

IDENTIFICACION DE LOS MICROORGANISMOS QUE PRODUCEN LAS AGALLAS Y LA GOMOSIS EN *Khaya nyasica*

ISABEL BOADO Y R. LEONTOVYC

RESUMEN

Se efectuó una revisión bibliográfica sobre la sintomatología de las agallas y la gomosis en *Khaya nyasica* Stapf., y se encontró muy poca información al respecto. Se estudiaron los microorganismos existentes en las agallas y en la gomosis y se realizaron diversas observaciones en el microscopio, así como pruebas de identidad bioquímica y fisiológica. Como resultado de estos estudios, se identificaron en las agallas las bacterias *Xanthomonas rubrilineans* (Lee et al.) Starr. et Burkh., *Xanthomonas* sp. y *Corynebacterium* sp.; mientras que en la porción de madera donde incide la gomosis se encontró el hongo *Tubercularia* sp.

INTRODUCCION

Khaya nyasica Stapf. es un árbol que produce madera muy valiosa. Su área de distribución geográfica está situada en la zona tropical de Africa, al Sur del Ecuador. Fue introducida en Cuba por el Jardín Botánico "Atkins" ("Julián Acuña") del Central Soledad ("Pepito Tey") en enero de 1932. Se cultiva en diversos lugares del país y su desarrollo es excelente (Betancourt et.al, 1972).

Al estudiar las características de las plantaciones de esta especie, en varios árboles se observaron deformaciones en forma de agallas y de gomosis. Estas anomalías aparecen –juntas– en unos casos y separadas en otros –en el fuste y en las ramas de los árboles.

En la literatura consultada no se encontró información acerca de estas afectaciones a K. nvasica en otros países. En Cuba han sido informados por Roseñada y González (1963), Bisse (1967) y Zayas (1967).

El objetivo de este trabajo es informar acerca de los microorganismos que se han encontrado en las agallas y en la gomosis de K. nvasica.

MATERIALES Y METODOS

Se realizó un muestreo representativo en árboles afectados por agallas y gomosis (Figuras 1 y 2), utilizando material de las partes afectadas y –como testigo– de las partes sanas. Las muestras se tomaron de diferentes árboles, ubicados en los siguientes lugares: Estaciones Experimentales de Artemisa y Santa Fe, provincia de La Habana; Jardín Botánico "Atkins", de Soledad, provincia de Cienfuegos; plantaciones de la Delegación Provincial del INDAF, en Santiago de Cuba y Centro de Investigación Forestal (CIFJ, en Siboney, Ciudad de La Habana.



FIGURA 1. Árbol de Khaya nvasica afectado por agallas.



FIGURA 2. Arbol de Khaya nyasica con gomosis.

Las muestras para la siembra microbiológica se procesaron siguiendo el método descrito por Collins (1967). Las observaciones microscópicas directas se realizaron por el método Rougieux y las coloraciones, por el de Smith et al., (1964) (Tabla 1).

Se efectuaron las siguientes pruebas bioquímicas y fisiológicas:

- a) Siembra en diferentes almidones (Tabla 2).
- 5) Crecimiento de los microorganismo en agar-papa a diferentes pH (Tabla 3).
- c) Hidrólisis de la gelatina por dos métodos diferentes, descritos por Collins (1967) y Collins y Lyne (1970) (Tabla 4).
- d) Crecimiento en diferentes fuentes de carbono y en distintas fuentes de nitrógeno; formación de gases y determinación de nitritos (Universidad de La Habana, 1970) (Tablas 5 y 6).
- e) Prueba de la catalasa (Harrigan y Cance, 1968) (Tabla 7).

TABLA 1. Coloraciones.

Cepa	Simple	Gram.	Cápsula	Esporas	Flagelos	Medidas (micras)	
						Tinta china	Fucsina diluida
AMM y	Cilín-					1,25	1,25
AMM'	drica	-	++	-	+	0, 65	0, 25
B	Cilín-					1,4	1,3
	drica	+	-	-	-	0, 65	0, 25
AMP	Cilín-					1,25	1,25
	drica	-	+	-	+	0, 65	0, 25
T	Cilín-					1,25	1,25
	drica	-	+	-	+	0, 65	0, 25

T = testigo (cepa de Pseudomonas sp.)

- = negativo (no posee cápsula ni flagelos, y no forma esporas)

+ = positivo (si posee cápsula y flagelos, y sí forma esporas).

f) Prueba de Voges Proskauer y rojo metilo (Smith et al., 1964) (Tabla 7).

g) Formación de ácido sulfhídrico(Tabla 7).

h) Formación de indol, empleando dos métodos descritos por Gilbert y Fournier (1916) y Harrigan y Cance (1968) (Tabla 7).

i) Reducción del azul de metileno y del bromocresol (Manual Difco, 1953).

j) Determinación de nitritos (Seely y Van Pemark, 1973).

k) Siembra en leche y en leche con un indicador (Manual Difco, 1953).

l) Asimilación del alcohol (Jorgensen, 1959 y Harrigán y Cance, 1968).

m) Pruebas de aerobiosis (Frobisher, 1969).

Para verificar su identificación, las cepas estudiadas se enviaron al Dr. Urosevic, del Instituto Zvolen, Estación Experimental, Banska Stianica, Checoslovaquia.

TABLA 2. Crecimiento en diferentes estratos.

Almidón	Papa	Boniato	Maíz	Arroz	Yuca
Cepa H	+	+	+	+	+
AMM	+	+	+	+	+
AMM ¹	+	-	+	+	+
AMP	+	-	+	+	+
B	+	-	-	-	-
T	+	-	-	-	-

TABLA 3. Crecimiento a diferentes pH.

Agar cepa	papa	4,0	4,5	5,0	5,5	6,0	6,5	7,0	7,5	8,0	8,5	9,0
AMM y AMM ¹		+	+	+	+	+	+	++	+	+	+	+
AMP		+	+	+	+	+	+	++	+	+	+	+
B		+	+	+	+	+	+	++	+	+	+	+
T		-	+	+	+	+	+	++	+	+	+	+
H		+	+	+	++	+	+	+	+	+	+	+
T ₁		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

T = cepa de Pseudomonas sp.

++ = pH Óptimo

+ = crece el microorganismo

T₁ = blanco para detectar contaminación

Curva de crecimiento del hongo (H) (Figura 4).

TABLA 4. Prueba de la gelatina.

Cepa	Collins	Leontovyc	Tiempo
AMM y AMM ¹	-	+	10 días
AMP	-	+	15 días
B	-	-	13 días
T	-	-	15 días

- = no asimila gelatina

+ = sí asimila gelatina.

TABLA 5. Asimilación del carbono.

Cepa	Glucosa	Galactosa	Almidón	Citrato de Na	Glicerina	Lactosa	Sacarosa	Manitol	SLM madre
AMM y AMM ¹	+	+	+	+	+	-	+	+	-
AMP	+	+	+	+	+	-	-	+	-
B	+	+	+	-	-	-	+	+	-
T	-	-	-	-	-	-	-	-	-

TABLA 6. Asimilación del nitrógeno.

Cepa	Urea	Peptona	Nitrato de sodio	Cloruro de amonio	Nitrógeno atmosférico
AMM	+	+	-	+	-
AMM ¹	-	+	+	+	-
AMP	+	+	+	+	-
B	-	+	+	-	-
T ₁	-	-	-	-	-

T₁ = blanco para detectar contaminación.

TABLA 7. Diferentes reacciones fisiológicas.

Cepa	Catalasa	Voges-Proskaver	Rojo metilo	Sulfhídrico	Indol
AMM	-	-	+	+	-
AMM ¹	-	-	+	-	-
AMP	+	-	+	+	-
B	+	-	+	-	-
T	+	-	+	+	-

T = Pseudomonas sp.

RESULTADOS Y DISCUSION

Investigaciones en laboratorio

En aislamientos directos a partir de las agallas, se obtuvo una colonia mucosa bacteriana, de color amarillo con diferentes tonalidades; y en aislamientos directos del material de la gomosís, un hongo de micelio blanco cuando joven (24 - 48 horas), que pasa a gris negruzco después de 48 horas. Se analizaron 500 muestras de las agallas y otras 500 de la gomosís. En aislamientos del material de las agallas y la gomosís juntos, se obtuvieron -en 500 muestras analizadas- el hongo y la mezcla bacteriana descritos anteriormente.

Se procedió a la depuración de los microorganismos aislados, y se obtuvieron:

- Las cepas bacterianas que forman colonias de color amarillo claro, consistencia muy mucosa y conformación irregular (AMM y AMM¹) (Figura 3).

- Las cepas bacterianas que forman colonias de color crema y forma ramificada (B).

- Las cepas bacterianas de color amarillo más intenso que la cepa AMM, consistencia poco mucosa, conformación redondeada y puntiforme (AMP).

- Las cepas del hongo de colonia micélica de color blanco, que pasaban a gris negruzco (H) (Figura 4).

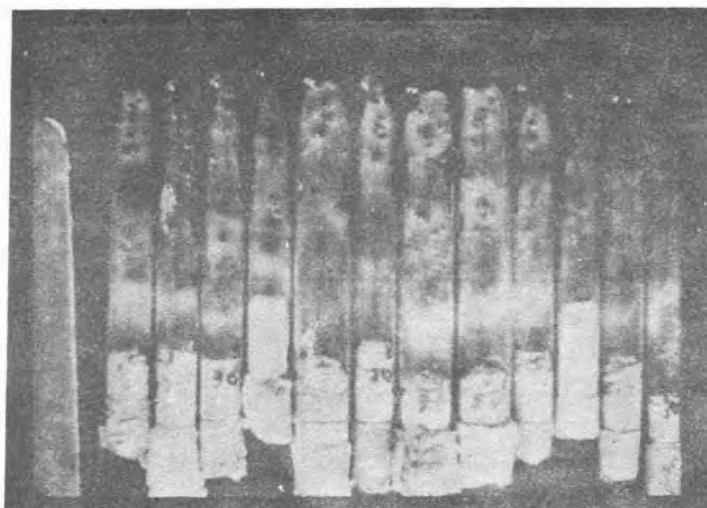


FIGURA 3. Cepas bacterianas AMM y AMM¹.



FIGURA 4. Cepa del hongo, cepa H.

Observaciones directas

A partir de las 24 horas, los cultivos de la cepa H presentaban hifas gruesas, de color carmelita y en forma de tubérculos. La longitud de las células variaba desde 8,75 hasta **34,90 μ** y el ancho desde 3,75 hasta **8,75 μ** .

Al observar las cepas bacterianas (AMM, AMM¹, B y AMP), se apreciaron las siguientes características: cilíndricas, móviles (AMM y AMM¹); inmóvil, cilíndrica, agrupada en empalizadas, estructura celular granulosa (B); cilíndrica, móvil (**AMP**).

Las cepas estudiadas (AMM, AMM¹, AMP y **B**), no producen gases a partir de los azúcares (glucosa, galactosa, lactosa y sacarosa); no reducen el bromocresol; reducen en azul de metileno a las 24 horas (con excepción de la cepa **B**); no forman nitritos ni nitratos; peptonizan la leche a las 24 horas y asimilan el carbono del alcohol; pero no forman ácidos; crecen en condiciones aerobias y no en las anaerobias.

Los resultados obtenidos coinciden con los expuestos por Bergey's (1957), en cuanto a que las pruebas morfológicas, bioquímicas y fisiológicas determinan la presencia de Xanthomonas sp. (cepas AMM, AMM¹ y AMP) y del Cornebacterium sp. (cepa B).

Las cepas de Xanthomonas sp. (**AMM** y **AMM¹**) fueron identificadas por Urosevic (1971) como ~~de Xanthomonas rubrilineans~~ (Lee et al.) Starr. et Burkh. y coinciden con las pruebas realizadas; sin embargo, esto no concuerda con lo expuesto por Zayas (1967), quien opina que se trata de un problema entomológico.

CONCLUSION

En las agallas se encuentran las bacterias Xanthomonas rubrilineans, Xanthomonas sp. y Cornebacterium sp., y en la gomosis se localizó el hongo Tubercularia sp. Se deben realizar estudios sobre la patogenicidad de estos microorganismos.

AGRADECIMIENTO

Los autores expresan su agradecimiento a todos los compañeros de la Sección de Fitopatología del CIF, por su activa colaboración y muy especialmente al ingeniero Hernán Bernardo, quien prestó una intensa y valiosa ayuda en estas investigaciones.

ABSTRACT

IDENTIFICATION OF MICROORGANISMS WHICH PRODUCE GALLS AND GUMMOSIS ON *Khaya nyasica*

A bibliographic revision was made about symptomatology of galls and gummosis on *Khaya nyasica* Stapf. and a very poor information on this matter was found. The microorganisms existing in galls and the gummosis were studied and various observations in the microscope and tests of biochemistry and physiology identity were carried out. As a result of these studies, the bacteria *Xanthomonas rubrilineans* (Lee et al.) Starr. and Burk., *Xanthomonas* sp. and *Corynebacterium* sp. were identified on the galls; the fungi *Tubercularia* sp. was found in the portion of the wood where gummosis persists.

BIBLIOGRAFIA

- BARNETT, H. L. 1960. *Illustrated genera of imperfect fungi*. Morgantown, W., George B. Cummins. 453 p.
- BERGEY'S; MANUAL OF DETERMINATIVE BACTERIOLOGY. 1957. Baltimore, Williams and Wilkins Company. 1094 p.
- BETANCOURT, A., J. R. MARQUETTI y J. R. GARCIA. 1972. *Khaya nyasica* Stapf y *Khaya senegalensis* Jussieu. Comportamiento en Cuba de ambas especies. *Baracoa* 2 (2) : 32-52.
- BISSE, J. 1967. Informe sobre enfermedad en especies del género *Khaya* y recomendaciones en relación con la introducción de plantas para la repoblación forestal. La Habana, Universidad de La Habana. p. 2.
- CLEMENTS, F. E. y C. L. SHEAR. 1909. *Genera of fungi*. Minnesota, H. W. Wilson Company. 496 p.
- COLLINS, Ch. 1967. *Microbiological methods*. London, Butterworths. 404 p.
- COLLINS, Ch. y P. M. LYNE. 1970. *Microbiological methods*. 3. ed. Baltimore, University Park Press. 454 p.
- FORS, A. J. 1960. *Maderas cubanas*. 3. ed. La Habana, INRA. 162 p.
- FROBISHER, M. 1969. *Microbiología*. Barcelona, Salvat SA. 743 p.

- GILBERT, A., y L. FOURNIER. 1916. *Manual de Bacteriología*. Barcelona, Salvat SA.
- GIRARD, H., y R. ROUGIEUX. 1964. *Técnicas de microbiología agrícola*. Zaragoza, Acnibia. 267 p.
- HARRIGAN, W. F., y E. M. CANCE. 1968. *Métodos de laboratorio en microbiología*. León, Academia. 426 p.
- JORGENSEN, A. 1959. *Microbiología de las fermentaciones industriales*. Zaragoza, Acnibia.
- MANUAL DIFCO. 1953. *Microbiological and clinical laboratory procedures*. DIFCO Laboratories, Detroit, Michigan, USA.
- ROSEÑADA, M. F., y M. GONZALEZ. 1963. *Informe de la Estación Experimental Agronómica*. Santiago de las Vegas, Cuba. Departamento de Fitopatología y Entomología de la Estación Experimental Agronómica.
- SEELEY, H. W. JR., y P. J. VAN PEMA. 1973. *Microbios en acción. Manual de laboratorio para microbiología*. Barcelona, Blume.
- SMITH, D. T., N. F. CONANT, J. W. BEARD, HILDA POPE, J. R. OVERMAN, L. W. BROWN, D. G. SHARP y MARY A. POSTON. 1964. *Bacteriología de Zinsser*. 2.ª ed. México, UTEHA. 1110 p.
- UNIVERSIDAD DE LA HABANA. 1970. *Prácticas de bioquímica farmacéutica*. La Habana, Universidad de La Habana.
- UROSEVIC, B. 1971. *Forest Czechoslovakia, Research Institute Zvolen, Exp. Statida Banska Stiavnica*.
- ZAPATER, C. P. 1973. *Atlas de diagnóstico micológico*. Barcelona, El Ateneo. 253 p.
- ZAYAS, F. 1967. *Informe del Departamento de Entomología de la Academia de Ciencias de Cuba*. La Habana.