

FUNCIONAMIENTO Y EFICIENCIA DE UNA TORRE MODIFICADA PARA INOCULACION DE ESPORAS DE HONGOS

*Jairo Castaño Z. **
Guillermo Castellanos
Carlos E. Jara
Marcial A. Pastor-Corrales

INTRODUCCION

Un problema frecuente en la determinación de razas fisiológicas de hongos es que cada investigador emplea normalmente su propio grupo de variedades diferenciales y aún más, diversos métodos de inoculación, implicando que los resultados no sean válidamente comparables. Por ejemplo, en estudios realizados con la roya del frijol causada por *Uromyces phaseoli* (Reben.) Wint., diversos investigadores han diseñado una serie de técnicas de inoculación que van desde simples hasta muy sofisticadas. Así, Harter y Zaumeyer (1941) emplearon la técnica de inoculación con una brocha elaborada con pelos de camello; Schein (1964) diseñó un inoculador bastante sofisticado, el cual, permite inocular una cantidad conocida de esporas por área foliar; Davison y Vaughan (1963, 1964) emplearon la técnica de aspersión a presión; Zúñiga y Victoria (1975) emplearon el método de inoculación con una espátula; y recientemente Stavely (1983) diseñó una técnica de inoculación consistente en acondicionar un tubo de plástico a la boquilla de un aerosol. Infortunadamente, ninguno de éstos métodos de inoculación son comparables entre sí. La uniformidad en la inoculación, es decir, la aplicación repetitiva de una cantidad conocida de esporas de un pató-

* Senior Research Fellow, Técnico I, Asistente de Investigación y Fitopatólogo, respectivamente. Programa de Fitopatología de Frijol. CIAT. Apartado Aéreo 6713, Cali, Colombia. Dr. Castaño actualmente con el Departamento de Protección Vegetal, Escuela Agrícola Panamericana, Apartado 93, Tegucigalpa, Honduras.

geno dado, es reconocida como un requisito esencial en estudios cuantitativos. Ilógicamente, en la mayoría de los casos las suspensiones de esporas son asperjadas sin dar mucha importancia a la densidad de deposición. Cuando se realizan inoculaciones, generalmente los aspersores son sostenidos a distancias "estandarizadas" y el inóculo es disparado un número determinado de veces, con el argumento de que todas las hojas, y aún más que todo la superficie foliar ha recibido la misma cantidad de inóculo. Un análisis cuidadoso de los resultados de tales estudios indica la gran dificultad de obtener datos cuantitativos comparables y repetibles. Todos estos métodos de inoculación a excepción de el método de Schein (1964) son subjetivos y como tales, no reúnen los requisitos anteriores. Infortunadamente, el método de Schein (1964) sólo es útil cuando se manipula pocas plantas.

El reconocimiento de que la velocidad terminal de partículas esféricas de 1 a 100 μ de diámetro, está gobernada por la ley de Stoke (Schrodter, 1960; Merrill, 1977), indujo al diseño de las torres de inoculación (Bell *et al.*, 1952; Petersen, 1959). La aspersión de inóculo dentro de una torre y la caída posterior de las esporas por gravedad permite alcanzar considerable precisión y repetitividad en las inoculaciones. En 1967, Melching mejoró la técnica de inoculación mediante el acondicionamiento de una base circular giratoria. Este sistema de inoculación fué empleado extensamente por Castaño (1981) con el agente causal del añublo del arroz (*Pyricularia oryzae* Cav.). El método tiene un alto grado de eficiencia y precisión debido a la uniformidad en la deposición de esporas, lo cual, permite hacer comparaciones cuantitativas válidas. Eyal *et al.* (1968) introdujeron una modificación a la torre de inoculación diseñada por Melching (1967). La modificación consistió en colocar una lámina metálica a la altura del tercio inferior de la torre, la cual, permite regular el período de deposición de esporas, excluyendo de esta manera la deposición de masas de esporas durante la fase inicial de la inoculación. Una desventaja de esta torre es que carece de una base giratoria que permita una deposición uniforme del inóculo. El presente trabajo tuvo como objetivo principal modificar la torre diseñada por Eyal *et al.* (1968) mediante el acondicionamiento de una boquilla de un aspersor De Vilbiss No. 15 y una base giratoria accionada por un motor cuya velocidad va controlada por un regulador de velocidades. La precisión de la torre se determinó empleando uredosporas de *U. phaseoli*.

MATERIALES Y METODOS

La torre de inoculación consiste de un cilindro de lámina de hierro de 2.15 m de altura por 0.60 m de diámetro, dividida en su tercio inferior en dos compartimientos mediante una lámina rectangular corrediza de 0.70 x 0.58 m. La torre posee una base giratoria de 0.59 m de diámetro, también de lámina de hierro, la cual, es movida por un motor de 1/4 HP (NSH 55 RH) cuya velocidad es controlada por un regulador de velocidades marca Bodine Electric Company (ASH 600 Type DC Motor Speed Control). En la parte central de la base va acondicionado un tubo de cobre de 1.15 m de alto y de un diámetro de 0.5 cm, el cual va conectado en su parte inferior a un compresor de aire marca DOERR de 1/6 HP. En la parte superior del tubo va adaptado en posición vertical una boquilla de un aspersor De Vibiss No. 15 (Figura 1).

La precisión de la torre se determinó con uredosporas de *U. phaseoli*. Un primer experimento consistió en observar el efecto que tiene el control de deposición de esporas sobre la uniformidad de deposición a través de períodos de deposición de uno a cinco minutos. Se empleó una concentración de 20 mgr de uredosporas. Un segundo experimento consistió en emplear cuatro concentraciones (3,6,12 y 24 mgr) y como en el primer experimento, dos controles de deposición (control inicial de deposición durante un minuto y sin control). Se empleó un período de deposición de cinco minutos. De acuerdo a Mortensen *et al.* (1979), el 97 por ciento de esporas de *Puccinia graminis* f.sp. *tritici* disparadas dentro de una torre de inoculación son depositadas en la base de la misma en cinco minutos. Las uredosporas se suspendieron en 50 ml de agua, se adicionó Tween 20 al 0.01o/o como dispersante y se agitó durante tres minutos previo a la inoculación. La recolección de esporas se realizó sobre cajas de Petri (10 x 12 cm) conteniendo agar simple al dos por ciento. Estas cajas se colocaron sobre la base giratoria, la cual, giraba a cinco rpm. Las suspensiones de esporas fueron dispersadas al aire y hacia arriba a una presión de 10 kg/6.5 cm² las cuales, caían luego por gravedad. Por cada tratamiento se colocaron cuatro cajas de Petri equidistantes una de otra. En cada caja se efectuaron 40 conteos por campo de 70X en un microscopio estereoscópico marca Bausch & Lomb.



Figura 1. Partes esenciales de la torre modificada para inoculación de esporas de hongos: A. Cilindro; B. Lámina corrediza; C. Base giratoria; D. Tubo, a través del cual, fluye aire hacia la boquilla De Vilbiss; E. Manguera de conducción del inóculo, la cual va conectada a la boquilla De Vilbiss; F. Compresor de aire; G. Motor eléctrico; y H. Regulador de velocidad.

RESULTADOS Y DISCUSION

El efecto que tiene el control inicial de deposición sobre la precisión de deposición de esporas a través de diferentes períodos de deposición es claro. Los resultados indican que con deposición inicial controlada durante un minuto, la desviación estándar es muy pequeña y constante a través de los cinco tiempos de deposición. Por el contrario, cuando la deposición de esporas es libre, la desviación estándar va aumentando a medida que aumenta el tiempo de deposición (Figura 2). Estos resultados demuestran la importancia que tiene el control inicial de deposición de inóculo sobre la uniformidad en la deposición de esporas por unidad de superficie.

El análisis de varianza para concentraciones y control de deposición, indicó diferencias estadísticas altamente significativas (Cuadro 1). La prueba de Duncan para los promedios de esporas depositadas por campo indican que a mayor concentración de esporas inoculadas, mayor es la cantidad de esporas depositadas, siendo éste un incremento logarítmico (Cuadro 2). A un incremento logarítmico de la cantidad de esporas inoculadas, corresponde un aumento también logarítmico de esporas depositadas por campo, lo cual, indica la gran precisión que suministra el empleo de ésta torre de inoculación. El hecho de controlar la deposición inicial del inóculo durante un minuto, implica una reducción de aproximadamente 50 por

Cuadro No. 1. Análisis de varianza para concentraciones y control de deposición.

Fuente de Variación	G.L.	C.M.	Valor de F.
Concentración	3	2702009.1	71821.7 **
Deposición	1	2051521.5	54531.2 **
Conc. x Deposición	3	119555.5	3177.9 **
Rep (Conc. x Depos.)	24	263.4	7.0 **
Error	1248	37.6	
Total	1279		

** Altamente significativo al nivel de el 1o/o de probabilidad.

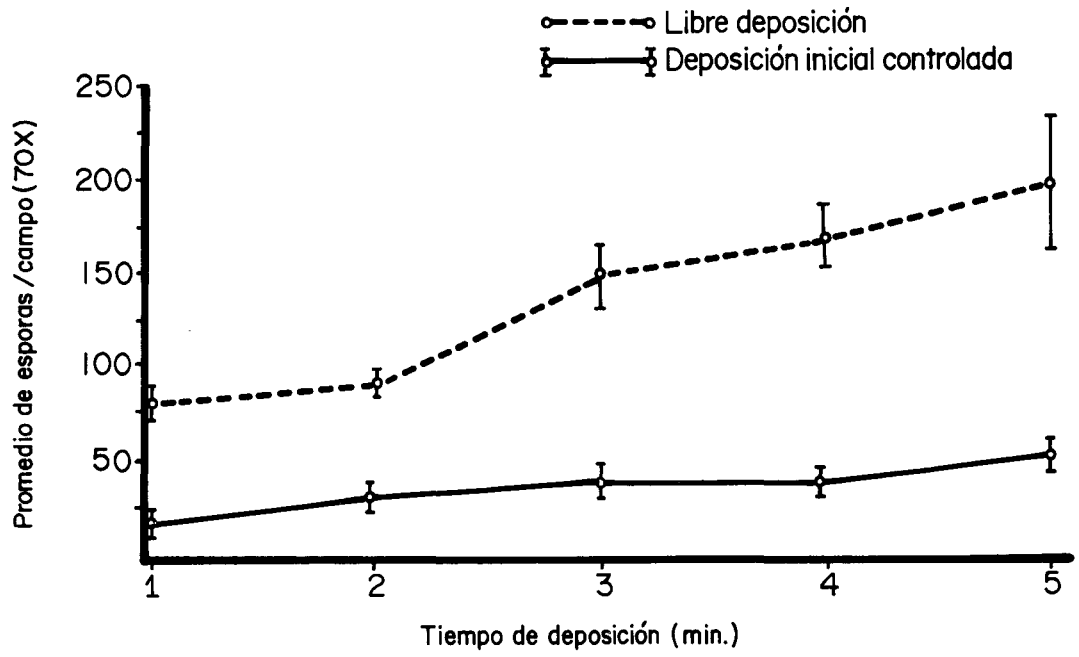


Figura 2.- Efecto de el control de deposición sobre la deposición de inóculo/campo a través de 5 períodos de deposición.

Cuadro 2. Prueba de Duncan para los promedios de esporas depositadas de acuerdo a la concentración.

Esporas Depositadas 70 X	Observaciones No.	Concentración (mgr)
240 A*	320	24
116 B	320	12
62 C	320	6
32 D	320	3

* Valores promedios seguidos por distintas letras indica que son diferentes estadísticamente.

ciento en la deposición de esporas por campo, con respecto a deposición libre (Cuadro 3), indicando que durante el primer minuto de inoculación hay un flujo demasiado fuerte de masas de esporas.

Los resultados de este estudio demuestran que además de las ventajas que ofrece la torre de inoculación en cuanto a precisión y distribución uniforme del inóculo, es apta para realizar estudios cuantitativos.

Cuadro 3. Prueba de Duncan para los promedios de esporas depositadas de acuerdo al control de deposición.

Esporas Depositadas 70 X	Observaciones No.	Control de deposición (Min)
153 A*	640	0
72 B	640	1

* Valores promedios seguidos por distintas letras indica que son diferentes estadísticamente.

REFERENCIAS

- BELL, F.H., C.G. Schmidt, W.E. Miller, and C.H. Kingsolver. 1952. A technique for obtaining uniform deposition of urediospores on cereal leaves. *Phytopathology* 42: 340 (Abstr.).
- CASTAÑO, J. 1981. Identification and testing of rate-limiting resistance of rice (*Oryza sativa* L.) to blast disease caused by *Pyricularia oryzae* Cav. Ph.D. Thesis. The Pennsylvania State University. University Park, PA. 166p.
- DAVISON, A.D. and E.K. Vaughan. 1963. A simplified method for identification of races of *Uromyces phaseoli* var. *typica*. *Phytopathology* 53: 456-459.
- DAVISON, A.D. and E.K. Vaughan. 1964. Effect of urediospore concentration on determination of races of *Uromyces phaseoli* var. *phaseoli*. *Phytopathology* 54: 336-338.
- EYAL, Z., B.C. Clifford, and R.M. Caldwell. 1968. A settling tower for quantitative inoculation of leaf blades of mature small grain plants with urediospores. *Phytopathology* 58: 530-531.
- HARTER, L. L. and W. J. Zaumeyer. 1941. Differentiation of physiologic races of *Uromyces phaseoli typica* on bean. *J. Agr. Res.* 62: 717-731.
- MELCHING, J. S. 1967. Improved deposition of airborne urediospores of *Puccinia graminis* and *P. striiformis* on glass slides and on wheat leaves by use of a turntable. *Phytopathology* 57: 647 (Abstr.).
- MERRIL, W. 1977. Theory and concepts of plant pathology. Department of Plant Pathology. The Pennsylvania State University, University Park, PA.
- MORTENSEN, K., G. J. Green, and J. Atkinson. 1979. A method for uniform infection of seedling and adult cereal plants by *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*. *Phytopathology* 69: 420-423.

- PETERSEN, L. J. 1959. Relations between inoculum density and infection of wheat by urediospores of *Puccinia graminis* var. *tritici*. *Phytopathology* 49: 607-614.
- SCHEIN, R.D. 1964. Design, performance and use of a quantitative inoculator. *Phytopathology* 54: 509-513.
- SCHRODTER, H. 1960. The diseases population. Epidemics and control: dispersal by air and water-the flight and landing. pp. 169-227. *In* Plant Pathology and Advanced Treatise. Vol. III. J.G. Horsfall and A.E. Dimond (Editors). Academic Press, New York.
- STAVELY, J.R. 1983. A rapid technique for inoculation of *Phaseolus vulgaris* with multiple pathotypes of *Uromyces phaseoli*. *Phytopathology* 73: 676-679.
- ZUÑIGA, E. J. y J.I. Victoria. 1975. Determinación de las razas fisiológicas de la roya del fríjol (*Uromyces phaseoli* var. *typica* Arth.) en el Valle del Cauca. *Acta Agronómica* 25: 75-85.

“EL RETO”

Keith Andrews y Héctor Barletta
1986. MIPH—EAP No. 58

Es una historieta popular sobre la plaga de *Empoasca*, conocida comúnmente como Lorito Verde o Saltahojas, que ataca al cultivo de frijol. Al tiempo que enseña entretenimiento, la historia se desarrolla en una comunidad rural a través de una trama o conflicto amoroso entre Martín, un estudiante de agronomía y Don Refugio, un campesino tradicional que se niega a que su hija se case con el agrónomo pretendiente. Contiene 28 páginas profusamente ilustradas a color con un contenido técnico sencillo y práctico para todo tipo de público, donde se describe el daño, biología, hábitos, ciclo de vida y controles de la plaga de *Empoasca*.