

Nota Técnica

ESTUDIO PRELIMINAR SOBRE EL MODO DE PENETRACION DE *Mycena citricolor*
EN LA HOJA DE CAFETO 1/*

Jalpa Prasad Tewari**

D. V. Rao**

Edgar Vargas***

ABSTRACT

Preliminary study of the *Mycena citricolor* penetration mode on coffee leaf. Fully expanded leaves obtained from coffee plants (*Coffea arabica* c.v. Caturra) at 4-6 leaf stage grown in a greenhouse, were inoculated with gemmae from an isolate of *Mycena citricolor* in a petriplate containing moistened, presterilized vermiculite. Three to five sites were selected in the intervenial areas of each half of the leaf and each site was lightly scratched to disrupt the cuticle. Lesions were formed only at points of injury where gemmae were placed. In leaves where no injury was made, none of the points inoculated with gemmae developed into lesions. However, this results does not clearly indicate that the injury is necessary for successful penetration and infection.

INTRODUCCION

La enfermedad conocida en el país como ojo de gallo, causada por el hongo *Mycena citricolor*, es una de las que ocasiona más daños, especialmente en plantaciones con excesiva sombra, alta humedad en el suelo y mal manejo de la poda. En el campo, es común encontrar hasta 35 lesiones irregularmente distribuidas en la hoja y varía desde 1 a 40 lesiones, producto de infecciones de las estructuras de fructificación asexual conocidas como gemmas o cabecitas, las que se producen abundan-

temente en las lesiones y están constituidas por una masa de hifas compactadas.

Según Wellman (1972) al entrar estas cabecitas en contacto con la epidermis, los extremos de las hifas se vuelven puntiagudos y penetran directamente la epidermis; sin embargo este autor no presenta ninguna evidencia experimental.

La penetración de los tejidos del hospedante por microorganismos, es un proceso complejo que todavía no es muy claro (Martin 1964), así como la función de la cutícula como factor de resistencia (Küc, 1966), por este motivo resulta importante profundizar en la comprensión del fenómeno.

1/ Recibido para publicación el 12 de mayo de 1986.

* Este trabajo se realizó con la cooperación del Centro Internacional para la Investigación y el Desarrollo (CIID), Canadá.

** Department of Plant Science, the University of Alberta.

*** Laboratorio de Fitopatología, Facultad de Agronomía, Universidad de Costa Rica.

MATERIALES Y METODOS

Cultivo del hongo. Se usó un aislamiento que produce gran cantidad de cabecitas en PDA suplementado con 0,2 % de extracto de levadura. Los platos de petri plásticos se colocaron en una incubadora a 22 C con luz fluorescente continua de aproximadamente 2000 lux. Para la inoculación se utilizaron cabecitas de cultivos de tres semanas de edad y para mantener el vigor y la virulencia del

patógeno, el hongo fue inoculado a hojas de café y re-aislado a partir de cabecitas formadas en las lesiones.

Para la inoculación se utilizaron hojas de plántulas de 4-6 meses del cultivar caturra, procedentes de semilla importada de Costa Rica que crecieron en macetas plásticas en una mezcla 1:2:1 de suelo-arena-materia orgánica en condiciones de invernadero (20 C) en la Universidad de Alberta, Canadá. En verano, las plántulas recibieron suficiente luz solar en días largos, mientras que, en los meses de invierno se suplementó luz con lámparas de sodio de aproximadamente 10.000 lux, por 18 h cada día.

Inoculación. La inoculación se realizó en hojas colocadas en platos petri (150 x 20 mm) que contenían vermiculita húmeda esterilizada, y un disco de papel filtro humedecido por dentro de la tapa. En tres o cinco puntos del tejido intervenal del haz de cada mitad de la hoja se hicieron heridas leves con una aguja hipodérmica. Cada punto del lado derecho de la hoja fue inoculado con tres cabecitas colocadas en una gota pequeña de agua bidestilada estéril. Los puntos con heridas en el lado izquierdo sirvieron como testigo, mientras que, en otras hojas se pusieron, cabecitas, en la misma forma pero sin hacer heridas. Cada plato petri se metió en una bolsa plástica transparente y se mantuvo en incubación a 20 C y una intensidad de luz de 1800 lux por día.

Medidas de lesiones. Las lesiones fueron medidas siete días después de la inoculación. Se tomó como tamaño de la lesión, el promedio del diámetro mayor y menor, medido con una regla en un

estereoscopio. También se midió el porcentaje de lesiones formadas.

RESULTADOS Y DISCUSION

Las lesiones se formaron sólo en los puntos con heridas, y en donde se colocaron las cabecitas, un 94 % de los puntos desarrollaron lesión, mientras que, en las hojas sin heridas y con cabecitas, en ninguno de los 202 puntos de inoculación, se desarrolló lesión. Alrededor de los puntos con heridas y sin cabecitas, se formaron pequeñas lesiones necróticas, producto de oxidaciones de polifenoles. Los resultados se observan en el Cuadro 1.

Las lesiones producto de la infección del hongo, aparecieron a los tres días. Son circulares a ovaladas, pardo-oscuro desde el inicio y se expanden hasta adquirir su tamaño definitivo siete días después de la inoculación (Figura 1).

Estos resultados parecieran indicar que el hongo necesita heridas para penetrar, lo cual estaría en contra de lo que dice Wellman (1972). Sin embargo, en el campo ocurren muchas lesiones por hoja que no presentan daños mecánicos visibles, y en pruebas preliminares hechas en Costa Rica bajo condiciones de invernadero y de campo, se obtuvo buena infección cuando se inoculó con numerosas cabecitas colocadas irregularmente en el haz de la hoja sin provocar heridas, obteniéndose mayor infección en las plántulas que crecieron en invernadero. Esto podría deberse a que la cutícula sufre resquebrajamiento por efecto de factores ambientales o a que la penetración dependa del grosor de la cutícula el cual puede variar por factores climáticos o estresores (Skoos citado por Küc, 1966).

Cuadro 1. Pruebas de inoculación con *Mycena citricolor* en hojas de caféto.

Prueba	Inoculación con heridas			Sin inoculación con heridas		
	# de puntos con heridas	%de lesiones formadas	Diámetro de la lesión mm	# de puntos con heridas	%de lesiones formadas	Diámetro de la lesión mm
1*	48	97,9	6,2 ± 0,03	48	10,4	1,8 ± 0,20
2	45	97,8	9,0 ± 0,27	45	2,2	2,0 ± 0,00
3	47	97,9	6,8 ± 0,24	47	—	—
4	34	88,2	7,6 ± 0,48	34	—	—
5	40	85,0	7,8 ± 0,36	40	—	—

* 10 hojas por cada experimento.



Fig. 1. Hojas de café inoculadas con *M. citricolor* siete días después de la inoculación. (a) Hoja sin heridas: inoculada en el lado derecho en cinco puntos con tres cabezitas en cada punto. (b). Hoja con heridas: inoculada con tres cabezitas en cada punto. Obsérvese (flechas) los puntos con solo heridas en el lado izquierdo.

De acuerdo con Juniper, citado también por Küc (1966) el grosor de la cutícula no es uniforme en toda la superficie de la hoja, por lo que pueden ocurrir "sitios" de infección distribuidos irregularmente en la hoja. Definitivamente la forma de pe-

netración del hongo necesita de estudios más detallados y estos resultados, aunque señalan que el hongo *M. citricolor* se desarrolla muy bien si ha penetrado por heridas no son concluyentes sobre la necesidad de las mismas para penetrar.

RESUMEN

Se realizó una inoculación de cabecitas provenientes de un aislamiento de *Mycena citricolor* en hojas de plántulas de café (*Coffea arabica* cv. Caturra) de 4-6 meses de edad desarrolladas en invernadero a plena exposición lumínica.

Las hojas fueron colocadas en platos de petri con vermiculita húmeda esterizada y un papel de filtro humedecido.

Se hicieron heridas leves con una aguja hipodérmica para romper la cutícula en 3 ó 5 puntos de tejido intervenal del haz de cada mitad de la hoja.

Las lesiones se desarrollaron solo en los puntos con heridas en donde se colocaron cabecitas.

En las hojas sin heridas ninguno de los puntos inoculados con cabecitas desarrolló lesiones. Sin embargo, estos resultados no son concluyentes sobre la necesidad de heridas para la penetración e infección exitosa de *M. citricolor*.

LITERATURA CITADA

- KUC, J. 1966. Resistance of plants to infectious agents. Annual Review of Microbiology 20: 337-370.
- MARTIN, J. T. 1964. Role of cuticle in the defense against diseases. Annual Review of Phytopathology 2: 81-100.
- WELLMAN, F. 1972. Tropical American plant diseases. New Jersey, The Scare Crow Press. p. 610.