

Influencia de diferentes regímenes de iluminación sobre el desarrollo "in vitro" de *Sclerotium rolfsii* Sacc.

Influences of different illumination range on the development "in vitro" of *Sclerotium rolfsii* Sacc.

Carlos Alberto Hernández Medina¹ y Lidcay Herrera Isla²

1. SUM Camajuaní, Municipio Camajuani, Villa Clara, Cuba.

2. Centro de Investigaciones Agropecuarias, Universidad Central de Las Villas, Carretera a Camajuaní km 5 ½. Santa Clara. 54830. CUBA.

E-mail: cahm862@uclv.edu.cu

RESUMEN. El crecimiento micelial de *S. rolfsii* es mejor en la oscuridad que en presencia de luz. La exposición a luz favorece la formación de esclerocios por el patógeno. Existe variabilidad entre los aislados de *S. rolfsii* en la Tasa de Crecimiento Micelial, número y diámetro de los esclerocios producidos. Estas diferencias permiten discernir la posibilidad de presencia de razas del patógeno.

Palabras clave: Crecimiento micelial, hongo, iluminación, *Sclerotium rolfsii*.

ABSTRACT. The micelial growth of *S. rolfsii* is better in the darkness than in presence of light. The exhibition to light favors the esclerocios formation of pathogen. Variability exists among the isolated of *S. rolfsii* in the Rate of Growth Micelial, number and diameter of the produced esclerocios. These differences allow to discern the possibility of presence of races of pathogen.

Key words: Micelial growth, fungus, light, *Sclerotium rolfsii*.

INTRODUCCIÓN

Sclerotium rolfsii es un hongo fitopatógeno muy importante que causa damping off, pudrición de las raíces, cuello de la raíz, tallos, tubérculos y frutos en innumerables cultivos. Debido a su extensa gama de hospedantes se distribuye en todas las regiones agrícolas con predominancia en las zonas tropicales y subtropicales, donde encuentra alta temperatura y humedad en el suelo. (Aycocock, 1966)

La luz es de los factores físicos que ejercen más efecto sobre el crecimiento y la formación de esclerocios del hongo *S. rolfsii*. Según Punja (1985) hay mejor desenvolvimiento del hongo en condiciones de luz continua. Esto puede ser la causa por la que este patógeno tiene una producción tan abundante de esclerocios en la superficie del suelo.

Según Pérez *et al.* (1986) el crecimiento micelial del hongo *S. rolfsii* es mayor en la oscuridad. Con luz fluorescente constante de intensidad 356 lux el número de esclerocios producidos triplica el de la variante crecida en la oscuridad. La mayor producción de esclerocios en condiciones de exposición continua a la luz fue confirmada también

en los trabajos de Uehara y Shiraishi (1969) y Mc Clellan *et al.* (1955)

Los objetivos de este estudio fueron determinar las características culturales de 8 aislados de *S. rolfsii* en diferentes condiciones de iluminación que expresen la variabilidad entre estos aislados.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los trabajos experimentales se realizaron en los Laboratorios de Fitopatología del Centro de Investigaciones Agropecuarias y del Instituto de Biotecnología de las Plantas, pertenecientes a la Universidad Central de las Villas, entre los meses de enero de 1995 y octubre de 1996.

Fueron utilizados 8 aislados de *S. rolfsii* obtenidos de plantas de frijol y de girasol enfermas en el campo. Para determinar el efecto de la luz en el desarrollo de los aislados de *S. rolfsii* se montó el siguiente experimento.

Las placas de Petri de 10 cm. de diámetro conteniendo 20 mL de PDA fueron sembradas en el centro, mediante la transferencia de discos de PDA, con las estructuras de cada aislado siguiendo

la siguiente metodología: Se removieron, con un horador de 5 mm de diámetro, discos en el borde de colonias de *S. rolfsii* de 72 horas. Fueron transferidos para el centro de placas de Petri, de 10 cm. de diámetro, conteniendo 20 mL de medio de cultivo.

Las placas fueron incubadas a temperatura de $25 \pm 0,5^\circ\text{C}$; con 3 regímenes de iluminación:

a) Iluminación continua: 6 lámparas fluorescentes de 20 watts a una altura de 10 cm de las placas, encendidas todo el tiempo, con una intensidad luminosa de 2000 lux.

b) Oscuridad: Incubación en total oscuridad.

c) Alternancia luminosa: Las placas se sometieron a un régimen de 16 horas de luz y 8 horas de oscuridad.

La medición del crecimiento micelial fue realizada al primero y al tercer días de incubación. Con estos datos se calculó la tasa de crecimiento micelial utilizando la fórmula propuesta por Lilly y Barnett (1951):

$$\text{T.C.} = \frac{\text{CL}_2 - \text{CL}_1}{T_2 - T_1}$$

Donde:

T.C. = Tasa de Crecimiento.

CL_1 = Crecimiento lineal en la primera medición.

CL_2 = Crecimiento lineal en la segunda medición.

T_1 = Momento en que se realizó la primera medición. (24 h.)

T_2 = Momento en que se realizó la segunda medición. (72 h.)

Además se tomaron los siguientes parámetros:

a) Número de esclerocios maduros producidos en cada placa a los 21 días de incubación.

b) Diámetro promedio de 20 esclerocios maduros por placa. Se midió el largo y ancho de los esclerocios para después promediarlos. Si eran redondos solamente se midió su diámetro.

Estas evaluaciones se realizaron a los 21 días de incubación, solo en los dos primeros tratamientos, el tercero no se pudo mantener por más de 5 días. Se utilizó un diseño experimental completamente aleatorizado que constaba de 24 tratamientos, representados por los 8 aislados y los 3 regímenes de iluminación, con 4 repeticiones.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tasa de crecimiento micelial de 8 aislados de *S. rolfsii* en diferentes condiciones de iluminación.

Los resultados obtenidos para la influencia de la luminosidad sobre la tasa de crecimiento micelial de los 8 aislados de *S. rolfsii* se presentan en la tabla 1. Según el análisis de varianza hubo diferencia estadística significativa al 1 % de probabilidad de error para los factores regímenes de luminosidad y aislados de *S. rolfsii*. Se encontró diferencia significativa al 5 % de probabilidad de error para la interacción regímenes de luminosidad por aislados de *S. rolfsii*.

La comparación de medias por la Prueba de Mínima Diferencia Significativa, con un 1 % de probabilidad de error, para el efecto de los regímenes de luminosidad sobre la tasa de crecimiento micelial de los aislados, reveló que la tasa de crecimiento micelial en el tratamiento sometido a luz las 24 horas fue inferior a los demás. La oscuridad y la alternancia luz - oscuridad no difirieron entre si y superaron a la luz continua en la tasa de crecimiento de *S. rolfsii*.

Camara *et al.* (1987), Pérez *et al.* (1986), McClellan *et al.* (1955) y Uehara y Shiraishi (1969) coinciden en afirmar que el crecimiento micelial de *S. rolfsii* es superior en la oscuridad.

Nuestros resultados difieren de los de Mordue (1974) que plantea que la luz, excepto alguna luz verde-azul y longitudes de onda del ultravioleta, favorece el crecimiento micelial de *S. rolfsii*.

Con relación a los 8 aislados de *S. rolfsii*, independientemente de los niveles de iluminación, se encontró que Sg6, Sf3 y Sg8 presentaron tasas de crecimiento micelial significativamente superiores al resto de los aislados. El aislado Sg5 tuvo crecimiento intermedio seguido por el aislado Sg10 mientras Sg1 y Sf2 conforman el siguiente grupo. El aislado Sf11 presentó la menor tasa de crecimiento micelial.

La comparación de medias al 5 % de probabilidad de error para las interacciones regímenes de iluminación x aislados de *S. rolfsii* nos mostró que el régimen de luminosidad determina en el crecimiento micelial de *S. rolfsii*. Las mayores

Tabla 1. Influencia de 3 regímenes de iluminación sobre la tasa de crecimiento micelial de 8 aislados de *S. rolfsii* a los 3 días de incubación a una temperatura de 25 ± 0,5 °C

Aislado <i>S. rolfsii</i>	Tasa de crecimiento micelial (µm./hora.)*			
	Luz 24 horas	Oscuridad	Alternancia	Media
Sg5	715.0 gh	764.0 def	815.8 ab	764.92 bc
Sg8	743.0 fg	778.0 cde	836.5 a	785.83 ab
Sf2	635.5 k	645.5 jk	670.0 ij	650.33 d
Sg10	691.0 hi	809.3 abc	739.5 fg	746.58 c
Sf3	753.5 ef	788.5 bcd	822.5 a	788.17 ab
Sg1	618.0 k	677.2 ij	684.0 hi	659.75 d
Sf11	541.8 l	538.5 l	555.8l	545.33 e
Sg6	781.5 cde	809.2 abc	819.0 ab	803.25 a
Media	684.9 B	726.3 A	742.9 A	
M.D.S. (1%) = 32.13				
C.V = 2.40 %				

* Media de 4 repeticiones por tratamiento. Medias seguidas de la misma letra, minúscula en sentido vertical y mayúscula en sentido horizontal, no difieren entre si a un nivel del 1 % de probabilidad de error para la prueba de Mínima Diferencia Significativa.

tasas de crecimiento micelial se encuentran con los tratamientos de alternancia luz-oscuridad y oscuridad.

Número de esclerocios producidos por 8 aislados de *S. rolfsii* con 3 regímenes de luminosidad.

Los resultados del número de esclerocios producidos por cada aislado en los regímenes de luminosidad se presentan en la tabla 2. Conforme al análisis de varianza, hubo diferencias altamente significativas entre los regímenes de luminosidad, los aislados de *S. rolfsii* y también para las interacciones regímenes de luminosidad x aislados de *S. rolfsii*.

El tratamiento con iluminación constante tuvo una producción de esclerocios significativamente superior a la de la oscuridad para un 5 % de probabilidad de error.

Estos resultados coinciden con los reportados por Pérez *et al.* (1986), Camara *et al.* (1987), Mc Clellan *et al.* (1955) y Uehara y Shiraishi (1969). Estos autores observaron incrementos significativos del número de esclerocios en los cultivos de *S. rolfsii* expuestos a la luz.

Independientemente de los regímenes de iluminación el aislado Sf2 produjo un número de esclerocios significativamente superior al de los aislados Sg6 y Sg5 que no difirieron entre si. Los aislados Sg8,

Tabla 2. Influencia de 2 Regímenes de iluminación en la producción de esclerocios de 8 aislados de *S. rolfsii* a los 20 días de incubación a una temperatura de 25 ± 0,5 °C

Aislado de <i>S. rolfsii</i>	Número de esclerocios / placa *		
	Luz 24 horas	Oscuridad	Media
Sg5	224.25 a	25.00 f	124.62 b
Sg8	216.25 ab	18.25 fg	117.25 bc
Sf2	220.75 ab	137.5 d	179.12 a
Sg10	182.25 c	16.75 fgh	104.00 de
Sg1	185.00 c	6.50 h	95.75 e
Sf11	209.75 b	10.75 gh	110.25 cd
Sg6	189.75 c	63.75 e	126.75 b
M.D.S = 11.508			
C.V = 5.06			

*Media de 4 repeticiones por tratamiento. Medias seguidas de la misma letra, minúscula en sentido vertical y mayúscula en sentido horizontal, no difieren entre si a un nivel del 1 % de probabilidad de error para la prueba de M.D.S.

Sf11, Sf3 y Sg10 formaron un grupo intermedio y superaron al aislado Sg1, para un 1 % de probabilidad de error.

La comparación de medias al 1 % de probabilidad de error para las interacciones regímenes de iluminación x aislados de *S. rolfsii* nos mostró que el factor luz es determinante en estas interacciones. Las combinaciones incubadas a la luz produjeron mayor número de esclerocios en todos los aislados.

Diámetro de los esclerocios producidos por los 8 aislados de *S. rolfsii* en 3 regímenes de iluminación.

Los resultados del tamaño de los esclerocios producidos en los regímenes de iluminación probados se presentan en la tabla 3. Según el análisis de varianza no hubo diferencias significativas entre los regímenes de iluminación. Se encontró diferencia significativa para el 1 % de probabilidad de error entre los Aislados de *S. rolfsii* y también para las interacciones regímenes de iluminación x aislados de *S. rolfsii*.

El tratamiento con luz no se diferencia del de oscuridad en el diámetro de los esclerocios producidos por *S. rolfsii*. (tabla 3)

Tabla 3. Influencia de 2 regímenes de iluminación sobre el diámetro de los esclerocios de 8 aislados de *S. rolfsii* a los 20 días de incubación a una temperatura de $25 \pm 0,5$ °C

Aislado de <i>S. rolfsii</i>	Diámetro de 10 esclerocios / placa (μm .)*		
	Luz 24 horas	Oscuridad	Media
Sg5	690.4 bc	639.4 ef	664.9 b
Sg8	692.6 bc	726.5 a	709.6 a
Sf2	671.5 cd	682.6 bcd	677.1 b
Sg10	606.6 gh	627.1 fg	616.9 c
Sf3	638.7 ef	593.8 h	616.3 c
Sg1	703.2 ab	638.2 ef	670.7 b
Sf11	663.9 de	704.8 ab	684.4 ab
Sg6	632.7 fg	705.4 ab	669.1 b
Media	662.5 A	664.7 A	
M.D.S = 26.398			
C.V = 2.09			

* Media de 4 repeticiones por tratamiento. Medias seguidas de la misma letra, minúscula en sentido vertical y mayúscula en sentido horizontal, no difieren entre si a un nivel del 1 % de probabilidad de error para la prueba de M.D.S

El aislado Sg8 logró un diámetro de sus esclerocios significativamente superior al de los aislados Sf2, Sg1, Sg6 y Sg5 que no difirieron entre si y superaron a los aislados Sg10 y Sf3. El aislado Sf11 ocupó una posición media entre Sg8 y Sf2 sin diferencia con ellos.

La comparación de medias al 5 % de probabilidad de error para las interacciones regímenes de iluminación x aislados de *S. rolfsii* nos mostró que el factor aislado presentó mayor influencia que la luz en la interacción.

CONCLUSIONES

1. *Sclerotium rolfsii* tiene mayor Tasa de Crecimiento Micelial al cultivarse en la oscuridad que cuando crece expuesto a la luz y con alternancia de luz y oscuridad.
2. Este patógeno produce mayor número de esclerocios cuando se desarrolla en presencia de luz constante.
3. Existe variabilidad entre aislados de este hongo en la Tasa de Crecimiento Micelial, el número de esclerocios producidos y el diámetro de los mismos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Aycock, B. Stem rot and other diseases caused by *Sclerotium rolfsii*. Agric. Exp. Stn. Techn. Bull. 174. 202 pp. 1966.
2. Camara, M.; L. Herrera y E Galántai. Efecto del pH y la luz sobre la biología de *Sclerotium rolfsii* Sacc. Cuad. de Fitopat. 13:182-183. 1987.
3. Lilly. V. G. y H.L Barnes. Growth. In: Lilly, V. G. y H. L. Barnes. Physiology of the fungi. McGraw-Hill.:24-44. 1951.
4. McClellan, W. D.; H. A. Borthwick; I. Bjornson y B. H. Marshall Jr. Some responses of fungi to light. Phytopathology. 45:465. 1955.
5. Mordue, J. E. *Corticium rolfsii*. CMI Descripciones de Patogenic Fungi and Bacteria. Commonwealth Micological Institute. Kew. Surrey. 410 p. 1974.
6. Pérez, M. A.; G. Gómez y J. González. Aspectos biológicos del hongo *Sclerotium rolfsii* en Cuba. Ciencias de la Agricultura. 27:12-17. 1986.
7. Punja, Z. K. The biology, ecology and control of *Sclerotium rolfsii*. Ann. Rev. Phytopathol. 23:97-127. 1985.
8. Uehara, K. y T. Shiraishi. Effects of light on sclerotial formation of *Corticium rolfsii* (Sacc.) Curzi. Review of Applied Mycology. 48:619. 1969.

Recibido: 21/09/2010

Aceptado: 01/04/2011