

Estado anamórfico de *Rosellinia bunodes* (Berk. & Br.) Sacc. y *Rosellinia pepo* Pat. (Ascomycotina: Xylariaceae)

M. Bermúdez & J. Carranza-Morse
Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica, Costa Rica.

(Rec. 22-III-1991. Acep. 24-VI-1991)

Abstract: *Rosellinia* has been reported as a very aggressive root-rot pathogen of many crops throughout the world. On this study, fragments of roots of *Alnus acuminata*, *Coffea arabica* and *Rosa* sp., which showed typical symptoms of root rot, were collected and placed on media under controlled temperature to obtain reproductive structures. The anamorphic structures produced in culture or in moist chamber corresponded to the *Graphium* state in coffee and *Alnus* roots, and to the *Dematophora* state in *Rosa* sp. According to their characteristics, these anamorphs belong to the species *Rosellinia bunodes* and *Rosellinia pepo*, respectively. Optimal temperature for growth was 27°C on PDA.

Key words: root-rot, *Rosellinia bunodes*, *Graphium* state, anamorph, *Rosellinia pepo*, *Dematophora* state.

El hongo Ascomycete del género *Rosellinia*, ha sido comunicado como causante de la podredumbre blanca de las raíces de muchas especies de plantas de importancia económica (Dargan & Thind 1979, Rodríguez 1989).

Este género se caracteriza por poseer un micelio con hinchamientos piriformes a nivel de los septos (Sztejnberg *et al.* 1980). Su propagación asexual es por medio de rizomorfos, esclerocios y conidios (Castaño 1953). En medio de cultivo (papa-dextrosa-agar), el hongo produce microesclerocios negros, dispersos, de tamaño aproximado de 98 a 130 μm , los cuales tienden a unirse y formar mantos escleróticos (Sztejnberg *et al.* 1980). La reproducción sexual se efectúa mediante peritecios superficiales, usualmente sobre la corteza, no embebidos en un estroma. Generalmente están rodeados de un manto hifal negruzco; los peritecios son subglobosos, lisos, negros con ostiolos papilados; los ascos con anillo apical bien desarrollado y ascósporas negras, no septadas; muchas veces con diminutos apéndices coloreados (Dennis 1978).

Según Sarasola (1975), el hongo puede presentarse entres formas: a) sexual ascospórica, correspondiente a *Rosellinia* sp., b) asexual conídica que puede ser del tipo *Graphium* y c) ve-

getativa con micelio en rizomorfos, del tipo *Dematophora*. En *Rosellinia necatrix* Prill., la fase anamórfica corresponde a *Dematophora necatrix* (Hartig) Berl. (Booth & Hawksworth 1972, Ellis 1971, Weber 1973). En *Rosellinia bunodes* (Berk. & Br.) Sacc. y *Rosellinia pepo* Pat., el estado conidial aparentemente corresponde al género *Graphium* sp. (Weber 1973).

En pruebas "in vitro", se ha demostrado que ámbitos de temperaturas de 20 a 23°C son los óptimos para el desarrollo de *Rosellinia bunodes* y *R. pepo* (Duque 1951, López-Duque & Fernández 1966), dos especies de distribución tropical y subtropical.

Los objetivos del presente trabajo fueron determinar cual especie del género *Rosellinia* era la causante de la podredumbre de las raíces de café, jaúl y rosa, y comprobar el ámbito óptimo de temperatura para las especies aisladas.

MATERIAL Y METODOS

Se recolectó plantas de café (*Coffea arabica* L. var. *caturrea*) y de jaúl (*Alnus acuminata* H.B.K.), que presentaban síntomas característicos de ataque por *Rosellinia*, en un sistema agroforestal, localizado en San Antonio de Coronado,

San José, Costa Rica. Fragmentos pequeños de tallos y raíces infectados fueron lavados con agua destilada e hipoclorito de sodio al 10% y colocados en diversos medios de cultivo: agar-agua al 2% (AA), papa-dextrosa-agar al 2% (PDA), extracto de malta-agar al 2% (MA), jugo de vegetales con agar y sin agar (medio líquido) al 2% (V-8), avena-agar al 2%, extracto de maíz-agar al 2% (corn meal), y extracto o macerado de raíces de café con agar. Estos medios fueron esterilizados en autoclave a 15 libras de presión durante 20 minutos y posteriormente se les adicionó un antibiótico de amplio espectro (ampicilina o tetraciclina). El pH osciló entre 6.0 y 6.5; medios de cultivo con pH menores de 6, no mostraron un buen desarrollo del hongo. Se trató de mantener en forma pura al patógeno por medio de transferencias periódicas las cuales se incubaron a 24°C. Al mismo tiempo se colocaron fragmentos de raíces enfermas en cámara húmeda para inducir producción de estructuras reproductoras.

Se determinó la temperatura óptima del patógeno sembrando el hongo en cajas de Petri con tres medios: MA, PDA, y V-8. Se midió su diámetro de crecimiento durante una semana, a temperaturas de 24.5°C, 27°C, 30°C, y 35°C, respectivamente. Previamente se había determinado que en el ámbito de 20-23°C, el hongo se desarrollaba muy lentamente.

Se recolectó raíces de *Rosa* sp., que mostraban síntomas y signos de la enfermedad, en una plantación en Tibás, San José, Costa Rica. Estas se colocaron en cámara húmeda y en frascos de vidrio que contenían vermiculita húmeda estéril, para la obtención de estructuras reproductoras y micelio.

La identificación del patógeno se llevó a cabo por medio de claves específicas (Barnett & Hunter 1987, Booth & Hawksworth 1972, Dennis 1978, Ellis 1971, Weber 1973).

RESULTADOS

A los seis meses de inoculados los tubos que contenían V-8 líquido, se observó formación de estructuras reproductoras asexuales (anamorfos) en las paredes y posteriormente en cajas de petri con V-8 Agar. Dichas estructuras corresponden a sinemas del tipo *Graphium* (Booth & Hawksworth 1972). Los conidios son pardo oscuro, elipsoidales, de pared lisa, 6.0-7.0 μm x 3.0-3.5-4.0 μm (Fig. 1). El tamaño de estos conidios corresponde con el comunicado para

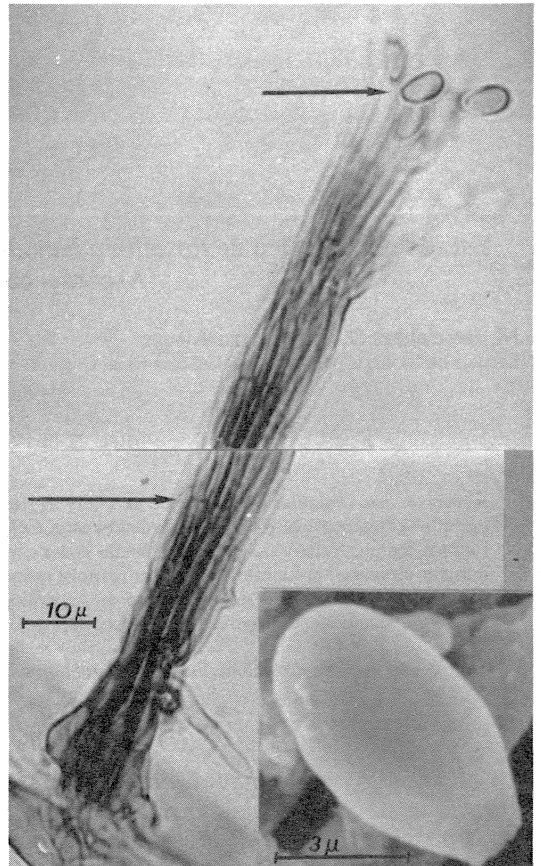


Fig. 1. Sinema del tipo *Graphium* con esporas y micelio típico.

Rosellinia bunodes (Booth & Hawksworth 1972). Se formaron estructuras asexuales del tipo *Dematophora* en raíces de *Rosa* sp. mantenidas en cámara húmeda o en vermiculita. Estas estructuras consistieron de sinemas de 1.5 mm por 40.0 -140.0 μm (Fig. 2), con conidios solitarios, pardo claro, hialinos, ovoides, de pared lisa 5.0-9.0 μm x 2.0-3.0 μm . Esta especie corresponde a *Rosellinia pepo* Pat. (Booth & Hawksworth 1972, Ellis 1971).

No se obtuvo formación de estructuras sexuales en ninguna de las especies de *Rosellinia* mencionadas. En la Fig. 3 se observa el micelio característico de *Rosellinia* sp., al microscopio de luz y al microscopio electrónico de barrido.

El crecimiento óptimo de *Rosellinia bunodes* se obtuvo en PDA a 27°C (3.48 cm en promedio durante ocho días), seguido por 3.44 cm a 24.5°C en el mismo medio. A 30°C, se observó una disminución notable (0.9 cm en promedio durante ocho días) y este fue nulo a 35°C.



Fig. 2. Sinema del tipo *Dematophora*.

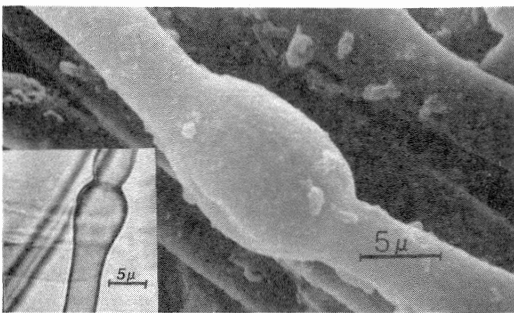


Fig. 3. Micelio típico de *Rosellinia* con abultamientos al nivel del septo.

El crecimiento fue menor tanto a 27°C como a 24.5°C en los otros medios utilizados (Fig. 4).

DISCUSION

En el presente estudio se logró obtener formación de estructuras anamórficas en cultivos de V-8 líquido seis meses después de inoculado el medio, lo cual confirma que los requerimientos nutricionales para la formación de estructuras reproductoras en los hongos son muy específicos (Griffin 1972, Moore-Landecker 1990).

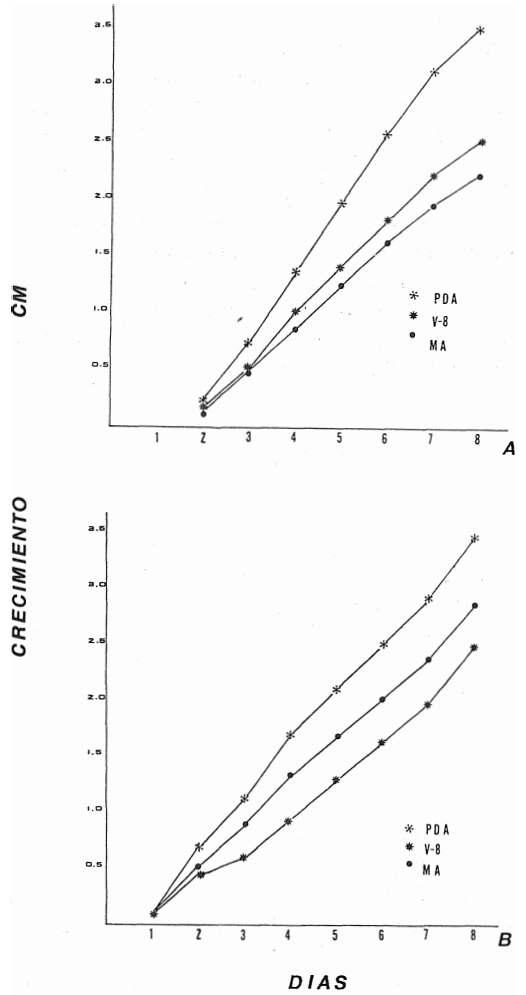


Fig. 4. Crecimiento de *Rosellinia bunodes* en 3 medios diferentes. A. 27°C; B. 24.5°C durante una semana.

La formación de estas estructuras asexuales permitió la identificación a nivel de especie.

Rosellinia bunodes mostró una temperatura óptima para el desarrollo vegetativo de 27°C, la cual correspondió a la temperatura promedio del suelo de donde se aisló. Ofong *et al.* (1991) mencionan que las diferentes especies de *Rosellinia*, al ser patógenos típicos de las cálidas regiones mediterráneas y tropicales, muestran una actividad óptima a temperaturas relativamente altas. Las condiciones de alta humedad y suelos ácidos también parecen favorecer su desarrollo. En contraste a lo encontrado en este trabajo, López-Duque & Fernández (1966), comunicaron temperaturas óptimas más bajas para *R. bunodes*, lo cual puede estar

relacionado con las condiciones más subtropicales del área de estudio.

El pH del medio que favoreció el desarrollo fue de 6-6.5, el cual coincide con los informados para *R. necatrix*, *R. pepo*, *R. bunodes* y *R. desmazieresii* (López-Duque & Fernández 1966, Makambila 1978, Ofong *et al.* 1991). Este ámbito de pH coincidió con el encontrado en el suelo del cafetal donde se aisló el hongo. Futuras investigaciones deben centrarse en el ciclo de vida para llegar a un mejor conocimiento de su posición taxonómica y encontrar mejores métodos de control.

AGRADECIMIENTOS

A Luis A. Fournier y dos revisores anónimos por sus sugerencias al manuscrito. Este trabajo fue financiado por la Vicerrectoría de Investigación, Universidad de Costa Rica (Proyecto 111-86-83) y la International Foundation for Science, Estocolmo, Suecia (Proyecto 967-1).

RESUMEN

El hongo del género *Rosellinia* ha sido comunicado como causante de la podredumbre blanca de las raíces en muchas especies de plantas, de importancia agrícola y forestal, en diversas partes del mundo.

En el presente trabajo se colectaron fragmentos de tallos y raíces de plantas de café (*Coffea arabica* var. *caturre* L.), de jaúl (*Alnus acuminata* H.B.K.) y de rosa (*Rosa* sp.), que presentaban síntomas característicos de enfermedad causada por *Rosellinia* sp. Estos fragmentos se colocaron en diversos medios de cultivo a diferentes temperaturas, y en cámara húmeda, para inducir formación de estructuras reproductoras.

Las estructuras anamórficas producidas en las raíces de café y jaúl correspondieron a sinemas del tipo *Graphium*, y en rosa al tipo *Dematophora*. De acuerdo a sus características estos anamorfos pertenecen a las especies *Rosellinia bunodes* y *R. pepo*, respectivamente. La temperatura óptima para el desarrollo fue 27°C en PDA.

REFERENCIAS

- Barnett, H. & B. Hunter. 1987. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. 4th. Ed. McMillan, Nueva York. 218 p.
- Booth, C. & D. Hawksworth. 1972. Commonwealth Mycological Institute. Description of pathogenic fungi and bacteria. Nos. 351-54, 519.
- Castañón, J. 1953. Algunas observaciones sobre la llaga negra radicular del café. Centro Nacional de Investigaciones del Café, Chinchiná. Colombia. Bol. Inf. 4:28-30.
- Dargan, J. & K. Thind. 1979. Xylariaceae of India. VII. The genus *Rosellinia* in the northwest Himalayas. Mycologia 71:1010-1023.
- Dennis, R. W. 1978. British Ascomycetes. Cramer, Alemania. 321 p.
- Duque, J. 1951. La podredumbre negra de la raíz del café. El Café de El Salvador 2:31-37.
- Ellis, M.B. 1971. Dematiaceous Hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute. Kew, Surrey. p.230-231.
- Francis, S. 1985. *Rosellinia necatrix* - fact or fiction? Sydowia, Ann. Mycol. Ser. II. 38:75-86.
- Griffin, D.M. 1972. Ecology of Soil Fungi. Syracuse University Press. Nueva York. 193 p.
- López-Duque, S. & O. Fernández. 1966. Llagas radicales negras (*Rosellinia bunodes*) y estrellada (*Rosellinia pepo*) del café. II. Efecto de la humedad y pH del suelo en el desarrollo micelial e infección. Cenicafé (Colombia) 17:61-69.
- Makambila, C. 1978. Morphogenèse des *Rosellinia*. Phytotax(Argentina) 36:25-30.
- Moore-Landecker, E. 1990. Fundamentals of the Fungi. 3th. Edition. Prentice Hall, Nueva Jersey. 561 p.
- Ofong, A.W., R.B. Pearce & D.K. Barrett. 1991. Biology and pathogenicity of *Rosellinia desmazieresii*. Mycol. Res. 95:189-194.
- Petrini, L. & O. Petrini. 1985. Xylariaceous fungi as Endophytes. Sydowia, Ann. Mycol. Ser. II. 38:216-234.
- Rodríguez, K. 1989. Index to J.B. Ellis' types of pyrenomycetes with amyloid ascus ring. Mycotaxon 34:217-281.
- Sarasola, A. 1975. Fitopatología. Tomo II. Micosis. Editorial Hemisferio Sur. Buenos Aires. p.229-242.
- Sztejnberg, A., Z. Madar & I. Chet. 1980. Induction and quantification of microsclerotia in *Rosellinia necatrix*. Phytopath. 70:525-527.
- Weber, G. 1973. Bacterial and fungal diseases of Tropical Crops. University of Florida Press. Gainesville. 673 p.