

EFECTO DE LA LUZ NEGRA SOBRE LA ESPORULACION DE Stenocarpella maydis (Berk.) Sutton Y S. macrospora (Earle) Sutton¹

Jairo Castaño-Zapata, Ph.D.²
Lic. Sandra L. de Hernández²
Nolvia Ramos²

RESUMEN

Stenocarpella maydis y *S. macrospora*, especies causantes de pudrición de mazorcas de maíz, pueden ser cultivadas en medios semisintéticos. La metodología para producir inóculo de ambos organismos con frecuencia hace mención a la composición del medio de cultivo, la temperatura y el número de días de inoculación descuidando el efecto por la irradiación con luz negra (NUV) puede tener en la producción de conidias de *Stenocarpella* sp. En este estudio este factor fue evaluado en combinación con medios a base de avena, agua de coco, jugo de vegetales, arroz, extracto de carne y un medio sintético para *S. maydis* los mismos medios y otros dos, todos ellos más medios a base de vitamina y sangre fueron evaluados para *S. macrospora*. La incubación se realizó a 28°C con un régimen diario de 12 horas con y sin luz NUV.

La irradiación con luz NUV incrementó en más de 20% la producción de picnidios y picnidiosporas en ambas especies. De los medios evaluados el mejor fue avena agar para ambas especies.

¹ Publicación DPV/EAP #508

² Fitopatólogo, Lic. en Microbiología y Asistente de Laboratorio. Departamento de Protección Vegetal. Escuela Agrícola Panamericana, El Zamorano. Apartado Postal 93, Tegucigalpa, Honduras.

INTRODUCCION

La pudrición de la mazorca del maíz (*Zea mays* L.) o maíz muerto puede ser provocada por varias especies de microorganismos de origen fungoso, entre las cuales sobresalen *Stenocarpella maydis* (Berk.) Sutton y *S. macrospora* (Earle) Sutton, como las principales causantes de este mal en Honduras y Centro América (del Río, 1990).

El consumo de mazorcas afectadas por estos patógenos puede ser nocivo para la salud humana y animal, debido a la producción de micotoxinas (Latterell y Rossi, 1983). Esta enfermedad reduce el rendimiento, calidad y valor alimenticio del grano de maíz (Jugenheimer, 1981; López et al., 1987).

De acuerdo con Marasas y Van Der Westhuizen (1979), tanto en sustrato natural como en medios semisintéticos, *S. maydis* produce picnidios más rápidos y en mayor proporción que *S. macrospora*.

Según Marrant y Warren (1993), la luz desempeña un papel muy importante en la inducción de la esporulación de picnidios y picnidiosporas. La luz ha sido un factor descuidado y aún ignorado en muchos estudios de crecimiento y esporulación de hongos (Romero-Cova, 1968); sin embargo, su importancia ha sido plenamente demostrada por Leach (1961, 1962, citado por CMI, 1968). Según este investigador, las longitudes de onda de luz más efectivas para inducir esporulación están confinadas principalmente en la región cercana a la ultra-violeta (NUV o luz "negra").

Esta investigación tuvo como objetivo principal demostrar el efecto de la luz negra, sobre la producción de picnidios y picnidiosporas de *S. maydis* y *S. macrospora* cultivados en medios semisintéticos.

MATERIALES Y METODOS

Se prepararon ocho medios de cultivo: Avena-agar (avena molida 5 g, agar 5.6 g, agua destilada 250 ml, 25 gotas de ácido láctico); agua de coco-agar (agua de coco 56.3 ml, agar 6.4 g, agua destilada 319 ml); jugo de vegetales-agar (jugo V-8 68 ml, carbonato de calcio 0.75 g, agar 7.5 g, agua destilada 307 ml); arroz-agar (harina de arroz 7.5 g, agar 6.4 g, agua destilada 375 ml); extracto de carne-agar (extracto de carne 1.1 g, peptona 1.9 g, agar 6.4 g, agua destilada 375 ml); medio sintético (sulfato de amonio 1 g, fosfato de potasio 0.9 g, fosfato de potasio dibásico trihidratado 2.1 g, agua destilada 375 ml, para *S. maydis* biotina 2.3 mg/l

y sucrosa 1.9 g/l y para *S. macrospora* biotina 3 mg/l y sucrosa 3.8 g/l); vitaminas-agar (multivitamina en polvo 0.4 g, agar 5.6 g y agua destilada 375 ml) y sangre-agar (sangre de res 19 ml, agar base 5.6 g, agua destilada 356 ml).

Todos los medios se ajustaron con ácido láctico a un pH de 5.5 previo a su esterilización en autoclave a una temperatura de 121°C durante 30 min., a excepción de los medios sangre-agar vitamina-agar, en los cuales se esterilizó únicamente el agar base. La sangre se tomó asépticamente utilizando tubos Vacutainers, y la vitamina se maceró en un mortero y fue agregada en polvo al agar previamente esterilizado. Después de la esterilización, se dejaron enfriar los medios a 45°C y se vertieron 15 ml de medio en cada plato (de vidrio). Al día siguiente se procedió a inocular el centro de 64 cajas con un disco de avena agar de 5 mm de diámetro conteniendo hifas y picnidios de un cultivo puro de *S. maydis* de dos semanas de edad. Las restantes 64 cajas fueron sembradas de la misma forma con *S. macrospora*. El diseño del experimento fue completamente aleatorizado con cuatro repeticiones. Un grupo de 32 cajas de cada especie se trasladó a una incubadora General Electric (Modelo 805) calibrada a 28°C, donde se incubaron durante 21 días en oscuridad total. El otro grupo se incubó durante el mismo tiempo en una cámara provista con luz negra (General Electric, F1578.BLB 15 watt), a una temperatura de 26°C. Estas cajas se expusieron a períodos alternos de 12 horas luz/oscuridad. Después de los 21 días, se procedió a contar el número de picnidios de *S. maydis* y *S. macrospora* producidos/cm² de medio. Para tal fin se marcó un círculo de plástico transparente de 9 cm de diámetro con 8 cuadrículas de 1 cm² equidistantes una de otra. El círculo de plástico con las cuadrículas se colocó sobre la parte externa de las cajas y se procedió a contar el número de picnidios/cm² producidos en cada cuadrícula. Para realizar el conteo de picnidiosporas producidas en cada tratamiento, se licuaron los platos individualmente con 150 ml de agua durante 1 minuto, y se filtraron con gasa. De esta suspensión de esporas se tomó una muestra, con una pipeta Pasteur, y se llenaron ambos lados de un hemacitómetro marca American Optical Co. La concentración de esporas fue expresada en miles de esporas/ml para efectuar la comparación entre tratamientos. Los datos colectados fueron sometidos a análisis de varianza y los promedios a la prueba de Duncan usando una probabilidad P = 0.05

Cuadro 1.- Efecto de la Luz Negra en la producción de picnidios y picnidiosporas de *S. maydis* en tres medios de cultivo.

Medios de Cultivo	Picnidios/cm ²		Picnidiosporas(1x10 ³)/ml	
	Con Luz	Sin Luz	Con Luz	Sin Luz
Avena-Agar	189a ¹	163a	152a	133a
Agua de Coco-Agar	17b	12b	6b	2b
V8-Agar	19b	20b	3b	1b

¹ Promedios con letras diferentes difieren significativamente de acuerdo a la prueba de Duncan (P=0.05).

RESULTADOS

Los resultados del análisis de varianza indicaron que hubo diferencias significativas entre tratamientos a un nivel de probabilidad P=0.05.

Producción de picnidios y picnidiosporas de *S. maydis* bajo condiciones de luz negra y oscuridad: Solamente en tres de los ocho medios preparados se produjeron picnidios. Bajo condiciones de luz negra, la mayor cantidad de picnidios se produjo en medio avena-agar, seguido de jugo de vegetales-agar y agua de coco-agar, con una producción de 189, 19 y 17 picnidios/cm², respectivamente (Cuadro 1). Similarmente, la mayor cantidad de picnidiosporas se produjo en medio avena-agar, seguido del agua de coco-agar y del jugo de vegetales-agar con una producción de 152x10³, 6x10³, 3x10³ picnidiosporas/ml, respectivamente. Bajo condiciones de oscuridad, la mayor cantidad de picnidios se observó en los platos con avena-agar, seguido de jugo de vegetales-agar y agua de coco-agar, con una producción de 163, 20 y 12 picnidios/cm², respectivamente (Cuadro 1). La mayor cantidad de picnidiosporas se obtuvo en el medio con avena-agar, seguido de agua de coco y de jugo de vegetales, con una producción de 133x10³, 2x10³ y 1x10³ picnidiosporas/ml, respectivamente.

Producción de picnidios y picnidiosporas de *S. macrospora* bajo condiciones de luz negra y oscuridad: Solamente en avena-agar y jugo de vegetales-agar se produjeron picnidios y picnidiosporas (Cuadro 2). Bajo condiciones de luz, la mayor cantidad de picnidios y picnidiosporas se produjo en avena-agar, con una producción de 62 picnidios/cm² y 7x10³ picnidiosporas/ml.

Cuadro 2.- Efecto de la luz negra en la producción de picnidios y picnidiosporas de *S. macrospora* en tres medios de cultivo.

Medios de Cultivo	Picnidios/cm ²		Picnidiosporas(1x10 ³)/ml	
	Con Luz	Sin Luz	Con Luz	Sin Luz
Avena-Agar	62a ¹	20a	7a	1a
Agua de Coco-Agar	0b	0b	0b	0b
V8-Agar	23b	7b	3b	0b

¹ Promedios con letras diferentes difieren significativamente de acuerdo a la prueba de Duncan (P=0.05).

Sin luz la mayor cantidad de picnidios también se produjo en avena-agar, seguido del jugo de vegetales-agar con una producción de 20 y 7 picnidios/cm², respectivamente. La mayor cantidad de picnidiosporas también se produjo en medio avena-agar con una producción de 1x10³ picnidiosporas/ml.

DISCUSION DE RESULTADOS

De los medios evaluados avena-agar es el más eficiente para ambas especies, en términos del número de picnidios y picnidiosporas producidos. En aquellos medios en que hubo producción de picnidios, la luz negra incrementó en forma significativa ($P=0.05$) su número, así como la producción de picnidiosporas. La mayor cantidad de picnidios de *S. maydis* y *S. macrospora* se obtuvieron en el medio avena-agar bajo condiciones alternadas de 12 horas con luz negra y 12 horas con oscuridad a 26°C. El uso de la luz en combinación con este medio, incrementó en 24% y 23% la producción de picnidios/cm² y picnidiosporas/ml, respectivamente.

La producción de picnidios fue significativamente inferior en agua de coco-agar y jugo de vegetales-agar. En agua de coco-agar no se produjeron picnidios de *S. macrospora* en oscuridad a 28°C ni en luz negra a 26°C. Los primeros picnidios de *S. maydis* fueron detectados una semana después de inoculados los medios avena-agar y agua de coco-agar, tanto en luz negra como en oscuridad; en el jugo de vegetales-agar estos fueron detectados por primera vez a los 11 días de la siembra.

Los primeros picnidios de *S. macrospora* fueron detectados una semana después de inoculados los medios avena-agar y jugo de vegetales-agar expuestos a la luz negra a 26°C. Tres días más tarde se detectaron los primeros picnidios en ambos medios incubados en oscuridad.

Ambas especies produjeron muy poco micelio en los medios con luz negra en comparación con aquellos sometidos a oscuridad. Los resultados de este estudio comprueban claramente que de los medios evaluados el mejor sigue siendo avena-agar y que es preferible incubar este medio bajo un régimen de 12 horas de luz y 12 de oscuridad a 26°C tanto para *S. maydis* como para *S. macrospora*.

CONCLUSION

S. macrospora produjo una cantidad significativamente menor de esporas que *S. maydis* en cualquiera de los medios evaluados.

La inoculación con luz negra alternada con oscuridad aumentó la productividad de los medios de cultivo, especialmente de la avena-agar donde se registró un aumento de 23% en el número de esporas

producidas. La mayor producción de inóculo se obtuvo incubando cualquiera de ambas especies, *S. maydis* o *S. macrospora*, en avena-agar bajo períodos alternos de luz negra y oscuridad a 26°C.

LITERATURA CITADA

- Castaña-Zapata, J. 1986. Prácticas de Laboratorio de Fitopatología. Escuela Agrícola Panamericana, Departamento de Protección Vegetal. Proyecto AID/Honduras No. 522-0222, Publicación MIPH-EAP No.95. 10-11,34-42 pp.
- Commonwealth Mycological Institute. 1968. Plant Pathologist's Pocketbook. CMI, Kew, Surrey, England. 267 p.
- del Río, L. E. 1990. "Maíz Muerto" en Honduras provocado por el complejo *Diplodia* y *Fusarium*. Manejo Integrado de Plagas 18: 42-53.
- Latterell, F. M. and A. E. Rossi. 1983. *Stenocarpella macrospora* (= *Diplodia macrospora*) and *S. maydis* (= *D. maydis*) compared as pathogens of corn. Plant Disease. 67:725-729.
- Jugenheimer, W. 1981. Variedades mejoradas, métodos de cultivo y producción de semillas. Editorial Limusa. 409-418 pp.
- López, J.; R. Padilla, E. Salvatierra, R. Ocampo, A. Colíndres, L. Pineda, M. Bustamante y D. Monterroso. 1987. Estimación de las pérdidas provocadas por la pudrición de la mazorca de maíz en Taulabé, Comayagua. 1987. En: Secretaría de Recursos Naturales, CATIE/MIP. Trabajos de investigación desarrollados de 1986 a 1989. Tegucigalpa, Honduras. pp 93-108.
- Marasas, W. y Van Der Westhuizer, G. 1979. *Diplodia macrospora* the cause of leaf blight and cob rot of maize. Phytophylactica. 11:61-64
- Morrant, M. A. and H. L. Warren, 1993. A synthetic medium for mass production of pycnidiospores of *Stenocarpella* species. Plant Dis. 77:424-426
- Romero-Cova, S. 1968. Hongos fitopatógenos. Universidad Autónoma Chapingo, Dirección del Patronato Universitario, A.C. México. 347 p.