

Dinámica poblacional de *Myrothecium roridum* Tode ex. Fr. y *Rhizoctonia solani* Kühn en viveros comerciales de cafetos^{1,2}

Fabio Bautista-Pérez³ y Rocio del P. Rodríguez⁴

J. Agric. Univ. P.R. 80(3):145-156 (1996)

RESUMEN

Se realizó un estudio para determinar las fuentes de inóculo y la dinámica poblacional de los hongos *Myrothecium roridum* y *Rhizoctonia solani* causantes de canchros en el tallo y podredumbre de raíces en cafetos en el vivero. Se seleccionaron seis viveros comerciales donde la enfermedad había sido detectada y se tomaron muestras cada ocho semanas. Se correlacionó la incidencia de la enfermedad con la densidad de los propágulos de ambos patógenos en: suelo de plantas enfermas, de plantas de apariencia sana y de plantas con follaje clorótico; suelo fumigado y no fumigado; materia orgánica utilizada para preparar la mezcla; y arena del semillero. Se determinó la densidad de propágulos de *M. roridum* y *R. solani* basado en el número de unidades formadoras de colonias (UFC) para el primero y en el porcentaje de semilla de remolacha colonizada para el segundo. Ninguno de los patógenos se detectó en la cáscara de café. La mayor densidad de propágulos se obtuvo en las muestras de suelo tomadas a 5 cm de profundidad en la bolsa de polietileno. La alta correlación entre la densidad de *M. roridum* y la incidencia de la enfermedad por temporada y por vivero indica su rol primario en los problemas de cancro del tallo en el vivero. La presencia de *M. roridum* en la arena de plántulas asintomáticas y la alta correlación con la densidad relativa en el suelo de plantas en el vivero sugiere que las plántulas en el semillero son la fuente primaria de inóculo para los problemas del vivero.

ABSTRACT

Population dynamics of *Myrothecium roridum* Tode ex. Fr. and *Rhizoctonia solani* Kühn in commercial coffee nurseries

Sources of inoculum and population dynamics of *Myrothecium roridum* and *Rhizoctonia solani*, causal organisms of cankers and root rot in nursery coffee plants, were studied. Six commercial nurseries were selected on the basis of presence of disease, and samples were taken every eight weeks. Correlated with disease incidence were variables such as density of

¹Manuscrito sometido a la junta editorial el 19 de septiembre de 1995.

²Los autores agradecen al Departamento de Agricultura por proveer los fondos, a los supervisores de viveros y a los agricultores por la cooperación incondicional en la realización de esta investigación.

³Técnico Investigador, Fundación Salvadoreña para Investigaciones del Café (PRO-CAFE).

⁴Investigadora, Departamento de Protección de Cultivos, Recinto Universitario de Mayagüez, Apartado 5000, Mayagüez, P.R. 00681.

propagules for both pathogens in soil of diseased plants, apparently healthy plants, and chlorotic plants; in fumigated and non fumigated soil; in organic matter used for the mixture; and in sand from the seedbed. Density of propagules of *M. roridum* was estimated on the basis of the colony-forming units (CFU); that of *R. solani*, on the basis of percentage of colonized sugar-beet seeds. Neither of the pathogens was detected in the coffee pulp. Higher density of propagules was obtained in the soil at 5-cm depth. The highly correlated density of *M. roridum* with disease incidence per season and nursery indicated its primary role in coffee stem cankers in the nurseries. The presence of *M. roridum* in the sand of asymptomatic seedlings and the high correlation with its density in soil of plants in the nursery suggests that seedlings are the primary source of inoculum for canker disease of plants in the nursery.

Key words: coffee, canker disease, *Myrothecium roridum*, *Rhizoctonia solani*, root rot

INTRODUCCION

En Puerto Rico, el cancro del tallo y la podredumbre de la raíz pivotal del cafeto causan pérdidas severas en los viveros, particularmente durante la época lluviosa (septiembre a noviembre). En muchos casos las pérdidas ocasionadas por esta enfermedad causan la destrucción de más del 50% de las plantas en el vivero. Cuando los síntomas iniciales de la enfermedad no son detectados por el productor y las plantas se siembran en el campo, por ser plantas débiles, éstas mueren por estrés, sequía o al inicio de la fructificación (Rodríguez et al., 1996).

Estudios sobre la etiología de esta enfermedad realizados por Rodríguez et al. (1996) demostraron que el problema de canchros en el tallo y podredumbre de la raíz pivotal en los viveros de cafetos se debía a la acción de los hongos *Myrothecium roridum* y *Rhizoctonia solani*.

Las prácticas recomendadas para la producción de cafetos incluyen la fumigación de la arena del germinador y de la mezcla de tierra en las bolsas de polietileno. Sin embargo, aún siguiendo esta recomendación, se ha observado que la incidencia de la enfermedad es alta en algunos viveros de la isla. La eficacia de una práctica de control está ligada a la dinámica del patógeno relacionado. En muchos casos la identificación del origen del inóculo es vital para el éxito de la práctica. Se realizó un estudio para identificar las posibles fuentes de inóculo de *M. roridum* y *R. solani*, estudiando las etapas en el desarrollo del cafeto.

MATERIALES Y METODOS

Se seleccionaron seis viveros en los cuales se habían detectado, en menor o mayor grado, problemas de canchros y pérdida de plantas. Se visitaron cada ocho semanas durante un ciclo de producción de un año. En cada visita se realizó un recorrido por el vivero y en un muestreo al azar se determinó la incidencia de la enfermedad basada en el porcentaje de plantas enfermas presentes.

Se tomaron muestras de las diferentes etapas del desarrollo de los cafetos. En el vivero las muestras consistieron de un total de 15 bolsas de polietileno que incluían: cinco plantas de apariencia sana, cinco con síntomas de canchros y cinco con hojas cloróticas. Las otras muestras fueron: 1) mezcla de suelo próxima a ser utilizada, preferiblemente ya en la bolsa, tratada y no tratada con fumigantes; 2) materia orgánica utilizada para la mezcla (cachaza de caña de azúcar o cáscara de café); y 3) a partir de julio se tomó una muestra de suelo del área de salpique de la base de la bolsa ya que se encontraron plantas enfermas asociadas a esta área. En el germinador se tomaron muestras de la arena del centro del foco de infección, de la orilla del foco y a 25 cm del foco donde las plantas se veían sanas. Cuando no se detectaban plántulas enfermas en el germinador, la muestra de arena se tomaba al azar. También se le solicitó al productor muestras de la semilla utilizada en la siembra.

Las muestras se procesaron en el laboratorio. A cada una de las bolsas de polietileno se le tomaron dos submuestras de suelo, una a 5 cm y otra a 10 cm de profundidad, las demás muestras se procesaron según se tomaron en el campo.

Para detectar los propágulos de estos patógenos se utilizaron dos métodos. Para *M. roridum*, se utilizó la técnica de diluciones (French y Hebert, 1980) y la alícuota de 1 ml se distribuyó en platos de Petri con agar de papa y dextrosa acidificado (APDac). Cada dilución se replicó cuatro veces y se incubaron por 15 días a temperatura de salón (24°C) al final de los cuales se determinó la densidad de *M. roridum*. Esta se basó en el número de unidades formadoras de colonias (UFC) estimado a partir del número de colonias que se desarrolló multiplicado por la dilución. Para la detección de *R. solani* se utilizó el método de trampas con semilla de remolacha las cuales se mezclaron con la muestra correspondiente (Papavizas et al., 1975). Se determinó el porcentaje de semillas de remolacha colonizadas (SRC) basado en el número de semillas con colonias de *R. solani*. Estas pruebas se realizaron con las muestras tomadas desde mayo a diciembre ya que en los meses previos los intentos de aislar este hongo por dilución fueron infructuosos. La relación entre las variables estudiadas se determinó mediante correlación (Steel y Torrie, 1988).

Las plantas asociadas a las muestras de las bolsas del vivero se separaron del suelo y se lavaron en agua corriente. Las raíces de las plantas sin síntomas y los tallos y raíces de las plantas con síntomas se colocaron en cámara húmeda para inducir signos de los patógenos. Todas las muestras se incubaron por 15 días a temperatura de salón y se examinaron diariamente.

Para determinar el efecto de los suelos infestados sobre el desarrollo de los cafetos, el excedente de las muestras de suelo de plantas enfer-

mas, de suelo de plantas de apariencia sana, y de suelo tratado con fumigante se utilizó para llenar tres tiestos de 15 cm de diámetro. En cada tiesto se sembró una plántula en estado cotiledonar y se arreglaron en un diseño completamente aleatorizado en el invernadero. Las condiciones adecuadas de humedad del suelo se mantuvieron con riego manual. Al final de seis meses se separaron las plantas del suelo y se determinó su peso seco, luego de secarlas por 48 hrs a 60°C en un horno de aire forzado. Las medias se compararon por la prueba de t a $P \leq 0.05$.

Para determinar si la semilla era portadora de los patógenos, se incubaron tres muestras de 500 semillas en una germinadora a 26°C por 45 días. Se determinó el porcentaje de germinación y se identificó la micoflora asociada a las semillas (Barnett y Hunter, 1987).

RESULTADOS

No se detectó la presencia de *R. solani* y de *M. roridum* en las muestras de semilla. Se encontraron los hongos *Fusarium* spp y *Aspergillus* spp y se observó que la germinación fue mayor en ausencia de estos hongos.

En el germinador la densidad de *R. solani* fue más alta en el foco de infección, y similar en el borde y a 25 cm del foco. Sin embargo, en las muestras de arena de plántulas asintomáticas *R. solani* se encontró en niveles bajos (Figura 1.). Por otro lado la densidad de *M. roridum* fue mayor en las muestras del borde del foco aunque se detectó a una densidad relativamente alta en el foco y un tanto menor a 25 cm del foco. Contrario a la dinámica de *R. solani*, la densidad de *M. roridum* en la arena de plántulas asintomáticas fue sorprendentemente alta.

Indistintamente del tipo de muestra tomada en el vivero, la densidad de *R. solani* y de *M. roridum* varió de acuerdo a la profundidad del suelo en la bolsa de polietileno. En términos generales la mayor densidad de propágulos se obtuvo a 5 cm de profundidad, y fue mayor en el suelo de plantas enfermas (Figuras 2A y 2B). Ambos patógenos se detectaron a niveles menores en el suelo de las plantas con follaje clorótico y de las plantas de apariencia sana. Sin embargo, signos de *M. roridum* y *R. solani* solamente se encontraron en asociación con las plantas enfermas.

La incidencia de plantas enfermas durante el año (Figura 3A) incrementó notablemente en los meses de mayo-junio, agosto-septiembre y en noviembre, siendo en este último más marcada. Se encontró una relación positiva y significativa entre la incidencia de plantas enfermas y la densidad de *M. roridum* en la mezcla de suelo ($r = 0.80$, $P \leq 0.01$). Similarmente, cuando se estableció la relación entre la incidencia de plantas enfermas por vivero y la densidad de este patógeno en la mez-

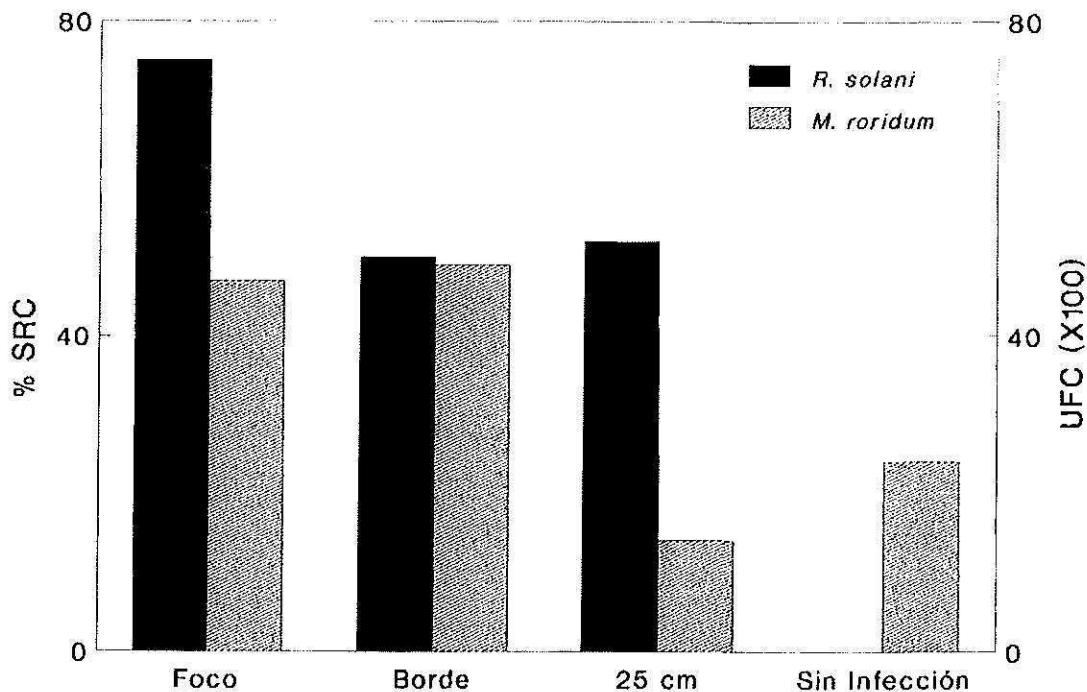


FIGURA 1. Densidad poblacional de *Rhizoctonia solani*, expresada en porcentaje de semilla de remolacha colonizada (SRC) y de *Myrothecium roridum*, expresada en unidades formadoras de colonia (UFC) en la arena de los germinadores.

cla de suelo (Figura 3B), se encontró una correlación positiva y significativa ($r = 0.96$, $P \leq 0.01$). Los resultados correspondientes a *R. solani* mostraron que la mayor densidad poblacional fue en agosto, sin embargo, no se detectó relación entre la densidad de propágulos de este patógeno en la mezcla de suelo y la incidencia de la enfermedad en el año (Figura 4A) o por vivero (Figura 4B).

El examen de los sustratos asociados a las plantas mostró que *M. roridum* no es muy frecuente y no está presente en la cáscara de café ni en la mezcla tratada con fumigante (Figura 5). Por otro lado, *R. solani* se encuentra presente en todos los sustratos con excepción de la cáscara de café. Los resultados de las muestras del suelo del salpique indican que ambos patógenos se encuentran en el suelo donde se depositan las bolsas, siendo la población de *M. roridum* mayor que la de *R. solani*.

Se encontró una correlación significativa y positiva entre la densidad de *M. roridum* en la mezcla de suelo y la encontrada en la arena de germinadores con plántulas de apariencia sana (Cuadro 1). Los coeficientes para *R. solani* no fueron significativos.

El desarrollo de plantas sembradas en la mezcla de suelo procedente de bolsas conteniendo cafetos enfermos o de apariencia sana y tratada con fumigante varió según se observa en el Cuadro 2. El peso seco de las plantas desarrolladas en la mezcla tratada fue significativa-

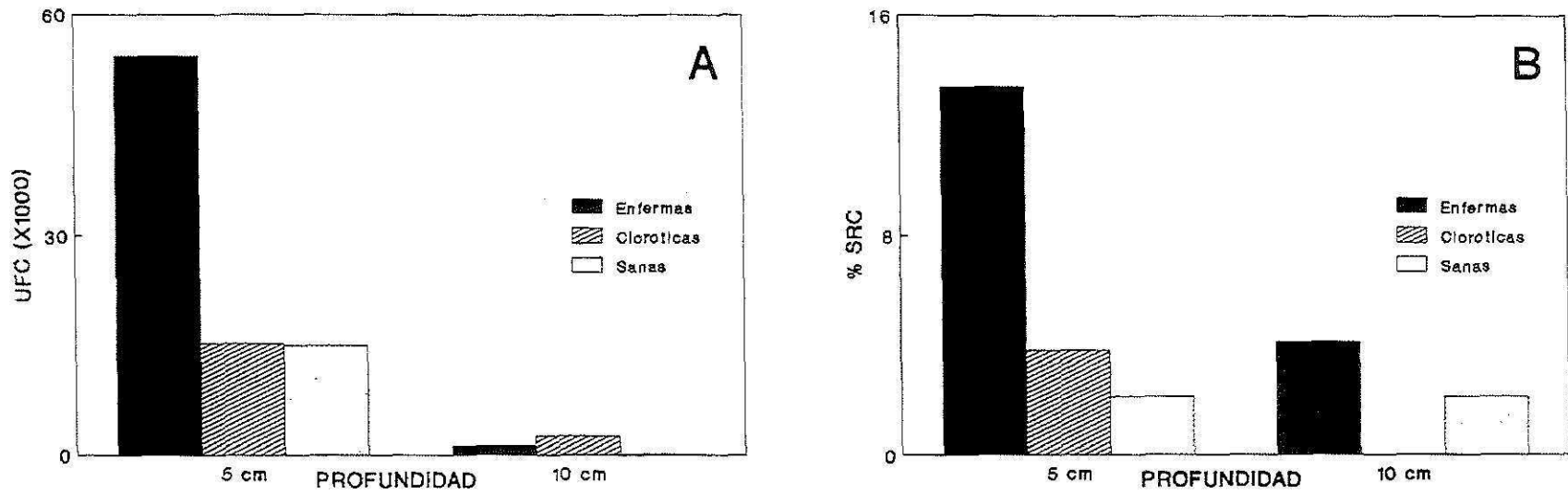


FIGURA 2. Densidad poblacional de (A) *Myrothecium roridum* expresada en unidades formadoras de colonia (UFC) y (B) *Rhizoctonia solani* expresada en porcentaje de semilla de remolacha colonizada (SRC) en las muestras a 5 cm y 10 cm de profundidad del suelo en bolsas conteniendo plantas enfermas, con hojas cloróticas y de apariencia sana.

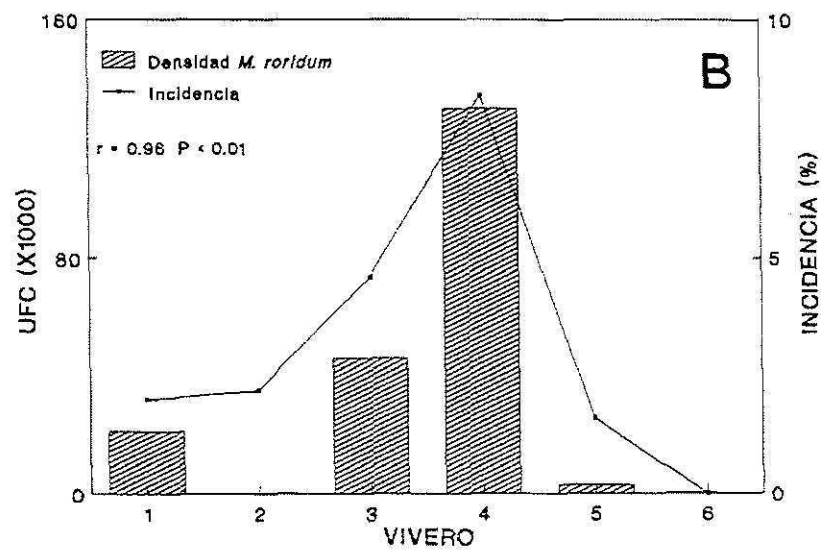
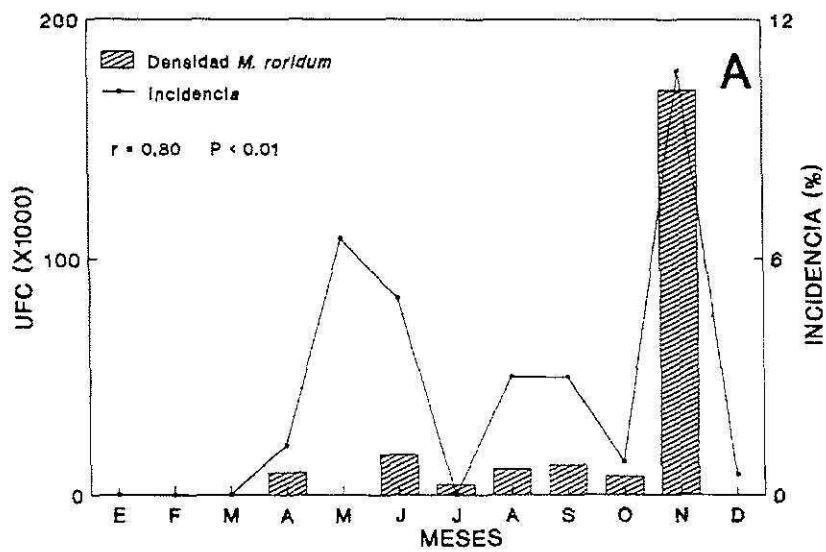


FIGURA 3. Incidencia de plantas con síntomas de canchros y densidad poblacional de *Myrothecium roridum* en suelo de bolsas durante el año (A) y por vivero (B).

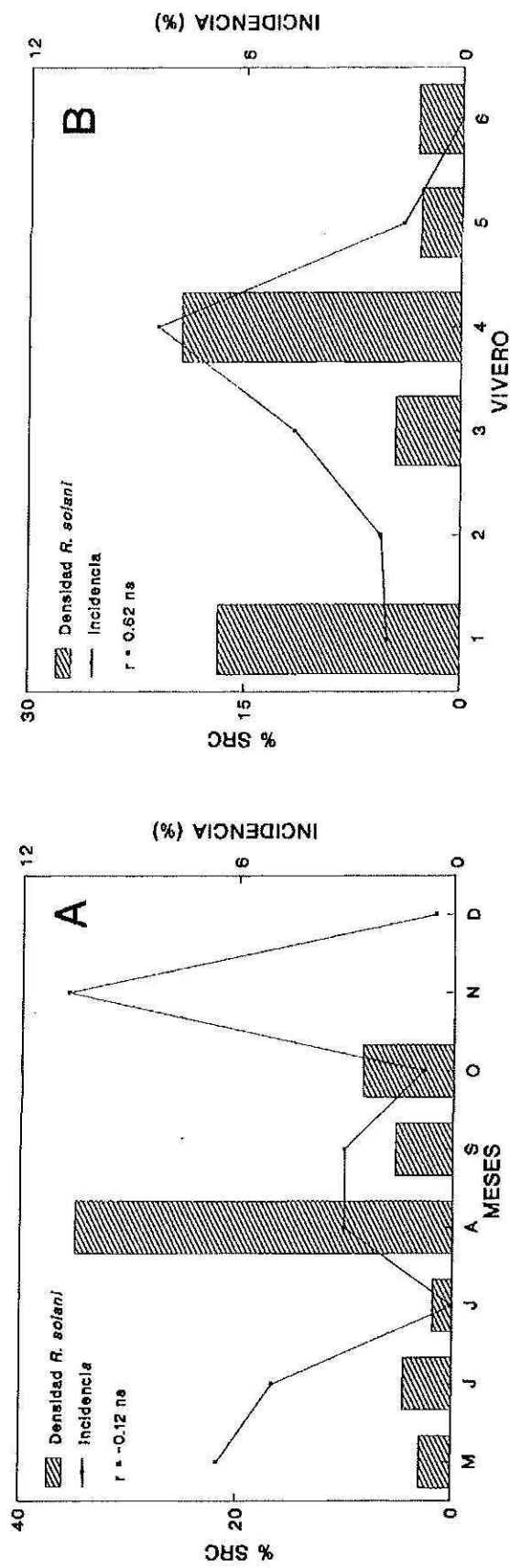


FIGURA 4. Incidencia de plantas con síntomas de canchros y densidad poblacional de *Rhizoctonia solani* en suelo de bolsas durante el año (A) y por vivero (B).

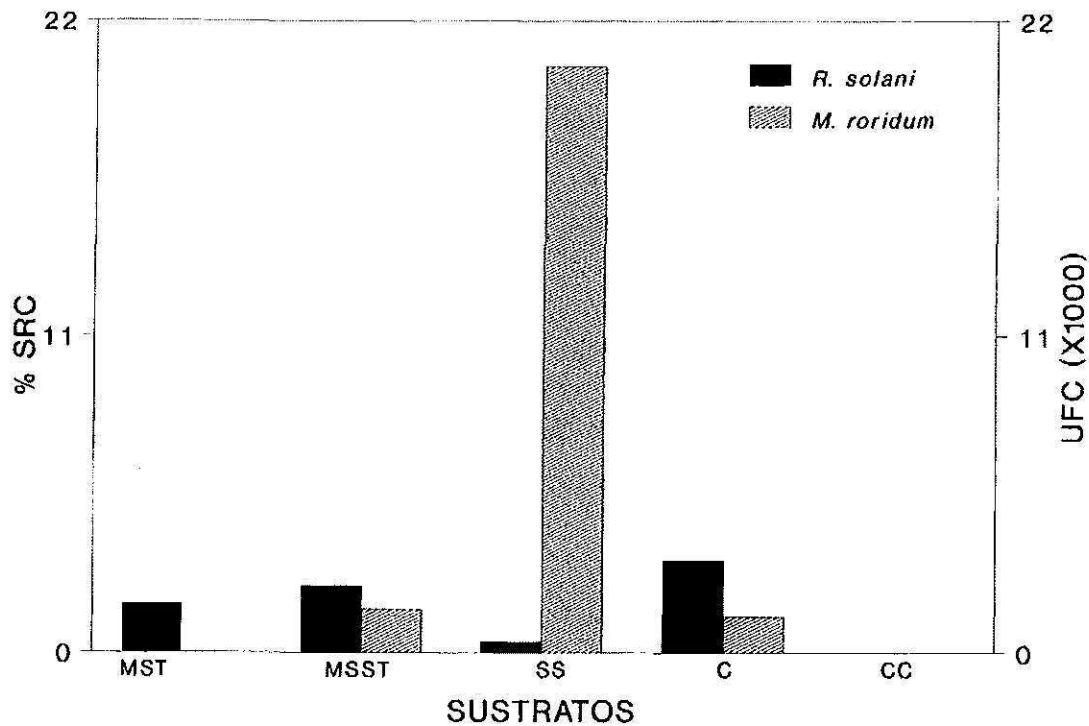


FIGURA 5. Densidad poblacional de *Myrothecium roridum* expresada en unidades formadoras de colonia (UFC) y de *Rhizoctonia solani* expresada en porcentaje de semilla de remolacha colonizada (SRC) en diferentes sustratos donde: MST = mezcla de suelo tratada, MSST = mezcla de suelo sin tratar, SS = suelo de salpique, C = cachaza de caña y CC = cáscara de café.

mente mayor que el de aquellas desarrolladas en el suelo procedente de cafetos enfermos. El desarrollo de las plantas en la mezcla de suelo procedente de plantas de apariencia sana, aunque menor, no fue significativamente diferente al desarrollo de las plantas en la mezcla de suelo tratada.

DISCUSION

La relación significativa entre la densidad de *M. roridum* en el vivero y la incidencia de plantas enfermas indica que éste es el patógeno principal, responsable de los canchros en las plantas del vivero. Este patógeno ha sido informado atacando plántulas de cafetos en Guatemala (Schieber y Echandi, 1963) y en la República Dominicana (Schieber, 1973). En Puerto Rico se ha informado como patógeno en las plantas del vivero y en cafetos adultos en el campo (Rodríguez et al., 1996). Posee una gama amplia de hospederos que incluye especies de leguminosas (Tripathi y Narain, 1986), cucurbitáceas (Singh, 1986) y otros (Tripathi et al., 1986). El hecho de que se encuentre en mayor densidad a 5 cm de profundidad en el suelo de la bolsa indica que el de-

CUADRO 1.—*Coefficientes de correlación entre la densidad relativa de Myrothecium roridum y Rhizoctonia solani en la muestra de suelo a 5 cm de profundidad y las posibles fuentes de inóculo.*

Variable ¹	Coeficiente Correlación (r)	
	<i>M. roridum</i>	<i>R. solani</i>
MSST	-0.31	-0.26
SS	0.47	-0.30
Foco	-0.66	-0.34
Borde	-0.66	-0.71
25 cm	-0.66	-0.59
SSS	0.94*	-0.55

*Significativo a $P \leq 0.05$.

- ¹ MSST = Mezcla de suelo sin tratar
 SS = Suelo de salpique
 Foco = Centro del área de plántulas con mal del talluelo
 Borde = Borde del foco
 25 cm = Distancia de muestreo desde el borde del foco
 SSS = Semillero sin síntomas del mal del talluelo

sarrollo de este patógeno se favorece por condiciones de mayor aireación. Esta concentración de propágulos también aumenta las probabilidades de infección a los tallos y a la base de la raíz pivotal donde se expresan mayormente los síntomas. Por tanto, en muestreos de control de calidad en los viveros, el examen de la mezcla de suelo a 5 cm de profundidad es suficiente para detectar este patógeno.

Como se esperaba la densidad de propágulos fue alta en la mezcla de suelo de bolsas con plantas enfermas y las plantas sembradas en esta mezcla tuvieron un desarrollo pobre. En los viveros donde se obtuvo mayor incidencia de la enfermedad se observó que era práctica común resembrar en las bolsas donde habían muerto las plantas, interpretando que éstas habían muerto por razones mecánicas del trasplante.

CUADRO 2.—*Peso seco de plantas desarrolladas durante seis meses en el invernadero en suelo proveniente de plantas sanas, plantas enfermas y en mezcla de suelo fumigado.*

Fuente	Peso Seco (gm)
Suelo de plantas sanas	3.06
Suelo de plantas enfermas	2.11*
Suelo fumigado	4.60

*Significativo a $P \leq 0.05$.

Esta práctica incrementó las probabilidades de infección de las nuevas plántulas perpetuando de esta manera el problema en el vivero.

Es también práctica común en los viveros que a las plantas con clorosis se les aplique fertilizantes en forma intensiva para luego transferirlas al campo. La presencia de *M. roridum* en asociación con plantas de hojas apicales cloróticas o endurecidas indica que éstas pueden estar manifestando síntomas de una infección en sus raíces y por tanto podrían sucumbir posteriormente en el trasplante. La presencia de *M. roridum* en el suelo, pero no en las raíces, de plantas de apariencia sana, sugiere que aún no se ha iniciado una infección significativa o que la etapa de susceptibilidad de las plantas ha pasado, ya que los cafetos jóvenes son los más susceptibles a la infección (Rodríguez et al., 1996).

La correlación significativa y positiva entre la densidad de propágulos de *M. roridum* en el vivero y en la arena de germinadores con plantas asintomáticas indica que las plántulas son la principal fuente de inóculo para las infecciones en el vivero. La escasa relación encontrada con la arena del foco o cerca del foco es comprensible ya que no se utilizan para el trasplante las plántulas de las áreas afectadas.

Un problema común de las plántulas en los germinadores es el mal del talluelo (Gil-Gaglioli, 1991; Hernández-Paz, 1975). A pesar de los tratamientos a la arena, periódicamente se manifiesta esta enfermedad. Comprobamos que la semilla no es fuente de inóculo de *R. solani* y de *M. roridum*, por tanto debe existir otra fuente de inóculo de los patógenos. Estos hongos son habitantes normales del suelo y es éste la fuente de inóculo primario (Domsch et al., 1980; Srivastava y Singh, 1985). La diseminación aérea de estos hongos es factible cuando el viento remueve partículas del suelo. Posiblemente ésta sea una de las fuentes primarias de inóculo para la infección de plántulas en el germinador. Otra fuente a considerar es la contaminación debido a pobres prácticas de sanidad en las diferentes etapas del desarrollo de los cafetos.

La infección por estos hongos se favorece por condiciones de alta humedad y temperaturas moderadas (Chase y Poole, 1984; Domsch et al., 1980), por tanto un buen manejo del agua en el vivero podría reducir el desarrollo de la infección. La fumigación del medio para el desarrollo de los cafetos, las prácticas de sanidad y el uso de cáscara de café como fuente de materia orgánica para la mezcla de suelo son estrategias disponibles para minimizar el impacto de esta enfermedad en los viveros comerciales de Puerto Rico.

LITERATURA CITADA

- Barnett, H. L. and B. B. Hunter, 1987. *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*. McMillan Co., New York, N.Y. 216 p.

- Chase, A. R. and R. T. Poole, 1984. Development of *Myrothecium* leaf spot of *Dieffenbachia maculata* 'Perfection' at any temperatures. *Plant Disease* 68(6):488-490.
- Domsch, K. H., W. Gams and A. Trauti-Heidi, 1980. Compendium of Soil Fungi. Vol. 1. Acad. Press. London, England. 859 p.
- French, E. R. y T. T. Hebert, 1980. Métodos de Investigación Fitopatológica. IICA. San José, Costa Rica. 227 p.
- Gil-Gaggioli, S. L., 1991. Enfermedades del cultivo del café. En Manual del Caficultor. Instituto Salvadoreño de Investigaciones del Café. ISIC. Nueva San Salvador, El Salvador. p. 91-104.
- Hernández-Paz, M., 1975. El café: sus enfermedades. Revista cafetalera. Guatemala. p. 23-24.
- Papavizas, G. C., P. B. Adams, R. D. Lumsden, J. A. Lewis, R. L. Dow, W. A. Ayers and J. G. Kantzes, 1975. Ecology and epidemiology of *Rhizoctonia solani* in field soil. *Phytopathology* 65(8):871-877.
- Rodríguez, R. P., L. Sánchez, W. González y O. Bosques, 1996. Patogenicidad de *Myrothecium roridum* y *Rhizoctonia solani* en cafetos en el vivero. *J. Agric. Univ. P.R.* 80:135-143.
- Schieber, E. and E. Echandi, 1963. *Myrothecium* stem necrosis and leaf spot, a new disease of coffee in Guatemala. *Phytopathology* 53(1):25-26.
- Schieber, E., 1973. Informe Sobre Algunos Estudios Fitopatológicos Efectuados en la República Dominicana. Centro Federal de Cooperación Económica, Druckerei Webels Press, Alemania. 67 pp.
- Singh, R. S., 1986. A new fruit rot disease of muskmelon from India. *J. Res. Punjab Agric. Univ.* 23(2):265-266.
- Srivastava, M. P. and S. Singh, 1985. Studies on survival of *Myrothecium roridum* Tode ex. Fr. *National Academy of Sciences Letters* 8(1):3-4.
- Steel, R. G. D. y J. H. Torrie, 1988. Bioestadística: Principios y Procedimientos. Segunda edición. McGraw-Hill, México, D. F. 622 p.
- Tripathi, R. K. and U. Narain, 1986. Occurrence of *Myrothecium roridum* on some leguminous hosts. *Indian Journal of Plant Pathology* 4(2):204.
- Tripathi, R. K., U. Narain, V. Ratan and R. A. Singh, 1986. Some new *Myrothecium* leaf spots from India. *Farms Science Journal* 1(1-2):90-91.