CULTIVOS TROPICALES. VOL. 4, No. 4/DICIEMBRE 1982.

UNA TECNICA SIMPLE PARA LOGRAR ABUNDANTE FRUCTIFICACION DEL HONGO Stemphylium solani, Weber.

María Margarita Hernández[1]

RESUMEN

Fueron ensayadas diferentes técnicas para lograr la fructificación del hongo Stemphylium solani, Weber, en medio artificial (Agar avena, malta, tomate y medio "S"), utilizando, a su vez, diferentes regímenes de iluminación, no lográndose la esporulación en ninguno de los casos. El método de cultivo propuesto por Messiaen (1970), sobre tallos esterilizados de tomate (Lycopersicon esculentum, Mill) y Solanum torvum, que son posteriormente lavados y secados gradualmente, resultó apropiado, lográndose una alta esporulación del patógeno.

INTRODUCCION

Como es sabido, el Stemphylium solani, Weber, presenta, al igual que otros hongos del tipo Alternaria, dificultades para su esporulación en medio artificial, por lo que numerosos autores han ensayado técnicas diversas para lograr la misma, ya sea mediante el empleo de sustancias químicas específicas o mediante diferentes regímenes de iluminación y oscuridad (Minussi, 1973; Messiaen, 1970 y Rives, 1978).

El inóculo preparado en el laboratorio (suspensión de esporas) puede emplearse para la inoculación de grandes poblaciones de plantas en el campo.

1 Instituto de Ciencia Agrícola, ISCAH La Habana.

Las epidemias de hongos causantes de manchas foliares pueden iniciarse artificialmente mediante el empleo de estos inóculos sobre las plantas, cuando las condiciones climáticas favorecen el desarrollo de las mismas (Weber y col., 1973).

Las inoculaciones en el campo han probado ser apropiadas para evaluar líneas de resistencia a antracnosis (Hoadley, 1960) y para oscurecimiento interno de los frutos (Boyle y Bergman, 1967); asímismo, Rivas (1980) utilizó esta técnica para evaluar algunas líneas y variedades para resistencia a Stemphylium solani, Weber.

Todo lo expuesto pone en evidencia la necesidad de la obtención de abundante esporulación en la preparación de inóculo para pruebas de variedades en campo y laboratorio; por este motivo se realizó el presente trabajo, con el fin de encontrar una técnica capaz de lograr la fructificación abundante del patógeno, que nos aseguraría la fuente de inóculo para los trabajos de mejoramiento para resistencia que actualmente se llevan a cabo.

MATERIALES Y METODOS

El ensayo fue realizado en el Centro de Investigaciones Agrícolas Antillas Guyana, perteneciente al INRA francés y ubicado en Guadalupe.

Se tomaron hojas de plantas de la variedad sensible "Forvert" (Porphyre verte), expuestas a las condiciones ambientales e infestadas de manera natural, con lesiones aparentemente causadas por Stemphylium solani. Se hicieron preparaciones a partir de éstas para verificar la identidad del patógeno. Una vez comprobada la presencia del mismo se procedió a la siembra de tubos de cultivo a partir de las lesiones foliares, sembrándose 30 tubos en medio "S", cuya composición fue la siguiente:

$(NO_3)_2$ Ca	1 g
NO_3 K	0,25 g
SO_4Mg	0,25 g
PO_4KH	0,125 g
Acido cítrico	0,05 g

Extracto de Malta ..... 1 g

Sacarosa ..... 5 g

Agar .....25 g

El pH fue ajustado a 5,8 con NaOH. Los tubos fueron colocados bajo condiciones de luminosidad continua (16 h/día), a una temperatura de 25°C.

Fueron sembradas además 10 placas con cada uno de los siguientes medios de cultivo:

-Agar tomate (preparado a partir de jugo de tomate fresco)

-Agar malta

-Agar avena; manteniéndose las placas en iguales condiciones que los anteriores.

Se sometieron 10 tubos sembrados con los citados medios a régimen de oscuridad, a 20°C, durante 10 días.

Se montó la técnica de siembra sobre tallos estériles de tomate y Solanum torvum, que a continuación describimos:

-Se tomaron pedazos de tallo, de aproximadamente 3 a 3,5 cm de largo, y con un diámetro que osciló entre 0,6 y 3 cm, y se colocaron en erlenmeyers de 250 y 500 ml, que contenían una lámina de agua de 1 cm aproximadamente.

-Se llevaron a la autoclave, para su esterilización, a 1 atm (120°C), durante 20 minutos, repitiéndose la misma en las 24 horas posteriores para evitar la supervivencia de esporas de bacterias del tipo Bacillus, sp.

-Se inocularon los erlenmeyers, en condiciones de asepsia, con pedacitos de micelio del hongo obtenido en medio "S", distribuyendo los mismos en diferentes puntos sobre los tallos, colocándose de 4 a 5 en cada recipiente.

-Fueron colocados en condiciones de luz continua durante 16 h/día y a una temperatura de 25°C.

-Seis días más tarde los tallos fueron retirados de los erlenmeyers y lavados durante 8 horas con agua estéril.

-Una vez lavados, los tallos fueron colocados en cápsulas Petri, de 10 cm de diámetro, en una sola capa y bien unidos unos a otros; co-

locados en un lugar aireado para provocar el secado paulatino de los mismos.

RESULTADOS Y DISCUSION

Se obtuvo un crecimiento abundante en los medios Agar avena y "S", en los cuales se desarrollaron colonias con un diámetro medio de 6 y 6,9 cm, respectivamente, a los 5 días de sembradas las placas. Las colonias obtenidas en el medio Agar malta fueron más pequeñas (5,5 cm), observándose además que la coloración en éste fue gris pálido, mientras que en los anteriores se observó una fuerte coloración ámbar (Agar avena) y púrpura (medio "S"), debida a la producción de toxinas característica de este patógeno (Rivas, 1980). Por otra parte, se produjo una ligera esporulación en el medio malta, no así en el resto, lo que evidencia una vez más la relación antagónica entre la presencia de toxinas y la esporulación, planteada por Messiaen (1970).

Sobre el medio agar-tomate no se obtuvo crecimiento micelial, lo cual no coincide con los resultados obtenidos por Rivas en 1980, quien si bien obtuvo los peores resultados con este medio, comparado con PDA y Czapeck, observó crecimiento de micelio en el mismo; esto puede deberse a la diferencia en la preparación, pH, etc.

Márquez (1979) obtuvo colonias de 4,5 cm de diámetro en PDA y 3,16 cm en Czapeck, a los 6 días de sembradas las placas, con igual temperatura que en la empleada en el presente trabajo (25°C), siendo éste su mejor tratamiento.

Este mismo autor observó la coloración ambar y violeta en los respectivos medios empleados.

Los tubos con colonias desarrolladas que fueron colocados en la oscuridad no fructificaron; estos resultados no coinciden con Rivas (1981), quien obtuvo esporulación sometiendo las placas a un régimen de oscuridad continua, sin embargo este autor utilizó medios de cultivo diferentes (Czapeck y PDA), lo cual puede influir de una forma u otra en la respuesta del patógeno (Tuite, 1969).

Aragaki (1964) obtuvo una alta fructificación trabajando con temperaturas entre 5 y 31°C, en oscuridad.

Los mejores resultados se obtuvieron con la inoculación de pedazos de tallo de tomate y S. torvum. A las 72 horas de haber colocado los tallos en un lugar fresco y seco para eliminar la humedad, éstos tomaron una apariencia negruzca, producto de la aparición en forma masiva de conidios de S. solani, pudiendo contarse sobre 5 tallos tomados al azar una cantidad de 187 por campo (2,54 mm^2).

REFERENCIAS

ARAGAKI, M., 1964 Relation of radiation and temperature to sporulation of Alternaria in tomato and other fungi. Phytopathology. 54: 565-569.

BOYLE, J. and E. BERGMAN, 1967 Factors affecting incidence and severity of internal browning of tomato induced by to bacco mosaic virus Phytopathology. 57:354-362.

HOADLEY, A., 1960 The development of anthracnose resistant tomatoes. Proc. Plant Sci. Seminar, Campbell Soup Co. p. 19-36.

MARQUEZ, R., 1979 Efecto de la temperatura y medio de cultivo sobre el crecimiento y esporulación del hongo Stemphylium solani, Weber. IV Concurso Provincial BTJ, Habana.

MESSIAEN, C., 1970 Les maladies des plantes maraicheres. Ed. INRA. 441p.

MINUSSI, E., 1973 Inducao da esporulacao em Stemphylium solani, Weber e resistencia varietal do tomateiro (Lycopersicon esculentum, Mill) o patógeno. Experimentiae, 15,9:235-56.

RIVAS, M., 1978 Un método para inducir esporulación del Stemphylium solani, Weber. "in vitro" (inédito).

RIVAS, M., 1980 Stemphylium solani, Weber en el cultivo del tomate. INCA Informe final de tema. 75 p.

RIVAS, M., 1981 Biología, epifitiología y lucha contra el Stemphylium solani, Weber en tomate. Tesis para optar por el grado de Candidato a Doctor en Ciencias. INCA. La Habana.

TUITE, J., 1969 Plant pathological methods. Fungal and Bacteria. Burgos Publishing Co. p. 239. Londres.

WEBB, R.; T. BARKSDALE, A. STONER, 1973 Tomatoes. Breeding Plants for - Disease Resistance. Ed. Pennsylvania State Univ. pág. 344-361.

ABSTRACT

A SINGLE TECHNIQUE TO ACHIEVE PLENTY FRUITING OF STEMPHYLIUM SOLANI, WEBER FUNGUS.

Several techniques were trialed to achieve fruitinf of Stemphylium solani, Weber fungus under artificial medium (Agar oats, malt, tomato and "S" medium) and using also different lighting regimes, but no sporulation was obtained in any case. The culture method proposed by Messiaen (1970), applied on sterilized stems of tomato (Lycopersicon esculentum, Mill.) and Solanum torvum, which are subsequently rinsed and dried gradually, resulted appropriate, thus a high pathogen sporulation was attained.

Manuscrito recibido el 28/VII/82.