

IDENTIFICACIÓN DE *Drepanoconis larviformis*, AGENTE CAUSAL DE LA AGALLA PULVERULENTE EN *Nectandra lanceolata*, CON MICROSCOPIA ÓPTICA Y ELECTRÓNICA DE BARRIDO

M. A. Murace^{a*}, M. L. Luna^{b,c}, G. García Ciuffani^a y A. M. Aprea^a

^a Protección Forestal, Fac. Cs. Agr. y Forestales, UNLP, calle 60 y 119 s/n CC 31, La Plata, Bs. As. CP: 1900.

^b Morfología Vegetal, Fac. Cs. Naturales y Museo, UNLP.

^c CIC-BA.

* Autor de correspondencia: Mónica Adriana Murace. E-mail: mmurace@gmail.com. Teléfono: +54 (0221) 4236616

Recibido: Agosto 2012. Aprobado: Noviembre 2012.

Publicado: Diciembre 2012.

RESUMEN

Nectandra lanceolata Nees & Mart. ex Nees (Lauraceae) conocida como ayuí-saiyú, laurel canela o laurel amarillo, es una especie endémica del SE de Sudamérica. En Argentina, es típica del estrato arborecente de la Provincia Paranense, Distrito de las Selvas, apreciado por sus caracteres xilológicos y como ornamental. El objetivo del presente estudio fue identificar al agente causal de la agalla pulverulenta en *Nectandra lanceolata*. El material provino del “Jardín Botánico Carlos Spegazzini, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, UNLP”. Muestras con hiperdesarrollos cubiertos por una masa pulverulenta blanquecina fueron procesadas para su análisis con microscopios óptico y electrónico de barrido. Los caracteres microscópicos de los basidios y basidiosporas así como la apariencia macroscópica de las agallas permitieron identificar a *Drepanoconis larviformis* (Basidiomycota, Exobasidiales, Cryptobasidiaceae) como responsable de la agalla pulverulenta en *N. lanceolata*. En Argentina, *D. larviformis* fue reportado creciendo en *N. porphyria*, *N. falcifolia* y *Ocotea puberula*, por lo cual constituye el primer registro en *N. lanceolata* en este país.

Palabras Clave: Exobasidiales, Cryptobasidiaceae, agalla pulverulenta, *Drepanoconis larviformis*, *Nectandra lanceolata*.

IDENTIFICATION OF *Drepanoconis larviformis*, CAUSAL AGENT OF THE POWDERY GALL IN *Nectandra lanceolata*, UNDER LIGHT AND SCANNING ELECTRON MICROSCOPES

ABSTRACT

Nectandra lanceolata Nees & Mart. ex Nees (Lauraceae), known as ayuí-saiyú, laurel cinnamon or yellow laurel, is an endemic species from SE South America. In Argentina, this tree constitutes a typical component of “Provincia Paranense, Distrito de las Selvas” valued by its timber and its interest as ornamental. The aim of this study was to identify the causal agent of the powdery gall in *Nectandra lanceolata*. Material was collected at “Jardín Botánico Carlos Spegazzini, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, UNLP”. Samples with over-developments covered by powdery whitish masses were processed for their analyses under light and scanning electron microscopes. The microscopic features of the basidia and the basidiospores together with the macroscopic characteristics of the galls allowed us to identify *Drepanoconis larviformis* (Basidiomycota, Exobasidiales, Cryptobasidiaceae) as the causal agent of powdery gall in *N. lanceolata*. In Argentina, *D. larviformis* was reported growing on *N. porphyria*, *N. falcifolia* and *Ocotea puberula*, thus our findings constitute the first record on *N. lanceolata* for this country.

Keywords: Exobasidiales, Cryptobasidiaceae, powdery gall, *Drepanoconis larviformis*, *Nectandra lanceolata*.

INTRODUCCIÓN

Nectandra lanceolata Nees & Mart. ex Nees (*N. weddellii* = *N. puberula*) es una especie perteneciente a las Lauráceas, endémica del sudeste de Sudamérica (este y sur de Brasil,

noreste de Argentina, Paraguay y Bolivia) [1, 2] y en peligro de extinción según la Lista Roja de especies amenazadas de la IUCN [3]. En la República Argentina,

este laurel conocido vulgarmente como ayuí-saiyú, laurel canela, laurel amarillo, canela o canela de brejo, es un habitante típico del estrato arborecente del Distrito de las Selvas (Provincia Paranense, Dominio Amazónico) en Misiones junto a *N. saligna*, siendo esta última más constante y de mayor abundancia. Debido a sus excelentes características xilológicas, *N. lanceolata* es el más importante de los laureles desde el punto de vista forestal; su madera es considerada de alta calidad comercial y utilizada en la elaboración de muebles, chapas para placas o compensados ornamentales y, en pequeña escala, en construcciones civiles (marcos de puertas y ventanas, parquet, entre otros). Asimismo, es una especie apreciada como ornamental y por esto recomendada para la arborización de parques y para la reforestación [1, 4]

Varias especies de Lauráceas (*Nectandra* spp, *Ocotea* spp, *Cryptocarya* sp, *Aiouea* sp, *Oreodaphne* sp) son susceptibles al patógeno *Drepanoconis* (Basidiomycota, Exobasidiales, Cryptobasidiaceae) [5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12]. El género *Drepanoconis* fue erigido por Schroeter y Hennings en el año 1896, tipificado por *D. brasiliensis* posiblemente sinónimo prioritario de *D. larvaeformis* (Speg.) Speg. y con seis especies en la literatura [7]. En la actualidad, *D. larvaeformis* es considerado sinónimo de *D. larviformis* Speg. [11, 12].

En referencia a este patógeno, existen antecedentes acerca de su presencia en distintas especies de Lauráceas centro-sudamericanas causando características agallas pulverulentas: *Nectandra lanceolata* Nees & Mart. ex Nees, *N. nitidula* Nees y *N. linearia* (este nombre no existe, podría ser *N. lineata*?), en Brasil; *N. cuspidata* Nees & Mart. y *N. globosa* (Aubl.) Mez., en Panamá; *N. antillana* Meisn., en Jamaica; *N. oppositifolia* Nees & Mart. ex Nees (= *N. rigida* (Kunth) Nees), en Brasil; *Ocotea divaricata* Mez. y *O. organensis* Mez., en Brasil; *O. puberula* (Rich.) Nees, en Paraguay; *O. veraguensis* (Meisn.) Mez., en

Panamá; *Cryptocarya mandioccana* Meisn., en Brasil; *Aiouea costaricensis* (Mez) Kosterm, en Costa Rica [6, 8, 9, 10, 11, 12]. En la República Argentina, *D. larviformis* fue identificada por Marchionatto a principios de siglo pasado (1933) sobre *Nectandra porphyria* procedente de la provincia de Misiones y sobre *N. falcifolia* (Nees) Castiglioni ubicada en la Estación Loreto, Santiago del Estero [5, 13]. Por su parte, Lindquist en el año 1948 menciona a este parásito para *Ocotea puberula* cultivada en la ciudad de La Plata [tomado de 10].

El objetivo del presente trabajo fue identificar al agente causal de la agalla pulverulenta en ejemplares de *Nectandra lanceolata* cultivados en la ciudad de La Plata, Provincia de Buenos Aires, Argentina.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se trabajó con material recolectado durante el mes de noviembre del año 2010 – octubre 2011, de ejemplares de *N. lanceolata* ubicados en el Jardín Botánico Carlos Spegazzini de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad Nacional de La Plata, Buenos Aires, Argentina. Las muestras consistieron en brotes, hojas y ramas pequeñas con signos (masas pulverulentas de esporas) y síntomas (hiperdesarrollos tisulares) de la enfermedad. Las esporas provenientes de material fresco fueron montadas en azul de algodón y observadas bajo microscopio óptico (MO) Nikon Labophot-2, a efectos de observar sus características morfológicas y obtener los parámetros microbiométricos, sobre un total de 60 mediciones. Asimismo, se conservó material en formol-alcohol-ácido acético (FAA) para la posterior observación con microscopio electrónico de barrido (MEB) JEOL, JSM-35 CF, perteneciente al Servicio de Microscopía Electrónica de la Facultad de Ciencias Naturales y Museo (UNLP). Las muestras fueron deshidratadas en una serie ascendente de alcoholes hasta

alcohol absoluto, montadas sobre las platinas hasta su secado bajo condiciones ambientales y finalmente metalizadas con un baño de oro-paladio.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los síntomas observados consistieron en tumores (agallas) globosos a elongados, de diferentes tamaños, alcanzando los mayores aproximadamente 10 cm de longitud, cubiertos de una masa pulverulenta blanquecina que en algunos casos presentó una cubierta escamosa de color castaño (Figura 1).

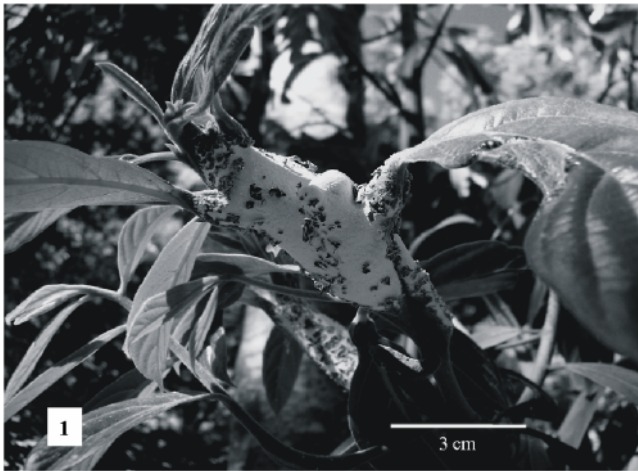


Fig. 1. Tumor en rama de *N. lanceolata*.



Fig. 2. Tumor rameal y necrosis de brote en *N. lanceolata*.

Dichos tumores fueron registrados en ramas como también en brotes y hojas verdes que con el transcurso del tiempo manifestaron necrosis total (Figuras 2 y 3).



Fig. 3. Tumores rameales y necrosis foliar en *N. lanceolata*.

Asimismo, fueron hallados hiperdesarrollos secos, de consistencia leñosa y superficie agrietada, rugosa y carente de masa pulverulenta de basidiosporas. Las inflorescencias y los frutos no presentaron evidencias macroscópicas de infección.

Con MO se observaron basidiosporas hialinas, algunas de forma ovalada o angostamente piriforme, otras vermiformes, curvadas formando una “U”, con un extremo agudo, el otro redondeado, cicatriz basal prominente y de dimensiones 21-25,3 μm x 9,2-13,8 μm , con 3-5 septos, pared gruesa, verrucosa, de 3-4,6 μm de espesor (Figuras 4 y 5).

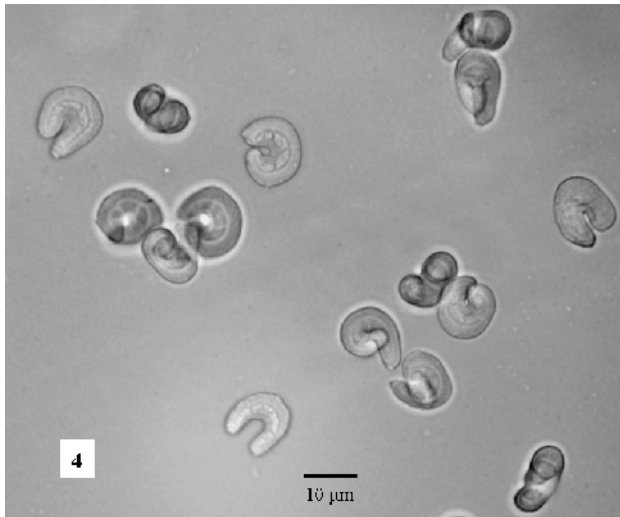


Fig. 4. Micrografía con MO. *Drepanoconis larviformis*. Esporas de formas diversas.

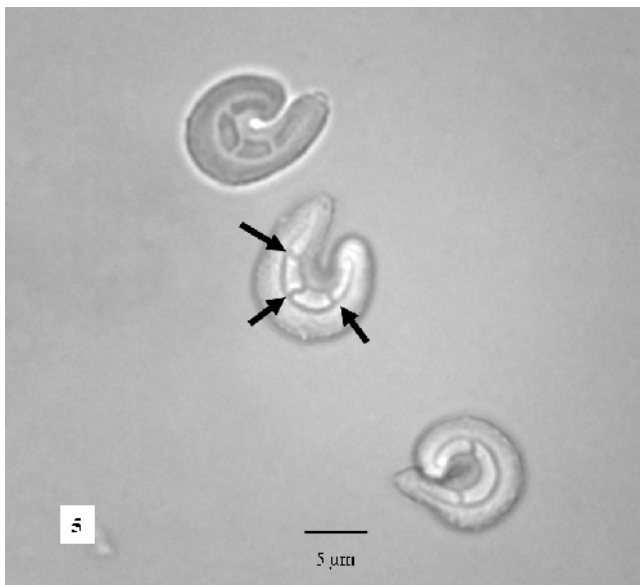


Fig. 5 . Micrografía con MO. *Drepanoconis larviformis*. Esporas, detalle septos (flechas).

Con MEB se identificaron los mismos caracteres morfológicos en las esporas, si bien esta técnica permitió observar con más detalle la pared verrucosa como así también la cicatriz basal de las mismas, junto con la tabicación (Figuras 6 y 7).

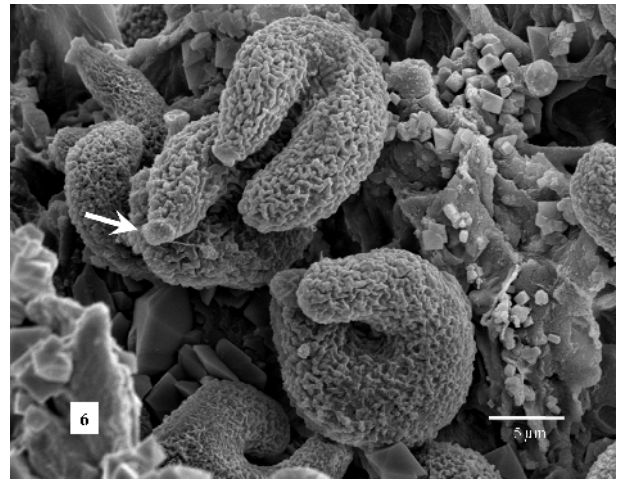


Fig. 6. Micrografía con MEB. *Drepanoconis larviformis*. Detalle de esporas con pared verrucosa y cicatriz basal (flecha).

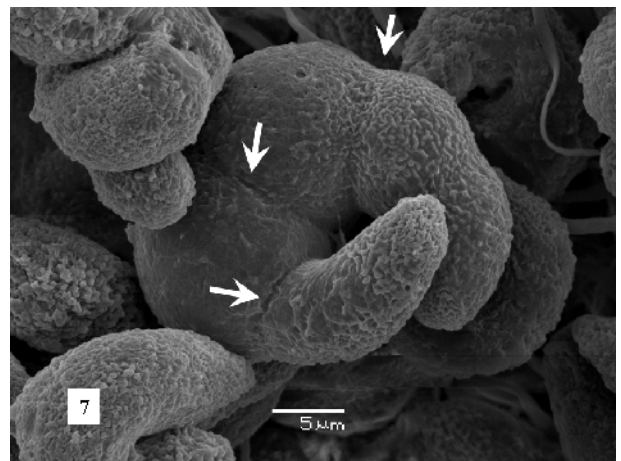


Fig. 7. Micrografía con MEB. *Drepanoconis larviformis*. Esporas, detalle septos (flechas).

Las observaciones con MEB permitieron asimismo identificar los basidios (holobasidios); éstos exhibieron distintos estadios de maduración, con forma cilíndrica a subclavada, 3 μm de diám., diferenciación de dos basidiosporas sésiles y excurvadas en el extremo de cada uno de ellos y abundantes hifas estériles circundantes de 2 μm de ancho (Figuras 8, 9 y 10).

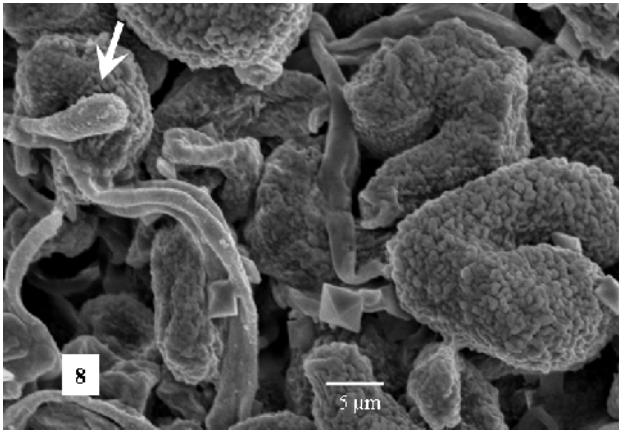


Fig. 8. Micrografía con MEB. *Drepanoconis larviformis*. Detalle de basidio (flecha) y esporas maduras (asterisco).

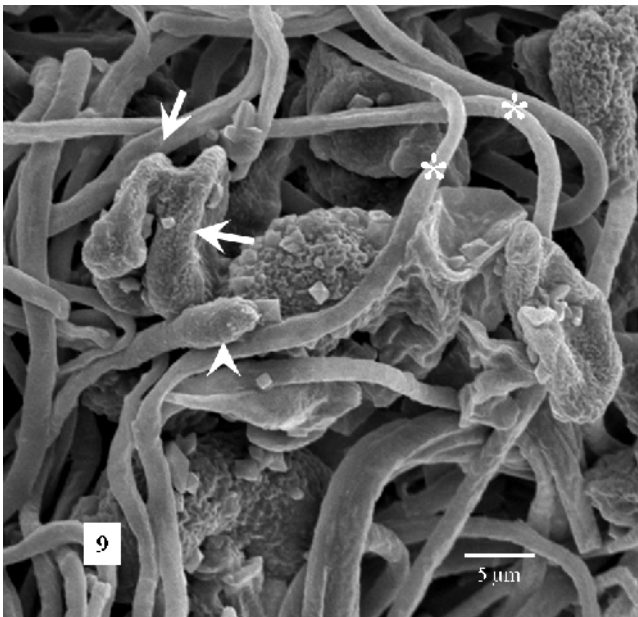


Fig. 9. Micrografía con MEB. *Drepanoconis larviformis*. Diferenciación de esporas excursas (flechas), hifas estériles (asteriscos) y basidio (punta de flecha).

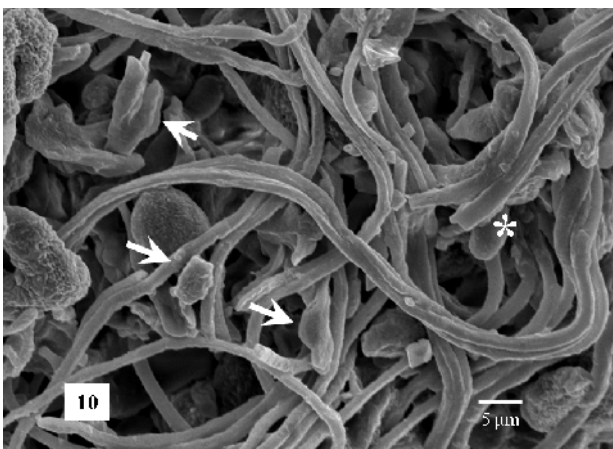


Fig. 10. Micrografía con MEB. *Drepanoconis larviformis*. Detalle diferenciación basidiosporas (flechas) y basidios en diferentes estadios de maduración (asterisco).

Además, en muestras de agallas foliares fueron observadas paráfisis agrupadas, de extremo no ensanchado, de 2 µm de diám. y de largo igual o superior a los 200 µm (Figura 11).

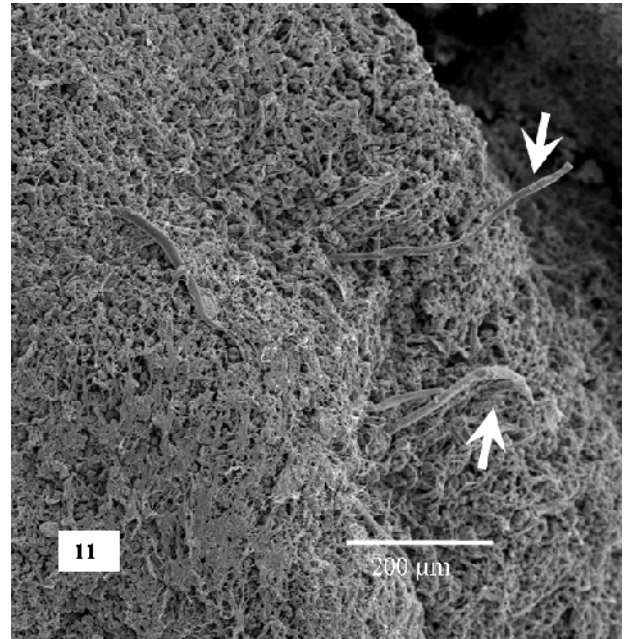


Fig. 11. Micrografía con MEB. Agalla foliar en *Nectandra lanceolata*. Detalle de paráfisis correspondientes a *Drepanoconis larviformis* (flechas).

Los síntomas descritos coinciden con los mencionados por otros autores en especímenes de Lauráceas del Continente Americano parasitados por *D. larviformis*. Este patógeno produce agallas características sobre brotes, hojas y tallos inicialmente verdes, los que con el tiempo mueren a causa de la infección. Si bien en el presente trabajo no fue detectada la diferenciación de agallas en las inflorescencias, existen antecedentes acerca de la infección de las mismas, como así también de su presencia en los frutos [5, 7, 8, 10, 12].

Los aspectos morfológicos y microbiométricos de las basidiosporas observadas bajo MO y MEB fueron concordantes con las descripciones aportadas por distintos investigadores [5, 8, 10, 12]. Hendrichs *et al.* [10] consideran a estas características como concluyentes al momento de distinguirla de *D. fructigena*, también parásita de Lauráceas de America del Sur como así también para diferenciar a *Drepanoconis* de otras Cryptobasidiaceae citadas para el Continente Americano [14]. En cuanto a la morfología de las basidiosporas, en el presente trabajo se registraron diferencias morfológicas con respecto a lo mencionado por Piepenbring *et al.* [12] quienes describen a las basidiosporas sin septos y con pared formada por 2 estratos, el externo rugoso, que en conjunto alcanzan un espesor de entre 1.5–2 μm . Estas diferencias refuerzan la idea de los citados autores de que estas características estarían relacionadas con el tiempo de almacenamiento o el estado de desarrollo del material en estudio.

En referencia a los basidios y a las paráfisis, lo hallado coincide con los aportes de [8, 10, 12]. La diferenciación de 2 basidiosporas sésiles en el extremo de cada holobasidio y la presencia de paráfisis sin extremo ensanchado también son consideradas características relevantes para distinguir a *D. larviformis* de *D. fructigena* [10].

Los principales caracteres diagnósticos para diferenciar ambas especies se muestran en la siguiente clave:

1.- Basidiosporas con 1 septo, raramente 2, suavemente curvadas, medidas 16-19 x 5-6 μm , mas de 2 esporas por basidio, paráfisis con extremo ensanchado.....*D. fructigena*

1'.- Basidiosporas con mas de 2 septos, forma y tamaño variables, principalmente curvadas, medidas 12-30 (-50) x 8-17 μm , 2 esporas por basidios, paráfisis sin extremo ensanchado.....*D. larviformis*

A excepción de *Coniodictyum*, el género *Drepanoconis*, junto con otros de la familia Cryptobasidiaceae (*Botryoconis*, *Clinoconidium*, *Laurobasidium*), constituyen un grupo muy poco conocido de parásitos obligados altamente específicos de las Lauráceas de los trópicos y subtropical de America central y sur, este de Asia y Australia [9, 10, 14]. Según Gómez & Kisimova-Horovitz [7] esta especificidad pondría de manifiesto conexiones entre el neotropical y Australia oriental. Excepto *Laurobasidium*, los Cryptobasidiaceae se caracterizan por esporular internamente mediante la producción de basidiosporas sobre holobasidios gasteroides, carentes de esterigmas, las cuales son posteriormente liberadas por ruptura de la epidermis, constituyendo su dispersión al igual que para la totalidad de los Exobasidiales un interrogante a resolver [7, 8, 10].

Finalmente, sería de interés continuar las investigaciones en las poblaciones naturales de *Nectandra lanceolata* para las cuales, hasta el momento, no se registran antecedentes de esta relación hospedante-patógeno.

CONCLUSIONES

Drepanoconis larviformis es el agente responsable de la agalla pulverulenta en *Nectandra lanceolata* cultivada en la ciudad de La Plata, Argentina. Dicho aporte constituye el primer registro para el país de esta asociación hospedante – patógeno.

AGRADECIMIENTOS

Al Doctor Alejandro Lucía (Ingeniero Forestal, Msc. en Control de Plagas y su Impacto Ambiental, Doctor en C&T Mención Química) por el aporte de parte del material. A la Dra. Gabriela Giudice, por el apoyo recibido durante la realización de este trabajo. Al Lic. Rafael Urrejola, Servicio de Microscopía Electrónica del

Museo de La Plata, por su asesoramiento durante las observaciones con MEB.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] Lopez, J.C., Little, E., Ritz, G., Rombold, J. & Hahn, W., (2002). “Árboles comunes del Paraguay”. *Cuerpo de Paz, Colección e Intercambio de Información*. Editorial Grafica Mercurio S. A., Asunción, Paraguay, 458 pp.
- [2] Zuloaga, F.O. & Morrone, O., (2007). “Catálogo de las plantas vasculares de la República Argentina”. Disponible en: <http://www.darwin.edu.ar/proyectos/floraargentina/generos>
- [3] IUCN, Red list of threatened species, (2010). “World conservation monitoring centre 1998. *Nectandra weddellii*”. Disponible en: <http://www.iucnredlist.org>.
- [4] Tortorelli, L.A., (2009). “Maderas y Bosques Argentinos”. Tomos I y II. Orientación Gráfica Editora S.R.L., Buenos Aires, Argentina, 1111 pp.
- [5] Marchionatto, J.B., (1939). “Notas micológicas”. *Physis* (15): 133 - 144.
- [6] Spaulding, P., (1961). “Foreign diseases of forest trees of the world”. *U.SDA Agric. Handb.* 197: 1-361.
- [7] Gómez, L.D & Kisimova-Harovitz, L., (1997). “Basidiomicetos de Costa Rica. Exobasidiales, Cryptobasidiales. Notas históricas, taxonómicas y fitogeográficas”. *Rev. Biol. Trop.* 45 (4): 1293 - 1310.
- [8] Gómez, L.D & Kisimova-Harovitz, L., (1998). “Basidiomicetes de Costa Rica: Nuevas especies de Exobasidium (Exobasidiaceae) y registros de Cryptobasidiales”. *Rev. Biol. Trop.* 46 (4): 1081 - 1093.
- [9] Esquivel, E.A., (2000). “La hiperplasia pulverulenta del fruto de *Nectandra globosa* Mez. (Lauraceae) por *Drepanoconis larvaeiformis* (Speg) (Cryptobasidiaceae)”. *Res. 19 Congreso Cient-Nacional*. Univ. Panamá, pp. 132.
- [10] Hendrichs, M., Bauer, R. & Oberwinkler, F., (2003). “The Cryptobasidiaceae of Tropical Central and South America”. *Sydowia* 55 (1): 33 - 64.
- [11] Farr, D.F. & Rossman, A.Y., (2010). *Fungal databases, Systematic Mycology and Microbiology Laboratory*. ARS, USDA. Disponible en: <http://www.fungaldb.com/>.
- [12] Piepenbring, M., Espinosa, J., Saldaña, L. & Cáceres, O., (2010). “New records, host plants and molecular data of Exobasidiales (Basidiomycota) from Panamá”. *Nova Hedwigia* 91 (1-2): 231 – 242.
- [13] Nome, S.F., Docampo, D.M & Conci, L.R., (2011). “Enfermedades de *Nectandra falcifolia* (Nees) Castiglioni (laurel del río, laurel miní, laurel de la isla)”. In: *Atlas Fitopatológico Argentino* 3(4). ISSN 1851 - 8974. Córdoba, Argentina. Disponible en: <http://www.fitopatoatlas.org.ar/>.
- [14] Maier, W., Khoza, T., Harmse, N., Wingfield, B.D. & Wingfield, M., (2006). “A disease epidemic on *Zizyphus mucronata* in the Kruger National Park caused by *Coniodictyum chevalieri*”. *Studies in Mycology* 55: 281 - 290.