

Patogenicidad de *Pestalotiopsis palmarum* Cooke, sobre plantas de vivero de palma aceitera (*Elaeis guineensis* Jacq.)

M. Labarca¹, N. Sanabria² y A. Arcia²

¹Universidad del Zulia. Facultad de Agronomía Maracaibo-Venezuela

²Universidad Central de Venezuela. Facultad de Agronomía Maracay-Venezuela

Resumen

La palma de aceite (*Elaeis guineensis* Jacq.), es la oleaginosa que mayor cantidad de aceite produce por superficie, obteniéndose de ella dos tipos de aceite libres de colesterol, que han suplantado en gran parte las grasas animales. La siembra de plantaciones de palma, crea un microclima con condiciones favorables para el desarrollo de plagas y enfermedades. Una de las enfermedades más importantes es la Pestalotiopsis, la cual es causada por los hongos *Pestalotiopsis palmarum* y *Pestalotiopsis glandicola*; hongos parásitos facultativos débiles, que aprovechan las heridas causadas por el daño de insectos. Durante el año 2001, la incidencia de esta enfermedad en la zona sur del lago de Maracaibo, produjo pérdidas en el rendimiento de las plantaciones. Con el propósito de comprobar la patogenicidad del hongo *P. palmarum* en palma, se procedió a inocular plantas de previvero de un mes de edad. El ensayo se llevó a cabo en la clínica de plantas de la Facultad de Agronomía de la UCV. La inoculación se hizo asperjando las plantas con suspensiones del hongo, aislado de folíolos con manchas foliares tomados de plantas adultas. El aislamiento del hongo fue previamente identificado al microscopio. Las plantas inoculadas se mantuvieron en cámara húmeda y luego se llevaron al umbráculo para esperar el desarrollo de los síntomas. Las mediciones del hongo determinaron que pertenecía a la especie *Pestalotiopsis palmarum*. Los síntomas de la enfermedad se manifestaron en las plantas asperjadas sin heridas. Asimismo se procedió a reaislar el hongo, obteniendo como resultado el desarrollo de la colonia del hongo *Pestalotiopsis palmarum*, comprobando su patogenicidad.

Palabras clave: *Elaeis guineensis*, pestalotiopsis, Postulados de Koch.

Recibido el 28-7-2004 ● Aceptado el 30-11-2005

Autor para correspondencia email: mlabarca@luz.edu.ve; confito@agr.ucv.ve; aarciam@icnet.com.ve.

Introducción

La palma de aceite (*Elaeis guineensis* Jacq.), es la oleaginosa que mayor cantidad de aceite produce por unidad de superficie, obteniéndose de ella dos tipos de aceite libres de colesterol como todos los de origen vegetal, que han suplantado en gran parte las grasas y aceites animales. Por otro lado, es el cultivo que en forma más rentable, permite la utilización de tierras marginales, proporcionando fuentes de trabajo en áreas distantes a los centros urbanos (6).

En los últimos años en el país se ha generado gran interés por la siembra y procesamiento de este cultivo, debido al alto déficit de aceites y grasas vegetales que alcanza alrededor de un 80%, de aquí que el mismo haya sido considerado rubro bandera por el Gobierno Nacional (6).

La siembra de grandes plantaciones de palma, ha ocasionado una modificación del medio ambiente natural, creando un microclima diferente con condiciones favorables para el desarrollo de plagas y enfermedades. Siendo una de las enfermedades más importantes en América central y del sur y especialmente en el occidente del país la pestalotiopsis. Ella alcanza importancia económica cuando los ataques son fuertes, los cuales pueden llegar a disminuir los rendimientos en cantidades superiores a 36% equivalente a 5,6Ton/ha/año y pérdidas de follaje comprendidas entre 19 y 66% (7).

Esta enfermedad se encuentra íntimamente asociada con insectos, considerándose como el más importan-

te *Leptopharsa gibbicularina* F., insecto de la familia Tingidae que actúa presumiblemente como agente de inoculación y diseminación de la enfermedad por las heridas que causan con sus picaduras ninfas y adultos en el envés de las hojas, al alimentarse (8).

En los primeros estados de desarrollo de la afección, los síntomas se presentan en el envés de los folíolos, pequeñas manchas casi circulares de color oliva, rodeadas por un borde amarillo, indefinido y de aspecto aceitoso. La lesión luego aumenta en tamaño y se torna de color pardo rojizo, rodeado por un borde amarillo. Toda el área decolorada se necrosa y el centro se torna marrón oscuro, que se aclara en lo bordes. Al final las manchas toman un color gris y al necrosarse los tejidos, se observan puntitos negros correspondientes a los acérvulos del hongo. Las manchas se hacen confluentes y gran parte de la lamina foliar se necrosa en más del 95%, secándose toda la hoja, especialmente las hojas inferiores (3).

En cuanto al control de la enfermedad se debe enfocar dentro de un programa de manejo integrado que conozca y evalúe la participación de cada uno de los agentes y factores que condicionan la manifestación de la enfermedad, tomando en cuenta que ésta se ve favorecida por la falta de un balance apropiado de nutrientes (deficiencia de Mg) aguachinamiento y falta de humedad en el suelo, entre otros (8).

Los mejores resultados en el control del insecto vector se han encon-

trado en las aplicaciones de productos mediante inyección en el tronco. Entre los insecticidas empleados en esta forma está el Monocrotophos y el Dicrotophos, con efectividad del 100%, en palmas mayores de 11 años y aplicados en un solo hueco en el tronco, mientras que en las palmas jóvenes no se logra control en todas las hojas (8).

Actualmente se viene empleando la absorción radicular contra los insectos masticadores y chupadores de follaje, es una técnica ecológicamente segura, no está limitada por la edad de la planta y permite hacer uso selectivo de los insecticidas (8). En las plantaciones de palma de aceite, en las zonas central y norte de Colombia, este es el principal problema fitosanitario, pero en estas plantaciones se ha observado que hor-

migas depredadoras del género *Crematogaster* están asociadas con las bajas poblaciones de la plaga, por esta razón las hormigas han adquirido especial atención entre los agentes potenciales para ser incluidas en el establecimiento de un manejo integrado de la chinche (1).

Debido a la importancia de esta enfermedad en el país y especialmente en la zona occidental, el objetivo de este trabajo fue aislar él o los agentes causales del secamiento de las hojas o añublo foliar, presentes en muestras de folíolos de palma aceitera (*Elaeis guineensis* Jacq.), provenientes de una plantación comercial ubicada en el municipio Colón del estado Zulia, para identificar el verdadero causante de la enfermedad mediante la aplicación de los postulados de Koch.

Materiales y métodos

Esta investigación se llevó a cabo durante el año 2002, en la Clínica de Enfermedades de Plantas en la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela (FAGRO-UCV-Marcay), donde se cuenta con un laboratorio dotado de los equipos y suministros requeridos y con un umbráculo para albergar las plantas para su inoculación. Las muestras utilizadas provenían de una plantación adulta ubicada en el municipio Colón del estado Zulia. Para la aplicación de los postulados de Koch se procedió a seguir los siguientes pasos:

Toma de muestra: los folíolos escogidos para hacer el aislamiento (figura 1), se encontraban en los primeros estados de desarrollo de la enfer-

medad, es decir con manchas circulares de color pardo rojizo en el centro y rodeados por un borde amarillo; se tomó de tres plantas cuatro folíolos dos de cada lado de la hoja, se envolvieron en periódico y se transportaron hasta la Clínica de Enfermedades de Plantas (FAGRO-UCV), para la identificación de él ó los patógenos presentes y causantes de la enfermedad.

Aislamiento: para proceder a realizar el aislamiento se tomó suficiente material vegetal con síntomas de la enfermedad, se cortó en trozos grandes y se desinfectó sumergiéndolos (aproximadamente durante 2 min) por separado a tres concentraciones de hipoclorito de sodio al 1, 2 y 3%, ya que se desconocía cual sería la con-

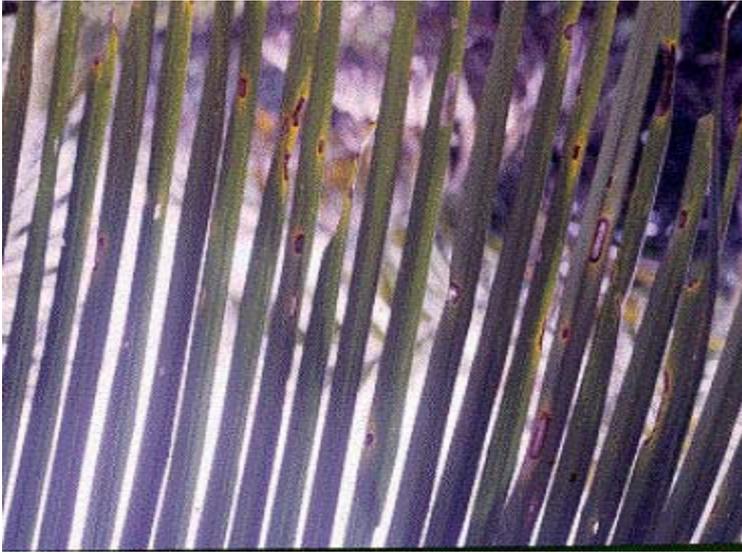


Figura 1. Síntomas de *Pestalotiopsis palmarum* en foliolos de palma aceitera: manchas circulares de color pardo rojizo en el centro y rodeadas de un borde amarillo.

centración más adecuada para evitar el desarrollo de otros patógenos contaminantes; luego el material vegetal se secó con papel absorbente (5).

Las porciones de tejido vegetal se sembraron en tres cápsulas de Petri con medio de cultivo PDA (Papa, Dextrosa, Agar), marcadas según la concentración de cloro usada, esto se hizo en forma de cruz equidistante en la cápsula, la cual también fue flameada debidamente.

Para hacer la incubación se colocaron dos de las cápsulas a incubación en la oscuridad a temperatura aproximada de 27°C y la otra fue colocada a luz alterna para que los hongos esporularan (12 horas de luz y 12 de oscuridad) por 7 días, realizando observaciones cada 36 horas.

Para la observación al microscopio

se utilizó la técnica de impresión con cinta adhesiva transparente, colocando un trozo de esta cinta suavemente sobre el hongo y pegándolo sobre un portaobjetos, donde se había colocado una gota de colorante. Al observar al microscopio se determinó que el hongo aislado era *Pestalotiopsis palmarum*. Varios aislamientos fueron llevados a cultivos puros sobre PDA para observar las características de las colonias, su formación se produjo aproximadamente a los ocho días, la mayor parte de ellas fueron colonias típicas del hongo *Pestalotiopsis palmarum*, es decir que hubo muy poca contaminación.

Purificación: se aisló un trocito del hongo esporulado en el primer aislamiento, tomando una pequeña porción de la colonia con un poco de

medio de cultivo, éste se colocó en luz alterna, día tras día se realizaron observaciones del micelio y aparición de estructuras de fructificación, comenzando a ser notable a los 7 días (5).

Una vez desarrolladas las estructuras de fructificación del hongo en el medio de cultivo fueron observadas al microscopio (40x), tomando una de ellas con una aguja de disección, del medio de cultivo y macerándola en el portaobjeto con azul de algodón, posteriormente fueron sellados los bordes del cubreobjeto con esmalte de uña transparente, para realizar las mediciones correspondientes y la toma de microfotografías con una cámara digital acoplada a un microscopio electrónico.

Preparación del inóculo: la suspensión de esporas del hongo fue preparada agregando agua destilada y esterilizada al medio de cultivo y con la ayuda de un bisturí previamente flameado se procedió a raspar la superficie de la colonia, esta suspensión se filtró; luego se le agregó una gota de adherente y se agitó. Esto se hizo para que los conidios no se aglomeren, además de ello ayudaría en la fijación del material al inocularlo en la planta. Se tomaron alicuotas de las suspensiones de los hongos y se calculó la concentración por medio de conteos en la cámara de Neubauer para microscopio compuesto.

Se contaron los conidios presen-

tes en los cinco cuadros principales (A,B,C,D,E), el procedimiento fue realizado 2 veces (5). La suspensión de esporas fue vertida en una pequeña bomba de aspersión manual para la inoculación.

Inoculación: se utilizaron 6 plantas de palma aceitera de un mes de edad, es decir en etapa de previvero (figura 2). Dos plantas fueron dejadas como testigo, 2 se asperjaron normalmente con la bomba manual y a las otras 2 se les hizo heridas punzando ligeramente el tejido de la lámina con una aguja de disección previamente desinfectada.

Estas plantas fueron colocadas en cámara húmeda por 10 días, a fin de conservar la humedad en la planta y en el suelo y darle condiciones ideales al hongo para su esporulación. Aproximadamente 15 días después de la inoculación aparecieron los síntomas de la enfermedad.

Reaislamiento: este fue realizado a los 21 días después de la inoculación esperando que los síntomas evolucionaran un poco más, se cortaron las láminas de las hojas y se siguió el mismo procedimiento utilizado para el aislamiento, en este caso sólo se desinfectó el tejido vegetal con cloro al 2%. El día 6 se observó el reaislamiento comprobando el desarrollo de la colonia de *Pestalotiopsis palmarum* Cooke y finalizando así la aplicación de los postulados de Koch.

Resultados y discusión

Descripción del patógeno aislado de los folíolos de palma aceitera

Descripción de la colonia en medio PDA: la colonia es blanca

algodonosa (figura 3), con micelio aéreo difuso, con avance irregular hacia el borde y más denso en las partes más viejas de la colonia. Las colonias



Figura 2. Plantas de vivero de palma aceitera.



Figura 3. Colonia de *Pestalotiopsis palmarum* en medio de cultivo PDA.

usualmente muestran crecimiento diurno de zonas miceliales y acérvulos en formación y el acérvulo se desarrolla de un pequeño terrón amarillento de hifas y da origen a masas sobresalientes de esporas entre verde y negro. Al reverso, la colonia muestra una pequeña pigmentación con anillos concéntricos de color grisáceo (4).

Descripción del patógeno: al observarse al microscopio se evidenció la presencia de abundantes conidios con 4 septas hialinas siendo las superiores más oscuras que las inferiores, 3 apéndices apicales y 1 basal ambos hialinos (figuras 4). El largo en promedio de los conidios fue de 19,44 μm , el ancho promedio fue 5,6 μm , mientras que el largo de los apéndices apicales fue 16,9 μm y el del apéndice basal fue 4,86 μm . Estos resultados se corresponden con el hongo

Pestalotiopsis palmarum Cooke, según la descripción hecha en el C.M.I. (4) y la clave de Barnet y Hunter (2).

Descripción de los síntomas observados

Los síntomas se presentaron mayormente en las palmas asperjadas sin heridas, a las que se les hicieron heridas, éstas cicatrizaron y los síntomas aparecieron más tardíamente. Los primeros síntomas se observaron en las hojas cuando se miran al trasluz, un gran número de pequeñas manchas casi circulares de color oliva, rodeadas por un borde amarillo, indefinido y de aspecto aceitoso, más adelante el área de color oliva aumentó de tamaño y tomó una coloración marrón en el centro ligeramente hundida.

Los síntomas no siguieron su avance, ya que las plantas estaban aisladas de su hábitat normal de cre-



Figura 4. Conidios de *Pestalotiopsis palmarum*.

cimiento y las condiciones de humedad no eran las apropiadas.

En las plantas testigos, no se notaron síntomas típicos de la enfermedad, aunque si se observó cierta clorosis debida a la ausencia de los cuidados propios de la etapa de vivero y al exceso de oscuridad ya que dichas plantas al término de 2 meses y medio deben ser trasladadas al vivero a plena exposición solar.

Conclusiones y recomendaciones

Es importante haber logrado determinar la patogenicidad del hongo, ya que según la bibliografía consultada la enfermedad no había podido ser reproducida mediante inoculación, en palmas sanas de vivero, ni sobre folíolos de palma de ocho años, debido a que los agentes inoculadores de la enfermedad no pueden sobrevi-

3.-Reaislamiento: para finalizar, con los postulados de Koch se realizó el reaislamiento, siendo positivo el crecimiento de la colonia de *Pestalotiopsis palmarum* Cooke, logrando determinar que el microorganismo aislado en los síntomas iniciales era realmente el causante de la enfermedad; es decir, se comprobó la patogenicidad del hongo.

vir en palmas de menos de un año de edad y que su longevidad, bajo condiciones artificiales, es muy corta.

Debido a lo grave de la enfermedad en las zonas productoras del país existe la necesidad de avanzar en este tipo de investigación que permita definir un combate más eficiente de la misma.

Literatura citada

1. Aldana J., H. Calvache, A. Méndez. 1995. Distribución de hormigas y su efecto sobre *Leptopharsa gibbicarina* en una plantación de palma de aceite. Palmas (Colombia) 16 (3): 19-23.
2. Barnett H. L., y B. Hunter. 1972. Illustrated genera of imperfect fungi. Third Edition Division of Plant Sciences West Virginia University Morgatown, West Virginia.
3. Centro de investigación en Palma de aceite. 1996. Memorias del Primer Curso Internacional de Palma aceitera. Cartagena, Colombia. 433 p.
4. Ferry L. 1971. Commonwealth micological institute. Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria. Kew Surrey, England. No. 319.
5. French, E. y H. Hebbert. 1980. Métodos de investigación fitopatológica. IICA. Costa Rica. 289 p.
6. Fondo nacional de Investigaciones Agropecuarias. 1991. El cultivo de la Palma Aceitera. Maracay, Ven. FONAIAP/FUNDESOL. Series paquetes tecnológicos No. 9. 240 p.
7. Quesada G. 1991. Cultivo e industria de la palma aceitera. Documento preliminar de una guía para el productor. Ministerio de agricultura y ganadería. Dirección de investigaciones. Bogota D.C.- Colombia 27 p.
8. Posada F. y I. Zenner. 1992. Manejo de insectos, plagas y benéficos de la palma africana. Instituto colombiano agropecuario. ICA. Manual de asistencia técnica. No. 54. 88p.