

Evaluación de medios de cultivos en el crecimiento de *Alternaria padwickii*

Evaluation of culture media in the growth of *Alternaria padwickii*

Alfonso D. Lovato Echeverría,¹ Susana A. Gutiérrez¹ y Marcelo A. Carmona²

¹ Cátedra de Fitopatología, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional del Nordeste, Sargento Cabral 2131 (3400), Corrientes, Argentina, alfodamian@gmail.com

² Cátedra de Fitopatología, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires, Av. San Martín 4453 (1419), Ciudad de Buenos Aires, Argentina

RESUMEN

El hongo *Alternaria padwickii* (Ganguly) M. B. Ellis es uno de los patógenos más importantes de la semilla de arroz de la provincia de Corrientes (Argentina). Ante la escasez de información referente a los aspectos biológicos de este hongo, y en particular a su comportamiento en medios de cultivos, se realizó este trabajo a fin de evaluar in vitro su crecimiento en medios de cultivos, a los tres, seis, nueve y doce días desde la siembra. Con los resultados se cuantificó la tasa de crecimiento del patógeno. De los medios de cultivos evaluados, los que lograron mejores resultados para el crecimiento del patógeno fueron agar poroto (1,46 mm • hr⁻¹), agar arroz (1,52 mm • hr⁻¹) y agar extracto malta (1,52 mm • hr⁻¹). El medio con agar poroto (AP) fue el único que favoreció la esporulación de *A. padwickii*.

Palabras claves: hongo, patógeno de semilla, *Oryza sativa*, *Alternaria*.

En Argentina la mayor producción de arroz (*Oryza sativa* L.) proviene de la región noreste. La provincia de Corrientes, con 101 465 ha sembradas durante la campaña 2014/2015, representa el 43,5 % de la superficie a nivel de país, y se constituye como la primera productora nacional de arroz [ACPA, 2015]. El cultivo es afectado por numerosas enfermedades causadas por hongos [Gutiérrez y Cúndom, 2013]. Entre estos microorganismos se menciona a *Alternaria padwickii* (Ganguly) L. B. Jain, considerado el principal patógeno asociado a semillas de arroz [Lovato y Gutiérrez, 2013]. El hongo es causante de manchas foliares en el cultivo, y además integra el complejo causal del manchado del grano [Archana y Prakask, 2013; Islam *et al.*, 2012]. Actualmente la información sobre aspectos biológicos de *A. padwickii*, y en particular lo referente a su comportamiento en medios de cultivos, es escasa y desactualizada, por lo que este conocimiento resulta necesario para la realización de

ABSTRACT

The fungus *Alternaria padwickii* (Ganguly) M. B. Ellis is one of the most important pathogens of rice seed in Corrientes, Argentina. Currently information on the biology of fungus and in particular with regard to their behavior in culture media is limited therefore the aim of this study was to evaluate in vitro growth of the pathogen in different media, for which the mycelial growth was measured at three, six, nine and twelve days from sowing. The growth rate of the pathogen was quantified. Among the studied media, bean agar (1,46 mm • hr⁻¹), rice agar (1,52 mm • hr⁻¹) and malt extract agar (1,52 mm • hr⁻¹) showed the best results. Bean agar (AP) was the only medium that favoured the sporulation of *A. padwickii*.

Key word: fungus, seed pathogen, *Oryza sativa*, *Alternaria*.

diversos estudios relacionados con la transmisión, sensibilidad y patogenicidad del mismo. Por la tanto, el objetivo de este trabajo fue evaluar el comportamiento de *A. padwickii* en diferentes medios de cultivo. Se utilizaron los siguientes medios: agar papa glucosado (APG, 250 g de papa, 20 g de glucosa y 20 g de agar, 1000 mL de agua), agar poroto o frijol (AP, 30 g de poroto, 20 g de agar y 1000 mL de agua), agar jugo de tomate (AJT, 200 mL de jugo de tomate, 4,5 g de CaCO₃ y 1000 mL de agua), agar agua (AA, 20 g de agua y 1000 mL de agua), agar papa zanahoria (APZ, 150 g de papa, 150 g de zanahoria rallada, 20 g de agar, y 1000 mL de agua), agar extracto de malta (AEM, 25 g de extracto de malta, 20 g de agar y 1000 mL de agua), agar hoja grano de arroz (AHG, 30 g de granos y hojas verdes de arroz, 20 g de agar y 1000 mL de agua), agar arroz (AAR, 30 g de arroz blanco, 20 g de agar y 1000 mL de agua), agar zanahoria (AZ, 150 g de zanahoria rallada, 20 g de agar y 1000 mL de agua)

y agar jugo vegetal (AJV, 1 caldo de verdura, 20 g de agar y 1000 mL de agua). El ensayo se realizó en cinco cajas de Petri por cada medio estudiado, en la que se sembraron discos de inóculo (0,5 cm de diámetro) del patógeno de doce días de edad. Las cajas sembradas se incubaron en condiciones de 12 hs luz y 12 hs oscuridad a temperatura de 25 °C ± 2 °C. Posteriormente se registró el crecimiento radial del hongo en milímetros, a los tres, seis, nueve y doce días. Con los datos obtenidos se cuantificó la tasa de crecimiento del patógeno para cada día de observación por medio de la siguiente fórmula:

$$V = (X_f - X_i) / (T_2 - T_1)$$

donde:

- V: Tasa de crecimiento en mm • hs⁻¹
- Xf: Crecimiento final en mm
- Xi: Crecimiento inicial
- T₂: Tiempo final
- T₁: Tiempo inicial

Para cada medio de cultivo se estimó un valor promedio de tasa de crecimiento. Se utilizó un diseño en bloques completos al azar con cinco repeticiones, y un ANOVA con prueba de Tukey 5 %. Los mejores resultados en el crecimiento de la colonia corresponden a los medio AEM, AAR, AP y AJV (*Tabla*), no existiendo diferencias significativas entre ellos, y sí con APZ y AA. Los medios APG, AGH, AJT y AZ presentaron comportamiento intermedio, sin diferencias estadísticas entre ellos. La influencia de los medios de cultivos en el comportamiento de *A. padwickii* fue estudiado por algunos investigadores, tales como Mew y Gonzales (2002), quienes compararon el crecimiento del patógeno en agar papa glucosado (APG), agar papa sucrosa (APS) y agar extracto de malta (AEM), logrando los mejores resultados en AEM, si bien no mencionan si existieron diferencias estadísticas entre los medios analizados. En otro trabajo similar, Chuauprasit (1975) evaluó el efecto de trece medios de cultivo en el crecimiento y esporulación de *A. padwickii*, y concluyó que los medios agar harina de maíz (CMA, Corn Meal Agar) y agar extracto de malta al 2 % (AEM), en combinación con dos tipos de luz (Black Light Blue y Cool White), indujeron la esporulación del patógeno. Las conclusiones obtenidas por estos autores destacan al medio AEM, resultados que coinciden con los logrados en este trabajo. Sin embargo, el medio AP no se diferenció estadísticamente del AEM (*Tabla*), y es el único medio que favoreció la esporula-

ción del hongo bajo las condiciones de estudio. En este medio de cultivo se observó la liberación de pigmentos rosados, visibles en el reverso de la colonia, resultados que concuerdan con obtenidos por Gutiérrez *et al.* (2010).

Según lo expresan Hernández y Rosón (2005), la composición del medio de cultivo puede influir en el desarrollo y esporulación de los hongos debido a que estos requieren fuentes de carbono, nitrógeno, azufre, hierro, sodio y potasio para su metabolismo. El medio de cultivo agar poroto o agar frijol es rico en nitrógeno, debido a que el poroto posee un 20 % de nitrógeno en su composición, el cual se encuentra en forma de proteína. Según Otálora (2006) y Carnauba *et al.* (2007), los aminoácidos como fuente de nitrógeno favorecen la esporulación de los hongos, por estimular la síntesis de ácidos nucleicos necesarios para la construcción del protoplasma celular. No obstante, la esporulación también está regulada por otras variables que interaccionan entre sí, tales como fuente y tipo de luz, disponibilidad de nutrientes, etc. Todas estas apreciaciones explican el comportamiento del medio AP. Por lo tanto, los resultados en este trabajo permiten recomendar el medio de cultivo con agar poroto o agar frijol por favorecer el crecimiento micelial del patógeno, además de permitir la esporulación y facilitar la identificación del patógeno al desarrollar pigmentos de coloración rosada en el medio agar.

Tasa de crecimiento promedio de *A. padwickii* en diferentes medios de cultivo

Medios de cultivo	Crecimiento de la colonia (mm • hr ⁻¹)
Agar Agua (AA)	1,23 a*
Agar Papa Zanahoria (APZ)	1,23 a
Agar Zanahoria (AZ)	1,29 ab
Agar Jugo de Tomate (AJT)	1,31 abc
Agar Grano Hoja de Arroz (AGH)	1,34 abcd
Agar Papa Glucosado (APG)	1,38 bcd
Agar Jugo Vegetal (AJV)	1,44 cde
Agar Poroto (AP)	1,46 de
Agar Arroz (AAR)	1,52 e
Agar extracto de malta (AEM)	1,54 e

Letras distintas indican diferencias significativas, *p* < 0,05*

REFERENCIAS

- Asociacion Correntina de Plantadores de Arroz, www.acpaarrozcorrientes.gov.ar, Consulta: 28/6/2015.
- Archana, B.; H. S. Prakash: «Survey of seed borne fungi associated with rice seed in India», *International Journal of Research in Pure Applied Microbiology* 3 (1): 25-28, 2013.
- Carnauba, J. P.; M. F. Sobral; E. P. Rocha Amorin; J. C. Silva; V. B. Santos; F. K. Solva: «Avaliação de diferentes meios de cultura na esporulação de *Scytalidium lignicola*», *Summa Phytopathologica* 33 (2): 199-200, 2007.
- Chuauprasit, C.: «Morphology, physiology and pathogenicity of *Trichocorynia padwickii* (Ganguly), the cause of sheath blight disease rice», *Thesis Doctor Philosophy in Botany and Plant Pathology*, Oregon State University, 1975, 149 p.
- Gutiérrez, S. A.; M. A. Cúndom: «Guía para la identificación de enfermedades del cultivo de arroz en la provincia de Corrientes», MAVE Editora, Corrientes, 2013, 24 p.
- Gutiérrez, S. A.; E.M Reis; M. A. Carmona: «Methods for detection of *Alternaria padwickii* in rice seed», *Journal of Phytopathology*, v. 158 (5): 523-526, 2010.
- Hernandes, A. A.; C. Roson: «Evaluación del crecimiento y esporulación de *Aschersonia aleyrodalis* (Webber) en medios de cultivo convencionales», *Fitosanidad* 9 (3): 61-63, Cuba, 2005.
- Islam M. S.; H. Rahman; Z. Perver; M. R. Mahmud; A. Alam: «Studies on seed borne fungi in rice cultivars grown in non-salinized zones of Patuakhali and their effect on seed germination», *Bangladesh Research Publication Journal* 6(3): 286-290, India, 2012.
- Mew, T. W.; P. Gonzales: «A handbook of rice seed borne fungi», *International Rice Research Institute*, Los Baños, Filipinas, 2002, 83 p.
- Lovato Echeverría, A.; M. A. Carmona; S.A. Gutiérrez: «Transmisión de *Trichoconiella padwickii* a coleóptilos de arroz», *Tropical Plant Pathology* 38 (4): 346-348, 2013.
- Otálora, N.: «Determinación del efecto de algunas fuentes de carbono y nitrógeno del pH y la actividad del agua sobre el desarrollo de *Nomurea rileyi*», Tesis de graduación como Microbiólogo Industrial, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia, 2006, 133 p. Disponible en repository.javeriana.edu.co/bitstream/10554/8271/1/tesis253.pdf.