

VIABILIDAD Y ESPORULACION EN EL TIEMPO DE COELOMYCETES DE LA MICOTECA-URM (RECIFE-BRASIL) CONSERVADOS BAJO ACEITE MINERAL.

Marilene da Silva Cavalcanti

María Auxiliadora de Queiroz Cavalcanti

Departamento de Micología do Centro de Ciências Biológica

Universidade Federal de Pernambuco.

Palabras claves: Preservación de hongos , Coelomycetes, Micoteca.

Key words: Preservation of fungi, Coelomycetes, Culture Collections.

RESUMEN

Se revisaron 23 géneros y 73 especies de un total de 111 cepas de *Coelomycetes*, pertenecientes a la Micoteca del Departamento de Micología (URM) de la Universidad Federal de Pernambuco, preservados entre 8 y 39 años bajo aceite mineral esterilizado. Todas las cepas analizadas estaban 100% viables, pero solo el 80,1% presentaron estructuras reproductivas.

RESUMO

Foram revisados 23 gêneros e 73 espécies num total de 111 amostras do grupo dos *Coelomycetes* pertencentes ao acervo da Micoteca do Departamento de Micologia (URM), da Universidade Federal de Pernambuco, preservados em óleo mineral esterilizado num período entre 8 e 39 anos. As amostras analisadas estavam 100% viáveis. Quanto a esporulação, 80,1% apresentaram estruturas reprodutivas.

INTRODUCCION

Una de las preocupaciones de los micólogos y fitopatólogos, ha sido la mantención de los cultivos fúngicos, sin que se presente modificación de sus características morfológicas primordiales. El método de la preservación bajo aceite mineral, fue descrito por Sherf en 1943. Desde entonces ha sido utilizado por varios investigadores (Buell, 1947; Reischer, 1949; Fennel, 1960; Little et al, 1967; Onions, 1971; Perrin, 1979; Smith & Onions, 1983). La eficiencia de este método, permite buena viabilidad y esporulación durante largos

SUMMARY

[*Viability and sporulation in time of Coelomycetes in the Mycotheca (URM) Recife-Brasil preserved under mineral oil*]

This work was carried out to evaluate viability and sporulations in time of 111 cultures of *Coelomycetes* which belongs to Department of Mycology in the Federal University of Pernambuco-Brasil. Twenty three genera and 73 species were studied, all of them preserved in mineral oil for intervals between 8 and 39 years old. All the culture studied were viable, but only 80,1% of them showed reproductive structures.

períodos de tiempo, por esto se ha utilizado con éxito en muchas partes del mundo y en nuestra Micoteca del Departamento de Micología (URM). Nuestros objetivos fueron observar la viabilidad y esporulación de las cepas, como también desarrollar una metodología para inducir la fructificación de aquellas que no la presentaron

MATERIALES Y METODOS

Se revisaron 32 géneros y 73 especies de un total de 111 cepas de *Coelomycetes* conservados en la Micoteca del Departamento de Micología (URM) de la UFPE, todos ellos recubiertos con aceite mineral estéril, en un período entre 8 y 39 años. Los inóculos de las cepas

fueron traspasados asépticamente en tubos de ensayo con 10 ml de caldo glucosado (20 g de glucosa), 3 g de extracto de carne, 10 g de peptona y 1000ml de agua destilada. Después de su desarrollo inicial, las cepas fueron traspasadas a medios de cultivo específicos acorde con las necesidades nutricionales de cada especie. Fueron usados los siguientes medios (Russel, 1974): Agar avena extracto de tomate; Agar Sabouraud con extracto de levadura; Agar harina de maiz; Agar Papa-dextrosa; Agar esporulación; Agar Papa-Zanahoria. Los cultivos fueron mantenidos durante 14 días a la temperatura ambiente. Después de ese período, fueron analizados microscópicamente, observando la morfología de las estructuras vegetativas y reproductivas de cada uno de ellos, utilizando monografías específicas para confirmar la identificación (Barnett, 1990; Sutton, 1980; Grove, 1935). En los cultivos no esporulados en el primer traspaso, se utilizó la metodología descrita por Silva et al. (1991), y medios adicionados con Tween 80 y NaCl, ambos a una concentración de 0.01% en agua destilada.

RESULTADOS Y DISCUSION

De las 111 cepas conservadas bajo aceite mineral en un periodo entre 8 y 39 años (Tabla 1), se constató un 100% de viabilidad en todas ellas (Tabla 2). En cuanto a la esporulación, 89 cepas (80.1%) presentaron propágulos de dispersión en medios específicos y 22 (19.8%) presentaron solamente la fase vegetativa.

Entre los cultivos no esporulados empleamos distintas metodologías para activar su fenotipo, por lo cual fueron utilizados sustratos naturales para su

inducción, conforme a lo indicado por Fisher et al. (1982), para los hongos fitopatógenos. Cuatro cepas de *Colletotrichum gloeosporioides* (054, 094, 097y 652) conservadas por un periodo entre 37 y 39 años, se inocularon en hoja de *Carica papaya* L, substrato en el cual, el hongo había sido aislado originalmente (Silva et al, 1991). En otras especies tales como *Ascochyta abelmoschi*, *Bartalina robillardoides*, *Chaetosphaeronema aerea*, *Colletotrichum ampelinum*, *Coniothyrium pahnicolum*, *Gloeosporium frutigenum*, *Hymenopsis trochiloides*, *Zythia leucoconiae*, *Pseudorobillarda agrotides*, *Macrophomina phaseolina*, *Phaeocytostroma sacchari* y *Pyrenochaeta vinosa*, la esporulación solamente se presentó después del tratamiento de los inóculos con Tween 80, NaCl y agua destilada estéril. Los cultivos no esporulados, conservados por un periodo entre 33 y 39 años (Tabla 2), presentaron características morfológicas microscópicas bastante alteradas. Datos semejantes, fueron observados por Fernández (1982), en especies de *Helminthosporium*

El método de la conservación de los cultivos fúngicos bajo aceite mineral, ha sido señalado por diversos investigadores, como eficaz para la mayoría de los grupos (Braverman, 1966; Perrin, 1979; Cavalcanti, 1990; Fernández, 1982; Lima 1991; Smith y Onions, 1983), principalmente por su eficiencia en lo que se refiere a la longevidad de los cultivos. Onions y Smith (1983), destacan que los cultivos conservados bajo aceite mineral pueden presentar una buena estabilidad genética.

Debe destacarse que la nomenclatura empleada en nuestro estudio, corresponde a los registros originales en las fechas de la inclusión de las cepas en la URM y en algunos casos no es acorde a la actual o está en sinonimia.

REFERENCIAS

1. Barnett, H. L.; Barry, B. H. (1990) Illustrated genera of imperfect fungi. MacMillan Publishing Company: New York. Collier MacMillan Publishers. London.
2. Buell, C. B.; Weston, W. H. (1947) Application of the mineral oil conservation method to maintaining. Collections of fungus cultures. Amer. Jour. Bot. 34:555-561.
3. Braverman, S.W.; Crosier, W.F. (1966). Longevity and pathogenicity of several *Helminthosporium* species stored under mineral oil. Plant Disease Reporter 50:321-323.
4. Cavalcanti, M.A.Q. (1990). Viabilidade de culturas de *Basidiomycetes* preservados em óleo mineral. Rev. Lat. Amer. Microbiol. 32: 265-268.
5. Fennell, D.I. (1960) Conservation of fungus cultures. Bot. Rev. 26: 79-141.
6. Fernandes, M.J.S. (1982) Preservação dos fungos *Dermatiaceae* em óleo mineral. Rev. Microbiol., Sao Paulo, 13 : 211-214.
7. Fisher, N.L.; Burger, L.W.; Toussound, T.A.; Nelson, P.E. (1982) Cernation leaves as a substrate and for preserving cultures of *Fusarium* species. Phytopathology 72:151-153.
8. Grove, M.A. (1935) The British *Coelomycetes*. In: Grove, M.R. Cambridge. University Press.
9. Lima, D.M.M. (1991). Preservação de espécies de *Fusarium* sob óleo mineral. Pesq. Agropec. Bras., Brasília, 26:853-855.

Tabla 1.

Numeración y año de conservación de Coelomycetes bajo aceite mineral, pertenecientes a la Micoteca URM.

<i>Ascochyta abelmoschi</i> Harter, 984, (1957)	<i>Gloeosporium depressum</i> Penz., 1468 (1960)
<i>Bartalinia robillardoides</i> Tassi, 2360, (1973)	<i>G. frutigenum</i> Berk., 1421 (1960)
<i>Botrydiplodia caespitosa</i> B. & B. Grove, 242 (1984), 2461, 2436 (1977)	<i>G. jambosae</i> Batista & Vital., 1452 (1960)
<i>B.teobromae</i> Pat., 2704 (1984)	<i>Hymenopsis trochiloides</i> (Sacc.) Sacc., 2791 (1985)
<i>Chaetomella raphigna</i> Swift, 2348 (1972), 2792 (1983)	<i>Macrophomina phaseolina</i> (Maubl.) Ashby., 1173 (1958), 1996 (1965), 2667 (1982), 3703 (1984)
<i>Chaetosphaeronema aerea</i> Batista & Maia, 408 (1955)	<i>Metadiplodia kansensis</i> , 1490 (1960)
<i>Colletotrichum luffae</i> Batista & Silva, 054 (1954), 080 (1954).	<i>Pestalotiopsis angusta</i> Steyaert, 912 (1957)
<i>C. ampelinum</i> Cav., 823 (1957)	<i>P.coperniciae</i> (Speg.)Bat & Perez, 1478 (1960)
<i>C. chardonianum</i> Holla, 1908 (1965)	<i>P. disseminata</i> (Thuem.) Steyaert, 1280 (1959), 1724 (1961), 2196 (1967), 2447 (1977)
<i>C. dematium</i> (Pers. ex Fr.) Grove, 2504 (1978), 2061 (1965), 2377(1974)	<i>P. guepinii</i> (Desm.)Steyaert, 2337 (1972)
<i>C. falcatum</i> Went., 2423 (1965), 2479 (1978), 2496 (1979), 2663 (1983)	<i>P.macrochaeta</i> (Speg.)Guba, 2344 (1972)
<i>C. circinans</i> (Berk.) Vogl., 2480 (1978)	<i>P.neglecta</i> (Thuem.)Steyaert, 258 (1955)
<i>C. coccodes</i> (Wallr.) Hughes, 2597 (1980)	<i>P. versicolor</i> (Speg.)Steyaert, 2186 (1967), 2424 (1977), 2503 (1979), 2569 (1980)
<i>C. crassipes</i> (Speg.) V. Arx, 1547 (1960)	<i>Phaeocytostroma sacchari</i> (Ell. & Ev.) Sutton. 2392 (1976), 2789 (1983)
<i>C. gloeosporioides</i> (Penz.) Sacc., 051, 094, 097 (1954), 652 (1956), 2018 (1965), 2060 (1965), 2334 (1972), 2335 (1972), 2341 (1972), 2460 (1977), 2494 (1979), 2543 (1980), 2547 (1980), 2681 (1981), 2684 (1981).	<i>Phyllosticta mortoni</i> Fairman, 046 (1954)
<i>C. gossypii</i> South., 155 (1954), 1909 (1965)	<i>P. spigeliae</i> Cavalcanti, 2299 (1971)
<i>C. lagenarium</i> (Pass.) Ell. & Halst., 164 (1954)	<i>Phoma acuta</i> Fuck., 1543 (1960)
<i>C. musae</i> (Berck & Curt.) von Arx., 2894 (1986)	<i>Ph. alternariaceae</i> Brook & Searle, 173 (1955)
<i>Coniothyrium leguminosum</i> .1488 (1960)	<i>Ph. apiicola</i> Klebahn, 2116 (1966)
<i>C. pahnicolum</i> ,1895 (1963)	<i>Ph. brassicae</i> Sacc.,1548 (1960), 1916 (1964)
<i>C. sphaerospermum</i> .2178 (1963)	<i>Ph. gentianae</i> Kuhm., 1526 (1960)
<i>Diplodia cacaoicola</i> P. Henn., 049 (1954), 340 (1955)	<i>Ph. humicola</i> Gilman & Abbott, 2297 (1971)
<i>D. epicoccus</i> Cooke, 1304 (1959)	<i>Ph. longissima</i> West., 2099 (1964)
<i>D. natalensis</i> Evans, 039 (1954), 1641 (1960)	<i>Ph. pigmentivora</i> Masee, 783 (1957)
<i>D. papaye</i> Thumb., 102 (1954)	<i>Ph. subcircinata</i> Ell. & Ev., 147 (1954)
<i>D. passiflorae</i> Penz.& Sacc., 104 (1954), 555 (1955)	<i>Phomopsis citri</i> Faw., 172 (1954)
<i>D. pinea</i> (Dems.)Kicks., 1630 (1960)	<i>Ph. casuarinae</i> (E.Tassi)Died., 1899 (1964)
<i>D. recifensis</i> Batista, 1490 (1960)	<i>Ph. pallida</i> Sacc., 2397 (1977)
<i>D. rosmarini</i> Celotti, 1498 (1960)	<i>Ph. pustulata</i> Died., 1528 (1960)
<i>D. tecomae</i> Passer., 1448 (1960)	<i>Ph. vexans</i> (Sacc.& Syd.)Harter, 2050 (1965)
<i>D. tubericola</i> Ell. & Ev., 151 (1954)	<i>Pseudorobillarda agrostis</i> (Sprague) Nag. Raj. Morgan Jones & Kendrick. 2358 (1973)
<i>D. passerinii</i> All.,1718 (1961)	<i>Pyrenochaeta callabens</i> Peck., 1663 (1965)
<i>Dothiorella quercina</i> (C.& All.)Sacc., 2133 (1967)	<i>P. lycopersici</i> Schneider & Gerlach, 2666 (1982)
<i>Ellisiellina biciliata</i> Camara. var. <i>solani</i> Batista & Bezerra., 1618 (1960)	<i>P. romeroi</i> Borelli, 1479 (1960)
	<i>P. vinosa</i> Speg., 1429 (1960), 1655 (1960), 2307 (1971)
	<i>Truncatella bela</i> Batista, 1520 (1960)
	<i>Zythia leucoconiae</i> (B & Br.)Sacc., 2349 (1972)

Tabla 2.-
Viabilidad y esporulación de los géneros de Coelomycetes conservados bajo aceite mineral entre 8 y 39 años.

MUESTRAS VIABLES REVISADAS				
GENEROS	Nº de muestras	Periodo de conservación(años)	Esporuladas	No esporuladas
<i>Ascochyta</i>	01	36	01	-
<i>Bartalinia</i>	01	20	01	-
<i>Botryodiplodia</i>	04	9-16	04	-
<i>Chaetomella</i>	02	10-16	02	-
<i>Chaetosphaeronema</i>	01	38	01	-
<i>Colletotrichum</i>	33	7-39	32	01
<i>Coniothyrium</i>	03	30-33	02	01
<i>Diplodia</i>	14	32-39	06	08
<i>Dothiorella</i>	01	-	-	01
<i>Ellisiellina</i>	01	33	-	01
<i>Gloeosporium</i>	03	33	01	02
<i>Hymenopsis</i>	01	08	01	-
<i>Macrophomina</i>	04	09-35	04	-
<i>Metadiplodia</i>	01	33	01	-
<i>Pestalotiopsis</i>	13	13-3	13	-
<i>Phaeocytostroma</i>	02	10-17	02	-
<i>Phyllosticta</i>	02	22-39	02	-
<i>Phoma</i>	10	22-39	08	02
<i>Phomopsis</i>	05	16-39	03	02
<i>Pseudorobillarda</i>	01	20	01	-
<i>Pyrenochaeta</i>	06	11-33	04	02
<i>Truncatella</i>	01	33	-	01
<i>Zythia</i>	01	21	01	-
TOTAL	111	-	89 (80,1%)	22 (19,8%)

10. Little, G. N.; Gordon, M. A. (1967) Survival of fungal cultures maintained under mineral oil for twelve years. *Mycologia*, 59: 733-736.
11. Onions, A. H. S. (1971) Preservation on fungi. In: Booth, C., ed. *Methods in Microbiology*. London: Academic Press, pp. 113-151.
12. Perrin, P. W. (1979) Long term storage of cultures of wood inhabiting fungi under mineral oil. *Mycology*, 71:867-869.
13. Reischer, H. S. (1949). Preservation of *Saprolegniaceae* by the mineral oil method. *Mycology*, 41: 173-179.
14. Russel, B.S. (1974). *Mycology Guidebook*. University of Washington Press: Seatt and London. Ed. II. 703 p.
15. Sherf, A.F. (1943). A method for maintaining *Phytomas sepedonica* in culture for long periods without transf. *Pytopath*. 33:330-332.
16. Silva, F.M.; Lima, D.M.M.; Cavalcanti, M.A.Q. (1991). Indução da esporulação de culturas de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. preservadas em óleo mineral. *Pesq. Agropec. Bras., Brasília*, 26:2021-2024.
17. Smith, D.; Onions, A.H.S. (1983) The preservation and maintenance of living fungi. Commonwealth Mycological Institute.
- 18.----- (1983) The comparison of some preservations tecnieque for fungi. *Trans. of Brit. mycol. Soc.* 81:535-540.
19. Sutton, B. C. (1980) *The Coelomyces*. Commonwealth Mycological Istitute: Kew: Surrey. England