

EFECTO DEL ESTRÉS POR SEQUÍA EN EL DESARROLLO DE LA ANTRACNOSIS EN TRES ECOTIPOS DE *Stylosanthes* spp.

Luis E. Nuñez *

Jillian M. Lenné**

José M. Toledo **

COMPENDIO

En condiciones de invernadero, se evaluó el efecto del estrés por sequía sobre la incidencia y severidad de antracnosis, causada por *C. gloesporioides* en *S. guianensis* var. *guianensis* CIAT 136, var. *pauciflora* CIAT 1283 y *S. capitata* CIAT 1315; al mismo tiempo se estudió las diferentes respuestas morfológicas y fisiológicas de los tres ecotipos bajo déficit de agua en el suelo y presión del patógeno. Los ecotipos de *Stylosanthes* estudiados no solo toleran la deshidratación (- 26 bares) sino también exhiben importantes mecanismos de adaptación morfológica que tienden a evitarla. El efecto aditivo del estrés causado por antracnosis en condiciones de sequía, afectó la persistencia de los ecotipos de *Stylosanthes* spp. más susceptibles.

ABSTRACT

Under glasshouse conditions, the effect of drought stress on the incidence and severity of antracnosis, caused by *C. gloesporioides*, in *S. guianensis* var. *guianensis* CIAT 136, var. *pauciflora* CIAT 1283 and in *S. capitata* CIAT 1315 was evaluated; at the same time, the different morphological and physiological response of the three ecotypes under deficiency of water in the soil and pathogen pressure were studied. The ecotypes of *Stylosanthes* studies not only tolerate dehydration (- 26 bares) but also showed important mechanisms of morphological adaptation that they have to avoid it. The additive effect of stress caused by antracnose in drought conditions affected the persistence of more susceptible ecotypes.

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

** Centro Internacional de Agricultura Tropical-CIAT. A.A. 6713, Cali.

1. INTRODUCCION

La acidez excesiva, la toxicidad del aluminio y la baja fertilidad de los suelos de los ecosistemas de sabana (caracterizados por una evapotranspiración potencial total entre 910- 1060 mm durante la temporada lluviosa y por una temporada seca de 4- 6 meses) limitan la productividad ganadera. Sumada a las malas características químicas de estos suelos, la falta de agua durante la estación seca, disminuye severamente la producción de carne, primordialmente por la falta de forraje. De ahí la importancia de programas encaminados a seleccionar cultivares de gramíneas y leguminosas que puedan adaptarse a suelos pobres y mantener la calidad del forraje bien entrada la temporada seca.

La antracnosis, causada por *Colletotrichum gloeosporioides*, origina considerables pérdidas en la producción de forraje de las especies de *Stylosanthes*, leguminosas promisorias para suelos ácidos e infértiles del trópico, siendo difícil de controlar porque se desarrolla en un amplio rango de condiciones ambientales. Existe evidencia de que la severidad de la antracnosis, como la de varios patógenos, se relaciona con las características específicas de cada ecosistema. En ensayos regionales efectuados en el CIAT, accesiones de *S. guianensis*, que son afectadas ligeramente por antracnosis en ecosistemas de bosque, son altamente susceptibles en ecosistemas de sabana (Lenné, 4).

En el presente trabajo se pretende obtener mayor información sobre la ecología de *C. gloeosporioides* para conocer el efecto del déficit hídrico (común en la estación seca de los ecosistemas de sabana) sobre el desarrollo de la enfermedad en tres ecotipos promisorios de *Stylosanthes* spp.; estudiar las respuestas morfológicas y fisiológicas de las tres accesiones de *Stylosanthes* en condiciones de sequía y el efecto de la interacción antracnosis déficit de agua sobre el comportamiento, desarrollo y producción final de forraje.

2. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

2.1. Diseño experimental.

El estudio se realizó en el Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), utilizando un diseño experimental completamente al azar, con una estructura factorial de (3 x 2 x 5 x 4): 3 ecotipos (*S. guianensis* CIAT 136 x I. 1982 Schofield del Perú, *S. guianensis* CIAT 1283 x I. 2245 CPAC del Brasil y *S. capitata* CIAT 1315 x I. 2261 CPAC del Brasil), 2 concentraciones del inóculo (sin inóculo y 1×10^6 esporas/ml), 5 niveles de humedad (100, 50, 25, 12.5 y 6.25 o/o de capacidad de campo) y 4 repeticiones.

Se sembraron cinco plántulas por pote (2 kg), para dejar después de un raleo a los 30 días, las tres plantas más uniformes.

En la fase inicial de pre-inoculación ó establecimiento del experimento los potes con suelo de Santander de Quilichao fueron mantenidos a 100 o/o de capacidad de campo y en un régimen de fertilización específico, utilizando la solución nutritiva de Arnon y Hoaglands, modificada para ensayos de invernadero.

Los aislamientos más patogénicos de *C. gloeosporioides* de 14 días de edad, se inocularon en plantas de tres meses.

Después de la inoculación cada pote se sometió al nivel ó tratamiento de humedad correspondiente, calculados según las siguientes formulas:

$$100 \text{ o/o cc} = \text{riegos hasta peso húmedo en cc} + \delta$$

$$50 \text{ o/o cc} = \text{riegos hasta peso húmedo} \left[\frac{(pcc - ps)}{2} + ps \right] + \delta$$

$$25 \text{ o/o cc} = \text{riegos hasta peso húmedo} \left[\frac{(pcc - ps)}{4} + ps \right] + \delta$$

$$12.5 \text{ o/o cc} = \text{riegos hasta peso húmedo} \left[\frac{(pcc - ps)}{8} + ps \right] + \delta$$

$$6.25 \text{ o/o cc} = \text{riegos hasta peso húmedo} \left[\frac{(pcc - ps)}{16} + ps \right] + \delta$$

donde pcc = Peso húmedo a capacidad de campo,

ps = peso seco total y

δ = factor de corrección por peso de plantas.

En la segunda fase ó período de post-inoculación, que se inició con el ajuste de cada unidad experimental al tratamiento de humedad correspondiente, por medio de pesajes diarios se conservaron los niveles de humedad y se analizaron aspectos anatómicos, fisiológicos y patológicos de los ecotipos de *Stylosanthes* spp.

2.2. Variables estudiadas.

Para caracterizar anatómicamente las plantas (descripción, tamaño y número de estomas) se examinaron al microscopio réplicas exactas de la superficie foliar, obtenidas de impresiones de hojas bien desarrolladas asperjadas

con un líquido acrílico (Kyrilon).

Los aspectos fisiológicos considerados fueron la resistencia estomática y la variación del potencial de agua foliar. La resistencia estomática (R_e) se evaluó en el haz y envés utilizando un porómetro automático (automatic porometer MK3, Delta-T devices AP3), calibrado de tal manera que las lecturas obtenidas se pudieran convertir en unidades de resistencia estomática (seg/cm). La variación del potencial de agua foliar (Ψ_f) en función del tiempo, se midió utilizando una bomba de presión PMS, provista de una cámara y un sistema de compresión. Las evaluaciones fueron semanales, cuidando de seleccionar hojas con lesiones.

El efecto del estrés por sequía sobre el desarrollo y severidad de antracnosis se evaluó con base en el número de hojas afectadas y folíolos caídos y cuantificando el daño, utilizando la siguiente escala: 0 (sin daño), 1 (daño muy leve, pocas lesiones pequeñas en hojas), 2 (daño leve, número moderado de lesiones pequeñas en hojas y tallos), 3 (daño moderado, número moderado de lesiones pequeñas y grandes en hojas y tallos pero poca defoliación), 4 (daño severo, muchas lesiones grandes y confluentes en hojas y tallos, mucha defoliación) y 5 (planta muerta).

El efecto de la interacción déficit de agua-antracnosis sobre el comportamiento y desarrollo de *Stylosanthes* spp, se determinó con base en la producción de materia seca (parte aérea, raíz y hojas) y área foliar después de cosecha.

3. RESULTADOS Y DISCUSION

Grandes diferencias de densidad estomática, caracterizaron claramente a cada ecotipo (Cuadro 1). *S. capitata* CIAT 1315 con el menor número de estomas por unidad de área foliar, presentó el mayor tamaño de estomas; en contraste *S. guianensis* CIAT 136 manifestó la mayor densidad estomática y al mismo tiempo estomas de menor tamaño.

Las diferentes respuestas fisiológicas y morfológicas al estrés hídrico en los tres ecotipos de *Stylosanthes* se relacionaron con algunas características estomáticas de la planta. Las características de los estomas asociadas a la resistencia de difusión (de vapor de agua) juegan papel importante en la adaptación de las plantas a condiciones secas (El-Sharkawy, 3). La densidad estomática estuvo directamente relacionada con la resistencia estomática (Cuadro 2). En condiciones de estrés por sequía, las especies de *Stylosanthes* con mayor densidad estomática manifestaron la mayor resistencia de difusión y por lo tanto, alta sensibilidad estomática a la humedad del suelo.

Cuadro 1

Densidad estomática (mm^2) en haz y envés de tres ecotipos de *Stylosanthes* spp.

Ecotipo	Haz	Envés
S. g. c. CIAT 136	307 \pm 63*	546 \pm 111
S. g. t CIAT 1283	266 \pm 25	328 \pm 79
S. c CIAT 1315	160 \pm 21	182 \pm 30

* Los valores son medias \pm desviación standart.

Cuadro 2

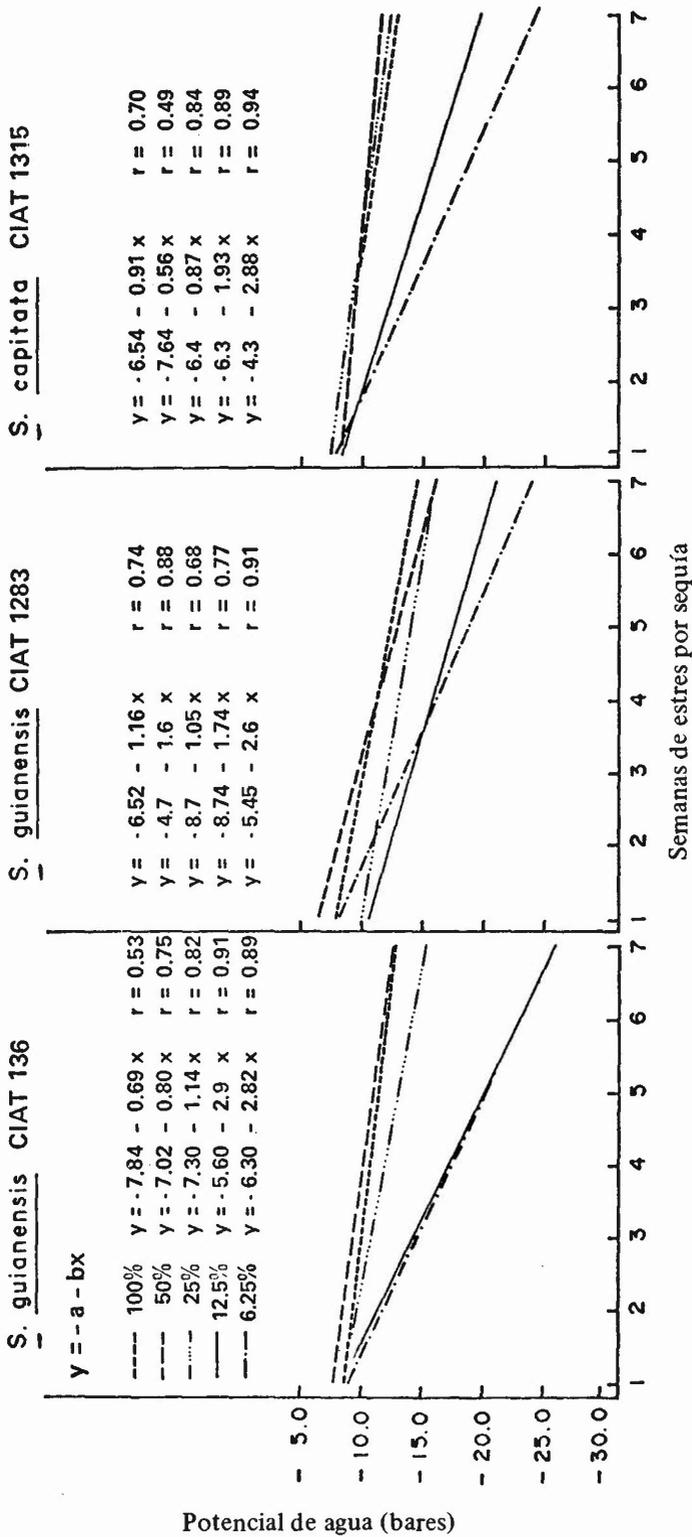
Relación entre la resistencia estomática (Re) promedia en el haz y envés de plantas sanas, en condiciones de diferentes niveles de humedad en el suelo y la densidad estomática en tres ecotipos de *Stylosanthes* spp.

Nivel de Humedad	Resistencia estomática ($\text{seg.} \cdot \text{cm}^{-1}$)					
	S. g. CIAT 136		S. g. CIAT 1283		S. c. CIAT 1315	
	Haz	Envés	Haz	Envés	Haz	Envés
100	7.4	21	6.3	17	5.0	9.0
50	7.0	29	8.0	10	5.0	9.0
25	55.0	82	29.0	60	13.0	16.0
12.5	49.0	107	68.0	67	25.0	68.0
6.25	89.0	98	83.0	100	28.0	54.0
Densidad estomática	307	546	266	328	161	180

Las especies de *Stylosanthes* con mayor número de estomas por mm² (*S. guianensis* CIAT 136 y CIAT 1283) pueden reaccionar rápidamente al déficit de agua en el suelo mediante un significativo cierre de estomas y alta Re, lo cual constituye un importante mecanismo de adaptación de la planta a condiciones secas; desafortunadamente la mayor Re disminuye la actividad metabólica y por consiguiente la producción de forraje. En contraste, *S. capitata* CIAT 1315, por la menor densidad estomática, posee menor capacidad de reaccionar a la sequía mediante una alta Re; pero en cambio, exhibe otros mecanismos de adaptación muy efectivos; la menor Re de *S. capitata* en condiciones de estrés por sequía, permite a la planta realizar alguna actividad fotosintética en favor de la producción de forraje.

Las plantas de los tres ecotipos de *Stylosanthes* mostraron el mismo patrón de variación de potencial hídrico foliar (Ψ_f) a través del tiempo (Figura 1). No se observaron diferencias significativas en velocidad de disminución de Ψ_f entre los ecotipos; no obstante, los valores de Ψ_f de *S. capitata* CIAT 1315 fueron 2 a 3 bares más altos que los exhibidos por *S. guianensis* CIAT 136 y CIAT 1283. Los tres ecotipos de *Stylosanthes* en general manifestaron tolerancia a la sequía, exhibiendo Ψ_f muy bajos (- 26 bares, promedio a 6.25 o/o cc). Estos datos son consistentes con los hallados en otras especies perennes de *Stylosanthes* (Williams y Gardener, 6). *S. guianensis* CIAT 136 no solo tolera la deshidratación, sino que también exhibe importantes mecanismos de adaptación que tienden a evitarla o retardarla, ya sea reduciendo el área foliar mediante acelerada defoliación y manifestando alta resistencia de difusión estomática. Tales estrategias de adaptación encaminadas a reducir el uso y las pérdidas de agua en condiciones de sequía, también redujeron el crecimiento y desarrollo de la planta. *S. guianensis* CIAT 1283 y *S. capitata* CIAT 1315 principalmente, fueron menos susceptibles a la defoliación y más tolerantes a la desecación. Estas características de adaptación habilitan a la planta a tolerar períodos de estrés por sequía prolongados. *S. capitata* mediante el movimiento de las hojas (parahelionastia) reduce las pérdidas de agua y por lo tanto puede conservar Ψ_f ligeramente altos en condiciones de sequía.

Como el grado de tolerancia a la sequía está más asociado con el medio en el cual las plantas se han adaptado, que con los grupos taxonómicos (Ludlow, 5), entonces esto explicaría en parte el comportamiento frente al estrés hídrico de los ecotipos ya que ellos difieren en rangos de adaptación climática (Burt y Reid, 2). Mientras que *S. guianensis* CIAT 136 fue recolectado en el Departamento del Meta (Colombia) con una época lluviosa (2200 mm/año) de aproximadamente 8 meses de duración; *S. guianensis* CIAT 1283 y *S. capitata* CIAT 1315 fueron recolectados en el estado de



DMS ($P < 0.05$) 0.83 bares, entre medias ($n = 4$) de pendientes lineales (velocidad de disminución del potencial de agua a través del tiempo).

Fig. 1. Variación del potencial hídrico foliar (bares) durante siete semanas en horas de la mañana, en plantas sanas de tres eco-tipos de *Stylosanthes* spp.; sometidas a cinco niveles de humedad en el suelo.

Maranhao (Brasil) con 6 meses de lluvia (1400 mm/año). Según lo anterior, la diferencia en tolerancia a la sequía dentro de las especies, puede estar relacionada con el sitio de adaptación; pero entre las especies, la variabilidad genética explica mejor el diferente comportamiento a las condiciones ambientales adversas.

El efecto del déficit de agua en el suelo sobre la producción fue significativo; contenidos de humedad en el suelo por debajo de 50 o/o cc reprimen severamente el crecimiento total de la planta.

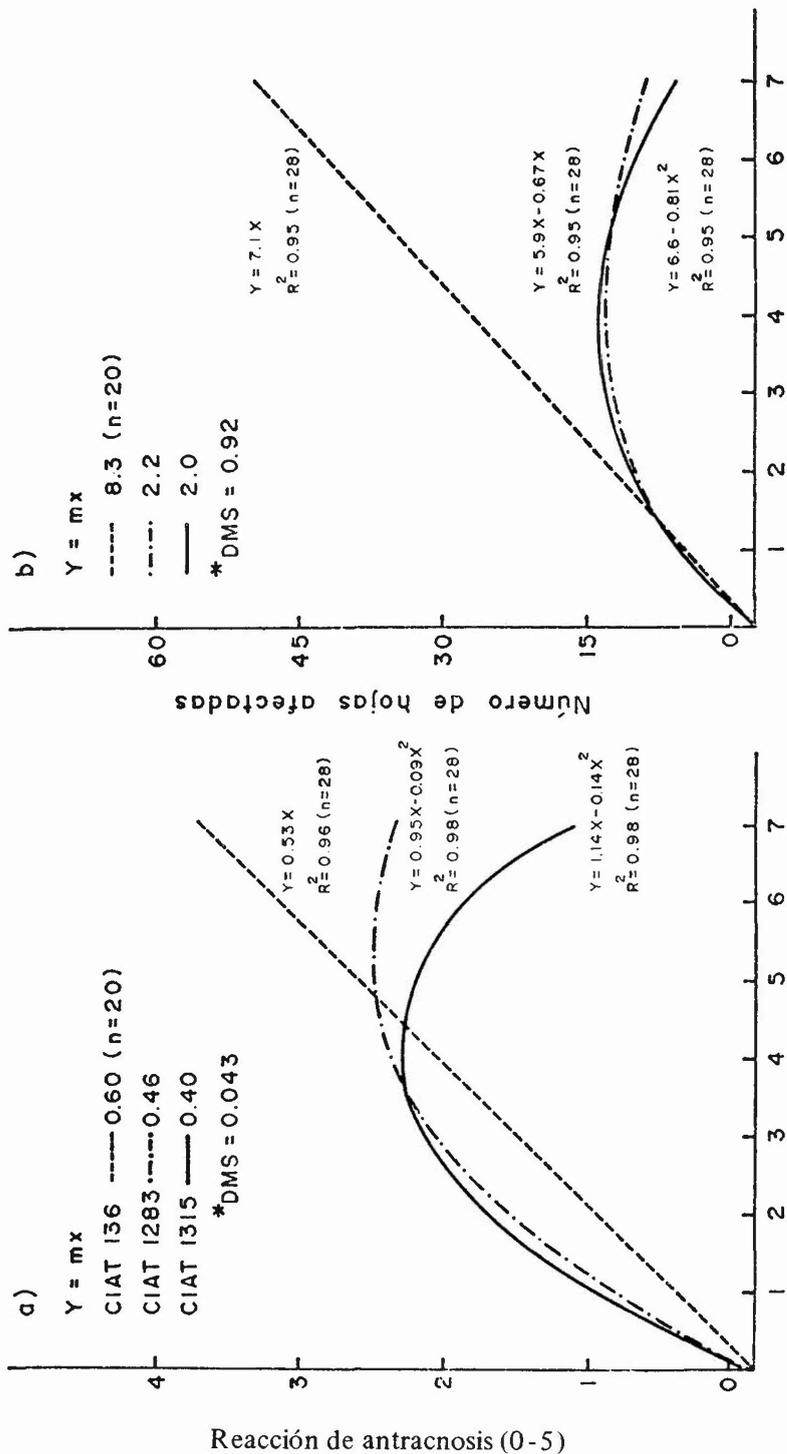
Las pérdidas de producción de forraje (peso seco parte aérea) fueron superiores al 70 o/o en los tres ecotipos de *Stylosanthes* sometidos a déficit de agua severo (6.25 o/o cc).

La incidencia y severidad de antracnosis varió a través del tiempo según el grado de susceptibilidad ó tolerancia del material a la enfermedad *S. guianensis* var. *guianensis* CIAT 136 mostró las mayores tasas de infección, seguido de *S. guianensis* var. *pauciflora* CIAT 1283 y *S. capitata* 1315 (Fig 2).

El desarrollo de la enfermedad en los diferentes niveles de humedad varió con el tiempo dentro de cada ecotipo (Figura 3); no se presentaron diferencias significativas en tasas de desarrollo de la infección entre plantas bien regadas y estresadas de *S. guianensis* CIAT 136 y *S. capitata* CIAT 1315; por el contrario el desarrollo de la antracnosis en *S. guianensis* CIAT 1283 fue claramente afectado por los niveles de humedad, siendo menor a mayor déficit de agua.

El estrés por sequía no fue factor de predisposición para el mayor desarrollo de la antracnosis, pero influyó en la interacción patógeno-hospedante. La muerte del 75 o/o de las plantas enfermas y estresadas de *S. guianensis* CIAT 136 sugiere que existe efecto aditivo del estrés causado por el déficit de agua y el de la enfermedad. La magnitud del daño de los efectos combinados de estos dos factores depende del grado de tolerancia ó susceptibilidad del hospedante.

Las diferentes respuestas de los ecotipos de *Stylosanthes* al déficit fueron alteradas por *C. gloeosporioides*, el cual indujo algunos trastornos fisiológicos (menor potencial de agua foliar) que afectaron las relaciones de agua en la planta. La mayor represión del desarrollo radicular en plantas con antracnosis, reduce la capacidad del sistema radicular para absorber solutos inorgánicos y sintetizar ciertas hormonas (citolininas, ácido abscísico, etc) que son necesarias para la osmoregulación (Ayres, 1). Lo cual repercute limitando el desarrollo de las plantas con buen suministro de agua en el suelo y atenta contra la supervivencia de la especie en condiciones de



Semanas después de inoculación

*DMS ($P < 0.05$) entre pendientes lineales (m) de reacción y número de hojas durante las primeras cinco semanas.

Fig. 2 Desarrollo de antracosis *C. gloeosporioides* (a) y número de hojas afectadas (b) a través del tiempo; en tres ecotipos de *Stylosanthes* spp., *S. guianensis* CIAT 136 (-----), *S. guianensis* CIAT 1283 (- · - · -) y *S. capitata* CIAT (———).

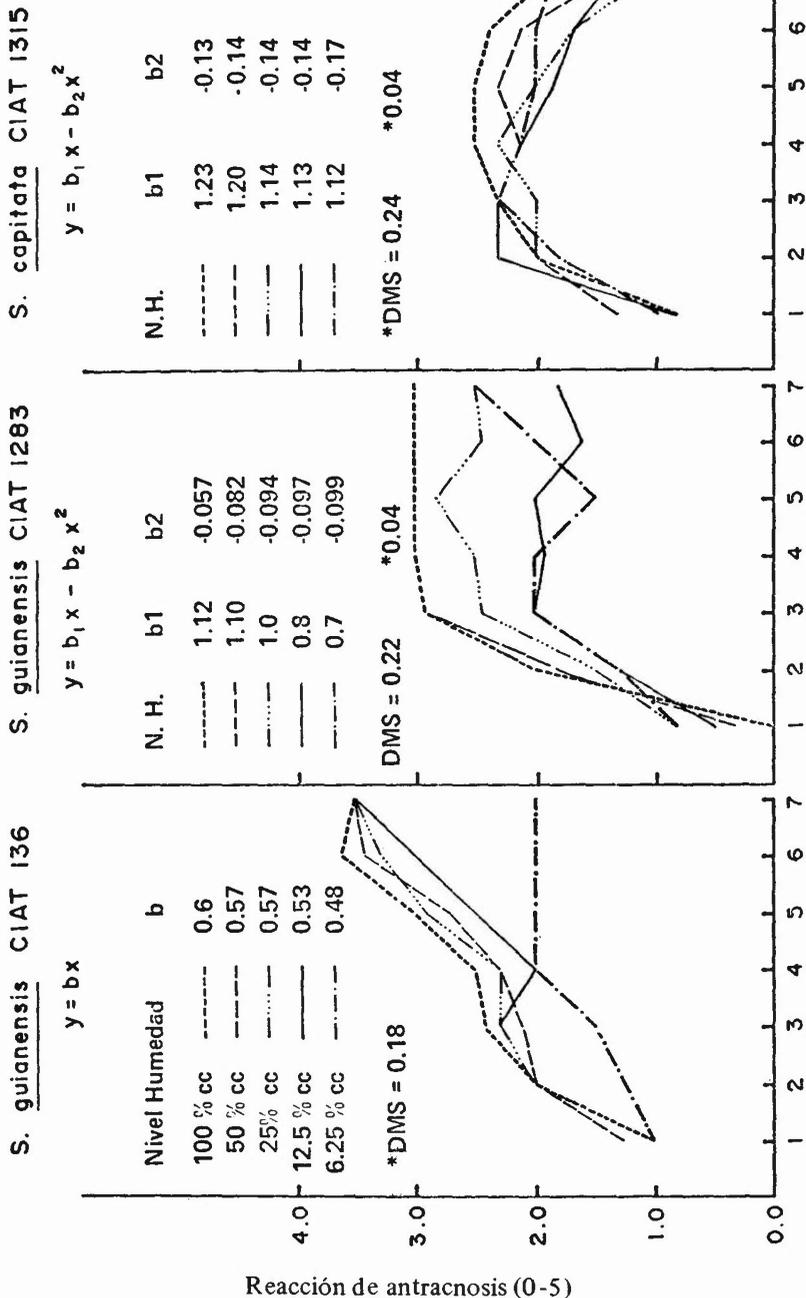


Fig. 3 Efecto del contenido de humedad en el suelo sobre el desarrollo de infección activa de antracnosis, a través del tiempo, en tres ecotipos de *Stylosanthes* spp. Los coeficientes que aparecen en la margen superior son las pendientes (reacción/semana) de un modelo lineal para *S. guianensis* CIAT 136 y cuadrático para *S. guianensis* CIAT 1283 y *S. capitata* CIAT 1315.

Cuadro 3

Pérdidas de producción (MS) de parte aérea, raíces, hojas, área foliar y número de hojas; debidas a diferentes tratamientos de estrés hídrico, expresadas en porcentaje con respecto a los testigos a 100 o/o de capacidad de campo de tres ecotipos de *Stylosanthes* spp.

Ecotipo	Nivel de Humedad o/o cc	Peso seco (Y)			Área foliar	No. hojas
		Parte aérea	Raíz	Hojas		
S. guianensis CIAT 136	*100	10.1	7.0	4.4	290	447
		o/o Reducción				
	50	8	9	21	18	12
	25	38	34	43	35	28
	12.5	67	59	75	61	61
	6.25	70	57	73	54	58
S. guianensis CIAT 1283	*100	10.8	4.9	5.0	292	629
		o/o Reducción				
	50	11	25	18	19	8
	25	38	59	32	30	2
	12.5	58	69	66	62	52
	6.25	76	71	74	64	66
S. capitata CIAT 1315	*100	6.7	3.0	3.0	308	437
		o/o Reducción				
	50	9.0	17	0	12	1
	25	33	20	33	48	22
	12.5	66	37	63	65	50
	6.25	76	53	77	77	63

$$\text{o/o Reducción} = \frac{\text{Psy sin l. 100 o/o cc} - \text{Psy sin l. (X)}}{\text{Psy sin l. 100 o/o cc}} \times 100$$

Ps = Peso seco

Y = Variable de producción

l = Inóculo

* Valores peso seco (g) de plantas sanas mantenidas a 100 o/o de capacidad de campo

Cuadro 4

Porcentaje de pérdidas de materia seca, raíz, parte aérea, hojas y área foliar atribuible a *C. gloeosporioides* en tres accesiones de *Stylosanthes* spp. sometidas a cinco niveles de humedad en el suelo, con respecto a los testigos a 100 o/o de capacidad de campo

Ecotipo	Nivel humedad	Peso seco			
		Aéreo	Raíz	Hojas	área foliar
sgc 136	100	15	23	32	31
	50	27	26	36	43
	25	12	16	21	25
	12.5	4	4	5	10
	6.25	5	9	22	35
sgt 1283	100	16	45	10	12
	50	14	16	4	4
	25	9	0	14	14
	12.5	12	0	4	0
	6.25	0	4	8	11
sc 1315	100	46	40	47	58
	50	31	10	37	31
	25	18	3	20	14
	12.5	9	3	17	17
	6.25	8	7	16	15

$$\text{o/o Pérdidas por antracnosis} = \frac{\text{Psy sin l (X)} - \text{Psy con l (X)}}{\text{Psy sin l a 100 o/o cc}} \times 100$$

Ps = Peso seco

Y = Variable de producción

X = Nivel de humedad

l = Inóculo

estrés por sequía.

La mayor defoliación promovida por la antracnosis además de reducir el desarrollo y el rendimiento, representa un problema serio para las especies que retienen efectivamente su follaje durante prolongados períodos de sequía.

El déficit de agua en el suelo es el principal, pero no el único factor responsable de la reducción de la producción (Cuadros 3 y 4).

4. CONCLUSIONES

- 4.1. Las especies forrajeras estudiadas son capaces de competir en condiciones de estrés por sequía mediante varias estrategias de adaptación, que permiten tolerar y prevenir la deshidratación.
- 4.2. El déficit hídrico disminuye notoriamente la producción de forraje en los tres ecotipos de *Stylosanthes*; no obstante los mecanismos de adaptación a la sequía exhibidos por ellos, tales como la baja sensibilidad a la defoliación y desecación, la parahelionastia.
- 4.3. *S. capitata* CIAT 1315 y *S. guianensis* CIAT 1283, más tolerantes a la desecación y menos susceptibles a la defoliación, están mejor adaptados que *S. guianensis* CIAT 136, para persistir durante períodos de sequía prolongados.
- 4.4. El estrés por sequía no tuvo mucho efecto sobre la incidencia y severidad de *C. gloeosporioides*, pero los resultados indican que el patógeno una vez establecido en el hospedante puede sobrevivir y aún desarrollarse a potenciales hídricos foliares muy bajos (- 21 bares).
- 4.5. La disminución del desarrollo radicular y aéreo en las plantas estresadas se debió esencialmente al déficit hídrico y en menor porcentaje (5-10 o/o) a la antracnosis.

5. BIBLIOGRAFIA

1. AYRES, G. P. Water relations of diseased plants. In: Kozłowski, T. T. (ed). Water deficits and plant growth. New York, Academic Press, 1978. v.5.
2. BURT, R. L.; REID, R. Exploration for and utilization of collections of tropical pasture legumes. III. The distribution of various *Stylosanthes* species with respect to climate and phytogeographic regions. Agro-ecosystems v. 2, p. 319-327, 1976.

3. EL-SHARKAWY, M. A. et al. Stomatal response to air humidity and its relations to stomatal density in a wide range of warm climate species. *Photosynthesis Research* v. 6, 1985.
4. LENNE, J. M. Métodos para el manejo de enfermedades de pastos tropicales en Sur América. Cali, CIAT, 1983. (Seminarios internos SE- 1283).
5. LUDLOW, M. M. In: Water and plant life problems and modern approaches. Berlin, Springer. (In press).
6. WILLIAMS, J.; GARDENER, C. J. Environmental constraints to growth and survival of **Stylosanthes**. The biology and agronomy of **Stylosanthes**. Academic press, Australia. 1984. pp. 181-201.