

Evidencia de existencia de razas fisiológicas de *Alternaria solani* en las plantaciones de tomate en Cuba

F. IZQUIERDO

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

Recibido: 6 de octubre de 1980

ABSTRACT. In this paper has been evidenced the existence of different physiologic races in the species *Alternaria solani* (Ell. & Mart) Jones & Grout on tomato cultivars in Cuba. Detached leaves and leaflets from different tomato lines and commercial varieties inoculated with mycelial discs from some monosporic isolated of this phytopathogenic fungus to determine the degree of pathogenicity was more practical and quick method than inoculations by foliage spore aspersions. It was observed too, that some strains with high sporulation capacity can lost their pathogenicity while others can mantained it during a long time in laboratory conditions.

RESUMEN. La presencia de razas fisiológicas dentro de la especie *Alternaria solani* (E. & M.) J. & G. en las plantaciones de tomate en Cuba, se evidencia a través de los resultados obtenidos de las pruebas realizadas en el presente trabajo. El método de inoculación con discos miceliales de diferentes aislamientos monospóricos de este fitopatógeno en hojas maduras y arracandas de distintas variedades comerciales de papa y tomate, así como en algunas líneas de ésta última para probar su grado de patogenicidad, resultó más práctico y rápido que con el empleo de suspensiones de esporas asperjadas sobre el follage de las plantas. Se determinó que, cepas con alta esporulación pueden perder su carácter patogénico, mientras otras la conservan a través del tiempo en condiciones de laboratorio.

INTRODUCCION

En diversas ocasiones se ha observado al tizón temprano (*Alternaria solani* (E. & M.) J. & G.) del tomate (*Lycopersicum esculentum*) causando pérdidas variables en diferentes cultivares de este vegetal a pesar de encontrarse protegidas con los fungicidas, variando también con las distintas regiones y campañas de siembra en nuestro país.

Algunos años antes, Kunkel (1918), Bonde (1929) y otros investigadores ya habían observado que este patógeno es absolutamente variable en sus caracteres culturales, siendo Bonde (1929) el único que realizó un extenso estudio sobre el grado de virulencia en diferentes aislamientos de este organismo, describiéndolos solamente en pruebas efectuadas con papas.

Wellman (1943) y Henning (1957) encontraron distintos grados de patogenocidad en aislamientos de este fitopatógeno en plantas de tomate procedentes de diferentes especies y variedades de esta solanácea, empleando además dos métodos de inoculación.

Todos los indicios antes expresados nos inducen a sospechar de encontrarlos en presencia de algunas razas fisiológicas de este patógeno en nuestras plantaciones de tomate, constituyendo por lo tanto su prueba el principal propósito del presente trabajo.

MATERIALES Y METODOS

Algunas variedades comerciales de tomate y papa las cuales se detallan en la Tabla I, así como también varias líneas de tomate obtenidas de un programa de mejoramiento de la variedad cubana Cueto No. 856 realizada en nuestro Dpto. y una especie de datura, se seleccionaron de acuerdo al comportamiento mostrado frente al tizón temprano en el campo.

Varias pruebas de patogenocidad en condiciones controladas se realizaron con doce aislamientos monospóricos de este fitopatógeno, escogidos del cepario existente en el Dpto. de Fitopatología del CENIC, sobre hojas de solanáceas antes mencionadas en diferentes épocas de siembra dentro de la campaña.

Los aislamientos se colectaron en plantaciones fuertemente infectadas que mostraban los síntomas típicos de la enfermedad, ubicadas en la provincia de la Habana. La identidad específica de los cultivos monospóricos se estableció en base a sus comportamientos culturales principalmente al crecimiento vegetativo y esporulación (Tabla II) en condiciones de laboratorio.

Preparación de los cultivos para inóculos. Los medios de cultivo Extracto de Malta Agar, P.D.A. y Czapek modificado, se probaron en el desarrollo micelial y esporulación de los alimentos monospóricos seleccionados, para posteriormente ser utilizados como inóculos, resultando los dos últimos medios los que mejores comportamientos mostraron.

TABLA I

Relación y procedencia de las variedades y líneas de las solanáceas seleccionadas

<i>Variedades de tomate</i>	<i>Procedencia</i>
67/B/833/1	INRA Francés
Marglobe	" "
C/1811/E-1	" "
Step No. 387	" "
Marion	" "
Cueto No. 856	E. Semilla MINAG
Roma Nacional	" " "
Manalucie	" " "
Similar Rugter-140	" " "
Campbell - 28	" " "
<i>Líneas de la Cueto No. 856</i>	Dpto. Botánica CENIC
C 6-P5/7	" " "
C 20-P4/1	" " "
R 14-P5	" " "
R 18-P9	" " "
<i>Variedades de papa</i>	E. Semilla MINAG
Red Pontiac	" " "
Claudia	" " "
Baraka	" " "
Arka	" " "
Desiree	" " "
<i>Otras solanáceas</i>	Dpto. Botánica CENIC
Datura sp.	" " "

TABLA II

Principales características de los aislamientos monospóricos seleccionados en los medios PDA y Czapek

Aislamientos	Crecimiento micelial	Esporulación	Lugar de procedencia	Año
To. No. 1	bueno	buena	Bauta	1973
To. No. 3	muy bueno	regular	Bauta	1974
To. No. 4	bueno	regular	Quivicán	1975
To. No. 5	bueno	pobre	Bauta	1975
To. No. 7	muy bueno	pobre	Quivicán	1975
To. No. 8	pobre	buena	Batabanó	1975
To. No. 11	bueno	buena	Bauta	1976
To. No. 12	bueno	regular	Bauta	1976
To. No. 16	muy bueno	Excelente	Quivicán	1976
To. No. 23	muy bueno	buena	Batabanó	1976
To. No. 25	bueno	buena	Quivicán	1976
To. No. 31	muy bueno	Excelente	Quivicán	1976

Pequeñas porciones de materiales fungosos jóvenes de 15 mm de diámetro se plantaron en los centros de las placas Petri que contenían P.D.A., una vez que las colonias alcanzaron un crecimiento promedio de 50 mm de diámetro se cortaron discos de 6 mm diámetro en las periferias, zona de crecimiento más vigorosa para ser empleada como inóculo micelial. También suspensiones de esporas de los aislamientos seleccionados se obtuvieron aplicando la técnica de Douglas y Pavek (1971) modificada por Izquierdo (1977) a concentraciones de 1000-1500 esporas/ml.

Inoculación e incubación. Dos métodos de inoculación se emplearon: el de suspensiones de esporas asperjadas sobre el follage de las plantas de tomate de 45 días de edad y el de discos miceliales en hojas maduras y arrancadas de plantas de tomate y papa de igual edad junto con una especie de datura.

En ambos métodos se asperjaron previamente a la inoculación con agua destilada y esterilizada con el objetivo de evitar la desecación del inóculo.

La incubación de las plantas se efectuó mediante el cubrimiento de las mismas con nylon transparente, el cual ayuda a mantener una elevada humedad relativa (100%), necesaria para la penetración del parásito, durante cinco días consecutivos para que se presente la infección (Fig. 1).

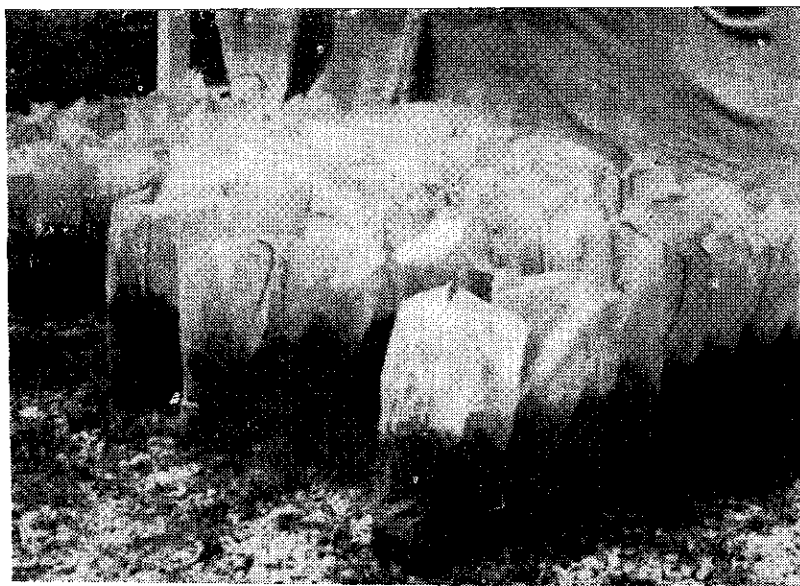


Fig. 1. Obsérvese como quedaron cubiertas las plantas inoculadas durante cinco días consecutivos.

Las hojas arrancadas e inoculadas con discos miceliales permanecieron en placas Petri de 120 mm de diámetro, las cuales se cubrieron interiormente con papel filtro humedecido con agua destilada y esterilizada, ejerciendo por lo tanto la función de cámara húmeda incubándose a 28°C durante igual tiempo.

Evaluación y diseño experimental. Al 5to. día de incubación, las plantas se descubrieron evaluándose las lesiones desarrolladas utilizando el método del diámetro promedio expresado en milímetro de las diez mayores manchas por planta (Barksdale, 1968), cuando se emplearon suspensiones de esporas como inóculo, mientras en el caso de los discos miceliales se evaluó usando la escala en grado del 0-5 tal como se describe más abajo.

Escala 0-5

Grados	Descripción
0	No se produce crecimiento del micelio en el huésped
1	Ligera necrosis y algún halo amarillo alrededor del disco
2	Necrosis más pronunciada (10%) con halo amarillo extenso
3	Mancha necrótica cubriendo un 25% con poco halo amarillo
4	Mancha necrótica hasta un 50% con o sin halo amarillo
5	Las hojas se hallan necrosadas en más de un 50%

Las bolsas con las diferentes especies y variedades de las solanáceas seleccionadas se colocaron en un diseño experimental denominado "Bloques al azar" el cual contaba con cinco réplicas y cada parcela de dos plantas.

Los datos obtenidos se procesaron mediante la aplicación de los modelos estadísticos denominados factoriales (huéspedes x cepas) estando en dependencia del número de ellos. Algunos datos sufrieron transformaciones con la expresión matemática $\sqrt{x + 0,375}$ cuando se utilizó la escala de valores de 0-5.

Las medias se compararon por el método de la dócima de rangos múltiples de Duncan (1960).

RESULTADOS

En la Tabla III se muestran los resultados alcanzados al interactuar con diferencia significativa al $p \leq 0,05$ entre los aislamientos monospóricos seleccionados de este fitopatógeno con las variedades comerciales y líneas de tomate cuando se utilizó suspensiones de esporas como inóculo sobre el follage de las plantas.

También en la Tabla IV se muestran resultados positivos de interacciones diferenciales significativas al $p \leq 0,05$ entre las variedades comerciales de papa y tomate, así como algunas líneas de ésta última y en una especie de datura con los mismos aislamientos monospóricos de este patógeno.

En estas dos tablas pueden observarse como los aislamientos To. No. 16 y To. No. 31 mostraron ser los más patogénicos con las solanáceas probadas, mientras la To. No. 7 presentó poca virulencia y los restantes comportamientos intermedios tal como se señala en la Fig. 2.

TABLA III

Comportamiento de la patogenicidad de las diferentes cepas de Alternaria solani frente a las variedades y líneas de tomate inoculadas con suspensiones de esporas durante 1975

Cepas	To. 1	To. 3	To. 4	To. 5	To. 7	To. 8	To. 12
Variedades							
67-B-833-1	—	—	—	+	—	—	+
Marglobe	—	+	—	—	—	—	+
C-1811-E-1	—	—	—	—	+	—	+
72-B-27	—	—	—	+	—	—	+
Marion	—	—	—	+	+	+	—
Step # 387	—	—	—	+	—	—	—
Cueto # 856	—	—	—	+	+	+	—
Manalucie	—	—	—	+	—	—	—
R15-P4	—	—	—	+	+	+	+
R18-P9	—	+	—	—	+	—	+
R22-P9	—	—	—	—	+	—	+
C11-P4/1	—	+	—	+	+	—	+

+ = patogénica

— = no patogénica. Diferencia significativa al $p < 0,05$ según Dócima de rango múltiple de Duncan (1960) E. S. = 0,018.

TABLA IV

Comportamiento de la patogenicidad de cepas de Alternaria solani frente a variedades y líneas de tomate y papa mediante el empleo de discos miceliales como inóculo durante 1979

Variedades y líneas	C E P A S											
	1	3	4	5	7	8	11	12	16	23	25	31
67/B/833-1	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	—	—
C/1811/E-1	—	—	—	—	—	—	—	+	+	—	—	—
Roma Nacion	+	—	—	+	—	—	+	—	+	—	—	+
Marglobe	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+
Campbell-28	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—
Marion	—	+	—	—	—	—	—	—	+	+	—	+
Cueto # 856	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	+	+
Manalucie	—	—	—	+	—	—	+	—	+	—	—	+
S. Rugter-140	—	—	—	—	—	+	—	—	+	—	—	+
Step # 387	—	—	—	—	—	—	+	—	+	—	—	+
R 14P5	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
C 6P5/7	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—
Baraka	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—
Claudia	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	—	—
Red-Pontiac	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	—	—
Desiree	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Arka	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Datura sp.	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	—	+

+ Patogénica

— No patogénica.

Diferencia significativa al $p \leq 0,05$ según
dócima de rango múltiple de Duncan (1960)
E. S. = 0,061

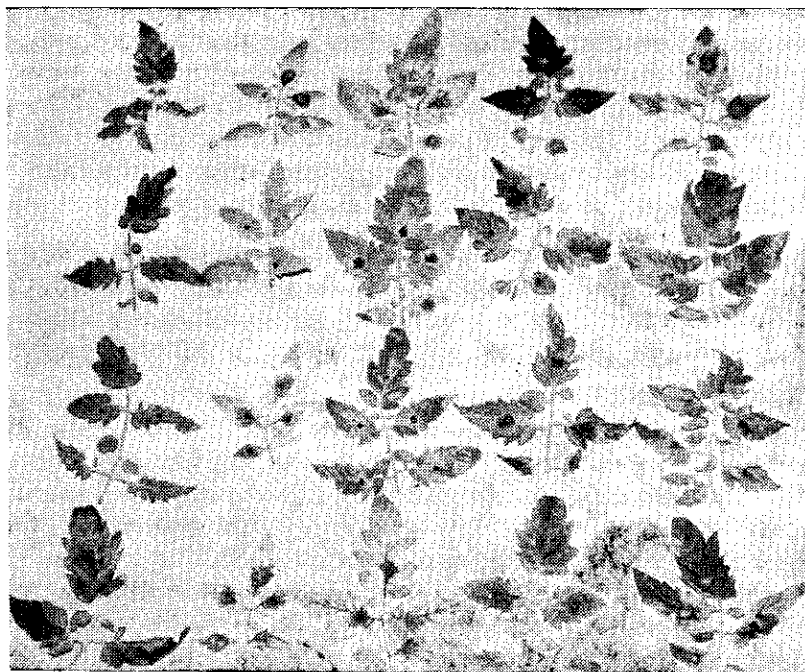


Fig. 2. Las variedades de izquierda a derecha: Marglobe; Cueto No. 856; Roma N.; S. Rugter-140 y Manalucie. Las cepas de arriba abajo To. No. 16, To. No. 23, To. No. 25 y To. No. 31.

DISCUSION

La evidencia de que existen razas fisiológicas dentro de la especie fitopatógena *Alternaria solani* queda probada con los diferentes resultados de patogenocidad obtenidos con los distintos aislamientos monospóricos de este patógeno al mostrarse interacciones significativas con las variedades, líneas y especies de las solanáceas probadas en condiciones controladas. Debido a la falta de patrones diferenciadores internacionales de razas fisiológicas de esta especie patogénica, se hizo necesario la realización de innumerables pruebas con un número elevado de especies, variedades y líneas pertenecientes a la familia solanácea, seleccionándose aquellas que poseen valores netamente económico con la finalidad de dar respuesta de su comportamiento a la producción.

A medida que se obtuvieron los primeros aislamientos monospóricos se les efectuaron las pruebas de virulencia con las variedades comerciales y líneas de tomate disponibles, utilizándose suspensiones de esporas de cada aislamiento como inóculo, implicando esto el uso de una gran cantidad de materiales y tiempo, lo cual se pudo reducir considerablemente sin afectación de los resultados al emplearse discos miceliales como inóculo y hojas maduras arrancadas de las plantas a probar.

Algunos aislamientos que presentaron alta patogenocidad en el comienzo, al cabo de cuatro años se mostraron no patogénicas, sin embargo, en otras que aparentemente no lo fueron con las variedades y líneas seleccionadas presentaron esta cualidad en nuevas variedades importadas tiempo después.

También debe destacarse que los aislamientos To. No. 16 y To. No. 31 presentaron alta virulencia en la mayoría de las variedades y líneas, tanto las comprendidas en el presente como las probadas hace cuatro años, conservando aún buen crecimiento micelial y una magnífica esporulación, contradiciéndose esto con las teorías emitidas por algunos investigadores de que todos los aislamientos con altas cualidades patogénicas conservadas largo tiempo en condiciones de in-vitro las pierden, no debiéndose aceptar en todos los casos como una respuesta invariable.

Se discrepa también en parte con lo sugerido por Bonde, (1929) de que posiblemente a una mayor esporulación, más elevado valor patogénico, pues poseemos aislamientos que han perdido esta facultad, sin embargo, conservan su carácter patogénico (cepas To. No. 4 y To. No. 5), mientras otras cepas que mostraron buena esporulación en un comienzo, las han disminuido o perdido transcurrido un tiempo como las cepas To. No. 4 y To. No. 25.

Es interesante continuar observando el carácter patogénico en las cepas que las conservan y muestren a su vez alta esporulación, hasta obtener su estado de virulencia en condiciones de in-vitro a través del tiempo.

CONCLUSIONES

La presencia de razas fisiológicas dentro de la especie *Alternaria solani* en las plantaciones de tomate en Cuba ha quedado evidenciada con los resultados obtenidos.

Se determinó que el método de inoculación con discos miceliales en hojas maduras y arrancadas de las variedades y líneas de las solanáceas pro-

badas conlleva un ahorro de materiales y tiempo para la obtención de resultados sobre la patogenicidad en aislamientos de este parásito.

No se encontró existencia de correlación entre el crecimiento micelial y esporulación de las cepas de este patógeno con el carácter patogénico de las mismas.

REFERENCIAS

- BARKSDALE T. H. A method of screening for resistance to early blight on tomato seedlings. *Phytopathology* 58, 883, 1968.
- BONDE R. Physiological strain of *Alternaria solani*. *Phytopathology*, 19, 533, 1929.
- 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. *Biometrics*, 1960.
- IZQUIERDO F. Un rápido y sencillo método de obtener abundante esporulación de la *A. solani* en cultivos puros. *Revista CENIC, Ciencias Biológicas* 8, 155, 1977.
- KUNKEL L. O. A method of obtaining abundant sporulation in cultures of *Macrosporium solani*. E. S. M. Brooklyn Bot Garden. Mem I, 306-312, 1918
- HENNING R. G. S. AND ALEXANDER L. J. Evidence of existence of physiologic race of *Alternaria solani*. *Phytopathology* 42, 467, 1957.
- WELLMAN F. L. A technique to compare virulence of isolate of *Alternaria solani* on tomato leaflets. *Phytopathology* 33, 698, 1943.