

Efecto depresivo de los agentes causales de las pudriciones secas en plantas producidas *in vitro* de malanga (*Xanthosoma sagittifolium*)

Depressive effect of the causative agents of dry rot in plants grown *in vitro* from malanga (*Xanthosoma sagittifolium*)

*Ernesto Espinosa Cuellar**, *Lidcay Herrera Isla***, *Maryluz Folgueras Montiel**, *Manuel Cabrera Jova**, *Alberto Espinosa Cuéllar** y *Yosbel Fandiño Cachemaille**.

Resumen

Se determinó el efecto depresivo sobre plantas de malanga producidas *in vitro* del cultivar "Amarilla Especial", de los hongos *Fusarium oxysporum* Schlecht, *Rhizoctonia solani* Kühn y *Sclerotium rolfsii* Sacc aislados de plantas infectadas que presentaban síntomas de escaso desarrollo, clorosis, necrosis foliar y pudrición de las raíces. Los tratamientos consistieron en el aislamiento de los tres hongos por separado, la mezcla de los tres hongos y un control sin inocular. Se plantaron plantas previamente aclimatizadas en cámaras que tenían una dimensión de 0,90 x 0,90 x 0,90 m, en bloque completamente al azar con cuatro réplicas. Se inocularon 100 plantas por cada tratamiento y como control se dejaron igual número de plantas sin inocular, se evaluó en cada caso la altura de la planta, el número de raíces por planta y el número de raíces enfermas, y posteriormente se determinó el peso fresco y seco de las raíces y el follaje. Se cosechó a los 10 meses después de la plantación y se evaluaron algunos componentes del rendimiento, como el número de cormos y cormelos y su peso fresco, al igual que la intensidad de los daños en el momento de la cosecha. Los resultados mostraron que los hongos fitopatógenos *Fusarium oxysporum* Schlecht, *Rhizoctonia solani* Kühn y *Sclerotium rolfsii* Sacc asociados a las pudriciones secas, ocasionaron un efecto depresivo en las plantas de malanga producidas *in vitro* cultivadas en cámaras. La mezcla de estos tres hongos resultó muy agresiva, lo que provocó en las plantas una disminución en la altura, el peso fresco del follaje y en el número de raíces, cormos y cormelos.

Palabras clave: malanga, pudriciones secas, hongos,

Abstract

Depressive effect was determined on plants produced *in vitro* taro cultivar 'Amarilla Especial', fungi *Fusarium oxysporum* Schlecht, *Rhizoctonia solani* Kühn and *Sclerotium rolfsii* Sacc isolated from infected plants with symptoms of poor development, chlorosis, leaf necrosis and rot the roots. Treatments consisted of the isolation of the three fungi separately, the mixture of the three fungi and uninoculated control. Previously acclimatized plants were planted in chambers had dimensions 0,90 x 0,90 x 0,90 m, in randomized complete block with four replications. 100 plants were inoculated for each treatment and control is left as an equal number of uninoculated plants was evaluated in each case the plant height, number of roots per plant and number of diseased roots and subsequently determined the fresh weight and dry the roots and foliage. Was harvested at 10 months after planting and assessed some components of performance, as the number of corms and cormels and their fresh weight, as the intensity of damage at the time of harvest. The results showed that the fungal pathogens *Fusarium oxysporum* Schlecht, *Rhizoctonia solani* Kühn and *Sclerotium rolfsii* Sacc associated with dry rot caused a depres-

* Instituto Nacional de Investigaciones de Viandas Tropicales (INIVIT), Villa Clara, Cuba
Author for correspondence: e-mail: ernestoe@inivit.cu

** Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas, Villa Clara, Cuba

sive effect on taro plants grown *in vitro* produced cameras. The mixture of these three fungi was very aggressive, resulting in reduced plant height, fresh weight of leaves and number of roots, corms and cormels.

Key words: Taro, dry rot, fungus.

Recibido: agosto 17 de 2011

Aprobado: noviembre 30 de 2011

Introducción

En el cultivo de la malanga se han detectado diversos agentes fitopatógenos que producen además de pudriciones en raíces, cormos y cormelos, sintomatologías en la parte aérea de la planta (Bejarano *et al.*, 1998). Este síndrome se caracteriza por la aparición de clorosis en las hojas, luego avanza hacia los pecíolos, y finalmente se generaliza en toda la parte aérea de la planta, deteniendo su crecimiento y limitando la producción del cultivo (Espinosa, 2003; Peernel, *et al.*, 2006).

Las plantas afectadas por las pudriciones secas permanecen enanas y otras solo llegan a emitir una o dos hojas nuevas que no logran alcanzar un desarrollo normal y generalmente se marchitan. Los cormos que llegan a formarse son pequeños o escasos. El desarrollo radical es reducido y la mayor parte de las raíces se necrosan. Estos síntomas están asociados a la presencia de *Pythium splendens* Brown, *Fusarium solani* (Mart.) Sacc, *Rhizoctonia solani* Kühn y *Sclerotium rolfsii* Sacc. Este complejo marchitamiento-necrosis radical ha sido descrito en Costa Rica (Mora y Blumm, 1991) y en Cuba (Espinosa *et al.*, 2003).

Este síndrome produce pérdidas entre un 9 y un 27 % de la producción en el momento de la cosecha del cultivo (Espinosa *et al.*, 2003) y hasta un 80 % del producto cosechado en el almacén (Folgueras y Herrera, 2006). En este cultivo los cormos y cormelos constituyen la semilla para la próxima plantación, por ello esta enfermedad no solo compromete las producciones, sino además la continuidad de la producción de este cultivo (MINAG, 2008).

Una alternativa dentro del manejo integrado de las pudriciones secas de la malanga, enfermedad producida por hongos del suelo y que contaminan el material vegetal inutilizándolo para próximas plantaciones, ha sido el empleo de semillas sanas plantas producidas *in vitro* (Herrera, 2004). Sin embargo, es necesario, para el manejo de estas pudriciones, continuar trabajando en la búsqueda de alternativas para incrementar la calidad del material de plantación.

En el trabajo se propuso como objetivo determinar el efecto depresivo ocasionado por la inoculación de cultivos puros de varios hongos fitopatógenos asociados a las pudriciones secas en las plantas producidas *in vitro* cultivadas en cámaras y comparar la sintomatología de las plantas inoculadas con los síntomas de aquellas afectadas por las pudriciones secas bajo condiciones naturales.

Materiales y Métodos

La investigación se realizó en el Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales (INIVIT); ubicado en Santo Domingo, Villa Clara, Cuba.

De los cormos y cormelos de plantas infectadas que presentaban síntomas de escaso desarrollo, clorosis, necrosis foliar y pudrición de las raíces se aislaron los hongos *Fusarium oxysporum* Schlecht, *Rhizoctonia solani* Kühn y *Sclerotium rolfsii* Sacc. Para ello se hizo un corte longitudinal a los cormos y cormelos, luego se realizaron nuevos cortes para tomar la parte del tejido enfermo y sano. Estos cortes se transfirieron a placas Petri que contenían medio nutritivo Agar Papa Dextrosa (PDA) y se incubaron por 5 días a una temperatura entre 25±2 °C. Se preparó una suspensión micelial licuando el contenido total del crecimiento micelial de cada hongo en 1500 mL de agua destilada estéril por 30 segundos, para la inoculación de las plantas.

Material vegetal

Para el desarrollo del trabajo se emplearon plantas producidas *in vitro* del cultivar "Amarilla Especial". Estas plantas fueron producidas en el laboratorio de cultivo de tejidos del Instituto, según la metodología propuesta para la micropropagación de la malanga.

La aclimatización de las plantas *in vitro* se realizó en umbráculos, ellas fueron plantadas en contenedores de poliuretano. Luego de 45 días las plantas presentaban una altura de 15 cm y 4 hojas.

Las plantas previamente aclimatizadas se plantaron en cámaras que tenían una dimensión de 0,90 x 0,90 x 0,90 m, en un bloque al azar con cuatro repeticiones.

Estas cámaras contenían un suelo pardo con carbonatos como sustrato. Las plantas del cultivar "Amarilla Especial" se plantaron a una distancia de 0,70 x 0,30 m y se regaron con un intervalo de 7 días y una norma parcial de 200 a 250 m³/ha, las labores agrotecnicas se realizaron según el Instructivo Técnico del cultivo (MINAG, 2008).

A las tres semanas de cultivo de las plantas en las cámaras se realizó la inoculación de los cultivos puros de *Fusarium oxysporum* Schlecht, *Rhizoctonia solani* Kühn y *Sclerotium rolfsii* Sacc, cada uno por separado y con una suspensión de la mezcla de estos tres hongos, utilizando para ello una aguja hipodérmica con 100 mL de suspensión micelial de cada hongo por planta. Fueron inoculadas 100 plantas por cada tratamiento. Como control se dejaron igual número de plantas sin inocular.

Se realizaron observaciones semanales para determinar el inicio de la aparición de los síntomas. 30 días después de la inoculación se evaluó en cada tratamiento la altura de la planta, el número de raíces por planta, el diámetro de las raíces y el número de raíces enfermas: para medir la longitud total de la planta (cm) se empleó una regla milimetrada.

Posteriormente se determinó en 30 plantas por tratamiento la masa fresca y seca del follaje y de las raíces. Previo a la determinación de la masa seca, las plantas fueron colocadas en una estufa (SUTJESKA) fabricada en Yugoslavia a 70°C hasta que se estabilizó la masa seca a las 72 horas. Se empleó para el pesaje una balanza analítica (SARTORIUS) de fabricación alemana el resultado se expresó en gramos de masa fresca y seca.

A los 10 meses se evaluaron algunos componentes del rendimiento como el número y la masa fresca de cormos y cormelos por tratamiento.

Para evaluar la intensidad de los daños por tratamiento se describieron los síntomas presentes en cormos y cormelos teniendo en cuenta la escala propuesta por Espinosa (2003):

Índice de la escala

- 0 Sin pudriciones
- 1 Pudrición semiseca o semihúmeda que ocupa la base del pedúnculo (hasta un 1/4 del corno o cormelo).
- 2 Pudrición seca que alcanza entre un 1/4 -1/2 del corno o cormelo.

- 3 Pudrición seca que alcanza entre un 1/2 -3/4 del corno o cormelo.
- 4 Pudrición seca que alcanza más de 3/4 del corno o cormelo.

Los porcentajes de intensidad, se calcularon por la fórmula de Townsend y Heuberger (1943), modificada por Folgueras (2006):

$$\text{Porcentaje de intensidad} = \frac{\sum(ab)}{nk} 100$$

Donde:

- a- Valores numéricos de las categorías de daños (índice de la escala).
- b- Cantidad de plantas por categorías de daños.
- n- Cantidad total de plantas evaluadas.
- k- Grado máximo de la escala.

Análisis estadísticos

Para la manipulación de los datos de las muestras se aplicaron las técnicas de Estadística Descriptiva consistentes en el cálculo de los valores promedios, cálculo de los porcentajes en el caso de las infestaciones y la presentación de información tabulada y graficada.

Se emplearon las técnicas paramétricas y no paramétricas. Dentro de las paramétricas se realizaron los procedimientos de análisis de varianza de clasificación simple (completamente al azar) y la comparación múltiple de medias según Duncan (Lerch, 1977). Dentro de las no paramétricas se utilizó el análisis de varianza por rangos según Kruskal-Wallis con posterior aplicación de las técnicas de comparación.

Resultados y discusión

A las dos semanas las plantas inoculadas desarrollaron síntomas de clorosis foliar. A los 30 días de cultivo en las plantas inoculadas con los tratamientos *Fusarium oxysporum* Schlecht, *Rhizoctonia solani* Kühn y *Sclerotium rolfsii* Sacc, cada uno por separado y con una suspensión de la mezcla de estos tres hongos, se observó un efecto depresivo sobre su crecimiento, así como hojas y raíces necrosadas en comparación con las plantas sin inocular empleadas como control (figura 1).

Los microorganismos fitopatógenos *Fusarium oxysporum*, *Sclerotium rolfsii*, *Rhizoctonia solani* y la combinación de estos, afectaron la altura de la planta, el número de raíces por planta e incrementaron el número de



Figura 1. Síntomas en las plantas producidas *in vitro* inoculadas con los patógenos y el control. **a)** control, **b)** plantas inoculadas con *F. oxysporum*, **c)** plantas inoculadas con *S. rolfsii* **d)** plantas inoculadas con la mezcla de los tres hongos.

raíces enfermas, las mismas presentaron diferencias significativas con las plantas empleadas como control. Las plantas inoculadas con cada uno de los hongos por separado no presentaron diferencias significativas entre ellas en las variables evaluadas, pero sí en relación con las plantas inoculadas con la mezcla de los hongos, donde se obtuvo el mayor efecto depresivo (tabla 1). Estos resultados están en correspondencia con los obtenidos por Perneel *et al.* (2006) en la República Dominicana, donde determinó que *Fusarium* sp. y *Rhizoctonia solani* son los principales organismos

causantes de pudriciones en malanga y confirman a estas especies de hongos como las de mayor incidencia de las pudriciones secas en este cultivo.

Los resultados mostraron (tabla 2) que el tratamiento 4 (la inoculación de la mezcla de los tres hongos) fue el que más afectó la masa fresca y seca del follaje, así como la masa fresca y seca de las raíces. Este tratamiento presentó diferencias significativas con respecto a los tratamientos en los cuales se inocularon cada uno de los hongos por separado y el control. Los tratamien-

Tabla 1. Efecto de los hongos fitopatógenos luego de 30 días de inoculados, sobre el desarrollo de las plantas cultivadas en cámara

Tratamientos	Altura de la planta (cm)	Número de raíces por planta	Número de raíces enfermas
Fusarium oxysporum	20,05 b	29,75 b	10,58 b
Sclerotium rolfsii	19,77 b	24,00 b	9,34 b
Rhizoctonia solani	20,2 b	22,25 b	8,54 b
Mezcla de los tres hongos	16,97 c	17,5 c	14,97 a
Control	28,61 a	33,25 a	6,67 c
ES ±	0,19	1,81	2,19

Medias con letras no comunes en una misma columna difieren según prueba de Tukey para $p < 0,05$ ($n=30$)

Tabla 2. Efecto de los hongos fitopatógenos inoculados en las plantas cultivadas en cámaras sobre la masa fresca y seca de las mismas a los 30 días de plantadas

Tratamiento	Masa fresca del follaje (g)	Masa seca del follaje(g)	Masa fresca de las raíces (g)	Masa seca de las raíces (g)
<i>Fusarium oxysporum</i>	11,28 b	3,32 bc	7,93 b	1,98 b
<i>Sclerotium rolfsii</i>	13,70 b	4,09 b	8,32 b	2,08 b
<i>Rhizoctonia solani</i>	14,60 b	4,36 b	9,30 b	2,32 b
Mezcla de los tres hongos	9,51 c	3,14 c	6,77 c	1,69 c
Control	23,90 a	7,14 a	12,06 a	3,35 a
ES ±	1,31	0,15	0,23	0,15

Medias con letras no comunes en una misma columna difieren según prueba de Tukey para $p < 0,05$ (n=30)

tos en los cuáles se inocularon los hongos por separado no presentaron diferencias significativas entre ellos: sin embargo, tanto las plantas en las que se realizó la inoculación de la mezcla de los hongos como de cada uno de ellos por separado presentaron diferencias con el control.

A los 10 meses se evaluaron algunos componentes del rendimiento por planta en el momento de la cosecha, el número de cormos y cormelos por planta y su masa fresca fueron mayores en el control sin inocular, con diferencias significativas con el resto de los tratamientos donde se inocularon los patógenos, tanto de forma individual como mezclados. (tabla 3).

Tabla 3. Efecto de los diferentes tratamientos en los componentes del rendimiento en el momento de la cosecha de las plantas cultivadas en cámaras

Tratamiento	Número de cormos	Número de cormelos	MF de los cormos(g)	MF de los cormelos (g)	Rendimiento Kg. Planta ⁻¹
<i>Fusarium oxysporum</i>	1,05 c	3,40 b	835,0 c	81,0 c	0,916c
<i>Sclerotium rolfsii</i>	1,32 bc	3,58 b	852,0 c	85,72 c	0,937 c
<i>Rhizoctonia solani</i>	1,83 b	3,75 b	1065,0 bc	90,7 b	1,155 b
Mezcla de los tres hongos	1,02 c	3,10 c	680,0 c	79,55c	0,759 c
Control	2,28 a	4,80 a	1795,0 a	132,51a	1,927 a
ES ±	0,35*	0,26*	0,92 *	0,95 *	0,91 *

Medias con letras no comunes en una misma columna difieren según prueba de Tukey para $p < 0,05$ (n=30)

En todos los tratamientos donde se inocularon los hongos patógenos, ya sea por separado o una mezcla de los mismos, la intensidad de los daños fue significativamente mayor que en el control sin inocular. Los valores más elevados en la intensidad de los daños (49,6; 51,3 y 56%) se manifestaron en los tratamientos donde se inocularon los patógenos *S. rolfsii*, *F. oxysporum* y la mezcla de los patógenos respectivamente, sin diferencias significativas entre ellos, pero sí las hubo entre los tratamientos donde se inoculó con la mezcla de los patógenos, con *F. oxysporum* y con *R. solani*. Aunque con *R. solani* se obtuvieron los menores valores en cuanto al porcentaje de intensidad dentro de los tratamientos inoculados, no presentó diferencias significativas con el tratamiento donde se inoculó *S. rolfsii* (figura 2).

En estudios realizados en Nicaragua (INTA, 2005) se confirmó que esta enfermedad es generada por un complejo de hongos del suelo como *Rhizoctonia solani*, *Pythium* spp. y *Fusarium solani*, los cuales pueden actuar individualmente o en complejo. Estos hongos invaden los tejidos de las raíces y ocasionan necrosis y pudrición. Los resultados de nuestro trabajo han demostrado con algunos de estos patógenos que la planta al quedar sin un sistema de absorción de nutrientes y agua, comienza a manifestar clorosis en las hojas y luego en los pecíolos. Con el avance de la infección se afecta el crecimiento de la planta e incluso puede morir; si sobrevive a la enfermedad desarrolla escasos y pequeños rizomas.

Bejarano (1998) inoculó *Sclerotium rolfsii* en plantas en invernaderos, donde se afectó el número de brotes, el diámetro de las raíces, la altura de la planta, el peso seco del follaje y el porcentaje de raíces sanas. En el presente trabajo se obtuvieron resultados similares en estos aspectos evaluados y además se redujeron el peso fresco y el número de cormos y cormelos en el momento de la cosecha. Así se demostró la acción patogénica de estos hongos.

En las plantas de todos los materiales de plantación obtenidos *in vitro* sin inocular se obtuvo como promedio 1,5 veces más rendimiento que al utilizar plántulas enfermas, esto puede estar relacionado al efecto de limpieza sanitaria que produce el cultivo *in vitro*. Según Cabrera *et al.*, 2010 en estos tipos de materiales de plantación, el efecto de plantar una semilla sana donde el tejido pierde la señal que poseía de la planta madre, se puede manifestar con un aumento en el vigor fisiológico de determinadas variables agronómicas.

Estos resultados permiten establecer la importancia que tiene para las apariciones de pudriciones poscosechas en estas plantas, las infecciones que ocurren a nivel de campo, puesto que la presencia de estos agentes fitopatógenos en los tejidos de las raíces, cormos y cormelos, provocará la incidencia de las enfermedades en el almacén, que reducirán el volumen total del producto bruto cosechado.

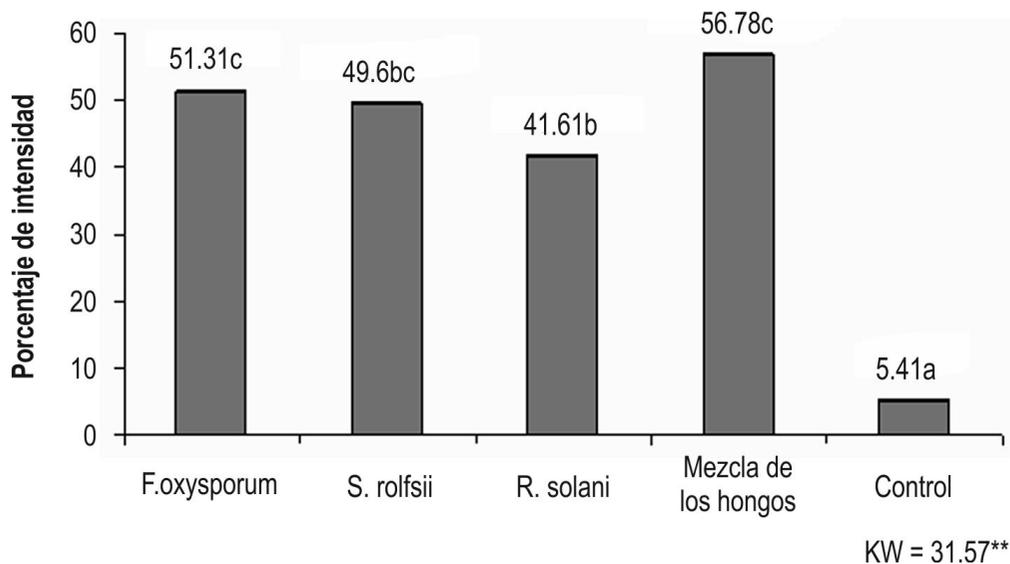


Figura. 2. Intensidad de los daños en el momento de la cosecha.

Conclusiones

Este trabajo se propuso como objetivo determinar el efecto depresivo ocasionado por la inoculación de cultivos puros de varios hongos fitopatógenos, asociados a las pudriciones secas, en las plantas producidas *in vitro* cultivadas en cámaras y comparar la sintomatología de las plantas inoculadas con los síntomas de aquellas afectadas por las pudriciones secas bajo condiciones naturales.

Los hongos fitopatógenos *Fusarium oxysporum* Schlecht, *Rhizoctonia solani* Kühn y *Sclerotium rolfsii* Sacc asociados a las pudriciones secas ocasionaron un efecto depresivo en las plantas de malanga producidas *in vitro* cultivadas en cámaras. La mezcla de estos tres hongos resultó muy agresiva, pues provocó en las plantas una disminución altura, peso fresco del follaje y número de raíces, cormos y cormelos. Por lo que es necesario emplear las plantas producidas *in vitro* como una alternativa de material vegetal de plantación para disminuir la incidencia y daños ocasionados por estos hongos.

Referencias bibliográficas

Bejarano, C. A.; Zapata, M.; Bosques, A.; Rivera, E. y Liu, L. 1998. *Sclerotium rolfsii* como componente del complejo patológico causante del mal seco de la yautía (*Xanthosoma sagittifolium*) en Puerto Rico. *The journal of agriculture of the University of Puerto Rico* 82 (2): 85-95.

- Cabrera, M.; Gómez, R.; Basail, M.; Santos, P.; Medero, V. y López, J. 2010. Evaluación en campo de plantas de ñame (*Dioscorea alata* L.) obtenidas de los microtubérculos formados en Sistema de Inmersión Temporal. *Revista Colombiana de Biotecnología* 12 (1): 29-36. (47-56)
- Espinosa, E.; Herrera, L. y Folgueras, M. 2003. Incidencia de las pudriciones secas de la malanga (*Xanthosoma* spp y *Colocasia esculenta* Schott.). *Centro Agrícola* 2 (4): 23-29.
- Folgueras, M. y Herrera, L. 2006. Relación de hongos patógenos y asociados a la pudrición seca de la malanga del género *Xanthosoma*. *Centro Agrícola* 1 (3): 34-45.
- Herrera, L. 2004. *Los Hongos fitopatógenos del suelo de Cuba*. Tesis presentada para la obtención del Grado de Doctor en Ciencias. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Central "Martha Abreu" de Las Villas.
- Instituto Nicaragüense de Tecnología Agropecuaria (INTA). 2005. El Cultivo del Quequisque. *Guía Tecnológica* 24. 22.
- MINAG. (2008). Instructivo Técnico del Cultivo de la Malanga. Castellanos, P. (Ed.). SEDGRI/AGRINFOR, Ciudad de La Habana, Cuba, 18 p.
- Mora, F. y Blumm, K. (1991). Virulencia de aislamientos locales de *Rhizoctonia solani* en frijón de invernadero. *Agronomía costarricense* 14 (2): 247-250.
- Perneel, M.; Tambong, J. T.; Adiobo, A.; Floren, C.; Lebesque, A. and Hofte, M. 2006. Intraspecific variability of *Pythium myriotylum* isolated from cocoyam and other host crops. *Mycological Research* 110: 583-593.