

Efecto del pH en la Sobrevivencia de Esclerocios de *Phymatotrichopsis omnivora* (Dugg.) Hennebert Expuestos a Soluciones Amortiguadoras, Ácido Acético y NaOCl

José Alfredo Samaniego-Gaxiola, INIFAP, Campo Experimental La Laguna, Blvd. José Santos Valdéz No. 1200 Pte., Col. Centro, Matamoros, Coahuila, México CP 27440.
Correspondencia: samaniego.jose@inifap.gob.mx; samafam@hotmail.com

(Recibido: Septiembre 11, 2007 Aceptado: Diciembre 4, 2007)

Samaniego-Gaxiola, J.A. 2008. Efecto del pH en la sobrevivencia de esclerocios de *Phymatotrichopsis omnivora* (Dugg.) Hennebert expuestos a soluciones amortiguadoras, ácido acético y NaOCl. Revista Mexicana de Fitopatología 26:177-179.

Resumen. *Phymatotrichopsis omnivora* limita la explotación de varios cultivos agrícolas en México y en los Estados Unidos, y no se cuenta con métodos prácticos para su manejo. Debido a que no es frecuente observar a este hongo causando daño evidente a las plantas en suelos con pH ácido, se estudió el efecto del pH sobre la supervivencia de esclerocios en: soluciones amortiguadoras (pH 4, 5, 6, 7 y 7.8); soluciones amortiguadoras adicionadas con 100, 500, 1000 y 3000 ppm de NaOCl; soluciones a 0, 25, 50 y 100 ppm de ácido acético; y en suelo inundado o sin inundar adicionado con ácido acético a 0, 2500, 5000, 10000, 25000 y 50000 ppm. Los tiempos de incubación de los esclerocios en las soluciones o suelos fueron desde un día hasta tres semanas a 28°C, excepto en las soluciones de NaOCl donde se incubó cuatro horas. En las soluciones amortiguadoras a pH 4 y 5 los esclerocios no sobrevivieron después de una semana, mientras que a pH 6, 7 y 7.8 sobrevivieron 100, 80 y 1% después de tres semanas, respectivamente. Los esclerocios fueron 100% viables en las soluciones o suelo adicionados con ácido acético. Un 20% de esclerocios sobrevivió a pH 6 y 1000 ppm de NaOCl.

Palabras clave adicionales: Hongos del suelo, fungistasis, ecología de microhongos.

Phymatotrichopsis omnivora (Duggar) Hennebert es un hongo que afecta gran diversidad de plantas en diferentes tipos de suelos, muchas de las especies afectadas son de importancia agrícola tanto en México como en Estados Unidos (Percy, 1983; Streets y Bloss, 1973). En este trabajo se evaluó la sobrevivencia de esclerocios de *P. omnivora* expuestos a soluciones amortiguadoras solas, soluciones amortiguadoras adicionadas con NaOCl y a soluciones de ácido acético.

Reproducción y manejo de los esclerocios. La reproducción y manejo de los esclerocios se realizó de acuerdo a la metodología descrita por Samaniego-Gaxiola (2008). En todas las soluciones o suelos donde permanecieron los esclerocios

Abstract. *Phymatotrichopsis omnivorous* is a limiting factor for the exploitation of several agricultural crops in Mexico and the United States, and there are not practical control methods. Since the fungus does not cause evident damage to plants in acid soils, a study was undertaken on the effect of pH on sclerotia survival in: buffers solutions (pH 4, 5, 6, 7 and 7.8); buffers solutions ammended with 100, 500, 1000, and 3000 ppm of NaOCl; solutions at 0, 25, 50, and 100 ppm of acetic acid; and in flooded or without flooded soil ammended with acetic acid at 0, 2500, 5000, 10000, 25000, and 50000 ppm. Sclerotia were incubated in the solutions or soils from one day up to three weeks at 28°C, with the exception in NaOCl solutions, where incubation lasted four hours. Sclerotia did not survive after one week in buffer solutions at pH 4 and 5, while at pH 6, 7, and 7.8 they survived 100, 80, and 1% after three weeks, respectively. Sclerotia were 100% viable in the solutions or soils ammended with acetic acid. A 20% of sclerotia survived in NaOCl solution at 1000 ppm and pH 6.

Additional keywords: Soilborne fungi, fungistasis, ecology of micro-fungi.

Abbreviated article.

Phymatotrichopsis omnivora (Duggar) Hennebert is a fungus that affects a great diversity of plants in different soil types, many of which are of agricultural importance in both Mexico and the United States (Percy, 1983; Streets and Bloss, 1973). In this study, the survival of sclerotia of *P. omnivora* exposed to buffer solutions, buffer solutions added with NaOCl, and acetic acid solutions was evaluated.

Reproduction and management of sclerotia. The reproduction and management of sclerotia was carried out according to the methodology described by Samaniego-Gaxiola (2008).

pH buffer solutions. In buffer solution at pH 4, 5, 6, 7, and 7.8 (Plummer, 1981), sclerotia of *P. omnivora* were immersed and incubated in periods of 1, 2, and 3 weeks at $28 \pm 1^\circ\text{C}$, then, they were extracted and their survival on non-sterile sand for one week at $28 \pm 1^\circ\text{C}$ was assessed. Sclerotia that were unable to form strand and / or to be invaded by other microorganisms were not considered viable. For each treatment (pH and incubation time) four replications were used, and for each

se hicieron cuatro repeticiones. Cuando se usaron soluciones, 10 mL de cada solución se depositaron en cada uno de cuatro viales, y cada vial contenía 25 esclerocios.

pH de soluciones amortiguadoras. En soluciones amortiguadoras a pH de 4, 5, 6, 7 y 7.8 (Plummer, 1981) fueron inmersos esclerocios de *P. omnivora* y se incubaron por periodos de 1, 2 y 3 semanas a $28 \pm 1^\circ\text{C}$. Luego se extrajeron y se evaluó su sobrevivencia al colocarlos en placas con arena no estéril durante una semana a $28 \pm 1^\circ\text{C}$. Se consideraron como esclerocios no viables aquéllos que no fueron capaces de formar cordones y/o estar invadidos por otros microorganismos. Por cada tratamiento (pH y tiempo de incubación) se hicieron cuatro repeticiones, y para cada repetición se usaron 25 esclerocios inmersos en 10 mL de cada solución amortiguadora dentro de viales de plástico de 25 mL, todos los viales fueron cerrados durante el período de incubación.

Esclerocios en soluciones de ácido acético. Soluciones de 0, 25, 50 y 100 ppm de ácido acético grado reactivo fueron preparadas, en ellas permanecieron inmersos los esclerocios por 1, 3, 7 y 14 días a $28 \pm 1^\circ\text{C}$ y luego se determinó su sobrevivencia. El pH de las soluciones con los esclerocios inmersos se midió a 1, 3, 7 y 14 días.

Ácido acético en suelo. En el fondo de vasos de poliuretano cilíndricos de 500 mL se depositaron 25 esclerocios y luego se adicionó 400 g de arena cernida en tamiz malla 16, enseguida se añadió 80 mL de una solución de ácido acético calculada para tener una concentración respecto al peso del suelo a razón de 0, 2500, 5000, 10000, 25000 y 50000 ppm; en este caso, el suelo permaneció saturado (tratamientos suelo no inundado) y fue incubado 14 días $28 \pm 1^\circ\text{C}$ antes de extraer los esclerocios y evaluar su sobrevivencia. Una serie idéntica de tratamientos se realizó, excepto porque después de añadir los 80 mL de la solución de ácido se añadió otros 80 mL de agua destilada, en este caso el suelo quedó inundado (tratamientos de suelo inundado). El pH del suelo se determinó al finalizar el período de incubación para estos tratamientos, para ello se realizó un extracto con agua destilada 2:1.

NaOCl en soluciones amortiguadoras. Hipoclorito de sodio grado doméstico Cloralex® (6%) se añadió a soluciones amortiguadoras de pH 4, 5, 6, 7 y 7.8 para dar una concentración de 100, 500, 1000 y 3000 ppm; en cada solución se mantuvieron inmersos 25 esclerocios durante cuatro horas a $28 \pm 1^\circ\text{C}$, luego se extrajeron y se evaluó su sobrevivencia.

Análisis de los datos. La sobrevivencia de los esclerocios se expresó como porcentaje y a sus valores se aplicó una transformación arco-seno. Cada experimento se analizó en un diseño completamente al azar y un arreglo factorial; las medias de tratamientos fueron separadas con DMS. El análisis estadístico se realizó con el programa SAS (SAS Institute, 1988).

Los esclerocios viables formaron cordones miceliales sin ser invadidos por otros hongos, o bien, formaron cordones durante o después de su invasión por otros microorganismos.

replicación 25 sclerotia immersed in 10 mL of each buffer inside plastic vials of 25 mL were used. All vials were closed during the incubation period.

Sclerotia in acetic acid solutions. Sclerotia survival was evaluated after immersion in acetic acid solutions at 0, 25, 50, and 100 ppm of grade reagent, after 1, 3, 7, and 14 days at $28 \pm 1^\circ\text{C}$. The pH of solutions with sclerotia was measured after 1, 3, 7, and 14 days incubation period.

Acetic acid in soil. At the bottom of glasses of polyurethane cylindrical 500 mL, 25 sclerotia were deposited and 400 g of sifted sand in mesh sieve 16 were added. Afterwards, 80 mL of a solution of acetic acid calculated to have a concentration on weight of soil at a rate of 0, 2500, 5000, 10000, 25000, and 50000 ppm were added. In this case, the soil stayed saturated (unflooded soil treatments) and was incubated 14 days at $28 \pm 1^\circ\text{C}$ after the sclerotia were removed and were evaluated their survival. In a series of identical treatments, the soil was flooded (flooded soil treatments) after adding 80 mL of the acetic acid solution another 80 mL of distilled water was added. The soil pH was determined at the end of the incubation period for each treatment, this was an extract with distilled water 2:1.

NaOCl in buffer solutions. Sodium hypochlorite degree domestic Cloralex® (6%) was added to buffer solutions pH 4, 5, 6, 7 and 7.8. For every concentration of NaOCl 100, 500, 1000 and 3000 ppm, 25 sclerotia stayed immersed in each solution for four hours at $28 \pm 1^\circ\text{C}$, then extracted and evaluated their survival.

Data analysis. A completely randomized design with a factorial arrangement was used for each experiment where percentage of sclerotia survival was subjected to arcin transformation. Mean comparison was performed by DMS and the statistical analysis with SAS (SAS Institute, 1988).

Viable sclerotia formed strands without being invaded by other fungi, during or after invasion by other microorganisms. Sclerotia were considered nonviable when invaded by microorganisms and were not able to form strands. Sclerotia were commonly invaded by bacteria and fungi, around and over them.

pH buffer solutions. The pH of buffer solutions with sclerotia stayed almost at its initial level even after three week incubation, although, statistically a change was detected as a function of time in the solution at pH 6. The average values of pH buffer in all solutions ranged from 0.01 to 0.05. Sclerotia were not viable at pH 4 and 5, and their survival started to decrease after the second week at pH 7 and 7.8; at pH 7.8 survival was almost zero during the third week. On the other hand, at pH 6 sclerotia survival stayed almost 100%. Statistical analysis indicated that sclerotia survival was affected by pH, time and by their interaction.

Sclerotia in acetic acid solutions. The initial pH of distilled water was about 5.5, and did not had variations statistically different until day 7; by day 14, the pH reached a value of 4.5, statistically lower (DMS $p < 0.001$). At the beginning of treatments with acetic acid, the pH was 4.25 and 3.60 at 25

Los esclerocios se consideraron no viables cuando fueron invadidos por microorganismos y no lograron formar cordones miceliales. Los esclerocios fueron comúnmente invadidos por bacterias y hongos alrededor y sobre ellos.

pH con soluciones amortiguadoras. Las soluciones amortiguadoras con los esclerocios mantuvieron el pH casi en su nivel inicial aún después de tres semanas; aunque estadísticamente se detectó cambio en función del tiempo, debido a la variación en la solución de pH 6. Los valores promedio de pH en todas las soluciones amortiguadoras variaron entre 0.01 a 0.05. Los esclerocios no fueron viables a pH 4 y 5, y su sobrevivencia empezó a disminuir a partir de la segunda semana a pH 7 y 7.8, hasta alcanzar una sobrevivencia casi de cero a la tercera semana en el caso de pH 7.8; por el contrario, en pH 6 la sobrevivencia se mantuvo casi en 100%. El análisis estadístico indicó que la sobrevivencia de los esclerocios fue afectada por el pH, el tiempo y la interacción de ambos.

Esclerocios en soluciones de ácido acético. El pH inicial del agua destilada fue alrededor de 5.5, éste se mantuvo con variaciones no estadísticamente distintas hasta el día 7, pero para el día 14 el pH alcanzó un valor de 4.5 que fue estadísticamente menor (DMS $p < 0.001$). Al inicio de los tratamientos de ácido acético el pH fue de 4.25 y 3.60 a 25 y 100 ppm de ácido añadido, respectivamente; en todos estos tratamientos inicialmente el pH viró tendiente a la neutralidad, pero después del día siete tuvo un cambio con tendencia hacia la acidez, indicando que los cambios de pH estuvieron con relación a la concentración del ácido, el tiempo de incubación y su interacción. La sobrevivencia de los esclerocios desde el día 1 hasta el 14 y desde 0 hasta 100 ppm de ácido añadido fue de 100%.

Ácido acético en suelo. Se detectó diferencia altamente significativa en la respuesta en pH del suelo inundado y no inundado a la adición de ácido acético y sólo diferencia significativa a la concentración del ácido añadido; de tal manera que el ácido neutralizó más el suelo inundado que en el no inundado con una diferencia de 0.6 unidades en el tratamiento de 50 mil ppm de ácido añadido. En el suelo inundado los valores promedio de pH por tratamiento de ácido añadido tuvieron menor variación que sus correspondientes en el suelo no inundado. Los esclerocios sobrevivieron por completo después de permanecer en ambos suelos adicionados con todas las dosis de ácido acético; no obstante, los esclerocios que permanecieron en suelo a 10 mil ppm de ácido acético en suelo sin inundar germinaron y lograron crecer los cordones sobre la pared de los vasos. Los esclerocios que permanecieron a 50 mil ppm de ácido acético en suelo inundado se fusionaron generando masas que fueron capaces de germinar.

NaOCl en soluciones amortiguadoras. En las soluciones amortiguadoras (pH 4 a 7.8) el pH cambió al añadir NaOCl este cambio fue significativo $p < 0.001$. En todos los tratamientos

y 100 ppm, respectivamente. In all these treatments, the pH changed towards neutrality, but after the 7th day pH had a change towards acidity, indicating that pH changes were related to acid concentration, incubation time, and their interaction. Sclerotia survival was 100% from day 1 to 14 and at 0 to 100 ppm of acid added.

Acetic acid in soil. A highly significant difference was detected in the response of flooded and nonflooded soil to the addition of acetic acid, and only a significant difference to acid concentration. Flooded soil was more neutralized by acetic acid than nonflooded, with a difference of 0.6 units in the treatment with 50,000 ppm of acid added. pH values had less variations in flooded soil than in nonflooded. Sclerotia survival was 100% in both soils at all rates of acetic acid, but those in nonflooded soil at 10,000 ppm of acetic acid germinated and produced strands over the containers walls. Sclerotia at 50,000 ppm of acetic acid in flooded soil, fused and generated masses that were able to germinate.

NaOCl in buffer solutions. In the buffer solution (pH 4 to 7.8), the pH changed by adding NaOCl; this change was significant at $p < 0.001$. In all solutions with 3000 ppm of NaOCl, sclerotia did not survive, neither at pH 4 and 5 nor at any concentration of NaOCl. Sclerotia survival occurred only at 1000 ppm of NaOCl at pH 6, 7 and 7.8; percentage germination was 19, 80, and 58%, respectively.

End of the abbreviated article.

con 3000 ppm de NaOCl los esclerocios no sobrevivieron, tampoco lo hicieron a pH 4 y 5 en ninguna concentración de NaOCl; y únicamente en el tratamiento con 1000 ppm de NaOCl lograron sobrevivir a pH 6, 7 y 7.8, registrándose valores de 19, 80 y 58%, respectivamente.

LITERATURA CITADA

- Percy, R.G. 1983. Potential range of *Phymatotrichum omnivorum* as determined by edaphic factors. Plant Disease 67:981-983.
- Plummer, T.D. 1981. An Introduction to Practical Biochemistry. McGraw-Hill Book Co. London, UK. 345 p.
- Samaniego-Gaxiola, J.A. 2008. Efecto del pH en la sobrevivencia de esclerocios de *Phymatotrichopsis omnivora* (Dugg.) Hennebert expuestos a Tilt y *Trichoderma* sp. Revista Mexicana de Fitopatología 26:32-39.
- SAS Institute, Inc. 1988. SAS/STAT user's guide. Release 6.03 edition. SAS Institute. Cary, North Carolina, USA. 1028 p.
- Streets, R.B., and Bloss, H.E. 1973. *Phymatotrichum* root rot. Phytopathological Monograph 8, American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota, USA. 38 p.