



UNIVERSIDAD DISTRITAL
FRANCISCO JOSÉ DE CALDAS



<https://doi.org/10.14483/2256201X.21080>

ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA

ISSN 0120-0739 • e-ISSN 2256-201X

Primer reporte *Kretzschmaria zonata* (Lév.) P.M.D. Martin causando pudrición de la raíz en *Tectona grandis* L. en Costa Rica

First Report of *Kretzschmaria zonata* (Lév.) P.M.D. Martin Causing Root Collar Rot in *Tectona grandis* L. in Costa Rica

María Rodríguez-Solís ^a, Dawa Méndez-Álvarez ^a, Alexander Berrocal-Jiménez ^a

^a Escuela de Ingeniería Forestal, Instituto Tecnológico de Costa Rica. Cartago, Costa Rica.

 Autor de correspondencia

Recibido: 25 de julio de 2023

Aceptado: 16 de mayo de 2024

Citation: Rodríguez-Solís, M., Méndez-Álvarez, D., & Berrocal-Jiménez, A. (2024). Primer reporte *Kretzschmaria zonata* (Lév.) P.M.D. Martin causando pudrición de la raíz en *Tectona grandis* L. en Costa Rica *Colombia Forestal*, 27(2), e21080. <https://doi.org/10.14483/2256201X.21080>

Highlights

- *Kretzschmaria* es un género de hongos que causa pudrición en el cuello y la raíz de especies forestales.
- Hay reportes de árboles de teca enfermos en Costa Rica y se desconoce la causa.
- Se identifica el patógeno mediante morfología, extracción de ADN y pruebas de patogenicidad.
- Se reporta por primera vez a *Kretzschmaria zonata* como causante de la pudrición de teca en Costa Rica.
- La identificación de patógenos forestales posibilita el manejo integrado de la enfermedad.

Resumen

Se encontraron árboles enfermos en plantaciones de *Tectona grandis* en la provincia de Guanacaste, Costa Rica, que mostraban síntomas de pudrición del cuello y la raíz. A nivel morfológico y molecular, se identificó la especie *Kretzschmaria zonata* como el agente causal de la enfermedad. El micelio del patógeno creció de forma circuncéntrica en un medio PDA, con coloración gris en el centro y blanca en los bordes. Se registraron ascosporas de color café oscuro, cuyo tamaño era (21.6-) 27.4 – 32.1 (-33.5) x (6.2-) 8.7 – 10.9 (-11.8) μm . Las plantas inoculadas con el patógeno presentaron lesiones, con diferencias altamente significativas respecto a las plantas testigo. Se realizaron reaislamientos y se recuperó el hongo *K. zonata*, cumpliendo con los postulados de Koch. Es la primera vez que se reporta este patógeno causando enfermedad

en plantaciones forestales de teca en Costa Rica, lo que constituye un avance para el estudio de estrategias de manejo de la enfermedad.

Palabras clave: Ascomycota, enfermedades forestales, plantaciones tropicales, teca, Xylariaceae.

Abstract

Diseased trees were found in *Tectona grandis* plantations in the province of Guanacaste, Costa Rica, showing symptoms of collar and root rot. At the morphological and molecular level, the species *Kretzschmaria zonata* was identified as the causal agent of the disease. The pathogen's mycelium grew in a concentric form on PDA medium, with a gray coloration in the center and a white one at the edges. Dark brown ascospores were recorded, measuring (21.6-) 27.4 – 32.1 (-33.5) x (6.2-) 8.7 – 10.9 (-11.8) μm . Plants inoculated with the pathogen developed lesions, with highly significant differences compared to control plants. Re-isolations were performed, and the fungus *K. zonata* was recovered, fulfilling Koch's postulates. This is the first time that this pathogen has been reported as causing disease in teak forest plantations in Costa Rica, which constitutes an advancement in the study of management strategies regarding this disease.

Keywords: Ascomycota, forest diseases, tropical plantations, teak, Xylariaceae.

INTRODUCCIÓN

Tectona grandis L., comúnmente conocida como *teca*, es una especie forestal de la familia Lamiaceae, cultivada en casi todas las regiones tropicales. Es considerada como una de las especies de madera dura más valiosa del mundo y es buscada por su belleza, fuerza, estabilidad y resistencia naturales (Kollert & Kleine, 2017). En Costa Rica, es la especie más reforestada, alcanzando aproximadamente 47 167 ha plantadas y más de 150 000 árboles dispersos en fincas (INEC, 2015).

Para el trópico Americano, Arguedas *et al.* (2013) reportan 34 patógenos que causan enfermedad en plantaciones de teca, entre los que mencionan especies del género *Fusarium* y *Armillaria*, relacionados con la pudrición de la raíz.

En estudios recientes realizados en México y Brasil, se han registrado árboles de teca que presentan muerte descendente con pudrición de la base del tronco y la raíz. Las hojas de los árboles enfermos muestran amarillamiento, marchitez y posterior defoliación y muerte. El cuello de la raíz muestra pudrición y desprendimiento de la corteza, y en ocasiones se observan sobre el síntoma cuerpos fructíferos de color gris a blanco brillante. De estos árboles, se ha aislado el patógeno *Kretzschmaria zonata* (Cibrián *et al.*, 2014; Alfenas *et al.*, 2021).

También se han reportado síntomas similares a los descritos anteriormente en plantaciones de teca en la provincia de Guanacaste, pero se desconoce el agente causal. Por tal motivo, el objetivo de esta investigación fue determinar, a nivel morfológico y molecular, el patógeno causante de la pudrición del cuello de la raíz de *Tectona grandis* en Costa Rica.

MATERIALES Y MÉTODOS

En tres plantaciones de teca ubicadas en la provincia de Guanacaste, específicamente en Cañas 10 ° 23' 45'' N, 85° 01' 57'' W (13 años), Limonal 10 ° 17' 20'' N, 85° 01' 51'' W (7 años) y Coyolito 10 ° 07' 10'' N, 84° 55' 57'' W (5 años), se registraron árboles con síntomas de pudrición en el cuello y la raíz.

Se cortaron secciones cercanas a la base de estos árboles enfermos, y se trasladaron discos de madera de tres pulgadas de ancho al Laboratorio de Patología Forestal del Instituto Tecnológico de Costa Rica, donde se lavaron con jabón antibacterial y abundante agua. Posteriormente, se cortaron secciones desde la zona de avance y, dentro de la cámara de flujo laminar, se desinfectaron con alcohol al 70 % durante un minuto, con hipoclorito de sodio al 5% durante dos minutos y, acto seguido, por tres enjuagues consecutivos con agua destilada estéril (ADE). Con toallas de papel absorbentes, se secaron los segmentos, se colocaron en placas de Petri que contenían un medio de cultivo papa dextrosa agar (PDA) con antibiótico (penicilina 0.2 g.L⁻¹ + estreptomina 0.2 g.L⁻¹ + chloramphenicol 0.2 g.L⁻¹) y se encubieron a 25 °C. Después de la incubación, se obtuvieron colonias individuales, transfiriendo puntas de hifas a medio de cultivo PDA con antibiótico.

La identificación morfológica se realizó utilizando microscopía óptica (MO, Nikon Eclipse -Ni-). Los peritecios se colocaron en ácido láctico, y se midió el ancho y la longitud de 30 ascosporas. Se calcularon los tamaños máximo y mínimo, la media, la desviación estándar y los intervalos de confianza del 95 %.

En el Laboratorio de Técnicas Moleculares Aplicadas a la Fitoprotección de la Universidad de Costa Rica, se realizó extracción de ADN, seguida de PCR con cebadores fúngicos universales (ITS4 e ITS5), en aras de identificar los aislados, los cuales se enviaron a secuenciar a Macrogen en Corea del Sur. Las secuencias de consenso se compararon con las accesiones del GenBank utilizando la herramienta NCBI Blast, y el análisis de unión de vecinos se llevó a cabo con la versión 11 de MEGA (Tamura *et al.*, 2021).

Las pruebas de patogenicidad se realizaron en diez plantas de teca. Cinco plantas se inocularon con un aislado de *Kretzschmaria zonata*. Se realizó un corte en la base del cuello de la planta para exponer el cambium, y se puso en contacto con un tapón de micelio del hongo creciendo en PDA. La herida se cubrió con Parafilm para evitar la disecación del organismo. Las otras cinco plantas se inocularon con PDA estéril. Diez días después de la inoculación, se midió el avance de la enfermedad con un *caliper* digital.

Las plantas con síntomas se reaislaron para confirmar los postulados de Koch.

RESULTADOS

En las tres plantaciones de teca estudiadas, se encontraron síntomas similares en árboles enfermo. Se observó pudrición en la base del tronco, y en ocasiones se logró visualizar el cuerpo fructífero del patógeno (Figura 1a). También se observó una reducción del área foliar (Figura 1b), pudriciones en la raíz (Figura 1c) y líneas de pudrición interna en la madera del cuello (Figura 1d).

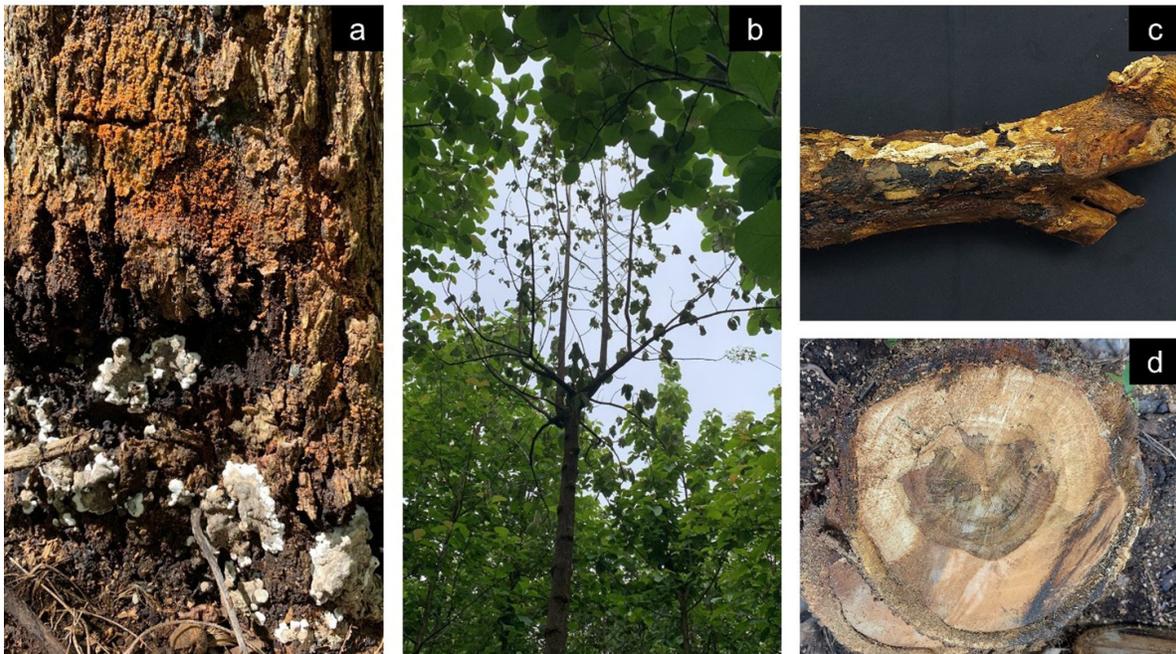


Figura 1. Síntomas encontrados en árboles enfermos de *Tectona grandis*. a) Pudrición en la base del tronco con cuerpos fructíferos del hongo, b) defoliación, c) pudrición de la raíz, d) líneas de pudrición encontradas en madera. Provincia de Guanacaste, Costa Rica.

Sobre la corteza de árboles con síntomas, se desarrollaron estromas duros de color gris oscuro con bordes blancos (Figura 2a). Dentro de los estromas, se observaron peritecios de color café oscuro (Figura 2b). Los aislamientos realizados en PDA mostraron que la colonia del hongo crecía de forma circuncéntrica, con una coloración gris en el centro y blanca en los bordes (Figura 2c). Se registraron ascosporas de color café muy oscuro, de forma elipsoidal con extremos frecuentemente estrechos y de tamaño $(21.6\text{-}27.4 - 32.1 (-33.5) \times (6.2\text{-}8.7 - 10.9 (-11.8) \mu\text{m})$ [(mínimo-) promedio menos desviación estándar – promedio más desviación estándar y (-máximo)]. Además, dentro de ellas se observó una línea germinal recta (Figuras 2d a 2e).

La secuencia del gen ITS mostró un 99 % de similitud con *K. zonata* (número de accesión KY660541). Según el análisis filogenético de máxima verosimilitud, la secuencia *Kretzschmaria zonata*_CR1 se agrupó con *K. zonata* de otras regiones (Figura 3).

En las pruebas de patogenicidad realizadas, los árboles inoculados con el aislado de *K. zonata* presentaron una lesión necrótica con una longitud promedio de 20.97 mm, mientras que, en los árboles testigo, la longitud de la lesión fue 5.09 mm 22 días después de la inoculación. Se encontró una diferencia altamente significativa entre ambos tratamientos, con un alfa de 0.05.

De los reaislamientos correspondientes, se recuperó el hongo *Kretzschmaria zonata*, cumpliendo con los postulados de Koch.

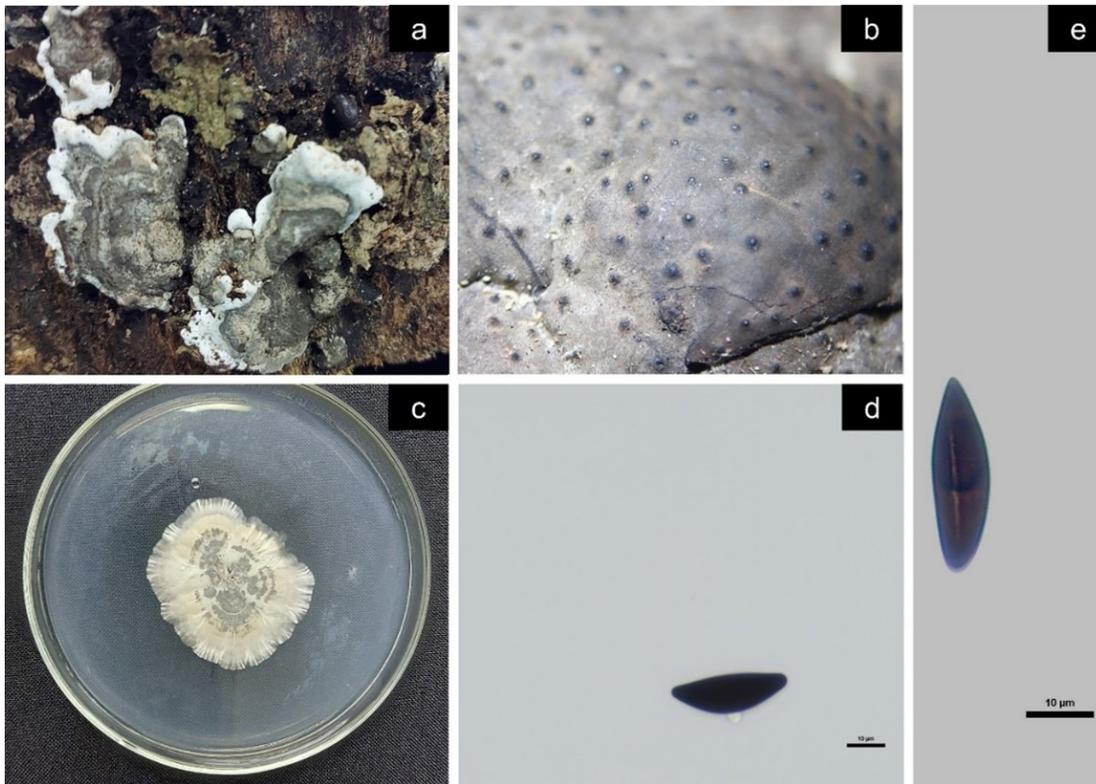


Figura 2. *Kretzschmaria zonata*. a) Astroma, b) peritecios, c) crecimiento micelial en PDA, d y e) ascospora. Escala: 10 µm.

DISCUSIÓN

Las estructuras morfológicas del hongo, así como los análisis filogenéticos de su identificación molecular en la región del espaciador transcrito interno (ITS) del ADN, indican que el patógeno bajo estudio corresponde a *Kretzschmaria zonata* y coinciden con las características descritas por [Alfenas et al. \(2021\)](#) y [Cibrián et al. \(2014\)](#). Estos autores reportan que la especie ha causado los mismos síntomas de pudrición en la raíz y el cuello de árboles de *T. grandis* en Brasil y Campeche (México). También confirman que este patógeno puede afectar gravemente las plantaciones comerciales de teca, desarrollando una pudrición suave en la madera de los individuos, lo que disminuye la resistencia de la misma (afectando inclusive el duramen). Además, produce un anillamiento en el fuste que impide el flujo de savia desde la raíz hasta las zonas aéreas, provocando defoliación y, en algunos meses, la muerte de los individuos ([Cibrián et al., 2014](#); [Alfenas et al., 2021](#)).

Del género *Kretzschmaria* se han descrito 28 especies distribuidas en regiones templadas y tropicales ([Kirk et al., 2008](#)). En la Reserva de la Biosfera Isla Cozumel, Quintana Roo, México, se registró *K. zonata* como fitopatógeno en árboles de *Cedrela odorata* ([Raymundo et al., 2021](#)). En China, se encontraron y describieron *K. milleri* y *K. sandvicensis* ([Du et al., 2016](#)). Por otro lado, en regiones templadas, se han analizado los síntomas causados por *K. deusta* en árboles de boques caducifolios. Los estudios aseguran que es un

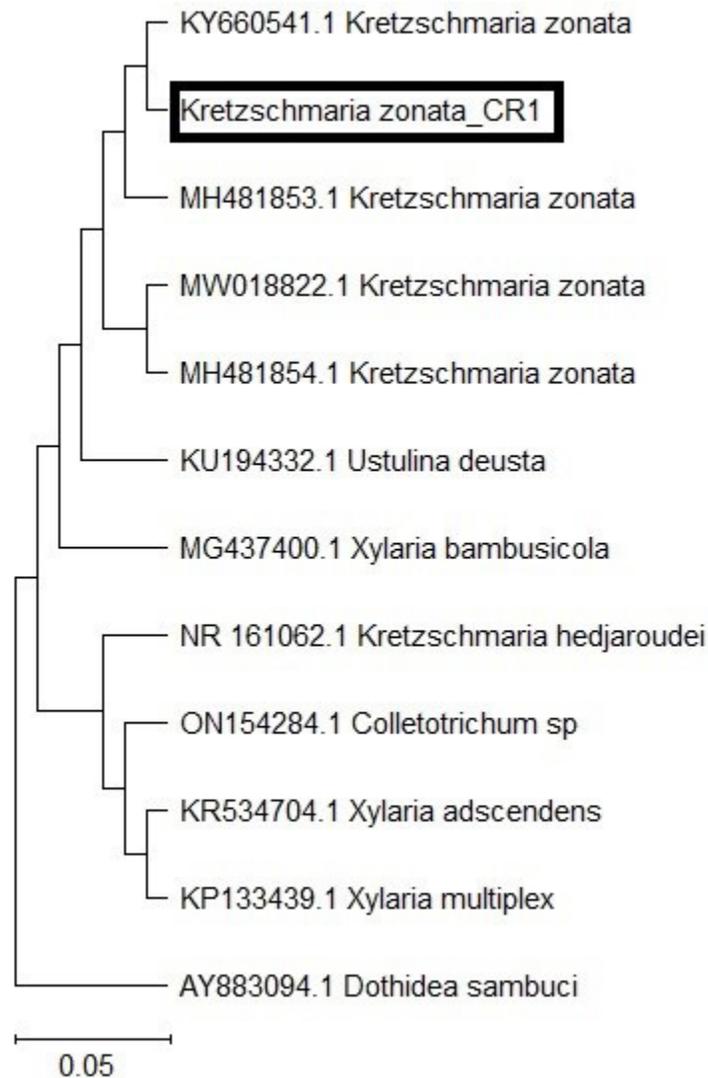


Figura 3. Árbol filogenético basado en secuencias de ADN ITS de aislados representativos de *K. zonata* y otras especies de Xylariaceae. El árbol se enraizó con el aislado de *Dothidea sambuci*. *K. zonata_CR1* está resaltada en el árbol. La barra de escala indica el número de sustituciones por sitio.

patógeno eficaz en la descomposición del tejido leñoso de la base y la raíz de sus hospederos (Innes *et al.*, 2006; Büttner *et al.*, 2017).

Para Costa Rica, este es el primer reporte de síntomas causados por *K. zonata* en plantaciones de teca, y es un avance importante para continuar con prácticas de monitoreo, así como en el establecimiento de pruebas estratégicas para el manejo integrado de la enfermedad.

CONCLUSIONES

En este estudio se identifica, por primera vez y a nivel morfológico y molecular, el patógeno *Kretzschmaria zonata* como el agente causal de la pudrición de la base del tronco y la raíz en árboles de *Tectona grandis* en Costa Rica. La patogenicidad se comprobó mediante los postulados de Koch. Este trabajo constituye un primer avance para el estudio de estrategias de manejo integrado de la enfermedad en las plantaciones de teca en el país.

AGRADECIMIENTOS

Los investigadores deseamos agradecer a la empresa Forestal Río Grande por portar el material y brindar parte del financiamiento necesario para ejecutar esta investigación, así como a la Vicerrectoría de Investigación y Extensión por el apoyo financiero brindado para el desarrollo del proyecto *Identificación y manejo integrado de las principales plagas forestales presentes en sistemas productivos forestales de Costa Rica*.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores manifiestan que no existen conflictos de intereses relacionados con este artículo.

CONTRIBUCIÓN POR AUTOR

M.R.S.: recolección de muestras, aislamiento, descripción morfológica del hongo. D.M.A.: descripción y análisis de la identificación molecular. TODOS: revisión y redacción del artículo.

REFERENCIAS

- Alfenas, R., Arenhart, M., Alexandre, F., & Maitan-Alfenas, G. (2021). Root collar rot, a new lethal disease on *Tectona grandis* caused by *Kretzschmaria zonata* in Brazil. *Plant Disease*, 105(1), 221.
<https://doi.org/10.1094/PDIS-03-20-0641-PDN>
- Arguedas, M., Cannon, P., Wingfield, M., & Montenegro, F. (2013). Principales riesgos fitosanitarios en las plantaciones de teca. En de Camino R. y Morales J. P. (Dds.). *Las plantaciones de teca en América Latina: mitos y realidades* (pp. 134-157). FAO-CATIE.
<https://www.researchgate.net/publication/257014474>
- Büttner, E., Gebauer, A. M., Hofrichter, M., Liers, C., & Kellner, H. (2017). Draft genome sequence of the wood-degrading ascomycete *Kretzschmaria deusta* DSM 104547. *Genome Announcements*, 5(43), 10-1128.
<https://doi.org/10.1128/genomea.01076-17>

- Cibrián-Tovar, D., Pérez-Vera, O., García-Díaz, S., Medel-Ortiz, R., & Cibrián-Tovar, J.** (2014). *Kretzschmaria zonata* (Lév.) PMD Martin, causante de la pudrición del cuello y la raíz de teca. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 5(25), 110-118.
<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=63439013009>
- Du, Z. W., Ma, H. X., & Li, Y.** (2016). Additional notes on the genus *Kretzschmaria* from China. *Mycosystem*, 35(2), 217-221.
http://journals.im.ac.cn/jwxtcn/ch/reader/advance_query.aspx
- INEC (Instituto Nacional de Estadística y Censos)** (2015). *VI censo nacional agropecuario: Cultivo agrícolas, forestales y ornamentales*.
https://inec.cr/wwwis/documentos/INEC/CensosBorrar/2014%20-%20Censo%20Nacional%20Agropecuario/Tomos_Censales/Tomo_II_cultivos_agricolas_forestales_y_ornamentales.pdf
- Innes, J., Blackford, J., & Chambers, F.** (2006). *Kretzschmaria deusta* and the northwest European mid-Holocene *Ulmus decline* at Moel y Gerddi, north Wales, United Kingdom. *Palynology*, 30(1), 121-132.
<https://doi.org/10.2113/gspalynol.30.1.121>
- Kirk, P. F., Cannon, P. F., Minter, D. W., Stalpers, J. A.** (2008). *Dictionary of the fungi* (10th ed.) CABI.
- Kollert, W., & Kleine, M.** (2017). *The global teak study. Analysis, evaluation and future potential of teak resources*. IUFRO.
https://www.iufro.org/download/file/26730/153/ws36_pdf/
- Raymundo, T., Martínez-Pineda, M., Reyes, P. E., Cobos-Villagrán, A., García-Martínez, Y. A., Tun, A., & Valenzuela, R.** (2021). Ascomicetos de la Reserva de la Biosfera Isla de Cozumel, México. *Acta Botánica Mexicana*, 128, .
<https://doi.org/10.21829/abm128.2021.1806>
- Tamura, K., Stecher, G., & Kumar, S.** (2021). MEGA11: Molecular evolutionary genetics analysis version 11. *Molecular Biology and Evolution*, 38(7), 3022-3027.
<https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>

