

Crecimiento *in vitro* de *Sclerotium rolfsii* en respuesta a la calidad de luz de tres tipos de lámparas fluorescentes

Norma Delia Zazueta Torres¹
Felipe Ayala Tafoya¹
Susana González Morales²
Teresa de Jesús Velázquez Alcaraz¹
Moisés Gilberto Yáñez Juárez^{1§}
Leopoldo Partida Ruvalcaba¹

¹Facultad de Agronomía-Universidad Autónoma de Sinaloa. Carretera Culiacán-El Dorado km 17.5, Culiacán Rosales, Sinaloa, México. AP. 25, CP. 80000. ²Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Calzada Antonio Narro 1923, Buenavista, Saltillo, Coahuila. CP. 25315.

§Autor para correspondencia: moisesyj@uas.edu.mx.

Resumen

La investigación se realizó para conocer la influencia de la calidad de luz sobre el crecimiento radial del micelio, producción de esclerocios y biomasa de micelio de *Sclerotium rolfsii* cultivado *in vitro*. Los tratamientos consistieron en luz blanca fría, neutra y cálida, emitidas por lámparas fluorescentes, con una densidad de flujo de fotones fotosintéticos (400 a 700 nm) de $\approx 300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, los cuales se establecieron bajo un diseño completamente al azar con 10 repeticiones. El espectro luminoso emitido por las lámparas fluorescentes influyó en el crecimiento del hongo *in vitro*. La luz blanca fría ocasionó reducción en el crecimiento radial, biomasa y producción de esclerocios de *Sclerotium rolfsii* debido al mayor contenido espectral de luz azul (400-500 nm).

Palabras clave: *Sclerotium rolfsii*, biomasa, espectro de luz, esclerocio, micelio.

Recibido: enero de 2021

Aceptado: febrero de 2021

La luz es fuente de energía fundamental y señal del entorno circundante en la vida de los hongos, que usan en la regulación y dirección del crecimiento (fototropismo), reproducción asexual y sexual, y producción de pigmentos (Idnurm y Heitman, 2005). Los hongos pueden responder ante una amplia gama de longitudes de onda de luz, desde la ultravioleta hasta roja lejana (Purschwitz *et al.*, 2006; Fuller *et al.*, 2015; Dasgupta *et al.*, 2016). Además, se ha comprobado que la infección por una gama de patógenos puede verse afectada por el entorno de luz del huésped antes de la inoculación (Meijer y Leuchtman, 2000; Koh *et al.*, 2003). Existe evidencia que la liberación de esporas por esos organismos es influida por la luz en los ecosistemas (Su *et al.*, 2000).

La luz también puede inhibir directamente la germinación de esporas y/o el crecimiento del tubo germinativo en diversos hongos patógenos de plantas (Mueller y Buck, 2003; Beyer *et al.*, 2004), al respecto, películas plásticas que transmiten más luz azul son eficaces para suprimir la esporulación de mildius y *Botrytis cinerea* (Reuveni y Raviv, 1997). El objetivo del presente trabajo de investigación fue determinar el efecto que ocasiona la calidad de luz emitida por lámparas fluorescentes de luz blanca fría (LBF), luz blanca neutra (LBN) y luz blanca cálida (LBC) sobre el crecimiento radial del micelio, biomasa y producción de esclerocios de *Sclerotium rolfsii* cultivado *in vitro*.

La investigación se realizó en el Laboratorio de Fisiología y Anatomía Vegetal de la Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Sinaloa, ubicada en las coordenadas 24° 37' 29" latitud norte y 107° 26' 36" longitud oeste, con altitud de 38.5 msnm. Se utilizaron cámaras de crecimiento de 44 x 70 x 80 cm (largo, ancho y alto, respectivamente), con paredes de malla tejida con 16 x 16 monofilamentos cristalinos de polietileno de alta densidad por cm², costados revestidos con papel Mylar de alta reflectancia y sistema de iluminación con lámparas fluorescentes compactas, tipo espiral (FLE23HLX, General Electric, EE. UU.) de luz blanca fría (LBF: 6500 K), neutra (LBN: 4000 K) y cálida (LBC: 2700 K) y con un fotoperiodo de 12 h (Figura 1).



Figura 1. Cultivo *in vitro* de *Sclerotium rolfsii* en cámara de crecimiento con lámparas fluorescentes de luz blanca fría (izquierda), neutra (centro) y cálida (derecha).

Se realizaron mediciones espectrales de flujo de fotones, en el rango de 350 a 1050 nm a intervalos de 1 nm, con espectrorradiómetro (Field SpecPro[®] VNIR, ASD Inc., EE. UU.). A partir de los datos obtenidos en dichas mediciones, se determinaron las cantidades absolutas de luz azul

(A: 400 a 500 nm), luz roja (R: 600 a 700 nm) y luz roja lejana (RL: 700 a 800 nm); así como, las cantidades proporcionales de luz azul a roja (A: R), azul a roja lejana (A: RL), roja a azul (R: A) y roja a roja lejana (R: RL), en cada cámara de crecimiento (Cuadro 1).

Cuadro 1. Características espectrales de la luz emitida por lámparas fluorescentes de luz blanca fría (LBF), neutra (LBN) y cálida (LBC).

Parámetro/tipo de lámpara	LBF	LBN	LBC
A (400-500 nm) ^x	84.19	64.87	44.24
R (600-700 nm) ^x	81.34	100.44	118.03
RL (700-800 nm) ^x	31.79	33.93	36.28
A: R (400-500/600-700 nm) ^y	1.04	0.65	0.37
A: RL (400-500/700-800 nm) ^y	2.65	1.91	1.22
R: A (600-700/400-500 nm) ^y	0.97	1.55	2.67
R: RL (600-700/700-800 nm) ^y	2.56	2.96	3.25

A= luz azul; R= luz roja; RL= luz roja lejana; ^x= cantidades absolutas ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); ^y= proporcionales (adimensional).

Las temperaturas registradas con termohigrómetros data-logger (CM-DT171, Twilight, México), promediaron 24.7, 24.6 y 24.2 °C en las cámaras de LBF, LBN y LBC, respectivamente. El patógeno de *Sclerotium rolfsii* se obtuvo de la colección de hongos fitopatógenos de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Sinaloa. La siembra y purificación del patógeno se realizó en medio papa dextrosa agar (PDA), a una temperatura de 28 °C.

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con tres tratamientos (LBF, LBN y LBC) y diez repeticiones (una caja de Petri por repetición). Las variables de respuesta evaluadas fueron: crecimiento radial del hongo en medio PDA, el cual se midió cada 8 h con un vernier digital (6MP, Truper Herramientas, México), producción de esclerocios, la cual se obtuvo contando de manera visual los esclerocios en cada caja Petri, después de 10 días de exponerlos a la luz; así como la producción de biomasa del micelio, obtenida luego de separar el micelio del medio de cultivo, posteriormente fueron puestos en papel filtro, para depositarlos en horno (FE293AD, Felisa, México) a 70 °C de secado hasta peso seco constante, determinado con balanza analítica (SA120, Scientech, EE. UU). Los datos obtenidos fueron sometidos al análisis de varianza, comparación de medias con la prueba de Tukey (5%) y análisis de regresión lineal simple, mediante el paquete estadístico Minitab 16CA versión 7.0.

La calidad de luz emitida por las lámparas fluorescentes originó efectos significativos ($p \leq 0.05$) sobre el crecimiento radial de *Sclerotium rolfsii*. Así, después de 8 h de exposición a la luz (HEXL), el crecimiento del hongo, bajo la influencia de LBN y LBC, superó en los respectivos 9.01 y 6.56% al mencionado crecimiento del hongo que recibió LBF (Cuadro 2). Efectos semejantes se encontraron a las 16 y 24 HEXL, de tal forma que dicho crecimiento del hongo aumentó 14.02 y 7.48%, así como 13.87 y 19.34%, respectivamente. Al término de 32 HEXL los incrementos fueron de 11.69 y 19.08, a las 40 HEXL de 13.12 y 18.32, a las 48 HEXL de 13.03 y 29.06, a las 56 HEXL de 14.02 y 32.34 y a las 64 HEXL de 16.32 y 28.27%.

Cuadro 2. Influencia de la calidad de luz emitida por lámparas fluorescentes de luz blanca fría (LBF), neutra (LBN) y cálida (LBC) en el crecimiento radial de *Sclerotium rolfsii*.

Tratamientos	HEXL							
	8	16	24	32	40	48	56	64
	Crecimiento radial (mm)							
LBF	12.2 b*	21.4 b	27.4 b	32.5 b	44.2 b	49.9 c	53.5 c	61.9 c
LBN	13.3 a	24.4 a	31.2 a	36.3 a	50 a	56.4 b	61 b	72 b
LBC	13 ab	23 ab	32.7 a	38.7 a	52.3 a	64.4 a	70.8 a	79.4 a

HEXL= horas de exposición a la luz. * = medias con letras distintas en cada columna son significativamente diferentes (Tukey, $\alpha \leq 05$).

Estos resultados se pueden entender al considerar que existe evidencia científica que describe cómo la calidad de la luz en términos de longitud de onda juega un rol importante en el crecimiento y reproducción de los hongos. La luz azul inhibe directamente la germinación de esporas y el crecimiento del tubo germinativo en muchos hongos patógenos de plantas (Mueller y Buck, 2003; Beyer *et al.*, 2004). También, Yu *et al.* (2013) comprobaron que la luz azul afectó la germinación de conidios de *Oidium*, pero que esa calidad de luz es indispensable para mantener la virulencia del patógeno. Además, la irradiación de luz azul inhibió el crecimiento del micelio de *Aspergillus carbonarius* y *Aspergillus westerdijkiae* (Cheong *et al.*, 2016).

La producción de esclerocios de *S. rolfsii* también presentó diferencias significativas ($p \leq 0.05$) debidas a la calidad de luz emitida por las lámparas fluorescentes (Figura 2a), ya que el hongo cultivado bajo el efecto de LBC produjo el mayor número de esclerocios, seguido por LBN, los cuales superaron al hongo crecido bajo el efecto de LBF en 27.63 y 16.5%, respectivamente. Esto coincide con lo reportado por Schmidt-Heydt *et al.* (2011), ya que ellos señalan que la irradiación de luz azul inhibe la formación conidial de algunas cepas de *Aspergillus*. En cuanto a la producción de biomasa de micelio, la calidad de luz emitida por las lámparas fluorescentes también originó efectos significativos ($p \leq 0.05$), toda vez que el hongo cultivado en condiciones de LBF produjo 57.14% menos cantidad de biomasa, que con el manejo en LBN y LBC (Figura 2b).

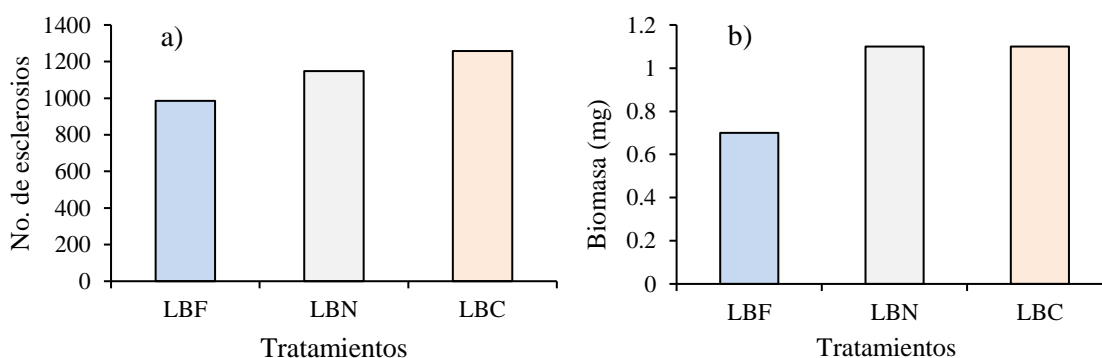


Figura 2. Influencia de la calidad de luz, emitida por lámparas fluorescentes de luz blanca fría (LBF), neutra (LBN) y cálida (LBC), en la formación de esclerocios (a) y biomasa de micelio (b) de *Sclerotium rolfsii* cultivado *in vitro*.

El análisis de regresión lineal simple entre la cantidad de luz azul (absoluta y proporcional) y el crecimiento radial, producción de esclerocios y biomasa de *S. rolfsii* en las tres tratamientos (LBF, LBN y LBC) indicó una relación negativa (Figura 3), de tal manera que las progresivas

disminuciones en la producción de esclerocios, crecimiento radial y producción de biomasa de *S. rolfsii* se explican en los respectivos 98.3, 98.8 y 73.3%, debido al efecto que ocasionaron los incrementos de luz azul absoluta (Figuras 3a, 3d y 3g); en 100, 100 y 82.7%, por causa de los incrementos en la proporción de luz azul con respecto a luz roja (Figuras 3b, 3e y 3h) y en 99.2, 99.5 y 76.7%, debido a los aumentos en la proporción de luz azul con respecto a la luz roja lejana (Figuras 3c, 3f y 3i), respectivamente.

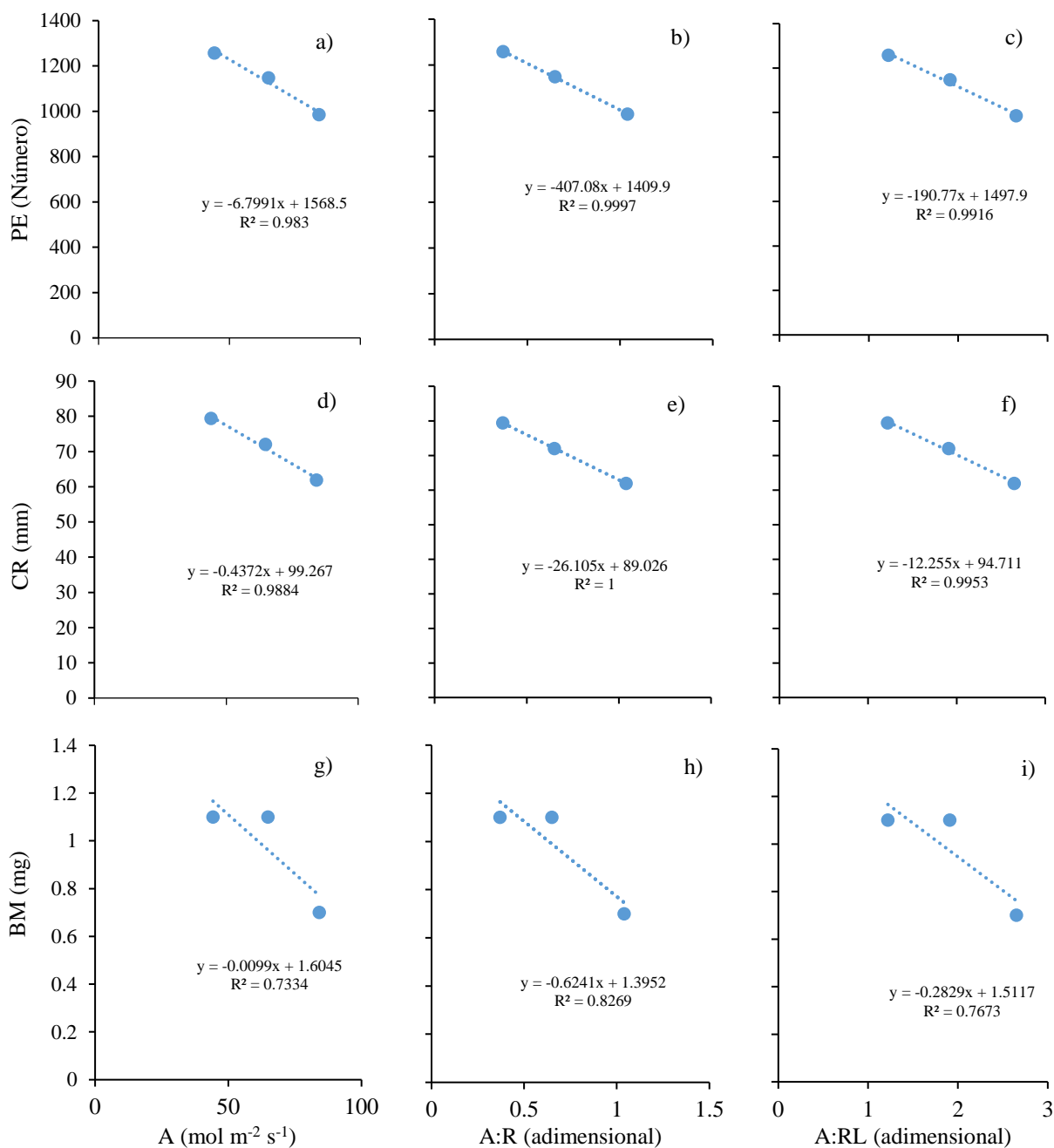


Figura 3. Interacción entre producción de esclerocios (PE), crecimiento radial de micelio (CR) y biomasa del micelio (BM) de *Sclerotium rolfsii* con cantidades absolutas de luz azul (A) y proporcionales con respecto a luz roja (A:R) y roja lejana (A:RL).

En la presente investigación se encontró que una cantidad mayor de luz azul, y menor de roja y roja lejana, originó efectos negativos sobre el crecimiento radial, la producción de esclerocios y biomasa de *S. rolfssii*.

La cantidad absoluta de luz azul, así como las cantidades proporcionales de luz azul con respecto a luz roja y roja lejana, variaron con LBF, LBN o LBC (Cuadro 1). Se encontró que la respuesta negativa sobre *S. rolfssii* fue directamente proporcional a la cantidad de luz azul en el ambiente e inversamente proporcional a la cantidad de roja y roja lejana, lo que sugiere que es la fracción azul del espectro luminoso y no la roja la que originó efectos negativos en el patógeno, respuesta que concuerda con lo reportado por Canessa *et al.* (2013) para *Botrytis cinerea* y Kim *et al.* (2011) para *Cercospora zae-maydis*.

La menor o mayor producción de esclerocios (Figuras 3a, 3b y 3c), así como la disminución o incremento del crecimiento radial (Figuras 3d, 3e y 3f) y biomasa de *S. rolfssii* (Figuras 3g, 3h y 3i) son respuestas que no tienen relación con las temperaturas presentadas en las tres diferentes cámaras, debido a que hubo variación máxima de 0.5 °C entre ellas.

Conclusiones

El espectro luminoso emitido por las lámparas fluorescentes influyó en el crecimiento de *Sclerotium rolfssii*, de tal manera que con luz blanca fría disminuyó el crecimiento radial, la producción de esclerocios y biomasa de micelio del fitopatógeno, mientras que dichas variables se incrementaron con luz blanca cálida, en comparación con lo que se indujo con luz blanca neutra y luz blanca fría.

Literatura citada

- Beyer, M.; Roding, S.; Ludewig, A. and Verreet, J. A. 2004. Germination and survival of *Fusarium graminearum* macroconidia as affected by environmental factors. *J. Phytopathol.* 152(2):92-97.
- Canessa, P.; Schumacher, J.; Hevia, M. A.; Tudzynski, P. and Larrondo, L. F. 2013. Assessing the effects of light on differentiation and virulence of the plant pathogen *Botrytis cinerea*: characterization of the white collar complex. *PLoS ONE.* 8(12):e84223.
- Cheong, K. K.; Strub, C.; Montet, D.; Durand, N.; Alter, P.; Meile, J. C.; Schorr Galindo, S. and Fontana, A. 2016. Effect of different light wavelengths on the growth and ochratoxin A production in *Aspergillus carbonarius* and *Aspergillus westerdijkiae*. *Fungal Biol.* 120(5):745-751.
- Dasgupta, A.; Fuller, K. K.; Dunlap, J. C. and Loros, J. J. 2016. Seeing the world differently: variability in the photosensory mechanisms of two model fungi. *Environ. Microbiol.* 18(1):5-20.
- Fuller, K. K.; Loros, J. J. and Dunlap, J. C. 2015. Fungal photobiology: visible light as a signal for stress, space and time. *Current Genetics.* 61(3):275-288.
- Idnurm, A. and Heitman, J. 2005. Light controls growth and development via a conserved pathway in the fungal kingdom. *PLoS Biol.* 3(4):e95.

- Kim, H.; Ridenour, J. B.; Dunkle, L. D. and Bluhm, B. H. 2011. Regulation of stomatal tropism and infection by light in *Cercospora zea-maydis*: evidence for coordinated host/pathogen responses to photoperiod?. PLoS pathogens. 7(7):e100213.
- Koh, K. J.; Bell, G. E.; Martin, D. L. and Walker, N. R. 2003. Shade and airflow restriction effects on creeping bentgrass golf greens. Crop Sci. 43(1):2182-2188.
- Meijer, G. and Leuchtman, A. 2000. The effects of genetic and environmental factors on disease expression (stroma formation) and plant growth in *Brachypodium sylvaticum* infected by *Epichloe Sylvatica*. Oikos. 91(3):446-458.
- Mueller, D. S. and Buck, J. W. 2003. Effects of light, temperature, and leaf wetness duration on daylily rust. Plant Dis. 87(4):442-445.
- Purschwitz, J.; Muller, S.; Kastner, C. and Fischer, R. 2006. Seeing the rainbow: light sensing in fungi. Current Opinion Microbiol. 9(6):566-571.
- Reuveni, R. and Raviv, M. 1997. Control of downy mildew in greenhouse-grown cucumbers using blue photoselective polyethylene sheets. Plant Dis. 81(9):999-1004.
- Schmidt-Heydt, M.; Rüfer, C.; Raupp, F.; Bruchmann, A.; Perrone, G. and Geisen, R. 2011. Influence of light on food relevant fungi with emphasis on ochratoxin producing species. Int. J. Food Microbiol. 145(1):229-237.
- Su, H.; Van Bruggen, A. H. C. and Subbarao, K. V. 2000. Spore release of *Bremia lactucae* on lettuce is affected by timing of light initiation and decrease in relative humidity. Phytopathology. 90(1):67-71.
- Yu, S. M.; Ramkumar, G. and Lee, Y. H. 2013. Light quality influences the virulence and physiological responses of *Colletotrichum acutatum* causing anthracnose in pepper plants. J. Appl. Microbiol. 115(2):509-516.