

REACCIÓN DE GENOTIPOS DE ÑAME (*Dioscorea* spp) A LA ANTRACNOSIS (*Colletotrichum gloeosporioides*)

REACTION OF YAM GENOTYPES (*Dioscorea* spp) TO ANTHRACNOSE (*Colletotrichum gloeosporioides*)

Yuli P. Méndez¹, Jorge L. Palencia¹, Karina P. Hernández¹, Eduardo J. Hernández¹, Javier D. Beltrán^{2*}

Recibido para publicación: Octubre 31 de 2012 - Aceptado para publicación: Abril 16 de 2013

RESUMEN

El ñame (*Dioscorea* spp) es afectado por diferentes patógenos, entre los que se destaca *Colletotrichum gloeosporioides*, agente causal de la antracnosis. Esta enfermedad reduce la eficiencia fotosintética de la planta y ocasiona pérdidas en la producción de más del 90% en variedades susceptibles y disminución en la calidad de los tubérculos. El objetivo de este estudio fue evaluar la reacción de genotipos de ñame, en la colección de la Universidad de Sucre, a la antracnosis. Se realizaron inoculaciones con cuatro aislados de *C. gloeosporioides* en 19 accesiones, correspondientes a las especies *Dioscorea alata* (diez), *Dioscorea rotundata* (siete), *Dioscorea cayenensis* (una), y *Dioscorea trifida* (una); mediante aspersión de esporas en hojas de plantas in vitro. Se encontró diferencia altamente significativa en la reacción del germoplasma de ñame a la antracnosis ($F= 80,37$; $gl= 18$; $p<0,0000$), sin embargo los aislados evaluados no mostraron diferencia significativa en su agresividad ($F= 1,71$; $gl= 3$; $p<0,1762$). *D. trifida* presentó la mayor resistencia, seguida de *D. cayenensis* y *D. rotundata*; mientras que *D. alata* fue la especie más susceptible.

Palabras clave: resistencia genética, antracnosis, *Dioscorea* spp.

ABSTRACT

Yam (*Dioscorea* spp) is affected by different pathogens, including *Colletotrichum gloeosporioides*, the causal agent of anthracnose. This disease reduces the photosynthetic efficiency in plants and causes losses in production above 90% in susceptible varieties and decreased quality of tubers. The objective of this study was to evaluate the resistance of yam genotypes to anthracnose in a yam germplasm bank at the University of Sucre. Nineteen accessions of *Dioscorea alata* (ten), *Dioscorea rotundata* (seven), *Dioscorea cayenensis* (one),

¹Biólogos, Grupo de Investigación en Biotecnología Vegetal, Universidad de Sucre, Cra. 28 #5-267, Sincelejo, Colombia.

²Docente investigador, Grupo de Investigación en Biotecnología Vegetal, Universidad de Sucre, Cra 28 #5-267, Colombia.

and *Dioscorea trifida* (one) were used. Plants were inoculated with four isolates of *C. gloeosporioides*, by spraying spores on leaves of plants in vitro. There was found a high significant difference in the reaction of yam germplasm to the anthracnose ($F = 80,37$; $gl = 18$; $p < 0,0000$), however isolates tested showed no significant difference in its aggressiveness ($F = 1,71$, $df = 3$, $p < 0,1762$). *Dioscorea trifida* had the greatest resistance, followed by *D. cayenensis* and *D. rotundata*, whereas *D. alata* was the most susceptible.

Key words: genetic resistance, anthracnose, *Dioscorea* spp.

INTRODUCCIÓN

Dioscorea es un género de la familia Dioscoreaceae, con más de 600 especies distribuidas en las regiones tropicales y templadas del mundo. Algunas como *Dioscorea alata* L. y *Dioscorea rotundata* Poir son cultivadas para la obtención y aprovechamiento de tubérculos denominados ñames (Perea y Buitrago 2000), que hacen parte fundamental de la dieta de millones de personas en África, Asia y América Latina (Perea 2000), ya que contienen importantes cantidades de carbohidratos y poseen fuentes moderadas de proteína y fibra (Alvis et al. 2008; Blanco-Metzler et al. 2004). En Colombia, este cultivo es de importancia socioeconómica para los habitantes de la región Caribe y la mayor producción se concentra en los departamentos de Bolívar, Córdoba y Sucre (Alvarez 2000). Esta actividad es realizada principalmente por pequeños y medianos agricultores, y constituye la principal fuente de ingresos y de empleo rural en estas zonas. Se comercializa a nivel regional para consumo en fresco y para exportación hacia los mercados de Estados Unidos y Europa, donde es utilizado para alimento de la población latina y uso farmacológico (Sánchez y Hernández 1997).

Los cultivos de ñame se ven afectados por diferentes patógenos, entre los que se destaca

Colletotrichum gloeosporioides [(Penz.) Penz. y Sacc.] agente causal de la antracnosis. Los síntomas de esta enfermedad se manifiestan en tallo, peciolo y hoja como lesiones necróticas que dan una apariencia quemada a la zona afectada; en el tejido foliar aparecen manchas, que pueden ser de formas regulares o irregulares, de color pardo-rojizo con halos cloróticos, lo que reduce la eficiencia fotosintética de la planta y ocasiona pérdidas en la producción de más del 90% en las variedades susceptibles y disminución en la calidad de los tubérculos (Amusa et al. 2003; Winch et al. 1984).

El control químico de la antracnosis requiere aplicaciones periódicas de fungicidas que aumentan los costos de producción, son perjudiciales para el ambiente (Hepperly y Vázquez 1991) y puede generar resistencia en las cepas del hongo patógeno (Bayart y Pallas 1994), por lo que el uso de variedades resistentes o tolerantes es una herramienta sostenible para el manejo de la enfermedad. En atención a esto, el objetivo fue evaluar, a nivel de laboratorio, la resistencia de germoplasma de ñame a la inoculación de *C. gloeosporioides*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Se utilizó material procedente del banco de germoplasma del Laboratorio de

Biotecnología Vegetal de la Universidad de Sucre. Vitroplantas de 19 accesiones de dicho banco, pertenecientes a cuatro especies de ñame (Tabla 1), se multiplicaron mediante segmentos nodales en medio de cultivo MS (Murashige y Skoog 1962) suplementado de la siguiente manera: 100 mg L⁻¹ de mioinositol, 1 mg L⁻¹ de tiamina-HCl, 30 g L⁻¹ de sacarosa, 0,5 mg L⁻¹ de ANA y 4 mg L⁻¹ BAP, para *D. alata* (Rodríguez y Beltrán 2002); 100 mg L⁻¹ de mioinositol, 1 mg L⁻¹ de tiamina-HCl, 30 g L⁻¹ de sacarosa, 0,1 mg L⁻¹ de BAP y 0,3 mg L⁻¹ de ANA, para *D. rotundata* (Acosta y Beltrán 2001); 100 mg L⁻¹ de mioinositol, 1 mg L⁻¹ de tiamina-HCl, 30 g L⁻¹ de sacarosa, 0,5 mg L⁻¹ de ácido nicotínico, 0,5 mg L⁻¹ de pirridoxina y 1 g L⁻¹ de carbón activado, para *Dioscorea trifida* L.f. 1781 (Chacón et al. 2000); 100 mg L⁻¹ de mioinositol, 1 mg L⁻¹ tiamina-HCl, 30 g L⁻¹ de sacarosa, 0,5 mg L⁻¹ ácido nicotínico, 1,2 mg L⁻¹ de BAP, 800 mg L⁻¹ de nitrato de amonio, 0,5 mg L⁻¹ piridoxina, 2 mg L⁻¹ glicina, 20 mg L⁻¹ L-cisteína, 20 mg L⁻¹ ácido ascórbico y 1 g L⁻¹ de carbón activado, para *Dioscorea cayenensis* Lam (Pérez y Brun 2003). El cultivo *in vitro* se mantuvo a 27°C, con una intensidad lumínica 50 5 mol m⁻² s⁻¹ y un fotoperiodo de 12 horas.

Inoculación de *C. gloeosporioides*

La fuente del inóculo se obtuvo de la colección de hongos fitopatógenos de ñame de la Universidad de Sucre. Se utilizaron cuatro aislados de *C. gloeosporioides* que se cultivaron en cajas de Petri con medio Papa-Dextrosa-Agar® (PDA), y se incubaron en oscuridad a una temperatura de 28°C y humedad relativa del 90%, por un periodo de siete a quince días. Se utilizó una suspensión de esporas a una concentración de 1 x 10⁶ conidias ml⁻¹ y la

inoculación se realizó mediante aspersión en hojas mantenidas en cámara húmeda a 28°C y humedad relativa del 90%, y como control se usaron aspersiones sobre hojas con agua destilada estéril (Pérez et al. 2003). Luego de los 10 días de la inoculación se realizaron aislamientos de cada hoja inoculada realizando una desinfección previa con solución de hipoclorito de sodio al 2% durante un minuto y posterior enjuague en agua destilada estéril, esto para corroborar la presencia de hongo inoculado.

Se realizó seguimiento diario al desarrollo de la sintomatología durante 10 días y para evaluar la severidad se utilizó la escala propuesta por Simons y Green (1994), que está compuesta por seis grados: (1) lesiones no visibles, (2) lesiones superficiales en forma de pequeñas depresiones, (3) lesiones necróticas entre 3 - 9% del área foliar, (4) lesiones necróticas y cloróticas entre 10 - 24%, (5) lesiones entre 25 - 50% y (6) lesiones mayores a un 50%. Los tres primeros corresponden a resistencia, el cuatro a moderadamente resistente, el cinco a moderadamente susceptible y el sexto a susceptible.

La estructura del tratamiento consistió en un arreglo factorial con dos factores cualitativos (aislado de *C. gloeosporioides* y variedad de ñame) con cuatro y 19 niveles respectivamente. Las combinaciones se asignaron en un diseño completamente aleatorizado con tres repeticiones, con una hoja como unidad experimental. Con los promedios de los datos obtenidos se realizó un análisis de varianza y la comparación de medias se llevó a cabo mediante la prueba de Tukey, utilizando el programa InfoStat (Di Rienzo et al. 2008).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los cuatro aislados de *C. gloeosporioides* fueron capaces de generar lesiones en 18 accesiones evaluadas (94,73 %), sin mostrar diferencias significativas en su agresividad ($F= 1,71$; $gl= 3$; $p<0,1762$). Por otro lado, el germoplasma estudiado reaccionó diferencialmente ($F= 80,37$; $gl= 18$; $p<0,0000$) a la inducción de síntomas por la inoculación de *C. gloeosporioides*. Basado en esas reacciones, las variedades evaluadas mostraron categorías de resistencia y susceptibilidad (Tabla 1, Figura 1) y su comportamiento coincide con lo observado a nivel de campo para la región Caribe colombiana.

Se evidenció susceptibilidad en todas las variedades de *D. alata*, con porcentajes promedios de área foliar afectada entre el 59,90% y 89,15%. Esto concuerda con resultados de diferentes investigaciones que demuestran que la antracnosis es la enfermedad foliar más limitante en esta especie alrededor del mundo (Amusa 2000; Lavalett y Afanador 2007; McDonald et al. 1998; Nwankiti et al. 1987; Pérez et al. 2003; Sweetmore et al. 1994; Winch et al. 1984). En Colombia, Campo (2000) señala que a finales de 1980 y principios de 1990, se presentó una epidemia de antracnosis que redujo más del 70% de los cultivos de ñame, debido en gran parte a la siembra en monocultivos de variedades susceptibles.

Tabla 1. Relación de genotipos de ñame evaluados por su reacción a *Colletotrichum gloeosporioides*.

Especie	Accesión (Código)	Área foliar afectada por aislados (%)				Promedio del área foliar afectada (%)
		Cg1	Cg2	Cg3	Cg4	
<i>D. trifida</i>	033 **	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00 a
<i>D. cayenensis</i>	065	0,7	0,7	0,5	0,8	0,67 a
<i>D. rotundata</i>	008	1,0	2,7	1,0	1,2	1,47 a
<i>D. rotundata</i>	009	7,5	6,8	1,5	3,0	4,70 a
<i>D. rotundata</i>	010	2,5	5,0	3,5	12,5	5,87 a
<i>D. alata</i>	006	61,7	68,7	46,7	62,5	59,90 b
<i>D. alata</i>	011	58,3	75,0	73,3	83,3	72,47 bc
<i>D. alata</i>	019	65,8	86,2	81,0	70,0	75,75 bc
<i>D. rotundata</i>	053	79,2	81,7	87,5	65,0	78,35 bc
<i>D. alata</i>	013	85,8	79,2	70,0	80,0	78,75 bc
<i>D. rotundata</i>	057	88,3	69,2	61,7	82,5	75,42 bc
<i>D. rotundata</i>	059	66,7	90,8	89,2	80,0	81,67 bc
<i>D. rotundata</i>	062	82,5	90,0	78,3	78,3	82,27 bc
<i>D. alata</i>	043	65,0	94,2	88,3	85,8	83,32 bc
<i>D. alata</i>	050	65,0	91,7	87,5	85,8	82,50 bc
<i>D. alata</i>	018	83,3	80,0	78,3	92,5	88,52 c
<i>D. alata</i>	023	81,7	82,5	85,8	99,7	87,42 c
<i>D. alata</i>	017	95,0	81,7	89,2	87,5	88,35 c
<i>D. alata</i>	026	93,3	83,3	100	80,0	89,15 c

* Promedios con la misma letra no representan diferencias significativas al 5%.

**Código de la accesión en el Banco de Germoplasma de la Universidad de Sucre.

Los resultados de tratamientos con letras diferentes en sentido vertical presentaron diferencias significativas

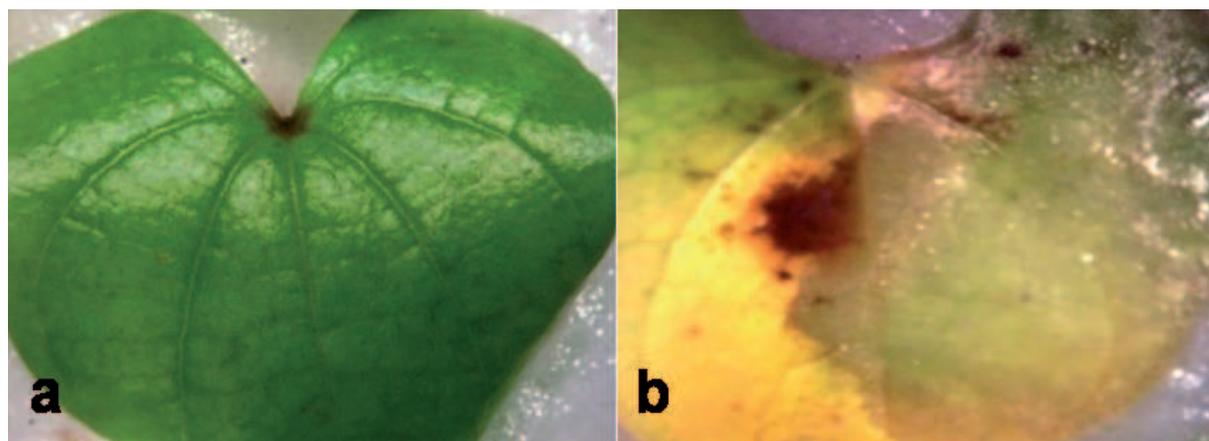


Figura 1. Reacción de ñame a *Colletotrichum gloeosporioides*: a. *Dioscorea trifida* (033) y b. *Dioscorea*

Los aislados de *C. gloeosporioides* evaluados no produjeron lesiones foliares aparentes en *Dioscorea trifida* y solo causaron pequeños síntomas en *D. cayenensis* y las variedades "Espino alemán" "Espino cañuela" y "Espino botón" de la especie *D. rotundata* (Tabla 1). Estos resultados concuerdan con los estudios realizados por Pérez et al. (2003) quienes encontraron que *D. rotundata* solo desarrolló síntomas leves luego de ser inoculada con *C. gloeosporioides*; Igualmente, Amusa (2000) evaluando la respuesta de ñame a la inoculación con metabolitos tóxicos de *C. gloeosporioides* y mediante medición de la enfermedad en campo encontró que *D. rotundata* y *D. cayenensis* presentaron resistencia. No obstante las accesiones N° 062, 059, 057 y 053, de la especie *D. rotundata* presentaron susceptibilidad, con promedios de área foliar afectada entre 78,35% y 82,27%.

Los resultados sugieren que estos ensayos ofrecen una forma rápida, fiable y robusta para evaluar un gran número de variedades que permita seleccionar un subconjunto para que después pueda ser evaluado a nivel de campo.

CONCLUSIONES

Las accesiones de las especies *D. trifida*, *D. cayenensis* y *D. rotundata* presentaron resistencia a *C. gloeosporioides*, con excepción de las accesiones de *D. rotundata* N°: 062, 059, 057, y 053; que al igual que las variedades de *D. alata* fueron susceptibles.

REFERENCIAS

- Acosta, R. y Beltrán, J. 2001. Estandarización de la técnica de micropropagación para la propagación masiva de plantas de ñame espino (*Dioscorea rotundata*) mediante el cultivo in vitro de segmentos nodales. Tesis de Biología. Universidad de Sucre. Sincelejo, Sucre.
- Alvarez, A. 2000. Prácticas agronómicas para el cultivo del ñame. En: Guzmán, M. y Buitrago, G. (Ed). Ñame: producción de semilla por biotecnología. Unibiblos, Bogotá, p55-65.

- Alvis, A., Vélez, C. y Rada-Mendoza, M. 2008.** Composición de ñames frescos cultivados en Colombia y sometidos a freído por inmersión. *Información Tecnológica* 19:3-10.
- Amusa, N. 2000.** Screening of cassava and yam cultivars for resistance to anthracnose using toxic metabolites of *Colletotrichum* species. *Mycopathologia* 150:137-142.
- Amusa, N., Adegbite, A., Muhammed, S. y Baiyewu, R. 2003.** Yam disease and its management in Nigeria. *African Journals of Biotechnology* 2(12):497-502.
- Bayart, J. y Pallas, B. 1994.** Tolerance of yam anthracnose to benzimidazoles: results of the first study conducted in Guadeloupe. *Phytoma* 461:37-40.
- Blanco-Metzler, A., Tovar, J. y Fernández-Piedra, M. 2004.** Caracterización nutricional de los carbohidratos y composición centesimal de raíces y tubérculos tropicales cocidos, cultivados en Costa Rica. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 54(3):322-327.
- Campo, R. 2000.** La antracnosis, enfermedad limitante del cultivo de ñame. En: ñame producción de semillas por biotecnología. Guzmán y Buitrago editores. Unibiblos. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, p67-70.
- Chacón, G., Saborío, F., Gómez, L., Torres, S. y Valverde, R. 2000.** El tipo de gelificante en el desarrollo in vitro y la aclimatación de 65 plantas de yampín (*Dioscorea trifida*) y ñame (*Dioscorea alata*). *Agronomía costarricense* 24:57-62.
- Di Rienzo, J., Casanoves, F., Balzarini, M., González, L., Tablada, M., y Robledo, C. 2008.** InfoStat versión 2008. Grupo InfoStat FCA. Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Hepperly, P. y Vázquez, F. 1991.** Resistance and scouting in the control of yam anthracnose of the winged yam (*Dioscorea alata*). Proceedings of the 25th Annual Meeting of the Caribbean Food Crops Society. Caribbean Food Crops Society, Gosier, Guadeloupe, 1-6 July 1989, p587-596.
- Lavalett, L. y Afanador, L. 2007.** Estudio de la variabilidad morfológica e identificación molecular de *Colletotrichum* spp. Causante de la antracnosis del ñame (*Dioscorea* spp). *Fitopatología Colombiana* 31(2):43-48.
- McDonald, F., Alleyne, A., Ogarro, L. y Delauney, A. 1998.** Yam anthracnose in the English-speaking islands of the Eastern Caribbean—successes and research advances in disease management. *Tropical Agriculture* 75:53-57.
- Murashige, T. y Skoog, F. 1962.** A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiología Plantarum* 15:473-497.
- Nwankiti, O., Okoli, O. y Okpala, E. 1987.** Screening of water yam (*Dioscorea alata*) cultivars for tolerance to anthracnose/

blotch disease. *Fitopatología Brasileira* 12:36-39.

Perea, M. 2000. Utilización de los sistemas in vitro para la obtención de plantas de ñame (*Dioscorea* spp) libres de patógenos. En: Guzmán, M. y Buitrago, G. (Ed). Ñame: producción de semilla por biotecnología. Unibiblos, Bogotá, p41-53.

Perea, M. y Buitrago, G. 2000. Aplicación de la biotecnología agrícola al cultivo de ñame. En: Guzmán, M. y Buitrago, G. (Ed). Ñame: producción de semilla por biotecnología. Unibiblos, Bogotá, p17-32.

Pérez, L., Baquero, M. y Beltrán, J. 2003. Caracterización morfológica y patogénica de *Colletotrichum* sp como agente causal de la antracnosis en ñame *Dioscorea* sp. *Revista Colombiana de Biotecnología* 5:24-35.

Pérez, W. y Brun, A. 2003. Aplicación de la técnica in vitro para la propagación de *Dioscorea cayenensis* cv "ñame amarillo" a partir de segmentos nodales. Tesis de Biología. Universidad de Sucre. Sincelejo, Sucre.

Rodríguez, C. y Beltrán, J. 2002. Cultivo in vitro de ñame *Dioscorea alata* cv "pico de botella" a partir de segmentos nodales. Tesis de Biología. Universidad de Sucre. Sincelejo, Sucre.

Sánchez, C. y Hernández, L. 1997. Descripción de aspectos productivos, de postcosecha y de comercialización del ñame en Córdoba, Bolívar y Sucre. *Temas Agrarios* 2(4):105-120.

Simons, S. y Green, K. 1994. A quantitative method for assessing the severity of anthracnose on yam (*D. alata*). *Tropical Science* 34:216-224.

Sweetmore, A., Simons, S. y Kenward, M. 1994. Comparison of disease progress curves for yam anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*). *Plant Pathology* 43:206-215.

Winch, J., Newhook, F., Jackson, G. y Cole, J. 1984. Studies of *Colletotrichum gloeosporioides* disease on yam, *Dioscorea alata*, in Solomon Islands. *Plant Pathology* 33:467-477.