

## **Efecto de la temperatura en el crecimiento micelial del *Alternaria solani* (Ell. & Mart.) Jones & Grout en condiciones controladas**

F. IZQUIERDO

*Dpto. Fitopatología, Centro Nacional de Investigaciones Científicas, Ciudad de la Habana, Cuba*

*Recibido: 6 de octubre de 1980*

*Recibido: 21 de abril de 1981*

**ABSTRACT.** The behavior of different temperatures (6°, 10°, 14°, 18°, 22°, 25°, 28°, 32° and 34°C), the culture media like P.D.A., Czapek modi-

tas) como en los artificiales en el laboratorio, observándose en la mayoría de las especies fungosas un buen crecimiento a las temperaturas comprendidas de 0–35°C, hallándose la óptima entre 20–30°C.

El conocimiento de las temperaturas cardinales que afectan apreciablemente el crecimiento micelial y que son comúnmente determinadas en medios artificiales, resultan de gran utilidad, porque señalan la escala dentro de la cual los géneros, especies y biotipos pueden crecer mejor, no mostrándose en los de vida parásita ninguna correlación con el grado de patogenicidad.

Las relaciones de temperaturas pueden ser diferentes para las distintas razas o biotipos existentes dentro de una especie, ya sea en los distintos medios de cultivos como en las plantas hospederas. Los aislamientos pueden comprender una mezcla de biotipos, algunos de los cuales pueden poseer diferentes relaciones de temperaturas con los medios seleccionados (Stackman y Harrar, 1963). Por lo tanto, a pesar de que siempre es deseable la precisión, hay muchas razones por las cuales las temperaturas extremas suministradas para algunas especies patógenas no deberían considerárseles más precisas de lo que en realidad son.

Malca y cols. (1966) observaron que la temperatura óptima del crecimiento micelial sobre P.D.A. de ocho aislamientos de *Verticillium albo-atrum* varió entre 24–27°C, escogiéndose la temperatura de 25°C  $\pm$  1°C en sus posteriores estudios.

En estudios realizados por Zentmeyer y cols. (1976) en el crecimiento negativo de 187 aislamientos de *Phytophthora cinnamoni* procedentes de 24 países sobre varios medios de cultivo, encontraron que afectaron significativamente esta respuesta al variar la temperatura, obteniéndose la óptima comprendida entre 5–16°C para todos los aislamientos.

Rotem y Cohen (1970) informaron que la temperatura óptima del desarrollo de la *Perenospora tabacina* resultó ser de 15°–20°C y la máxima de 30°C, mientras para el desarrollo óptimo de los síntomas en los hospederos correspondió a 25°C, sin embargo, cuando las plantas inoculadas fueron expuestas a cortos períodos de temperatura de 30–35°C, desarrollaron mayores síntomas, o sea, mayor infección.

Varios aislamientos de *Alternaria tenuis*, el organismo causal de las manchas de las hojas de los frijoles creció bien sobre P.D.A. entre 4–36°C

presentándose la óptima a 28°C de acuerdo con lo informado por Saad y Hagedorn (1970), no mostrando variación con otros medios de cultivo y temperaturas.

En el presente trabajo nos planteamos los objetivos siguientes:

1. Determinar el efecto de la temperatura en el crecimiento micelial de varias cepas de *Alternaria solani* en diferentes medios de cultivos de uso tradicional en el laboratorio que pruebe la presencia de biotipos dentro de esta especie.
2. Determinar el efecto de la temperatura en la patogenicidad de las cepas seleccionadas al crecer sobre hojas maduras de tres variedades de tomate en condiciones controladas.

## MATERIALES Y METODOS

*Aislamientos monospóricos.* En el presente trabajo se seleccionaron del cepario de nuestro Dpto. de Fitopatología, los aislamientos monospóricos To. 1; To. 4; To. 8; To. 16; To. 23; To. 25 y To. 31 procedentes de síntomas típicos en hojas de tomate fuertemente infectadas de tizón temprano. Las principales características de los aislamientos se detallan en lo informado por Izquierdo (1980).

*Temperaturas probadas.* Las temperaturas probadas fueron las siguientes: 6°; 10°; 14°; 18°; 22°; 25°; 28°; 32° y 34°C en P.D.A., Czapek modificado y Extracto de malta agar.

También se emplearon hojas maduras de tomate de variedades comerciales Manalucie, Campbell-28 y Roma nacional, probándose a las temperaturas comprendidas entre 18°-32°C, utilizándose una cámara climatizada durante cinco días. Un período de incubación de 10 días fue empleado con los medios de cultivo antes mencionados.

*Siembra e incubación.* Discos miceliales de 2 mm de diámetro procedentes de la periferia de cultivos de 10-12 días de sembradas en P.D.A., se plantaron en los centros de las placas Petri tamaño standard que contenían los medios a probar. También los mencionados discos se depositaron sobre las hojas de las diferentes variedades de tomate seleccionadas, después de asperjadas con agua destilada y esterilizada con el objetivo de evitar la desecación del inóculo.

Finalizadas las siembras, los cultivos (en los medios y sobre las hojas) se incubaron a las diferentes temperaturas seleccionadas. Las hojas de las variedades de tomate inoculadas se colocaron en placas Petri (120 mm  $\times$  18 mm) que contenían papeles filtro humedecidos (cámara humedad).

*Evaluación.* Concluido el tiempo de incubación, tanto los cultivos en medios artificiales como los obtenidos sobre hojas maduras de tomate se sometieron a evaluaciones que consistieron en la medición de los diámetros de los crecimientos del micelio (mm) en las plantas cada dos días y en las hojas a los cinco días.

*Procesamiento estadístico de los datos.* Los datos obtenidos se transformaron según  $\sqrt{x + 0,375}$  (Snedecor y Cochran, 1966). En los experimentos se emplearon modelos factoriales con cinco réplicas y cada una de éstas de una placa u hoja.

Las comparaciones de las medias se realizaron mediante la prueba de la dócima de rangos múltiples de Duncan (1960).

## RESULTADOS

En la Tabla I puede observarse que las temperaturas comprendidas entre 22°-28°C fueron las óptimas para el crecimiento micelial de varios aislamientos monospóricos del mencionado patógeno en P.D.A., presentando los aislamientos To. 1, To. 4 y To. 31 los mayores crecimientos, mientras las temperaturas mínima y máxima fueron de 6° y 34°C, respectivamente.

El crecimiento en medio Czapek coincidió con los valores obtenidos en P.D.A., mientras que en Extracto de malta agar se presentó la óptima desplazada entre 18°-25°, coincidiendo las máximas y mínimas con los anteriores medios.

En la Tabla II se muestra el comportamiento de la temperatura en el crecimiento micelial de los aislamientos To. 1 y To. 16 sobre hojas maduras de tres variedades comerciales de tomate, observándose cómo la temperatura óptima en el aislamiento To. 1 varió con las variedades hallándose en la Campbell-28 a 18°C, en la Roma nacional entre 18°-25°C, y en la Manalucie de 28°-32°C, sin embargo, el crecimiento micelial del aislamiento To. 16 con la variedad Campbell-28 resultó ser de 32°C, y de 28°C en las variedades Roma nacional y Manalucie.

TABLA I

*Comportamiento de la temperatura en el crecimiento micelial de todas las cepas seleccionadas de A. solani en diferentes medios de cultivo*

Temperatura °C	P.D.A.			Czapek			E. Malta Agar.	
	$\bar{x}$ . Orig.	$\bar{x}$ . Trans.		$\bar{x}$ . Orig.	$\bar{x}$ . Trans.		$\bar{x}$ . Orig.	$\bar{x}$ . Trans.
6	267,96	16,37	g	235,96	15,36	h	10,30	3,21 g
10	504,35	22,46	f	317,90	17,83	g	13,83	3,72 f
14	670,81	25,90	d	475,24	21,80	e	16,16	4,02 e
18	968,45	31,12	c	833,47	28,87	d	32,14	5,67 b
22	1046,52	32,35	b	927,20	30,45	c	34,92	5,91 a
25	1206,47	34,73	a	1128,96	33,60	a	33,75	5,81 ab
28	1046,19	32,34	b	1038,87	32,23	b	29,16	5,40 c
32	583,22	24,15	e	343,73	18,54	f	24,40	4,94 d
34	0,00	0,61	h	0,00	0,61	i	0,00	0,61 h
E.S. = 0,041			E.S. = 0,063			E.S. = 0,051		

Medias con letras no coincidentes difieren entre sí al  $P < 0,05$  según dócima de rango múltiple de Duncan (1960).

## DISCUSION

La presencia de variabilidad en el crecimiento micelial de los distintos aislamientos monospóricos del fitopatógeno *Alternaria solani* a diferentes temperaturas, se demuestran en los resultados alcanzados, confirmando la importancia de este factor en el desarrollo vegetativo de este parásito.

El comportamiento mostrado por estos aislamientos en los diferentes medios de cultivo empleados en el laboratorio con las distintas temperaturas, nos prueba que nos encontramos en presencia de varios biotipos dentro de esta especie fitoparásita.

TABLA II

*Comportamiento de la temperatura en el crecimiento micelial de dos cepas de A. solani sobre hojas de diferentes variedades comerciales de tomate*

Variedades	Temperaturas °C	Cepa No. 1		Cepa No. 16	
		$\bar{x}$ . Orig.	$\bar{x}$ . Transf.	$\bar{x}$ . Orig.	$\bar{x}$ . Transf.
Campbell-28	18	19,07	4,41 a	11,52	3,45 d
Campbell-28	25	10,91	3,36 d	10,51	3,30 e
Campbell-28	28	8,92	3,05 e	14,29	3,83 c
Campbell-28	32	5,57	2,44 f	19,96	4,51 a
Campbell-28	35	0,00	0,61 g	0,00	0,61 g
Roma Nacional	18	18,28	4,32 ab	5,92	2,51 f
Roma Nacional	25	16,10	4,06 c	9,92	3,21 e
Roma Nacional	28	18,28	4,32 ab	19,07	4,41 a
Roma Nacional	32	16,84	4,15 bc	14,99	3,92 c
Roma Nacional	35	0,00	0,61 g	0,00	0,61 g
Manalucie	18	11,59	3,46 d	14,67	3,88 c
Manalucie	25	16,10	4,06 c	16,51	4,11 b
Manalucie	28	16,51	4,11 bc	19,07	4,41 a
Manalucie	32	19,96	4,51 a	6,12	2,55 f
Manalucie	35	0,00	0,61 g	0,00	0,61 g
		E.S. $_{\bar{x}}$ = 0,07		E.S. $_{\bar{x}}$ = 0,046	

Medias con letras no coincidentes difieren entre sí al  $P < 0,05$  según dócima de rango múltiple de Duncan (1960).

También los resultados presentados por los aislamientos creciendo sobre las hojas maduras de las variedades comerciales de tomate con distintos grados de susceptibilidad, revela la existencia de variabilidad relacionada con la temperatura óptima de ataque, indicando esto posiblemente la explicación del por qué a determinada temperatura ciertas variedades se presentan más atacadas que otras y que cuando este factor varía significativamente, otras variedades pueden sufrir los ataques más intensos. Debido a todo lo antes expresado y a los resultados obte-

nidos es que hemos tomado como intervalo general de ataque de este patógeno en las variedades comerciales de tomate en el campo, las temperaturas comprendidas entre 18-32°C, correspondiéndose estos valores a los reportados en la literatura, no precisando éstas las temperaturas óptimas de infección de los distintos biotipos presentes en este fitopatógeno en las plantaciones afectadas de este cultivo.

### CONCLUSIONES

Se demostró en este trabajo que la especie fitopatógena *A. solani* (E. & M.) J. & C., se halla representada por un número indeterminado de biotipos, que se caracterizan por presentar diferencias significativas en sus crecimientos miceliales en distintos medios de cultivo y temperaturas.

También se determinó que estos biotipos difieren notablemente en su carácter patogénico frente a las variedades comerciales de tomate, y que, al variar la temperatura, el grado de patogenocidad sufre cambios de acuerdo también con la variedad presente, observándose un intervalo óptimo de ataque de los biotipos seleccionados entre 18-32°C en las variedades comerciales probadas.

### REFERENCIAS

- DUNCAN D. R. A multiple range test. *Biometrics*, 1960.
- IZQUIERDO F. Acción de diferentes carbohidratos en la esporulación de distintas cepas de *A. solani* in-vitro. *Revista CENIC, Ciencias Biológicas*, 11, 1, 1980.
- MALCA I., ERWIN D. C., MOJE W. AND JONES B. Effect of pH, carbon and nitrogen sources on the growth of *Verticillium albo atrum*. *Phytopathology* 56, 4, 1966.
- ROTEM J. AND COHEN Y. The effect of temperature on the pathogen and on the development of blue mold disease in tobacco inoculated with *Peronospora tabacina*. *Phytopathology* 60, 54, 1970.
- SAAD S. AND HAGEDORN D. J. Growth and nutrition of an *Alternaria* pathogenic to snapbeans. *Phytopathology* 60, 903, 1970.
- SNEDECOR G. W. AND COCHRAN W. G. Métodos estadísticos aplicados a la investigación agrícola y biológica. Cía Edit. Continental S.A., México, 2da. reimp., 5a. ed., 626 pp., 1966.
- STAKMAN E. C. Y HARRAR J. G. Principios de patología vegetal, pp. 106-109, 1963.

ZENTMEYER G. A., LEARY J. V., KLURE L. J. AND GRANTHAM G. L. Variability in growth of *Phytophthora cinnamoni* in relation to temperature. *Phytophatology* 66, 982, 1976.