

EFFECTO DE LA HIDROTERMOTERAPIA A LA SEMILLA DE SOYA
(*Glycine max* (L.) Merrill) EN EL CONTROL DE LA DECOLORACION
PURPURA *Cercospora kikuchii* (Matsumoto & Tomoyasu) Gardner.

Alvaro Echeverry A.*
Manuel Rojas M. *
Ruben Dario Zarate R.**

COMPENDIO

Semillas de soya de la variedad ICA- TUNIA se sometieron a diferentes combinaciones de temperatura y tiempo, en ensayos diseñados en bloques completamente al azar con factoriales completos o parciales. Temperaturas mayores de 55°C afectan en forma notable los porcentajes de germinación, emergencia y el índice de velocidad de germinación. In vitro y sobre la semilla, el hongo se inactivó a 49°C por cinco minutos. La región óptima de tolerancia de la semilla de soya a los tratamientos térmicos estuvo entre 49 y 50°C con tiempos entre 5 y 10 minutos. La mayor esporulación de *C. kikuchii* se logró en Agar- Agua al 1.5 o/o más hojas de soya.

ABSTRACT

To control (to inactive) the fungus *Cercospora kikuchii* seeds of the c.v. ICA- TUNIA were submitted to different combinations of temperature levels and periods of time. The experiment design used in all trials was a completely randomized blocks with complete or partial factorials. An increase of temperature above 55°C affected significantly germination and emergency percentages as well as germination velocity index. In vitro and upon seeds the fungus was inactivated at 49°C when exposed for 5 minutes. The best tolerance region of soybean seeds to thermal treatments ranged from 49 to 50°C with exposition periods ranging from 5 to 10 minutes. The best sporulation of *C. kikuchii* was obtained in a Agar-Water medium at 1.5 o/o which was added with soybean leaves extract.

* Estudiante de pre-grado. Universidad Nacional - Palmira.

** Profesor. Universidad Nacional. Palmira.

1. INTRODUCCION.

La decoloración púrpura que reduce la calidad de la semilla de soya (Victoria y Hepperly, 5), ha alcanzado incidencias de un 3 o/o en el Valle en los últimos años (Ochoa, 3) y existe el riesgo de que aumente al incrementarse el área sembrada.

Puesto que el uso de fungicidas sistémicos para el control de la enfermedad produce efectos colaterales como la acumulación en los tejidos e inhibición del desarrollo de los nódulos (Bastidas, 1; Sinclair, 4), se hace necesario investigar métodos alternativos tales como los tratamientos físicos a la semilla.

En consecuencia, el presente trabajo tuvo como objetivo evaluar el efecto del tratamiento con agua caliente sobre la relación patógeno (*C. kikuchii*) - susceptible (*Glycine max*).

2. PROCEDIMIENTO.

2.1. Localización.

El trabajo se realizó con semilla de soya de la variedad ICA-Tunía en el Laboratorio de Fitopatología e Invernaderos de la Facultad de Ciencias Agropecuarias y en el Laboratorio de Certificación de Semillas del ICA-Palmira.

2.2. Técnica experimental.

En los cuatro primeros ensayos se evaluó el porcentaje de germinación y emergencia y el índice de velocidad de germinación (I. V. G.). En los ensayos V y VI, sólo se evaluó el porcentaje de emergencia. Los tratamientos consistieron en combinaciones de temperatura y tiempo.

La unidad experimental en los ensayos I a IV consistió de parcelas de 1.8 x 2.9 m. ; y en V y VI fueron bandejas de 0.47 x 0.32 x 0.10m. El diseño experimental para los primeros ensayos fué de bloques completos al azar con tres repeticiones de 100 semillas aparentemente sanas. Para los ensayos efectuados en bandejas, el diseño fué en una oportunidad, de parcelas divididas, donde las condiciones de suelo (suelo no tratado, residual más formol) constituían la parcela mayor, y los tratamientos de termoterapia la subparcela. En el otro caso, fué de bloques completos al azar. En ambas ocasiones se incluyeron cuatro repeticiones de 20 semillas cada una.

Para los ensayos de germinación e I. V. G., se empleó un germinador a 29.6 °C, en un diseño completamente al azar con dos repeticiones, cada una de 100 semillas.

En el laboratorio, se aisló y se purificó el hongo a partir de semilla decolorada sembrada en PDA ácido y puesta en cámara húmeda. Posteriormente se sembró en HSA (hojas de soya más agar), jugo V-8, PZA (papazanahoria - agar), FLDA (Frijol lima- dextrosa agar) y Agar- Agua al 1.5 o/o más hojas de soya.

Se inocularon plantas aparentemente sanas, para reproducir los síntomas de la enfermedad y reaislar el hongo, y semillas decoloradas que se sometieron a los tratamientos de termoterapia. Otra porción de la suspensión de conidias y micelio se utilizó en la prueba de inactivación *in vitro*.

2.3. Método de análisis.

Las variables de respuesta evaluadas fueron el porcentaje de germinación y emergencia y el índice de velocidad de germinación. En todos los casos, las lecturas se hicieron diariamente, hasta el cuarto día si se trataba de la germinación y del I. V. G., y hasta el octavo día después de la siembra para la emergencia.

Con los datos de algunos ensayos (III, IV y VI), se hicieron los respectivos análisis de varianza, incluyendo una prueba de Duncan para el ensayo VI. Se realizaron análisis gráficos, que permitían tomar decisiones acerca de los máximos y mínimos a emplearse para los factores estudiados (temperatura y tiempo).

3. RESULTADOS Y DISCUSION.

3.1. Definición de la región de exploración.

En la búsqueda de una región de exploración se combinaron inicialmente temperaturas y tiempos entre 35 - 55 °C y 5- 45 minutos (Ensayo 1). A 55 °C la reducción de los porcentajes de germinación y emergencia y el I. V. G. fué muy drástica, debido al efecto perjudicial de la temperatura sobre el embrión de la semilla. Entre 35 y 45 °C, el tiempo de exposición fué el factor que más incidencia tuvo aunque fué diferente para las tres variables.

Gráficamente se dividió la región de exploración en dos subregiones limitadas por las cotas de 90 o/o para germinación y 80 o/o para emergencia.

La nueva región exploratoria (Ensayo 2) se circunscribió a temperaturas

entre 46 y 54°C con tiempos de exposición entre 5 y 45 minutos. A 52°C o más y 30 minutos o más se presentan reducciones notables en la germinación y en emergencia. En emergencia, se observó la incidencia de factores exógenos diferentes a los tratamientos. A medida que la temperatura decrece, el tiempo puede incrementarse sin que ello signifique una reducción del I. V. G.

Dentro de una zona exploratoria más específica, que comprendía temperaturas entre 49 y 53°C y tiempos diferenciales entre 5 y 40 minutos, los tratamientos ubicados en la subregion de temperaturas y tiempos altos presentaban los menores valores de germinación, emergencia e I. V. G. La emergencia presentó una gran variabilidad para las repeticiones de un mismo tratamiento.

3.2. Termoterapia y emergencia.

Más que la alta variabilidad, preocupó la reducción en los promedios de emergencia, planteándose el interrogante siguiente: son los tratamientos de termoterapia u otros factores (pérdida de vigor, profundidad de siembra, efecto residual del formol, continuo laboreo) los que condicionan la emergencia? . Para resolverlo se diseñaron dos experimentos (Ensayos 3 y 4).

En un ensayo, en el cual la temperatura osciló entre 49 y 52°C y el tiempo entre 5 y 20 minutos, se corroboró que los tratamientos de termoterapia no afectaban el embrión de la semilla ya que se obtuvieron germinaciones por encima del 89 o/o e I. V. G. por encima del 33 o/o. Por el contrario, la emergencia osciló entre 37 y 71 o/o, no obstante que en el testigo alcanzó un valor de 93 o/o (Cuadro 1).

En el otro ensayo la temperatura varió entre 49 - 52°C y el tiempo entre 5 - 15 minutos, evaluándose el porcentaje de emergencia bajo tres condiciones de suelo. En los suelos residual y residual + formol la emergencia disminuyó (22.5 o/o en promedio) y la reducción es más drástica en los tratamientos que incluían termoterapia (36.8 o/o).

Estos resultados permiten concluir que las aplicaciones reiteradas de formol y el continuo laboreo del suelo, son los factores responsables de la reducción de la emergencia. Los tratamientos de termoterapia afectan en forma diferente la emergencia y la germinación, ya que la región de exploración que garantiza germinaciones por encima del 90 o/o puede presentar emergencias inferiores al 80 o/o, situación que se hace más drástica cuando el suelo acumula residuos o pierde su estructura.

Cuadro 1

Porcentaje de germinación y emergencia e índice de velocidad (I. V. G.) de semillas de soya (*Glycine max*) aparentemente sanas o libres de la decoloración púrpura. Ensayo IV.

Temperatura (°C)	Tiempo de exposición (minutos)				
	0	5	10	15	20
49		97 ^{1/}	95	92	90
		71 ^{2/}	61	45	44
		43 ^{3/}	41	37	33
50		98	92	91	-
		66	51	37	-
		39	42	36	-
51		97	89	90	-
		67	41	38	-
		41	38	34	-
52		93	89	-	-
		56	37	-	-
		45	38	-	-
Ambiente (Testigo)	97				
	93				
	33				

^{1/} Porcentaje de germinación promedio de dos repeticiones con 100 semillas cada una.

^{2/} Porcentaje de emergencia promedio de tres repeticiones con 100 semillas cada una.

^{3/} Índice de velocidad de germinación promedio de dos repeticiones con 100 semillas cada una.

3.3. Caracterización del patógeno.

Los aislamientos a partir de semilla decolorada resultaron positivos, obteniendo buen crecimiento de micelio, que al transferirlo a PDA acidificado originó colonias de color gris con una pigmentación rojiza en la periferia, debido posiblemente a la toxina producida por el hongo. En este medio el hongo no esporuló, pero ya que las características de la colonia se semejaban a las descritas para *C. kikuchii* (CMI, 2) se multiplicó y purificó.

En el medio HSA suplementado con dextrosa y colocado a 27°C y humedad relativa alta, el hongo esporuló ligeramente (8 conidias por placa), formando colonias compactas, de apariencia felposa, de forma circular a esférica, que presentaban un centro inicialmente blanquecino, luego rosado y finalmente gris en la periferia. Esto permitió establecer que se trataba de colonias pertenecientes a al especie *C. kikuchii*.

Como la esporulación fué tan pobre se probaron los medios V-8, PZA y FLDA colocados en incubadora a 20, 25 y 30°C en cámara húmeda y ausencia completa de luz, así mismo se dispusieron a temperatura ambiente (24 a 26°C) y en cámara húmeda.

En los medios V-8 y PZA, no hubo esporulación. En FLDA hubo una esporulación más ligera (tres conidias por placa) a temperatura ambiente. En el medio Agar - Agua al 1.5 o/o más hojas de soya incubado en condiciones semejantes a los anteriores, aunque cuando se colocó a temperatura ambiente se sometió a una alternancia de luz solar durante 12 horas, se logró una abundante esporulación (60 conidias por placa) con muy poco desarrollo micelial.

En general se logró una concentración final de 900 conidias por mililitro, la cual permitió reproducir los síntomas de la enfermedad en hojas, vainas, y semillas, 15 a 20 días después de la inoculación, a 28°C y humedad a saturación. Las conidias re-aisladas a partir de tejido enfermo correspondieron a *C. kikuchii*.

La emergencia de semilla decolorada e inoculada sometida a los tratamientos térmicos (49 a 51°C y tiempos diferenciales entre 5 y 15 minutos), se reduce ligeramente más que en el ensayo V, probablemente por la debilidad del tegumento como producto de la afección.

Al comparar las medias de los tratamientos con la de los testigos por medio de la prueba de Duncan, no se encontraron diferencias significativas para temperaturas de 49°C y tiempos de exposición de 5 a 10 minutos, ade-

más fueron negativos los reaislamientos a partir de la semilla enferma y tratada. O sea que a 49°C y 5 minutos de exposición se inactiva el patógeno en la semilla infectada o *in vivo*. La inactivación *in vitro* de *C. kikuchii* se logró también a 49°C y con un tiempo de exposición de 5 minutos.

4. CONCLUSIONES.

- 4.1. La región óptima de tolerancia de las semillas de soya estuvo entre 49 y 50°C con tiempos de exposición entre 5 y 10 minutos.
- 4.2. El tratamiento a la semilla de soya con agua caliente a 49°C durante 5 minutos, fué suficiente para inactivar el agente causal de la decoloración púrpura.
- 4.3. La mejor esporulación de *C. kikuchii* se logró en Agar-Agua al 1.50/o más hojas de soya, con temperaturas de 24 a 26°C, una alta humedad relativa y alternancia de luz solar y oscuridad de 12 horas.
- 4.4. La inactivación *in vitro* de *C. kikuchii*, se logró a 49°C y 5 minutos de exposición.

5. BIBLIOGRAFIA.

1. BASTIDAS, G. Mejoramiento de la soya en Colombia. En: Curso de Producción de Soya. Palmira, ICA- INTSOY, 1979. 421 p.
2. COMMONWEALTH MYCOLOGICAL INSTITUTE. *Cercospora kikuchii*. Descriptions of Pathogenic Fungi No. 466. 1975 .
3. OCHOA, O. Observaciones sobre el estado fitosanitario de la semilla de soya certificada en Palmira durante el segundo semestre de 1980. *Ascolfi Informa*. 6 (2): 21-22. 1980.
4. SINCLAIR, J. B. Soybean Seed Pathology. En: Seed pathology; problems and progress. Proceedings of the Latin American Workshop on Seed Pathology. Londrina, Pr. Brasil, 1979. pp: 51-69.
5. VICTORIA, J. I. y HEPPELRY, P. Enfermedades de la soya. En : Curso de Producción de soya. Palmira, ICA- INTSOY -AID, 1980. 510 p.