró que especies de *Trichoderma* presentaron una marcada superioridad en cuanto a la competencia por el sustrato.

La velocidad media de crecimiento de *M. phaseolina* fue de 1,15 cm/día, valor que no coincide con Gómez y Segura (2002), que encontraron el desarrollo del patógeno con una velocidad media de 0,45 cm/día, en condiciones de estudio similares.

En la **Figura 1** se puede observar la comparación en porcentaje del total de crecimiento de *Trichoderma* spp. y *Macrophomina phaseolina* en cultivo pareado a los 3 días de incubación, momento de la intercepción de colonias.



**Figura 1.** Intercepción de colonias de *Trichoderma* spp. y *Macrophomina phaseolina* en cultivo pareado a los 3 días de incubación. San Lorenzo, Paraguay, 2011.

Es notoria la superioridad del hongo controlador frente al patógeno, alcanzando los picos más altos los tratamientos 3, 10 y 17; con valores superiores al 65% de total de crecimiento, seguidos por los tratamientos 1, 2, 5, 8, 9, 11, 14, 15 y 19; que superan el 60 %.

En cambio, en el tratamiento 4 el hongo patógeno es el que ocupa un porcentaje cercano al 60%, valor que supera ampliamente al aislado de *Trichoderma* spp. que sólo se desarrolló hasta un 40%, aunque, con excepción de este tratamiento, todos los demás aislados del biocontrolador superaron el 50% de crecimiento en comparación a *M. phaseolina* que no alcanzaron ese valor.

La **Tabla 5** contiene los resultados de sobreposición de colonias del hongo biocontrolador sobre el crecimiento micelial de *M. phaseolina* a los 6 días de incubación del cultivo pareado.

Los aislados de las muestras 2 de Itá (T14), 1 de Caacupé (T17), 4 de San Lorenzo (T8), 1 de San Lorenzo (T5), y 1 de Capiatá (T9), obtuvieron la calificación ++, por desarrollar una sobreposición intensa en el cultivo pareado con el patógeno, presentando el tratamiento 17 el desarrollo más agresivo.

Todos los demás tratamientos desarrollaron sobreposición frente a *M. phaseolina*, sin embargo, no presentaron un crecimiento intenso quedando con la calificación poco intensa (+).

**Tabla 5.** Sobreposición de colonias a los 6 días de incubación de aislados nativos de *Trichoderma* spp. y *Macrophomina phaseolina* en cultivo pareado. San Lorenzo, Paraguay, 2011.

Tratamientos	Localidad (Nº de muestra)	Sobreposición de Colonias*
14	Itá (2)	++
17	Caacupé (1)	++
8	San Lorenzo (4)	++
5	San Lorenzo (1)	++
9	Capiatá (1)	++
3	Asunción (3)	+
6	San Lorenzo (2)	+
7	San Lorenzo (3)	+
10	Capiatá (2)	+
15	Itá (3)	+
1	Asunción (1)	+
2	Asunción (2)	+
4	Asunción (4)	+
13	Itá (1)	+
11	Capiatá (3)	+
12	Capiatá (4)	+
16	Itá (4)	+
18	Caacupé (2)	+
19	Caacupé (3)	+
20	Caacupé (4)	+

\*Escala de Evaluación Tabla 1: ++ (Intensa); + (Poco intensa); - (Sin sobreposición).

La fluctuación en la media de la velocidad de crecimiento del hongo controlador se debió a las diferencias que se presentaron entre los aislados nativos, debido que los mismos no mostraron características similares en la colonia pura (relativas al color, esporulación, olor, entre otros), haciendo suponer que se trabajó con diferentes especies del hongo, concordando con lo expuesto, Romero-Arenas et al. (2009), quienes comentan que existen más de 200 especies de *Trichoderma*.

#### Eficiencia de *Trichoderma* spp. en el control de *Macrophomina phaseolina*

La **Tabla 6** contiene el porcentaje de plantas obtenidas a los 20 días después de la siembra. El análisis de varianza llevado a cabo indicó que los tratamientos evaluados presentan diferencias significativas.

**Tabla 6.** Porcentaje de plantas de sésamo obtenidas de semillas inoculadas previamente con *Macrophomina phaseolina* y con aislados nativos seleccionados de *Trichoderma* spp. San Lorenzo, Paraguay, 2011.

Tratamientos	Semillas inoculadas con aislados de <i>Trichoderma</i> spp. (Procedencia de la muestra)	Plantas (%)
5	Aislado Capiatá (1)	66,25 a
4	Aislado San Lorenzo (1)	57,50 ab
3	Aislado San Lorenzo (4)	50,83 ab
2	Aislado Caacupé (1)	50,00 ab
1	Aislado Itá (2)	40,00 b
6	Testigo - con <i>M. phaseolina</i>	32,92 b

En las columnas, medias seguidas por la misma letra no difieren entre sí por el Test de Tukey al 5%.

El tratamiento 5 (semillas inoculadas con *Trichoderma* spp. aislado de la muestra 1 de Capiatá) presentó el mayor porcentaje de control con 66,25% de plantas vivas; y el tratamiento 1 (aislado de la muestra 2 de Itá) resultó ser el tratamiento con menor porcentaje de control con 40,00% de plantas vivas, sin embargo este último no presenta diferencia estadística significativa con el tratamiento 6 (testigo), que presentó un 32,92% de plantas vivas.

Entre los valores intermedios se encuentran el tratamiento 4 (semillas inoculadas con aislado de la muestra 1 de San Lorenzo), el tratamiento 3 (semillas inoculadas con aislado de la muestra 4 de San Lorenzo), y el tratamiento 2 (semillas inoculadas con aislado de la muestra 1 de Caacupé), con 57,50; 50,83; y 50,00%, respectivamente, los mismos no presentan diferencias estadísticas entre sí ni entre los demás tratamientos.

Los datos obtenidos en el presente trabajo son similares a los encontrados en estudios realizados por Cardona y Rodríguez (2006), quienes obtuvieron un 79,04% de plantas vivas de sésamo al inocularlas con esporas de especies de *Trichoderma*. No obstante, Pineda y

Glonnella (1988) encontraron un control sobre la incidencia de la enfermedad en sésamo de 83,58%, al tratar las semillas con *Trichoderma* spp.

Al observar los resultados de la evaluación de los tratamientos se obtuvo un control sobre la incidencia de la enfermedad respecto al testigo, mejorando un 33,33% de plantas vivas.

En este trabajo se presentó un comportamiento contrario entre el desarrollo *in vitro* y el *in vivo* en el mismo aislado, situación que se repitió para cada uno de los aislados analizados en ambos estudios. Este hecho pudiera explicarse debido a los factores que favorecen el desarrollo de la enfermedad causada por el patógeno en estudio. En condiciones de invernadero se registró una temperatura media de 46°C con una humedad relativa del 60% en promedio. Según Cardona (2008), la incidencia de la enfermedad se ve favorecida por altas temperaturas y baja humedad, condiciones que desfavorecen a *Trichoderma* spp. para su establecimiento en el suelo (Cardona y Rodríguez, 2006).

#### CONCLUSIONES

Los resultados del presente trabajo permiten llegar a las siguientes conclusiones:

- Entre los aislados nativos de *Trichoderma* spp. estudiados existen diferencias en la velocidad de crecimiento de colonias.
- Aislados de *Trichoderma* spp. de una misma localidad, poseen comportamientos diferentes.
- La velocidad de crecimiento de los aislados nativos de *Trichoderma* spp. es superior que la de *Macrophomina phaseolina*.
- Sólo el 25% de los aislados estudiados de *Trichoderma* spp. desarrollan una sobreposición intensa de colonias frente a *Macrophomina phaseolina*.
- La inoculación de semillas de sésamo, con suspensiones de esporas de aislados nativos de *Trichoderma* spp., reduce la incidencia de *Macrophomina phaseolina* entre 7,02 a 33,33%.

#### LITERATURA CITADA

- Barnett, H. 1998. Illustrated Genera Imperfect Fungi. Minneapolis, Minnensota, US, Burgess Publishing. 258 p.
- Cardona, R. 2006. Distribución vertical de esclerocios de *Macrophomina phaseolina* en un suelo infestado naturalmente en el estado Portuguesa (en línea). Rev. Fac. Agron. 23: 284-291. Consultado 26 feb. 2010. Disponible en [http://www.revfacagronluz.org.ve/PDF/ju\\_lio\\_septiembre2006/rcardona.pdf](http://www.revfacagronluz.org.ve/PDF/ju_lio_septiembre2006/rcardona.pdf)

- Cardona; Rodríguez, H. 2006. Efecto del hongo *Trichoderma harzianum* sobre la incidencia de la enfermedad pudrición carbonosa en ajonjolí (en línea). Rev. Fac. Agron. 23: 292-296. Consultado 27 feb. 2010. Disponible en [http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=80378-78182006000100004&script=sci\\_art](http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=80378-78182006000100004&script=sci_art)
- Cardona 2008. Efecto del abono verde y *Trichoderma harzianum* sobre la población de esclerocios y la incidencia de *Macrophomina phaseolina* en ajonjolí (en línea). Rev. Fac. Agron. 25: 440-454. Consultado 03 feb. 2010. Disponible en [http://www.revfacagronluz.org.ve/PDF/julio\\_septiembre2008/v25n3a20083.pdf](http://www.revfacagronluz.org.ve/PDF/julio_septiembre2008/v25n3a20083.pdf)
- Fernandez, M. 1993. Manual para laboratorio de fitopatología. Passo Fundo, BR, Centro Nacional de Pesquisa de Trigo. 128 p.
- French, E; Hebert, T. 1980. Métodos de investigación fitopatológica. San José, CR, IICA. 289 p.
- Gómez, E; Segura, J. 2002. Control de la pudrición carbonosa (*Macrophomina phaseolina*) en el cultivo del ajonjolí (*Sesamum indicum* L.) (en línea). Corpoica: Ciencia y Tecnología Agropecuaria 2(3): 53-59. Consultado 02 mar. 2010. Disponible en [http://www.corpoica.org.co/SitioWeb/Revistas/verarticulo.asp?id\\_contenido=129](http://www.corpoica.org.co/SitioWeb/Revistas/verarticulo.asp?id_contenido=129)
- Infante, D; Martínez, B; González, N; Reyes, Y. 2009. Mecanismos de acción de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos (en línea). Rev. Protección Veg. 24(1): 10-15. Consultado 14 abr. 2010. Disponible en [http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S101027522009000100002&script=sci\\_arttext](http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S101027522009000100002&script=sci_arttext)
- Jackisch-Matsuura, AB; Menezes, M. 1999. Efeito de *Trichoderma* spp. no controle de *Pythium aphanidermatum* en fumo (*Nicotiana tabacum*). Summa Phytopathologica 25(2): 161-164.
- Laguna, IG; Nome, G; Conci, L; Conforto, C; Eyherabide, G; Giménez Pecci, MDP; González, M; Guzmán, F. 2009. Enfermedades del *Zea mays* L.: maíz (en línea). In Nome, SF; Docampo, DM; Conci, LR; Pérez, BA. eds. Atlas Fitopatológico Argentino. 3(1). Consultado 3 ago. 2010. Disponible en <http://www.fitopatoatlas.org.ar/default.asp?hospedante=1048>
- León, L. 2007. Estudio de mecanismo de formación de los precios internos y de margen de comercialización del sésamo (*Sesamum indicum* L.) durante el periodo agrícola 2006/2007. Tesis Ing. Agr. San Lorenzo, PY, FCA/UNA. 91 p.
- Orrego, A; Grabowski, C; Rodríguez, H; Soilán, L. 2009. Eficiencia de fungicidas para el control de *Macrophomina phaseolina* en semillas de soja, en condiciones *in vitro*. In Orrego, A. *Macrophomina phaseolina* hongo causante de la pudrición carbonosa del tallo. San Lorenzo, PY, FCA – UNA/INBIO. p. 83-94.
- Pineda, J; Glonnella, E. 1988. Evaluación del control biológico de *Macrophomina phaseolina* en ajonjolí (*Sesamum indicum* L.) (en línea). Agronomía Tropical 38(4-6): 43-48. Consultado 12 feb. 2010. Disponible en [http://sian.inia.gob.ve/repositorio/revistas\\_ci/Agronomia%20Tropical/at3 846/Arti/pineda\\_j.htm](http://sian.inia.gob.ve/repositorio/revistas_ci/Agronomia%20Tropical/at3%20846/Arti/pineda_j.htm)
- Ramezani, H. 2008. Biological Control of Root-Rot of Eggplant Caused by *Macrophomina phaseolina* (en línea). American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci. 4(2): 218-220. Consultado el 20 nov. 2010. Disponible en [http://www.idosi.org/aejaes/jaes4\(2\)/14.pdf](http://www.idosi.org/aejaes/jaes4(2)/14.pdf)
- Romero-Arenas, O; Huerta, M; Huato, M; Domínguez, R; Alfonso, D. 2009. Características de *Trichoderma harzianum*, como agente limitante en el cultivo de hongos comestibles (en línea). Rev. Colomb. Biotecnol. 11(2): 143-151. Consultado 14 abr. 2010. Disponible en <http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/pdf/776/77613172015.pdf>
- Sandoval, I; López, M. 2000. Antagonismo de *Trichoderma harzianum* A34 hacia *Macrophomina phaseolina* y otros patógenos fúngicos del frijol. Fitosanidad 4(3-4): 69-72.
- Smits, G; Delgado, N. 1987. Alteración en la productividad del ajonjolí, variedad turen por el hongo *Macrophomina phaseolina*. In Seminario Nacional de Fitopatología. (1987, Macaray, VE). Trabajos presentados. p 76.