

Acción de diferentes carbohidratos en la esporulación de aislamientos monospóricos de *Alternaria solani* in-vitro

F. IZQUIERDO INERARITY

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

Recibido: 24 de marzo de 1978

ABSTRACT. Different concentrations of eight carbohydrates were proved to be carbon sources for spore induction and production in some monosporic isolates of *Alternaria solani* (Ellis y Martin) Jones y Grout in the laboratory. Cultures were evaluated by direct spore counting, these spores were produced in 2,5 mm² surfaces of sporulating medium in each dish, data were statistically procesed. Media containing sucraza resulted to be with the best behaving, they were followed by media containing glucosa and maltosa, all of them at the lowest concentrations with exception of the media with glucosa which was at the intermediate one. Monosporic isolates presented a high significative differences in their behaving among the sporulation.

RESUMEN. Diferentes concentraciones de ocho carbohidratos, se probaron como fuentes de carbono en la inducción y producción de esporas en varios aislamientos monospóricos del fitopatógeno *Alternaria solani* (Ellis y Martin) Jones y Grout, en el laboratorio. Los cultivos se evaluaron mediante conteos directos de esporas producidas en superficies de 2,5 mm² de medio esporulante, procesándose los datos estadísticamente. Los medios sacarosados, resultaron los mejores, seguidos de los glucosados y maltosados, todos ellos a las concentraciones más bajas con excepción de los glucosados que lo produjo a una intermedia. Los aislamientos monospóricos presentaron un comportamiento significativamente diferente en sus esporulaciones.

INTRODUCCION

Los carbohidratos constituyen una de las principales fuentes de carbono que utilizan los hongos en su desarrollo. Es de conocimiento el carácter heterótrofo de estos organismos, pues necesitan tomar el carbono previamente elaborado en forma de compuestos orgánicos como carbohi-

dratos, aminoácidos, oxácidos, etc., estando obligados a adquirirlo directamente de organismos vivos, de materiales orgánicos inertes o de sus derivados.

Deben por lo tanto vivir como parásitos en el primer caso o como saprófitos en el segundo.

Existen amplias diferencias en lo que se refiere a la capacidad de los patógenos para obtener carbono de muchas clases de compuestos carbonados. La mayoría de los hongos emplean la glucosa como fuente de carbono y de energía a falta de ésta, utilizan sacarosa o maltosa, pero muchas especies no pueden efectuar el metabolismo de los polisacáridos del tipo del almidón ni de la celulosa.

Muchas especies de hongo se desarrollan bien sobre substratos que contengan cualquier tipo de fuente de carbono, otros por el contrario son más exigentes no solamente en el tipo de fuente de carbono sino, hasta en la clase y cantidad del carbohidrato.

En los trabajos consultados en relación a la exigencia en cuanto al tipo y cantidad de carbohidrato en la inducción de la esporulación del fitopatógeno *Alternaria solani* (Ellis y Martin) Jones y Grout, los investigadores a través de sus publicaciones informan el empleo de un número variado de carbohidratos como fuente de carbono.

Rands (1917), empleó papa (almidón) para inducir esporas de este patógeno en el laboratorio. McCallan y Chan (1944), utilizaron como fuente de carbono en el medio donde creció y esporuló el hongo, la dextrosa y papa (almidón). Charlton (1953), comparó varios medios en los que existían diferentes carbohidratos, obteniendo la mayor producción de esporas en el medio que contenía sacarosa. Douglas y Pavék (1971), recomiendan el empleo de dextrosa con papa (almidón) en su técnica de esporulación de este fitopatógeno. Izquierdo (1977), informó de la obtención de una alta producción de esporas de *A. solani* mediante la utilización de dextrosa en un medio sintético.

El objetivo de este trabajo es conocer el comportamiento de los principales carbohidratos a diferentes concentraciones en la inducción de la

esporulación en un número de aislamientos monospóricos de *Alternaria solani* como una posible forma de caracterización en cuanto a su exigencia a dichos compuestos.

MATERIALES Y METODOS

En este trabajo se probaron varios carbohidratos a diferentes concentraciones tal como se muestra en la Tabla I.

TABLA I

Carbohidratos	Concentraciones g/l			
Glucosa	5	15	25	40
Sucrosa	5	15	25	40
Maltosa	5	15	25	40
Lactosa	5	15	25	—
Fructosa	5	15	25	—
Almidón	5	15	25	—
Galactosa	5	15	—	—
Celulosa	5	—	—	—

Los distintos carbohidratos se le añadieron al medio basal (*Alexopoulos, 1962*) constituido por las siguientes sales:

Na NO ₃	2,0	gramos
K ₂ H PO ₄	1,0	"
K Cl	0,5	"
Mg SO ₄ · 7 H ₂ O	0,5	"
Fe SO ₄ · 7 H ₂ O	0,01	"
Agar-Agar	15,0	"
Agar dest.	1,0	litro

El pH se ajustó a 6,0

Se probaron un total de doce cepas del patógeno *A. solani* cuyas características más sobresalientes se describen en la Tabla II.

TABLA II

Cepas	Color micelio	Textura micelio	Pigmento	Crecimiento	Procedencia	Año
1	verde-olivo	lanoso-tupido	no	bueno	Bauta	1973
3	verde-olivo grisoso	algodonoso	amarillo	bueno	Guanabacoa	1975
4	verde-olivo	fibroso	amarillo	regular	Quivicán	1975
5	verde-oscuro grisoso	algodonoso	naranja	regular	Batabanó	1975
7	verde-oscuro	algodonoso-tupido	no	bueno	Bauta	1975
8	verde-olivo	lanoso	amarillo-naranja	pobre	Batabanó	1975
11	verde-olivo oscuro	fibroso	no	bueno	Bauta	1976
12	verde-oscuro	fibroso	no	regular	Bauta	1973
16	verde	algodonoso	marrón	bueno	Quivicán	1975
23	verde-oscuro	algodonoso	rojo-naranja	regular	Batabanó	1976
25	verde-gris	algodonoso	rojo-marrón	bueno	Quivicán	1976
31	verde-olivo	algodonoso	no	muy bueno	Quivicán	1976

En los centros de las placas Petri conteniendo los medios de cultivo se depositaron pedazos de micelio de 2,0 mm de diámetro de las cepas seleccionadas del patógeno, sometiéndose posteriormente los cultivos a la inducción de la esporulación mediante el empleo de la técnica de Douglas y Pavék (1971) modificada por Izquierdo (1977).

Los cultivos de las diferentes cepas se colocaron en la cámara de esporulación de acuerdo a un diseño experimental de Bloques al azar, el cual contaba con 5 réplicas, haciendo un total de 60 placas con cada carbohidrato a una misma concentración.

Los conteos de esporas se realizaron mediante el empleo del método de Diener (1957), al octavo día de permanencia en la cámara de esporulación.

Los datos se procesaron estadísticamente, una vez transformadas por la expresión $\sqrt{x + 0,375}$, comparándose las medias por el método de Duncan (1955).

RESULTADOS

En la Tabla III, se muestran las comparaciones de las del número de esporas producidas por las cepas de este patógeno en los medios con los diferentes carbohidratos. En ésta se observa como la sacarosa a todas las concentraciones probadas resultó la mejor, seguida de la glucosa a 15 g/l y la maltosa a 5 g/l, mientras la celulosa, lactosa y almidón como las peores.

La Tabla IV, compara las medias de los comportamientos de las distintas cepas seleccionadas en producción de esporas, señalándose las mejores como las Nos. 31, 16 y la No. 1, mientras las Nos. 5 y 12 resultaron las peores.

DISCUSION

La sacarosa de manera general resultó la mejor en la producción de cantidades apreciables de esporas con todas las cepas probadas, esto confirma lo reportado por Charlton (1953), e Izquierdo (1977), en su trabajo de esporulación de este fitopatógeno. También debe señalarse que las mayores esporulaciones se obtuvieron en aquellos medios que contenían los niveles más bajos de los azúcares probados con la excepción de la glucosa, que a partir de 15 g/l comienza a mostrar un descenso acentuado en la producción de esporas. En general las mayores concentraciones de azúcares en los medios produjeron abundante crecimiento micelial.

TABLA III

Comparación entre las medias del número de esporas producidas en cada medio con los diferentes carbohidratos

Carbohidratos	Conc. g/l	Medias transformadas
Sacarosa	5,0	89,315 a
Sacarosa	15,0	77,559 b
Sacarosa	25,0	70,242 c
Glucosa	15,0	56,456 d
Maltosa	5,0	53,103 e
Glucosa	25,0	51,109 f
Sacarosa	40,0	46,895 g
Glucosa	5,0	45,174 h
Fructosa	5,0	39,390 i
Almidón	15,0	38,092 j
Maltosa	15,0	35,904 k
Maltosa	25,0	32,089 l
Almidón	5,0	31,926 l
Glucosa	40,0	28,411 m
Fructosa	15,0	26,682 n
Maltosa	40,0	22,969 o
Fructosa	25,0	20,223 p
Lactosa	15,0	16,901 q
Galactosa	5,0	16,860 q
Galactosa	15,0	14,653 s
Lactosa	5,0	14,327 s
Lactosa	25,0	13,507 s
Almidón	25,0	10,445 v
Celulosa	15,0	9,812 v

Medias sin letra en común difieren entre sí al $p < 0,05$

E.S. = 0,343

En relación con el almidón, el cual se recomienda en la mayoría de las publicaciones en la inducción y producción de cantidades elevadas de esporas de este parásito, resultó uno de los de más mal comportamiento aunque no fue el peor.

TABLA IV

Comparación entre las medias del número de esporas producidas por las distintas cepas

Cepas	Medias transformadas
31	65,974 a
16	56,453 b
1	51,564 c
11	48,768 d
4	44,404 e
8	40,357 f
3	32,327 g
7	30,152 h
23	27,170 i
25	23,104 j
5	7,190 k
12	5,158 p

Medias sin letra en común difieren entre sí al $p < 0,05$

E.S. = 0,248

Todas las cepas utilizadas mostraron diferente comportamiento en la producción de esporas frente a los distintos carbohidratos. Bounder (1929), observó diferencias entre aislamientos monospóricos basado en la producción de esporas, informando también la no existencia de diferencias entre cepas en su esporulación con relación a la presencia o no de pigmentos cromógenos lo que pudimos comprobar en nuestros resultados al observar que las cepas No. 31 y 1 no cromógenas obtuvieron buena esporulación, así como también la cepa cromógena No. 16.

Las cepas Nos. 12 y 5 resultaron las peores frente a casi todos los carbohidratos siendo su esporulación generalmente nula con excepción en los medios que contenían sacarosa o glucosa.

CONCLUSIONES

La sacarosa resultó el carbohidrato que produjo mayor esporulación seguido de la glucosa y maltosa frente a la mayoría de las cepas probadas.

Las mayores producciones de esporas se obtuvieron a las concentraciones más bajas en la mayoría de los azúcares probados.

El almidón, celulosa y lactosa resultaron los peores en inducir y producir esporas.

Las cepas mostraron diferencias notables en la esporulación frente a los distintos carbohidratos empleados.

REFERENCIAS

- ALEXOPOULUS J. C. AND BENEKE E. S. Laboratory Manual for Introductory Mycology, 1962.
- BOUNDER R. Physiological Stratniss of *Alternaria solani*. *Phytopathology*, 19, 533, 1929.
- CHARLTON K. M. The sporulation of *Alternaria solani* in culture. *Brit. Mycol. Sec. Trans.*, 36, 349, 1953.
- DIENER L. Sporulation in pure culture by *Stemphylium solani*. Plant Disease Report. 3 March. 156, 1957.
- DOUGLAS D. R. AND PAVEK J. J. An efficient method of inducing sporulation of *Alternaria solani* in pure culture. *Phytopathology*, 61, 239, 1971.
- DUNCAN A. Multiple range test biometric. *Biometric*, 11, 1, 1955.
- IZQUIERDO F. Un rápido y sencillo método para provocar la esporulación de la *Alternaria solani* en cultivo puro. *Revista Cenic*, 8, 155, 1977.
- MCCALLAN S. E. AND CHAN S. Y. Inducing sporulation of *Alternaria solani* in culture. Contrib. Boyce Thompson Inst. B. 323-335, 1944.
- RANDS R. D. The production of spores of *Alternaria solani* in pure culture. *Phytopathology*, 7, 316, 1917.