

Patogenicidad de *Phylloporia chrysis* (Aphyllophorales: Hymenochaetaceae) sobre *Erythrochiton gymnanthus* (Rutaceae)

Rhina E. Esquivel¹ y Julieta Carranza²

¹Escuela de Biología, Universidad de El Salvador, El Salvador

²Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica, Costa Rica

Abstract: The pathogenicity of *Phylloporia chrysis* (Berk.) Ryv. on *Erythrochiton gymnanthus* K. (Rutaceae) was studied in Carara Biological Reserve, seasonal Pacific of Costa Rica. Growth rate and distribution of basidiocarps were determined on healthy and diseased plants. *P. chrysis* caused 52% growth reduction on diseased plants. Fungal hyphae were observed on epidermis, parenchyma and vascular tissue, where they caused cellular breakdown.

Key words: *Phylloporia chrysis*, Hymenochaetaceae, Aphyllophorales, pathogenicity, Costa Rica, seedlings, *Erythrochiton gymnanthus*, tropical forest.

La gran diversidad de especies de plantas en los bosques tropicales evita el desarrollo de enfermedades epidémicas. Los individuos de una misma especie por lo general están muy separados, rara vez se presentan en arboledas o colonias, por lo que toda la flora es una mezcla heterogénea de individuos, en la cual un patógeno no puede aumentar fácilmente la cantidad de núcleo y causar lesiones severas en la población de una especie determinada (Harlan 1976, Dinooor y Eshed 1984).

Para que se desarrolle una enfermedad, deben darse tres condiciones: un hospedero susceptible, un patógeno agresivo y virulento y un ambiente favorable para la diseminación, germinación y establecimiento de la infección (Browning *et al.* 1977).

Los patógenos son considerados como las mayores fuerzas selectivas que afectan el tamaño y estructura de las poblaciones de plantas, ya que reducen su fecundidad, disminuyen su habilidad para competir con otras plantas vecinas o causan la muerte, efectos que se reflejarán en el tamaño de las actuales y futuras poblaciones (Burdon 1987, 1992).

La mayoría de hongos patógenos se agrupan dentro de la Subdivisión Deuteromycotina; sin embargo, dentro de la Subdivisión Basidiomycotina también se encuentran algunas especies patógenas que ocasionan daños en hojas, tallos y raíces (Alexopoulos y Mims

1980, Agrios 1989, Moore-Landecker 1990).

El impacto de las enfermedades fúngicas en la dinámica de los bosques tropicales no ha sido estudiado; sin embargo, algunos estudios ecológicos mencionan la importancia de los hongos en la sobrevivencia y desarrollo de plántulas (Augspurger 1984).

Phylloporia chrysis (Berk.) Ryv. es un hongo de la familia Hymenochaetaceae (Aphyllophorales, Basidiomycotina) que ha sido comunicado como parásito de Angiospermas y causante de podredumbre blanca en arbustos caducifolios en zonas tropicales y subtropicales de América y Asia (Ryvarden y Johansen 1980, Gilbertson y Ryvarden 1987).

En Costa Rica se ha recolectado en Bagaces y en la Reserva Biológica de Carara, sobre árboles de *Erythrochiton gymnanthus* K. en diferentes estadios de desarrollo y en Monteverde sobre un hospedero desconocido (Carranza-Morse 1992) (Fig.1) *Erythrochiton gymnanthus* (Rutaceae) es una planta que se distribuye en tierras calientes del Pacífico, desde el Sur de México hasta Panamá (Standley 1937, Porter y Elias 1979). En Costa Rica es común en el sotobosque de los bosques de galería de Puntarenas, donde se distribuye ampliamente; en la Reserva Biológica Carara es una población típica en las orillas de los senderos.

Debido al poco conocimiento de los efectos reguladores de los hongos en poblaciones de plantas del bosque tropical, en este trabajo se trató de determinar el efecto de *P. chrysita* sobre el crecimiento de plántulas de *E. gymnanthus* y el modo de penetración y distribución del hongo en los tejidos de la planta.

MATERIALES Y MÉTODOS

Esta investigación se realizó en la Reserva Biológica Carara, ubicada al Oeste del Valle Central entre los cantones de Turrubares y Garabito, Costa Rica ($9^{\circ}41'20''-9^{\circ}50'40''N$ y $84^{\circ}31'30''-84^{\circ}37'00''W$, Boza 1989), con promedios anuales de humedad relativa, temperatura y precipitación de: 75%, 27.5°C y 145 mm, respectivamente (Zárate y Ramírez 1983, Protti *et al.* 1983).

Se seleccionó un área cerca del sendero Las Aráceas, en donde se marcaron 40 plantas de diferente tamaño, 20 de éstas estaban sanas (ausencia de basidiocarpos (testigos), tamaño menor de 1.5m) y 20 infectadas (presencia de basidiocarpos). Se midieron las siguientes variables: altura desde el suelo hasta el ápice de la rama principal, presencia o ausencia de basidiocarpos, número y posición de estos, estadio de desarrollo de los basidiocarpos y apariencia general de la planta. Estas mediciones se llevaron a cabo mensualmente durante 18 meses para determinar el efecto de la infección fúngica en el crecimiento de la planta. A diez de las plantas sanas se les removió al azar cinco hojas y cinco ramas a diferentes alturas del tallo, para determinar si las heridas causadas por abscisión podrían servir de vías de entrada para el hongo. Los datos de crecimiento en altura mensual de plantas sanas e infectadas fueron analizados con la prueba "U" de Mann-Whitney; asimismo, se utilizaron el método de regresión múltiple y correlación lineal de Pearson para relacionar número de basidiocarpos y crecimiento.

Para determinar el modo de penetración y distribución de las hifas en los tejidos de la planta, se recolectaron seis muestras de tallo y seis de peciolo infectados, las cuales fueron procesadas y observadas posteriormente al microscopio de luz y electrónico de barrido (MEB).

Las muestras se fijaron en solución FAA, se deshidrataron en una serie de alcoholes, se infiltraron en parafina para luego realizar cortes al micrótopo y

teñir los tejidos con safranina verde rápido (fast green) (Anónimo 1973), y observarlos al microscopio de luz.

Las muestras para el MEB se fijaron en FAA, se lavaron en solución amortiguadora de fosfatos y se fijaron en tetraóxido de osmio al 2% con amortiguador de fosfatos, se deshidrataron en una serie de alcoholes y se secaron a punto crítico. Una vez secas se cubrieron con platino.

RESULTADOS

Se observó que en la Reserva todas las plantas con alturas mayores de 1.5 m estaban infectadas con *P. chrysita*, y presentaban basidiocarpos en tallos, peciolos y nervaduras de las hojas. No se observó formación de cuerpos fructíferos en ninguna de las plantas a las cuales se les removieron hojas o ramas, ni síntomas de marchitez o defoliación en las plantas infectadas. En los Cuadros 1 y 2 se observan los promedios del crecimiento acumulado en altura mensual de las 40 plantas estudiadas. Se puede notar una gran variación en los valores obtenidos tanto en las plantas sanas (22-38%) como en las infectadas (22-93%). Asimismo, se observa una reducción del 52% en el crecimiento en altura de las plantas infectadas, comparado con el de las sanas.

Al aplicar la prueba U de Mann-Whitney se encontraron diferencias significativas ($U=45$, $P<0.05$) entre el crecimiento en altura mensual de plantas sanas e infectadas (Fig 2).

Los mayores valores promedio de la tasa de crecimiento en altura de plantas infectadas se dieron de enero a mayo, 1992 (0.6-0.8 cm); sin embargo, en las sanas se presentó cierta uniformidad en el crecimiento durante todo el período de estudio. Durante los meses de febrero y junio 1993, se dieron las mayores tasas de crecimiento en las infectadas (0.7 -1 cm) y en las sanas se dio durante el mes de abril (1.9 cm).

El mayor valor promedio de cuerpos fructíferos se presentó en marzo 1992 y abril 1993, y el menor en julio 1992 y febrero 1993 (Cuadro 3).

Al aplicar el análisis de regresión múltiple, se encontró una relación positiva ($r=0.82$, $P<0.05$) entre el crecimiento mensual de plantas infectadas, el número de cuerpos fructíferos, la humedad, la temperatura y la precipitación.

CUADRO 1

Incremento acumulativo promedio en altura (cm) de las plantas sanas. Carara, enero 1992 - julio 1993.

Año:	1992							1993						
Mes:	ene	mar	may	jul	ago	set	nov	dic	feb	mar	abr	may	jun	jul
Prom:	0.9	2.0	3.1	4.4	5.3	6.2	7.0	7.7	8.4	9.1	11.0	12.7	14.0	14.9
D.E.:	0.3	0.6	0.7	1.0	1.4	1.7	2.1	2.4	2.7	3.3	4.1	5.0	5.1	5.7
C.V.:	30	29	22	23	26	27	29	31	31	35	37	38	35	38
Max:	1	3	4	6	8	10	12	13	14	16	19	20	22	26
Min:	0	1	2	3	3	3	4	4	5	5	6	6	7	7

Prom.: Promedio, D.E.: desviación estándar, C.V.: coeficiente de variación, Max.: máximo. Min.: mínimo

CUADRO 2

Incremento acumulativo promedio en altura (cm) de las plantas infectadas. Carara, enero 1992 - julio 1993.

Año:	1992							1993						
Mes:	ene	mar	may	jul	ago	set	nov	dic	feb	mar	abr	may	jun	jul
Prom:	0.6	1.3	2.1	2.3	2.5	3.0	3.3	3.5	3.7	3.9	4.6	5.5	6.5	7.2
D.E.:	0.5	1.0	0.8	0.8	1.1	1.2	1.0	0.9	1.1	1.2	1.3	1.2	2.1	2.2
C.V.:	93	68	33	32	41	38	27	26	28	29	28	22	29	29
Max:	1	3	3	3	3	5	5	5	5	5	6	8	10	11
Min:	0	0	1	1	1	2	2	2	2	2	2	4	4	5

Prom.: Promedio, D.E.: desviación estándar, C.V.: coeficiente de variación, Max.: máximo, Min.: mínimo

CUADRO 3

Comparación de promedios.

1992 Meses	tcsan	tcinf	#cf	*h	*t	*p
ene	0.9	0.6	1.9	59	25.9	0.0
Mar	1.1	0.7	2.4	51	29.3	0.0
May	1.1	0.8	1.8	72	27.7	127.6
Jul	1.3	0.2	1.7	86	24.1	236.5
Ago	0.9	0.2	1.8	87	24.7	220.8
Set	0.9	0.5	1.8	89	24.0	317.3
Nov	0.8	0.3	1.8	86	23.9	240.2
Dic	0.7	0.2	2.0	80	24.9	8.8
1993 Meses	tcsan	tcinf	#cf	*h	*t	*p
Feb	0.7	0.2	1.7	61	27.4	0.0
Mar	0.7	0.2	2.0	64	27.7	15.2
Abr	1.9	0.7	2.4	70	28.4	28.2
May	1.7	0.9	2.0	84	25.9	282.1
Jun	1.3	1.0	2.0	88	25.8	232.3

Tasa de crecimiento en altura (cm/mes) de plantas sanas e infectadas, cuerpos fructíferos, humedad relativa (%), temperatura (°c) y precipitación (mm). Carara enero 1992 - julio 1993. tcsan: tasa de crecimiento en altura de plantas sanas, tcinf: tasa de crecimiento en altura de plantas infectadas, # cf: número de cuerpos fructíferos, h: humedad relativa, t: temperatura, p: precipitación total, * fuente de h, t, p: Instituto Metereológico Nacional, (Estación Lagunillas, Orotina).

CUADRO 4

Prueba de regresión múltiple de parámetros ambientales y biológicos que afectan el crecimiento de las plantas infectadas. Carara, enero 1992-julio 1993.

Variable	Coef.	EE	Prob.
Constante	-1.63	2.32	0.503
Humedad	-0.007	0.012	0.564
Precipit.	0.001	0.0009	0.124
Temper.	0.049	0.0735	0.518
Basidioc.	0.057	0.249	0.049

Coef. Coeficiente, EE Error estándar, Prob. Probabilidad
p < 0.05 muestra diferencia significativa

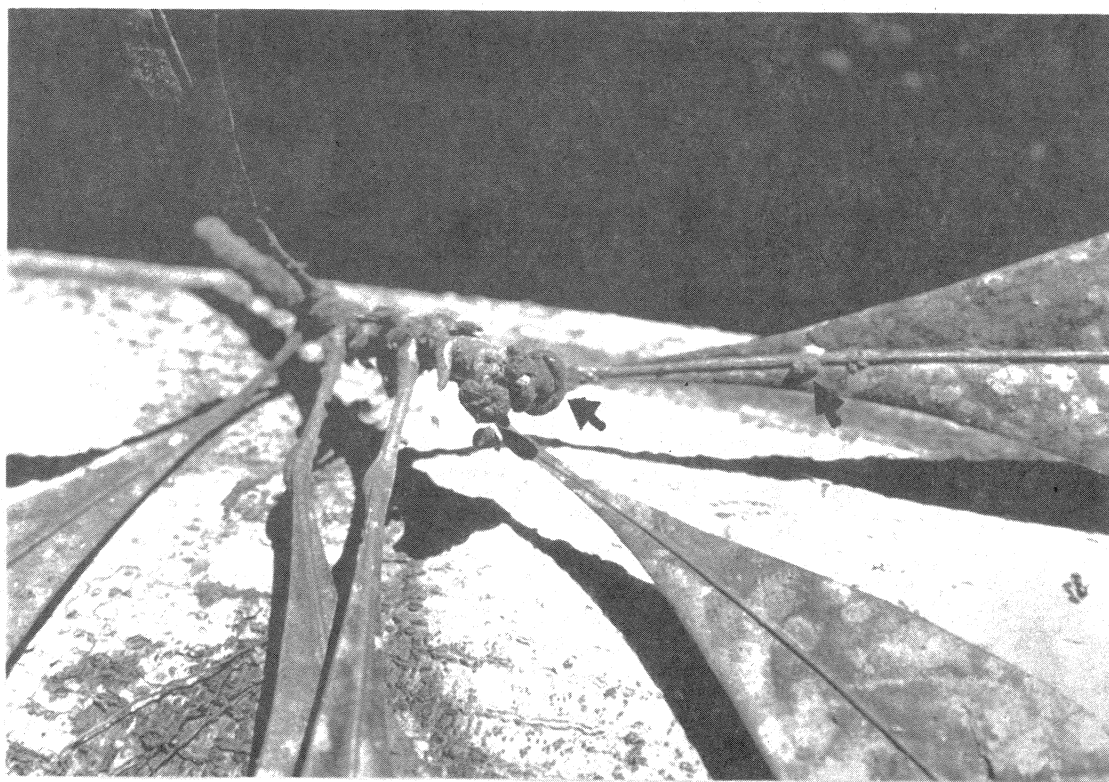


Fig. 1. Cuerpo fructífero de *Phylloporia chrysis* sobre tallo y pecíolo de *Erythrochiton gymnanthus*

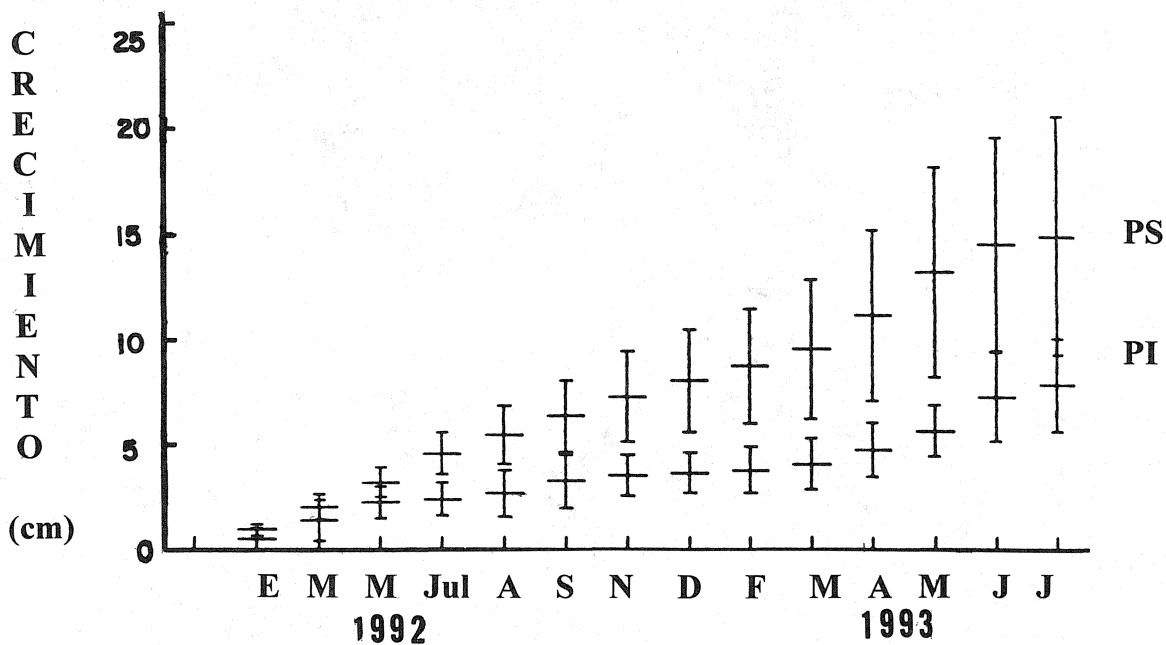


Fig. 2. Incremento acumulativo promedio en altura y sus desviaciones estándar de plantas sanas (PS) e infectadas (PI). Carara, enero 1992-julio 1993.

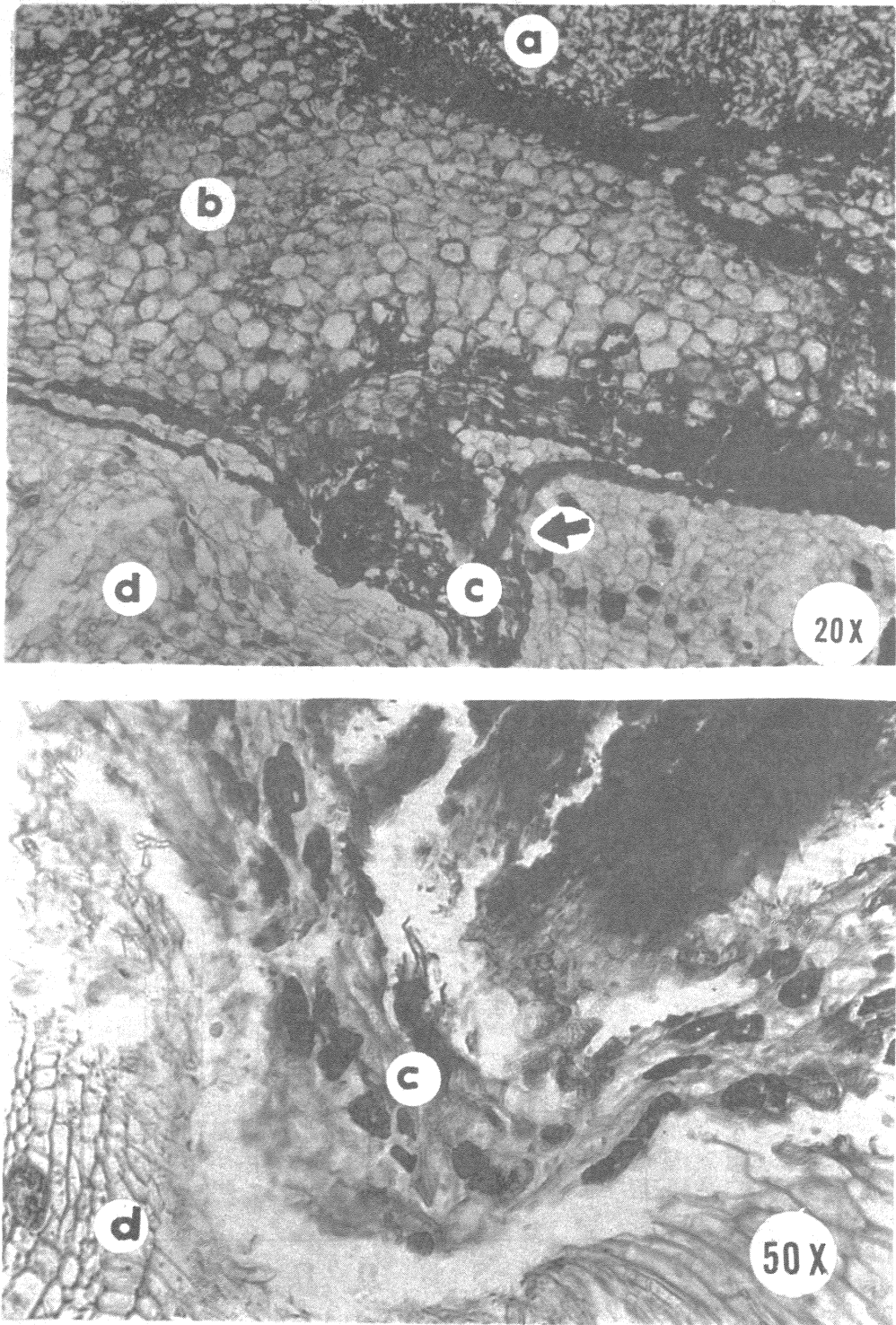


Fig. 3. Corte transversal de tallo infectado por *P. chrysita*. Vista al microscopio de luz. A: nótese la invasión fúngica. B: invasión de las hifas en floema y xilema. a) basidiocarpio, b) parénquima cortical, c) floema y d) xilema

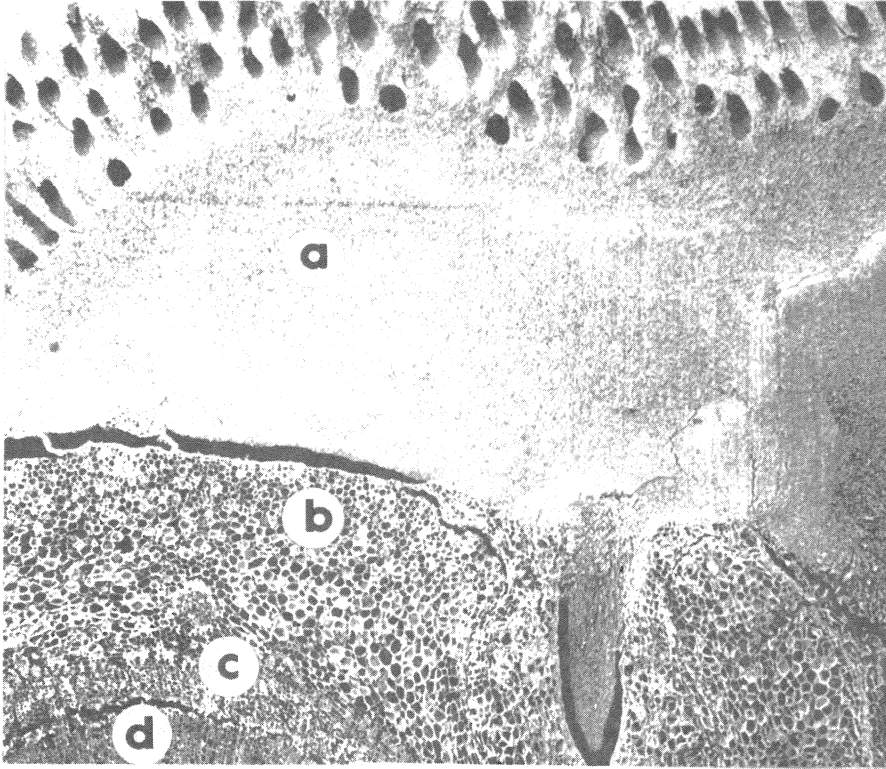


Fig. 4. Corte transversal de tallo infectado por *P. chrysita*. Vista al microscopio electrónico de barrido. Nótese la inserción del basidiocarpio en los tejidos del tallo. a) basidiocarpio, b) párenquima cortical, c) cambium vascular, y d) tejidos vasculares

Sin embargo, de todas las variables, la que ejerció un efecto significativo sobre el crecimiento de estas plantas fue el número de basidiocarpos; cuando se relacionó solo los factores ambientales con el crecimiento en altura de las plantas infectadas y el número de cuerpos fructíferos con los factores ambientales, no se obtuvo relación significativa (Cuadro 4).

Según el método estadístico de Pearson, existe una asociación significativa ($r=0.9$) entre el crecimiento en altura de las plantas infectadas y el número de basidiocarpos durante el período de medición.

En las muestras de corte de tallo infectado se pudo observar el proceso de infección e invasión de los diferentes tejidos con la subsecuente destrucción de estos. El hongo invadió epidermis, parénquima y tejidos vasculares y luego formó el cuerpo fructífero para completar las diferentes fases de su ciclo de vida (Figs.3-4)

DISCUSION

La reducción significativa en el crecimiento de las plantas infectadas (Fig. 2) corrobora la patogenicidad del hongo *P. chrysita* sobre *E. gymnanthus*. Este retardo en el crecimiento de las plantas infectadas se debe posiblemente a la reducción en la energía disponible para su desarrollo ya que el hongo está utilizando las sustancias elaboradas por la planta para su propio crecimiento.

P. chrysita ha sido comunicado como un hongo causante de podredumbre blanca, por lo tanto tiene la capacidad enzimática de degradar la lignina de las paredes celulares; asimismo degrada pero en menor grado la celulosa y hemicelulosa, lo que causa desintegración de los tejidos (Levi 1964, Wilcox 1970, Ryvardeen & Johansen 1980, Montgomery 1982)

Por lo general, las plantas de una misma especie presentan variabilidad en su crecimiento y susceptibilidad a enfermedades, esto podría ser uno de los parámetros que contribuyen a la variación tan alta observada en el crecimiento de las plantas tanto sanas como infectadas (Cuadros 1 y 2), aunque esto no se comprobó en este estudio.

Es interesante observar que algunas plantas a pesar de estar infectadas, presentaron un buen crecimiento en ciertas épocas del año; se podría sugerir que en estas etapas la planta logra sobrepasar el ataque del

hongo y producir nuevos tejidos, o sea se presenta cierta tolerancia hacia el patógeno y que este a su vez desarrolla cierta resistencia a las sustancias producidas por la planta lo que le permite permanecer en los tejidos sin causar mortalidad en las plantas infectadas. Este tipo de equilibrio ha sido observado en plantas que han mantenido una relación muy larga con sus patógenos (Agrios 1989). Con base en lo observado en la población de plantas en la Reserva, aquellas que logran un equilibrio con el patógeno, continúan su crecimiento hasta las etapas adultas; sería interesante estudiar el efecto que este patógeno causa en la reproducción de estas plantas, ya que este aspecto no fue estudiado en este trabajo.

El ambiente influye en el proceso de enfermedad tanto en la planta sana si la predispone a ser atacada, como sobre la planta ya enferma, si la susceptibiliza en mayor o menor grado, así como sobre el patógeno, si lo hace más o menos agresivo; sin embargo, en este trabajo, no se encontró una relación entre los factores humedad, precipitación y temperatura, al relacionarlos con el crecimiento de las plantas infectadas. Debe considerarse que las condiciones microclimáticas que se presentan en el sotobosque no quedan bien definidas con las medidas comunes de las estaciones meteorológicas.

Se observó el mejor crecimiento tanto en plantas sanas como en las infectadas durante los meses de abril y mayo de 1992 y de 1993, lo cual era de esperar ya que durante esta época se presenta un aumento en la precipitación después de un período largo de poca lluvia, y una disminución en la temperatura, lo que representa condiciones más favorables para el desarrollo. En la época seca, o sea a partir de diciembre, se nota una disminución en el crecimiento de las plantas al bajar las condiciones de humedad y aumentar la temperatura, es durante este período que se inicia la floración con la subsecuente disminución en la energía disponible para el crecimiento vegetativo.

Se ha comunicado que los factores ambientales que promueven el crecimiento vegetativo en los hongos inhiben su reproducción y viceversa, la inducción o inhibición de esporocarpos puede llevarse a cabo cuando los niveles de humedad y temperatura son altos o bajos, o pueden producirse solo en sitios donde las condiciones de humedad son constantes (Rayner y Boddy 1988), asimismo la disponibilidad de nutrimentos afecta la fructificación (Vogt *et al.* 1992).

De acuerdo con los resultados obtenidos en este estudio, la mayor cantidad de cuerpos fructíferos presentes en las plantas de *E. gymnanthus*, se pudieron observar en los meses de marzo-92 y abril-93 cuando

la temperatura ambiental era alta y la humedad mayor de 50%. El inicio de la formación de estos cuerpos fructíferos puede darse en los meses secos de enero y febrero cuando las condiciones de temperatura y humedad no son favorables para el desarrollo de la planta y por consiguiente para el crecimiento vegetativo del hongo. Cuando se inician las primeras lluvias (mayo a junio), los basidiocarpos ya han alcanzado su madurez y producen esporas, las cuales pueden ser dispersadas y producir nuevas infecciones en plantas susceptibles.

Se ha comunicado que la penetración del patógeno al hospedero puede ser activa a través de aperturas naturales o por acción mecánica y enzimática (Dimond 1975, Agrios 1989). *E. gymnanthus* presenta gran cantidad de lenticelas en el tallo por lo que se puede sugerir que éstas podrían ser un punto de entrada de las esporas de *P. chrysita* para luego iniciar el proceso de colonización de tejidos y la subsecuente destrucción de estos o ser un punto de salida del micelio para formar cuerpos fructíferos, aunque también el hongo podría entrar directamente a través de las paredes celulares de la epidermis del tallo. Sin embargo, no se observó formación de esporocarpos en las cicatrices o en las heridas provocadas al remover las ramas durante el período de estudio, lo que podría indicar que el hongo requiere de más tiempo del observado para completar su ciclo, desde la penetración hasta la formación de basidiocarpos.

RESUMEN

Se estudió la patogenicidad del hongo *Phylloporia chrysita* (Berk.) Ryv. sobre arbustos de *Erythroxylon gymnanthus* K. en un área de la Reserva Biológica Carara, Costa Rica. Se midió el crecimiento en altura de plantas sanas e infectadas y se anotó la presencia y distribución de cuerpos fructíferos a diferentes alturas del tallo y ramas de la planta. La observación de la distribución de las hifas en los diferentes tejidos se llevó a cabo por medio de cortes histológicos de tallo y peciolo de hojas, vistas a través del microscopio de luz y electrónico de barrido. *P. chrysita* causó una disminución significativa de un 52% en el crecimiento en altura de las plantas infectadas, con respecto a las plantas sanas. Se observó invasión de hifas en los tejidos epidérmico, parenquimático y vascular, en los cortes histológicos de tallo y peciolo infectados.

REFERENCIAS

- Agrios, G.N. 1989. Fitopatología. Limusa, México, D.F. 756 p.
- Alexopoulos, C.J. & C.W. Mims. 1980. Introductory Mycology. Wiley, Nueva York. 632 p.
- Anónimo. Biological Stain Commission. Staining Procedures. 1973. Williams & Wilkins, Baltimore. 120 p.
- Augspurger, C.K. 1984. Seedling survival of tropical tree species: interactions of dispersal distance, light-gaps, and pathogens. Ecology 65: 1705-1712
- Boza, M. 1989. Parques Nacionales de Costa Rica. Heliconia, San José. 271 p.
- Browning, J.A. M.D. Simons & E. Torres. 1977. Managing host genes: epidemiologic and genetics concepts, p. 191-212. In J.G.Horsfall & E.B. Cowling (ed.). Plant disease: an advanced treatise. Vol. I. How disease is managed. Academic, Nueva York.
- Burdon, J.J. 1987. Diseases and plant population biology. Cambridge University, Nueva York. 208 p.
- Burdon, J.J. 1992. The growth and regulation of pathogenic fungal population, p. 173-181. In G.C.Carroll & D.T. Wicklow. The fungal community: Its organization and role in the ecosystem. Marcel Dekker, Nueva York.
- Carranza-Morse, J. 1992. Pore fungi of Costa Rica. II. Mycotaxon 43: 351-369.
- Dimond, A.E. 1975. Patogénesis y predisposición, p.21-118. In A.A.Sarasola & M.A. de Sarasola (ed.). Fitopatología. Curso moderno. Hemisferio Sur, Buenos Aires.
- Dinoor, A. & N. Eshed. 1984. The role and importance of pathogens in natural plant communities. Ann. Rev. Phytopathol. 22: 443-466.
- Gilbertson, R. & L. Ryvardeen. 1987. North American Polypores. Vol. II. Fungiflora, Oslo. 448 p.
- Harlan, J.R. 1976. Diseases as a factor in plant evolution. Ann. Rev. Phytopathol. 14: 31-51.
- Levi, M.P. 1964. The fungal degradation of wood. J. Inst. Wood Science 12: 56-66.
- Moore-Landecker, E. 1990. Fundamental of the fungi. Prentice-Hall, Nueva Jersey. 561 p.
- Montgomery, R.A.P. 1982. The role of polysaccharidase enzymes in the decay of wood by basidiomycetes p.51-65. In J.Frankland, J.M Hedger & M.J. Swifts (eds.). Decomposer basidiomycetes; their biology and ecology. Cambridge University, Cambridge.
- Porter, D.M. & T.S. Elias. 1979. Family Rutaceae. In R.E. Woodson, Jr. & R.W. Schery. Flora of Panama. Ann. Miss. Bot. Gden 66(2): 123-164.
- Protti, E.D. Siu, E. Zárate, P. Ramírez, J. Bergoeing, L. Brenes, E. Echandi & W. Montero. 1983. El sistema fluvial de Tárcoles, Costa Rica. Instituto Geográfico Nacional, San José. 90 p.
- Rayner, A.D.M. & L. Boddy. 1988. Fungal decomposition of wood: Its Biology and Ecology. Wiley, Nueva York.
- Ryvardeen, L & I. Johansen. 1980. A Preliminary Polipore Flora of East Africa. Fungiflora, Oslo. 636 p.
- Standley, P.C. 1937. Flora of Costa Rica. Vol.XVIII, Tomo II. Field Mus. Nat. Hist. Chicago. 567 p.
- Vogt, K.A. J. Bloomfield, J.F. Ammirati & S.R. Ammirati. 1992. Sporocarp production by basidiomycetes, with emphasis on forest ecosystems, p. 563-581. In G.C.Carroll & D.T. Wicklow (eds.). The fungal community: Its organization and role in the ecosystem. Marcel Dekker, Nueva York.
- Wilcox, W.W. 1970. Anatomical changes in wood cell walls attacked by fungi and bacteria. Bot. Review 36: 1-28.
- Zárate, E. & P. Ramírez. 1983. Mapas del sistema fluvial de Tárcoles. CONICIT, San José.