

Caracterización de síntomas e identificación de microorganismos en palmas de aceite afectadas por la Pudrición basal del estípite

Characterization of Symptoms and Identification of Microorganisms Associated to Basal Stem Rot in Oil Palm

Autores

Yuri Adriana Mestizo

Programa de Plagas y Enfermedades, Cenipalma

Gina Bandera

Programa de Plagas y Enfermedades, Cenipalma

Héctor Aya

Programa de Plagas y Enfermedades, Cenipalma

Greicy Sarria

Programa de Plagas y Enfermedades, Cenipalma

Francía Varón

Programa de Plagas y Enfermedades, Cenipalma

Mónica Navia

Programa de Biología y Mejoramiento, Cenipalma

Gerardo Martínez

Programa de Plagas y Enfermedades, Cenipalma

Palabras clave

Elaeis guineensis, Ganoderma.

Recibido:
septiembre 30 de 2012
Aprobado:
noviembre 12 de 2012

Resumen

La Pudrición basal del estípite (PBE) es una de las principales enfermedades de la palma de aceite y su incidencia en Colombia ha aumentado lenta pero progresivamente, sobre todo en las zonas Centro y Norte, lo que incrementa los costos de monitoreo y control y amenaza con extenderse a toda la región. El propósito de esta investigación es evaluar, en condiciones de campo, la sintomatología asociada a la PBE a través del tiempo e identificar morfológica y molecularmente los microorganismos aislados a partir de palmas enfermas. Para esto, se seleccionaron dos lotes con antecedentes de la enfermedad en los cuales se hizo el seguimiento de síntomas desde 2009 hasta 2011. Se realizaron aislamientos de los microorganismos presentes en el área de avance de la enfermedad, en diferentes medios de cultivo, y se purificaron e identificaron, comparando las características macroscópicas, microscópicas y mediante métodos moleculares. Los síntomas iniciales más comunes fueron: acumulación de flechas, clorosis, doblamiento de hojas bajas, acumulación de raíces adventicias y de inflorescencias masculinas.

A medida que la enfermedad avanzó, se presentó enruanamiento y doblamiento de la punta de las hojas. De los 24 aislamientos obtenidos se identificaron seis especies: *Cladosporium cladosporioides*, *Curvularia affinis*, *Curvularia lunatus*, *Neonothopanus nambi*, *Thielaviopsis paradoxa*, *Coprinopsis cinerea*; seis hasta género: *Fusarium* sp., *Cladosporium* sp., *Pythium* sp., *Phlebia* sp., *Nodulisporium* sp. y *Penicillium* sp.; uno de la división Basidiomycota y 10 no pudieron ser identificados. Para comprobar su patogenicidad, se realizaron inoculaciones en pecíolos de palma y se encontró que nueve de los 24 aislamientos produjeron lesiones necróticas: *Cl-*



dosporium cladosporioides, *Curvularia affinis*, *Coprinopsis cinerea*, *Phlebia* sp., *Penicillium* sp., *Thielaviopsis paradoxa*, *Nodulisporium* sp., *Fusarium* sp., y uno de los no identificados. Nuevas pruebas de patogenicidad en plantas adultas y de vivero son necesarias para conocer cuáles de estos microorganismos están comprometidos en la Pudrición basal del estípote de la palma de aceite, observada en la plantación Indupalma Ltda., en el Sur del Cesar.

Abstract

Basal stem rot (BSR) is one of the diseases of oil palm and there are evidences of the slow but constant increase in incidence in the Central and North regions in Colombia, with the effect on the identification costs and the risk to spread to the entire region. The purpose of this research was to evaluate under field conditions, the symptoms associated with (BSR) and to identify morphological and by molecular biology, the microorganisms isolated from diseased tissue. Two plots with disease records were selected to follow the symptoms development, since 2009 to 2011. Microorganisms present in the front of advance of the lesions were isolated in different culture media and were purified and identified by their macroscopic, microscopic and molecular characteristics. From the 24 isolates obtained, six were identified to species: *Cladosporium cladosporioides*, *Curvularia affinis*, *Curvularia lunatus*, *Neonothopanus nambi*, *Thielaviopsis paradoxa* and *Coprinopsis cinerea*; six until genera: *Fusarium* sp., *Cladosporium* sp., *Pythium* sp., *Phlebia* sp., *Nodulisporium* sp. and *Penicillium* sp.; one to division: Basidiomycota and ten were not identified. To establish the pathogenicity of these 24 isolates, inoculations were done in leaf petioles, and in nine of them: *Cladosporium cladosporioides*, *Curvularia affinis*, *Coprinopsis cinerea*, *Phlebia* sp., *Penicillium* sp., *Thielaviopsis paradoxa*, *Nodulisporium* sp., *Fusarium* sp., and one non-identified, there was developed of necrotic lesions. It is necessary to develop further pathogenicity tests either in adult or nursery palms to get more information about these microorganisms that are involved in basal stem rot of oil palm in Indupalma Ltda., South of Cesar department.



Introducción

La Pudrición basal del estípote (PBE) es una de las enfermedades más importantes de la palma de aceite, pues es un enemigo silencioso pero fatal (Meón, 2005), que causa pérdidas económicas importantes en países productores de palma de aceite. Durante muchos años, la PBE se consideró una enfermedad de las palmas viejas y de poca trascendencia económica; sin embargo, a mediados de la década de 1950 comenzó a presentarse en palmas más jóvenes en el Sureste Asiático, particularmente en áreas sembradas después de cocoteros o en resiembras de palma de aceite (Turner, 1981). También se considera como la más importante en la palma de aceite en Malasia e Indonesia, tanto que algunos autores registran la

muerte de 50-80% de las palmas, en la mitad de su vida productiva (Turner, 1981; Gurmit, 1990; Rees et al., 2009; Susanto, 2009; Viridiana et al., 2009). También se presenta en África y Centroamérica (Chinchilla y Richardson 1987; Turner y Gillbanks 2003; Franqueville et al., 2009).

En Malasia e Indonesia, la PBE es causada por el hongo *Ganoderma boninense* Pat., donde su patogenicidad ha sido demostrada mediante inoculaciones controladas en semillas pregerminadas y plantas de vivero (Khairudin et al., 1991; Sariah et al., 1994; Idris et al., 2004, 2006; Rees, 2007a, b; Nur et al., 2008). Existen más especies de *Ganoderma* como *G. lucidum*, *G. applanatum*, *G. chalconum*, *G.*



miniatocinctum G. colosus, entre otras, que tienen relación con la palma de aceite (Turner 1981; Ho y Nawawi, 1985; Idris, 1999; Idris *et al.*, 2000). Debido a que la enfermedad ha sido atribuida a un basidiomiceto (parásito facultativo), capaz de vivir como saprofito en tocones o raíces en descomposición que quedan en el suelo en espera de un huésped adecuado (Khairudin, 1993; Franqueville *et al.*, 2009), se considera que las heridas o las raíces muertas pueden ser necesarias para que el hongo penetre en el hospedero. Según Turner (1981), la edad a la cual se infecta la palma depende del ritmo de colonización de los tejidos de la población anterior, de la proximidad de los tejidos colonizados a la palma de aceite, del tiempo que requieren las raíces para entrar en contacto con los tejidos e infectarse y, del desarrollo del hongo a lo largo de las raíces y su establecimiento dentro de los tejidos del estípite.

La infección en las palmas más jóvenes menores de 10 años, comienza en el centro del estípite en crecimiento y mueren rápidamente después de contraer la enfermedad. En palmas adultas, en las cuales el estípite ha alcanzado su máximo desarrollo, las raíces externas son las responsables de la infección y, generalmente, inicia desde fuera hacia dentro. Cuando los tejidos de la base del estípite están completamente endurecidos, el avance de la enfermedad suele ser lento y la muerte puede tardar varios años, a veces hasta cinco después de la aparición de los síntomas externos (Gurmit, 1995). La dispersión en una plantación se presenta por el contacto entre las raíces de las plantas sanas con las enfermas. Las palmas afectadas normalmente aparecen agrupadas y estas áreas aumentan a medida que se incrementa el contagio. Por lo tanto, una palma infectada actúa como foco diseminando la enfermedad a las palmas vecinas (Gurmit, 1990). Además, se especula que la enfermedad se disemina ampliamente a través de esporas transportadas por el viento o vectores (Sanderson *et al.*, 2000).

En la descripción de la sintomatología asociada a la PBE en palma se mencionan: la acumulación de flechas, las cuales no abren y se quedan cortas y cloróticas; descomposición de la parte interna del estípite; las raíces presentan color pardo con

porciones negras y fáciles de desmenuzarse; hojas secas y muertas; presencia de cuerpos fructíferos, entre otros. Las plantas enfermas se reconocen por el deterioro en la absorción de agua y deficiencia de nutrientes en el follaje (Gurmit 1990; Khairudin, 1993; Sánchez, 1986; Turner, 1981; Nieto, 1994).

En cuanto a la presencia de pudriciones basales en Colombia, los registros en Indupalma, en el municipio de San Alberto, muestran casos de Pudrición basal del estípite desde 1961, con una incidencia inferior a 1%, los cuales fueron erradicados. En 1996, con el inicio de programas de renovación, se detectaron nuevas plantas afectadas con la enfermedad con una incidencia superior a 1% en focos, por lo cual, se realizaron las erradicaciones pertinentes de las palmas afectadas (Pulido *et al.*, 2011).

Sánchez (1990) registró que en 1990 solo se habían presentado algunos casos de Pudrición basal del tronco en plantaciones de palmas ornamentales en la Avenida Ciudad de Cali (Cali-Valle del Cauca). Posteriormente, Nieto *et al.*, 1993 citados por Nieto (1994), registraron la presencia de Pudrición basal en palma de aceite en Colombia en plantaciones del Copey, departamento del Cesar; en este reporte indican que se observaron esporóforos de *Ganoderma*, y atribuyen a este patógeno la causa del disturbio, basados en los registros en la literatura (Turner, 1981; Gurmit, 1990; Khairudin *et al.*, 1991). De igual manera se mencionan como síntomas asociados a la enfermedad la acumulación de flechas, hojas bajas dobladas hacia abajo y presencia de esporóforos. Además, se observó en algunas plantas la asociación de estos síntomas con casos de Anillo rojo (Nieto, 1994).

Más tarde, Nieto (1995), registró la presencia de pudriciones del estípite en plantaciones de palma de aceite de las zonas Norte y Central de Colombia, donde se encontraron casos de síntomas de Pudrición basal en los municipios de San Alberto, El Copey, Aracataca y Ciénaga.

Durante un reconocimiento de enfermedades asociadas al estípite de la palma de aceite en la Zona Norte, Tovar y Nieto (1998), encontraron con mayor frecuencia tres tipos de pudrición: la pudrición seca causada por *Thielaviopsis paradoxa*; pudriciones basales por *Ganoderma* y

podriciones húmedas asociadas por bacterias. El diagnóstico de *Ganoderma* en este estudio como agente causal de la enfermedad, se realizó por identificación visual de las características del esporóforo presente en plantas afectadas.

Después se siguieron registrando casos de pudriciones de estípite en la palma de aceite, especialmente en las zonas Norte y Centro (Rocha, 2007; Restrepo *et al.*, 2008).

Recientemente Pulido *et al.*, (2011) registraron una incidencia acumulada desde 2008 hasta 2011, de la Pudrición basal del estípite de 1,52% en cultivos de palma de aceite en el municipio de San Alberto, en la Zona Central, por lo cual, se realizaron las erradicaciones pertinentes de las palmas afectadas. En la Zona Central colombiana, la Coordinadora Fitosanitaria de Fedepalma, (datos no publicados, 2011), registra una incidencia de la enfermedad menor de 0,5%.

En esta investigación se realizó un estudio orientado a la descripción de síntomas e identificación de los microorganismos asociados a las pudriciones de estípite, para contribuir al esclarecimiento de los responsables de las pudriciones que se están observando en Indupalma Ltda., una de las plantaciones que presenta casos de Pudrición basal del estípite en la Zona Central en Colombia.

Materiales y métodos

Ubicación

El reconocimiento de síntomas de pudriciones basales de estípite se realizó en la plantación Indupalma Ltda., localizada en San Alberto, Cesar, con un área cultivada de más de 8.600 hectáreas de palma de aceite y 30 ha en viveros. La temperatura promedio es 28°C y está a 87 metros sobre el nivel del mar.

Seguimiento de síntomas en campo

En 2009 se seleccionaron 30 palmas de nueve años de edad, en un lote de alta incidencia de la plantación (12,4%), ocho de ellas en estado de cráter avanzado, 11 en cráter leve y 11 sin cráter. A partir de allí se realizó una caracterización de estas palmas teniendo en cuenta la sintoma-

tología externa que presentaban con respecto a la descrita en la literatura (Nieto, 1994; Darus, 1995; Meon, 2005; Franqueville *et al.*, 2009). Cada 10 días se realizó la evaluación registrando el avance de los síntomas y la identificación de nuevos casos de la PBE.

Para caracterizar la sintomatología interna, se erradicaron 10 palmas; de ellas, cuatro presentaban cráteres leves, cuatro cráteres avanzados y dos sin cráteres. Esta labor permitió registrar el daño interno y asociarlo con la sintomatología externa presente en el momento de la erradicación. Para la evaluación de síntomas en el periodo 2010 hasta octubre de 2011, se escogieron 30 palmas aparentemente sanas ubicadas en el mismo lote donde se había encontrado alta incidencia de la enfermedad. Para asegurar la sanidad de las palmas se utilizó un punzón, que permitió verificar la consistencia del estípite en la parte basal. El seguimiento de síntomas se realizó cada 20 días. Se evaluó el avance de los síntomas externos asociados directamente a la PBE para determinar cuáles podrían servir como diagnóstico temprano de la enfermedad. Algunos de ellos habían sido registrados en la literatura como asociados a pudriciones de estípite (Gurmit, 1990, 1995; Nieto, 1994, 1995; Khairudin *et al.*, 1991; Darus, 1995; Meon, 2005; Franqueville *et al.*, 2009) y otros fueron observados durante el proceso de evaluaciones de este estudio.

Toma y procesamiento de muestras

Se tomaron muestras de plantas que presentaban síntomas de la PBE en campo, especialmente en estados iniciales e intermedios de daño. Trozos pequeños de tejido enfermo que contenían tejido adyacente sano se colocaron en tubos de vidrio con Tween 20 y se transportaron refrigerados hasta el laboratorio. El trabajo posterior se realizó en la plantación y en los casos requeridos, se llevaron muestras al laboratorio de fitopatología de Cenipalma, en el Campo Experimental Palmar de la Vizcaína.

Aislamiento y purificación de microorganismos

Se tomaron trozos de aproximadamente 0,5 centímetros de longitud y se lavaron con Tween y



agua a chorro durante dos horas como mínimo. Posteriormente, en la cámara de flujo laminar se lavaron nuevamente con hipoclorito de sodio al 1,0% durante un minuto; luego, con alcohol al 70% durante 30 segundos y, finalmente, con agua destilada estéril, dos veces. Este tejido se dejó secar sobre papel toalla estéril durante 5 a 10 minutos y se procedió a sembrar cinco trozos por caja Petri en diferentes medios de cultivo: papa-dextrosa-agar (PDA), agar-agua (Agar), GSM (Medio selectivo para Ganoderma), (Rees *et al.*, 2007b), BAM (Medio selectivo para basidiomicetos), agar extracto de malta y en el caso de bacterias todos los aislamientos iniciales se realizaron en agar-nutritivo. De igual manera, se colectaron esporóforos o signos de la enfermedad en campo y se realizaron siembras directas con el fin de obtener el microorganismo en condiciones *in vitro* a partir de sus estructuras reproductivas.

Después de 5 a 7 días se verificó la aparición de microorganismos fungosos y se realizaron los subcultivos necesarios, con el fin de iniciar el proceso de purificación de colonias de manera temprana y evitar posibles contaminaciones, hasta obtener finalmente aislamientos puros.

Identificación de microorganismos

Con cada uno de los aislamientos puros se realizó la identificación a nivel de género por características morfológicas, mediante la utilización de claves específicas (Barnett, 1960; Domsch *et al.*, 1980).

Las características morfológicas se evaluaron mediante comparación y medición de estructuras por toma directa del microorganismo, improntas y microcultivos. De igual manera, se tomaron signos de la enfermedad en palmas afectadas con el fin de hacer montajes directos que permitieran, por morfología, realizar la identificación hasta especie.

En el laboratorio de biología molecular de Cenipalma, en el Campo Experimental Palmar de la Vizcaína, se llevaron a cabo los estudios de caracterización molecular de los organismos, mediante la amplificación del ADN ribosomal y el producto obtenido se envió a secuenciar a Macrogen Inc. (Seúl, Corea). Las secuencias se editaron con el programa Sequencher™ 4,8 (Codes

Corporation, USA) y se determinó la homología de la secuenciación en estudio con las bases de datos del NCBI (National Center for Biotechnology Information), usado en algoritmo Mega Blast.

Pruebas de patogenicidad *in vitro*

Se realizaron inoculaciones de todos los microorganismos aislados sobre trozos de pecíolos con el fin de verificar la patogenicidad de los mismos. En campo se seleccionaron los pecíolos provenientes de palmas libres de enfermedades y se llevaron al laboratorio, donde se eliminaron los folíolos, se limpiaron con hipoclorito de sodio al 5,0%, se cortaron en trozos de 25 cm y los extremos expuestos se sellaron con parafina.

En la cámara de flujo laminar se realizaron dos perforaciones con broca calibre $\frac{3}{8}$ de 2,0 a 2,5 cm de profundidad, en sentido vertical y horizontal, respectivamente, cada una ubicada a 8cm del borde. Con un sacabocados se tomó parte del microorganismo, adherido al medio en el que estaba sembrado y se depositó en cada una de las perforaciones, se selló con algodón estéril y se cubrió todo el pecíolo con plástico. Luego, los pecíolos inoculados se almacenaron en bandejas a temperatura ambiente.

Diseño metodológico

Para las primeras pruebas de patogenicidad se llevó a cabo un experimento considerando cada tipo de microorganismo, como tratamiento, y un trozo de pecíolo de 25 cm con dos perforaciones, como unidad experimental. Los microorganismos se asignaron a las unidades experimentales en forma aleatoria y sin restricción alguna, bajo el esquema de un diseño completamente aleatorio. Las unidades experimentales provenían del mismo material, edad, lote y de similar manejo agronómico. Cada tratamiento se repitió tres veces y se hicieron evaluaciones a los 10, 20 y 30 días después de la inoculación. Las inoculaciones fueron realizadas en dos etapas, la primera desde el código H001 hasta el H027 con un testigo con sólo medio de cultivo y un testigo absoluto no inoculado; y la segunda, desde el código H028 hasta el H038, con sus respectivos testigos. En 2010, se repitieron las inoculaciones

en bases peciolares con los 24 aislamientos, con el fin de corroborar los resultados obtenidos. La metodología utilizada fue similar a la descrita anteriormente.

Resultados y discusión

Seguimiento de síntomas en campo 2009

Síntomas externos. El síntoma más claro de la presencia de la enfermedad fue el cráter en la base, que es un estado avanzado, siendo hasta

ahora la única expresión concluyente para diagnosticar plantas afectadas por la Pudrición basal del estúpite. La acumulación de flechas, el amarillamiento de hojas jóvenes, presencia de raíces adventicias, entre otros, fueron síntomas externos que reflejaron la problemática interna que se presentaba en las palmas, pero que pueden tener otras causas.

Los síntomas fueron descritos de acuerdo con los registrados en la literatura para la PBE y los cambios observados en las palmas afectadas comparadas con las palmas sanas, en el lote seleccionado para tal fin (Figura 1).

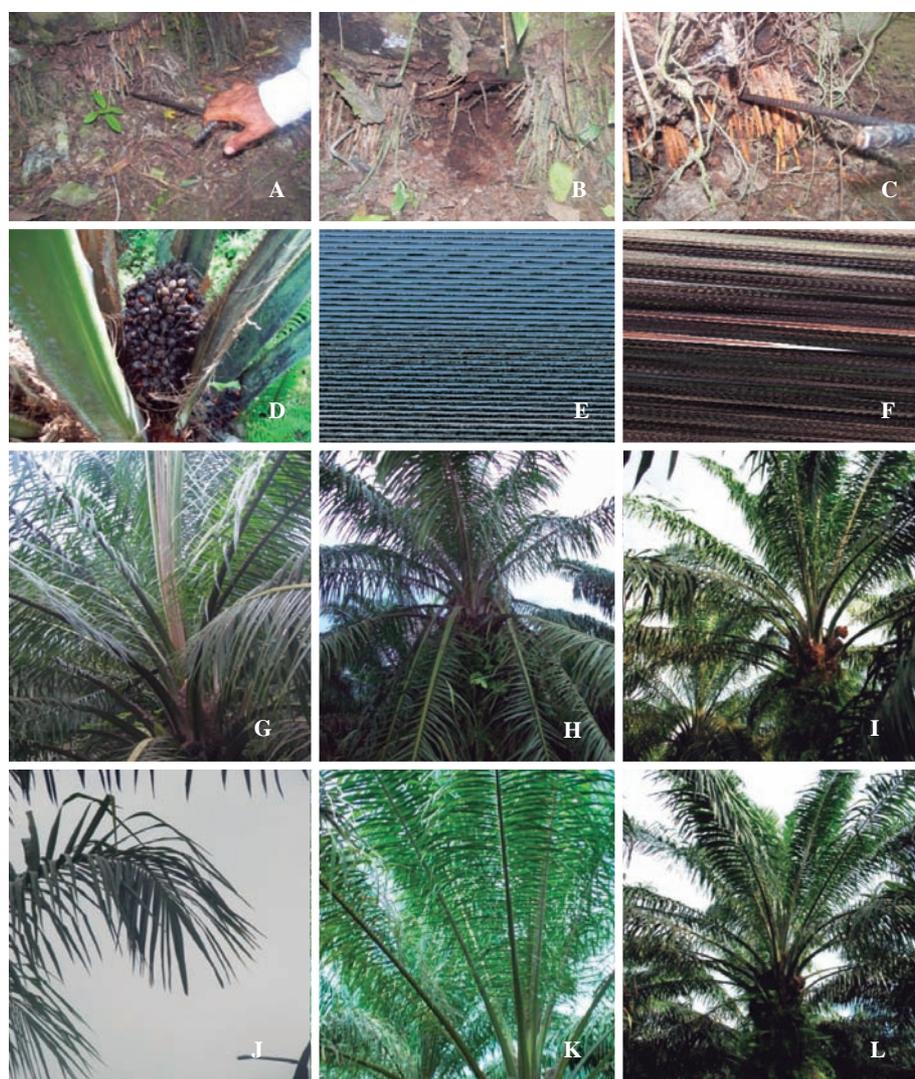
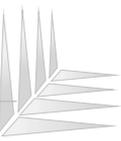


Figura 1. Síntomas externos: A. Cráter leve; B. Cráter avanzado; C. Raíces adventicias; D. Fruto opaco; E. Foliosos frágiles; F. Cuerpos fructíferos; G. Acumulación de flechas; H. Enruanamiento; I. Acumulación de inflorescencia masculina; J. Doblamiento de la punta de las hojas; K. Amarillamiento; L. Hojas bajas dobladas.



Durante el periodo de observación se evidenció cómo la enfermedad continuó su proceso de pudrición interna del estípite, con un incremento de casos de palmas con cráter de

20%. El promedio mensual de palmas que se fueron enfermando fue 2,2% mientras que la evolución entre el estado leve hacia el avanzado fue de 3,6% (Figura 2).

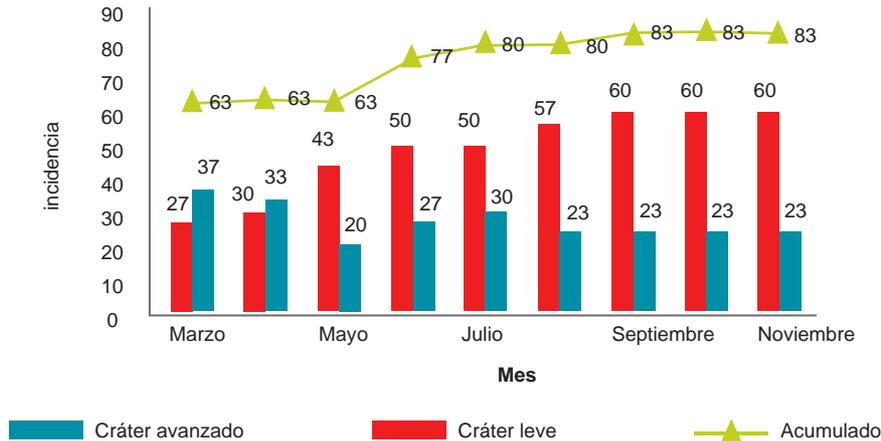


Figura 2. Evolución del proceso de pudrición del estípite durante los meses de observación.

En cuanto a los síntomas externos asociados a la enfermedad, la acumulación de flechas, las raíces adventicias y las hojas bajas dobladas, fueron las que alcanzaron incidencias superiores a 40%, en los primeros estados de desarrollo de la enfermedad, siendo ellos los síntomas externos más frecuentemente asociados con casos de PBE.

La acumulación de inflorescencias masculinas fue uno de los síntomas observados en los

estados iniciales, pero dejó de ser evidente a medida que la enfermedad avanzó y estas fueron desprendiéndose sin que se desarrollaran nuevas inflorescencias.

En el transcurso de las evaluaciones, síntomas como el enruanamiento y doblamiento de la punta de las hojas fueron más evidentes. El amarillamiento de hojas jóvenes estuvo afectado por las condiciones de precipitación (Tabla 1).

Tabla 1. Incidencia de síntomas externos asociados a PBE evaluados durante 2009.

Mes de evaluación	Amarillamiento	Doblamiento de la punta de las hojas	Enruanamiento	Acumulación de flechas	Fruto opaco	Hojas bajas dobladas	Raíces adventicias	Inflorescencias masculinas
Marzo	47	0	7	77	7	63	40	0
Abril	77	0	17	73	7	90	67	67
Mayo	67	10	37	83	7	73	77	80
Junio	53	20	63	77	20	83	87	67
Julio	33	57	77	73	13	67	97	73
Agosto	67	67	87	90	13	90	100	40
Septiembre	30	70	87	77	10	70	100	50
Octubre	23	67	90	77	10	73	100	10
Noviembre	27	67	90	73	7	73	100	3

Los síntomas observados coinciden con los registrados en la literatura para la Pudrición basal del estípite (Gurmit, 1990, 1995; Nieto, 1994, 1995; Darus, 1995; Meon, 2005; Franqueville *et al.*, 2009), a excepción de la proliferación de raíces adventicias y doblamiento en la punta de las hojas.

Síntomas internos. En el estípite de las palmas examinadas, se observaron lesiones que inician desde el centro del estípite hacia fuera, aunque en algunos casos las lesiones fueron más cercanas en los laterales de la base del estípite, situación similar a la registrada por Franqueville (2009).

El tejido del estípite afectado sufrió un proceso de descomposición y muchas veces alcanzó degradación avanzada hasta formar un material semejante a la turba. En la zona de avance de la enfermedad el tejido del estípite tomó un color marrón oscuro a negro y en la parte externa de ésta se observó un área de color marrón más claro e inmediatamente contiguo, una zona amarilla que separa el tejido enfermo del sano, que se diferenció por su consistencia corchosa (Figura 3).



Figura 3. Lesión de avance de la PBE.

Al realizar un corte transversal en búsqueda de tejido sano se observaron lesiones necróticas aisladas (Figura 4), indicando el avance de la pudrición en el estípite. Algunas lesiones presentaron crecimiento de un micelio blanco sobre el tejido en descomposición (Figura 5).



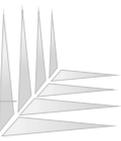
Figura 4. Avance de la lesión hacia la parte superior del daño.



Figura 5. Crecimiento micelial sobre lesiones causadas por la PBE.

Las raíces infectadas presentaron consistencia frágil, corteza parda en descomposición, y el cilindro central, una coloración negra.

Al relacionar la sintomatología con el estado interno, se observó que tanto para el cráter leve como para el avanzado, 90% de las palmas erradicadas presentaron síntomas de acumulación de flechas, en 100% raíces adventicias y en 80% hojas bajas dobladas. Las cuatro palmas que se encontraron en estado de cráter avanzado registraron síntomas de doblamiento de la punta de las hojas y tres de ellas enruana-



miento. De las dos palmas que no registraron cráter se observó una con pudrición en la parte interna del estípite.

Los síntomas observados en este trabajo coincidieron con otros registros en la literatura, en los cuales se asocia la enfermedad con síntomas como la acumulación de flechas que no abren, se quedan cortas y cloróticas; descomposición de la parte interna del estípite; raíces de color pardo con porciones negras y fáciles de desmenuzarse; hojas secas y muertas; y la presencia de cuerpos fructíferos (Gurmit, 1990; Khairudin, 1993; Sánchez, 1986; Turner, 1981; Nieto, 1994). En palmas adultas se observan múltiples flechas sin abrir, las hojas empiezan a perder fuerza y están pegadas al estípite simulando una falda. Los síntomas internos están representados por la deshidratación de la parte interna del estípite, inicialmente son manchas de color amarillo claro que al crecer se tornan pardo a marrón, con un halo clorótico en la zona de avance de la lesión. En estados avanzados, los tejidos internos de las lesiones se tornan necróticos con apariencia de turba, la cual fomenta la presencia de cavidades, donde se puede apreciar un micelio de color blanco (Gurmit, 1990; Khairudin, 1993; Sánchez, 1986; Turner, 1981).

Seguimiento de síntomas en campo 2010-2011

Durante evaluaciones realizadas en 2010, se observaron dos síntomas constantes: el doblamiento del ápice de la hoja y los folíolos frágiles, alcanzando valores superiores a 60%. La presencia de raíces adventicias continuó siendo uno de los síntomas más representativos de la PBE con valores superiores a 90%. Lo anterior coincide con las evaluaciones realizadas durante 2009. El amarillamiento y enruanamiento, fueron síntomas variables en 2010, debido posiblemente a que su aparición estuvo asociada a estados avanzados de la enfermedad.

Los síntomas observados con mayor frecuencia en 2011 coincidieron con lo registrado en 2010, mostrando de manera constante la asociación de tres síntomas con la Pudrición basal del estípite: las raíces adventicias con valores superiores a 90%, doblamiento del ápice de la hoja y los folíolos frágiles, alcanzando estos dos últimos porcentajes hasta 85 y 80%, respectivamente. El amarillamiento y enruanamiento no mostraron valores significativos (Figura 6).

El síntoma de cráter presentó una incidencia final en 2010 de 37% y se incrementó en 2011 a una incidencia final de 50%. (Figuras 7 y 8).

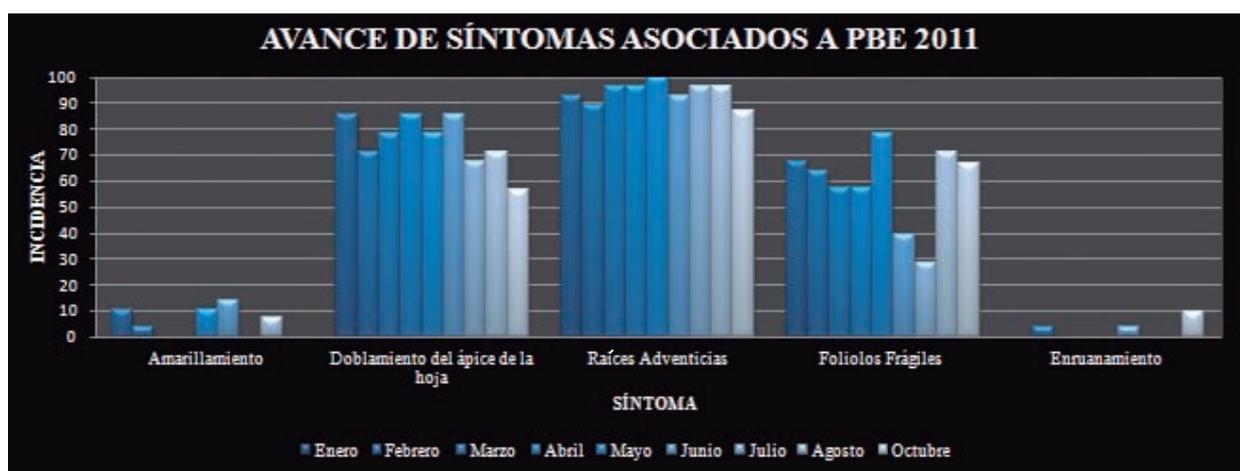


Figura 6. Incidencia de los síntomas observados en 2011 durante la caracterización de síntomas asociados a la PBE.

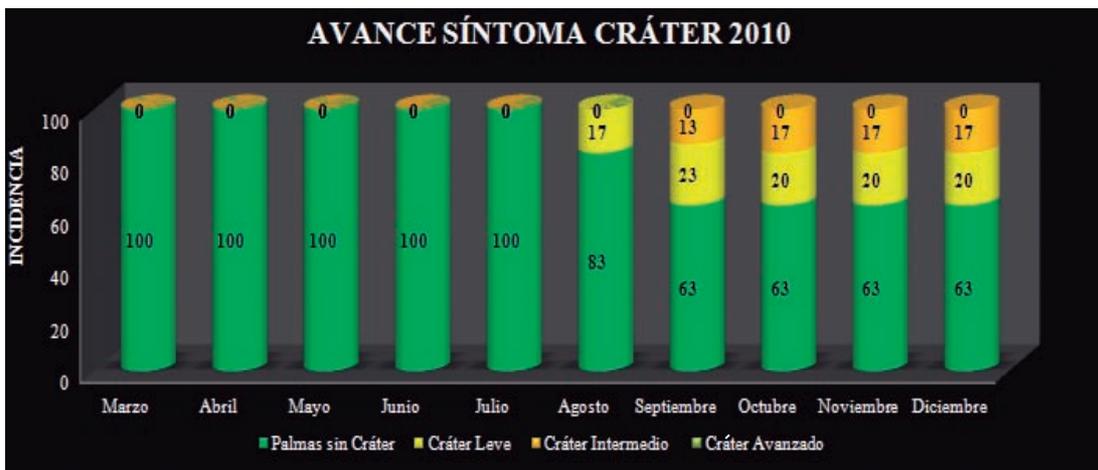


Figura 7. Incidencia del síntoma de cráter en evaluaciones realizadas hasta 2010.

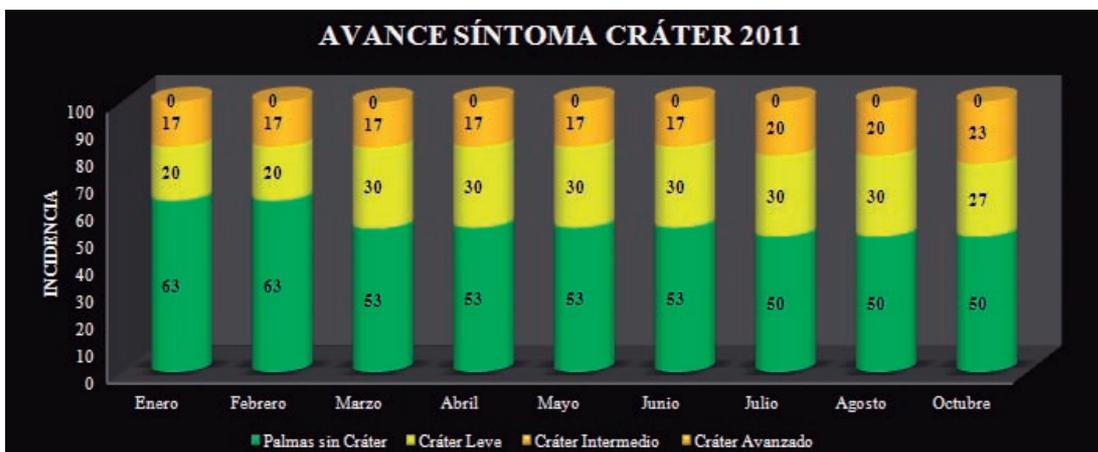


Figura 8. Incidencia acumulada del síntoma de cráter en evaluaciones realizadas hasta 2011.

En las evaluaciones de síntomas a través del tiempo se identificó que la presencia de raíces adventicias en las palmas afectadas con PBE, corresponde posiblemente a un mecanismo de la palma por mejorar las condiciones de anclaje que han sido perdidas por la degradación interna de la base del estípote y se convierte en el síntoma externo más importante para un diagnóstico de casos de la PBE.

Identificación de microorganismos asociados a la Pudrición basal del estípote en Indupalma Ltda.

En las muestras de tejido obtenidas en la parte interna y externa de la base del estípote, raíces

y cuerpos fructíferos se aislaron 24 microorganismos, entre los que se encontraron hongos de los géneros *Cladosporium*, *Fusarium*, *Curvularia*, *Coprinopsis*, *Phlebia*, *Thielaviopsis* y *Penicillium* y algunas especies de Basidiomycetes. De las siembras de tejido en Agar-nutritivo se aislaron bacterias del género *Pseudomonas* y *Erwinia*, pero no se tuvieron en cuenta por considerarse saprofitas y contaminantes. Por biología molecular fueron identificados hasta especie seis microorganismos; ocho hasta género, por las características de las estructuras microscópicas que presentaron; y 10 no pudieron ser identificados por presentar sólo crecimiento micelial y no haber sido amplificados correctamente en el proceso de PCR con el ADN obtenido (Figura 9).

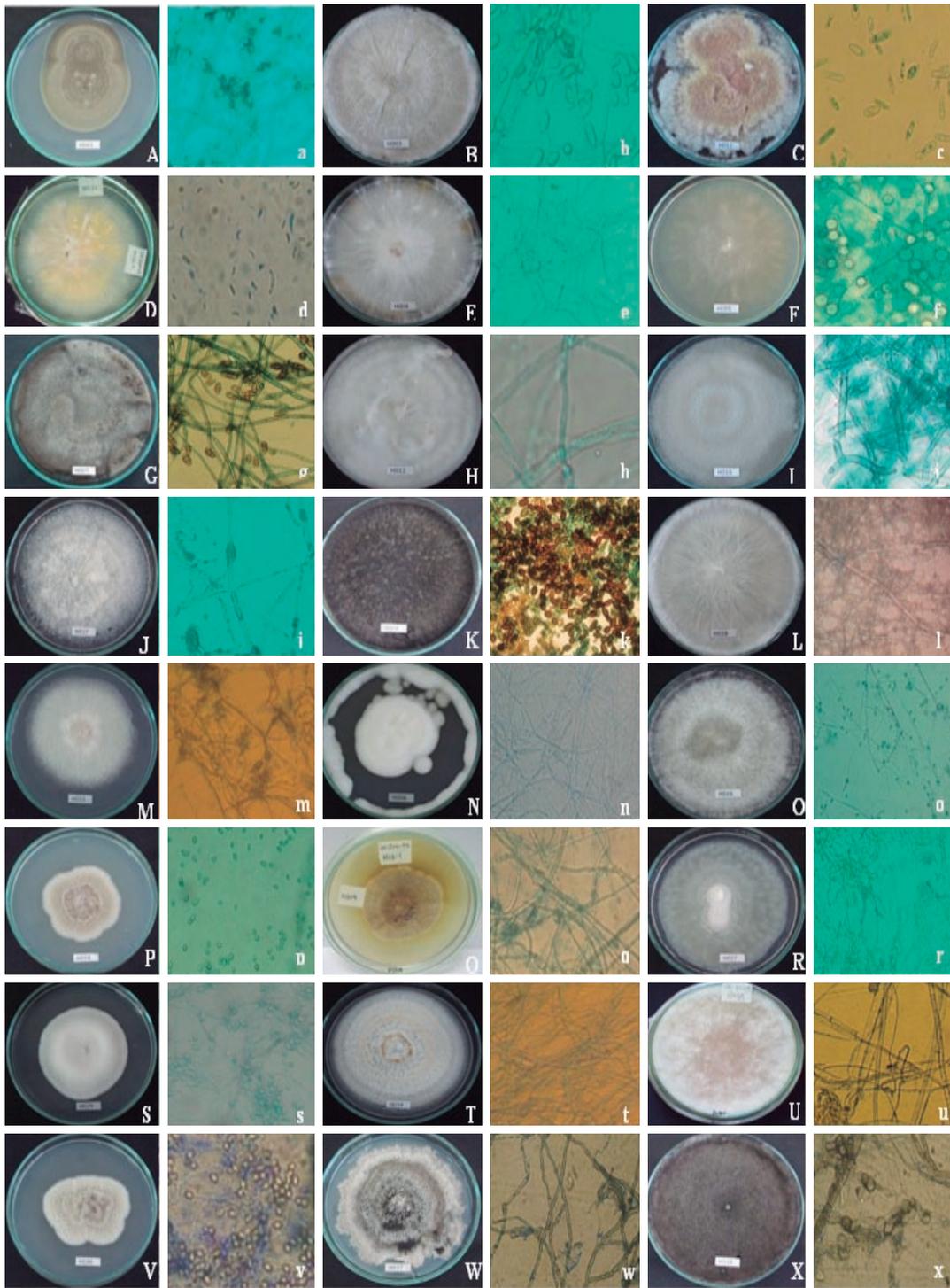


Figura 9. Caracterización macroscópica y microscópica de las colonias aisladas. Aa. *Cladosporium cladosporioides*; Bb-Dd. *Fusarium* sp.; Ee. *Neonothopanus nambi*; Ff. *Pythium* sp.; Gg. *Curvularia affinis*; Hh. *Coprinopsis cinerea*; Ii. *Curvularia lunatus*; Jj. *Phlebia* sp.; Kk.. *Thielaviosis paradoxa*; Ll. *Basidiomycete* Mm. *Penicillium* sp.; Nn. *Nodulisporium* sp.; Oo-Xx. Colonias no identificadas.

Los microorganismos identificados hasta especie fueron: *Cladosporium cladosporioides*, *Curvularia affinis*, *Curvularia lunatus*, *Neonothopanus nambi*, *Thielaviopsis paradoxa* y *Coprinopsis cinerea*.

Lesiones producidas en pruebas preliminares de patogenicidad

En la primera etapa de inoculaciones, el hongo *Thielaviopsis paradoxa* por su alta capacidad de esporulación, generó contaminación entre los pecíolos inoculados con los otros microorganismos, lo que provocó que el área

total de daño fuese más amplia que la que se puede atribuir a los microorganismos en evaluación, siendo esta una situación bastante frecuente en trabajos en palma de aceite, con los consiguientes errores de interpretación de resultados.

Al analizar el tamaño de las lesiones se encontró alta variabilidad en los datos, con coeficientes de variación muy altos. Los hongos inoculados que produjeron mayores lesiones fueron: *Cladosporium cladosporioides*, *Curvularia affinis*, *Coprinopsis cinerea*, *Phlebia* sp., *Thielaviopsis paradoxa*, *Penicillium* sp., y tres de los no identificados (Figura 10).

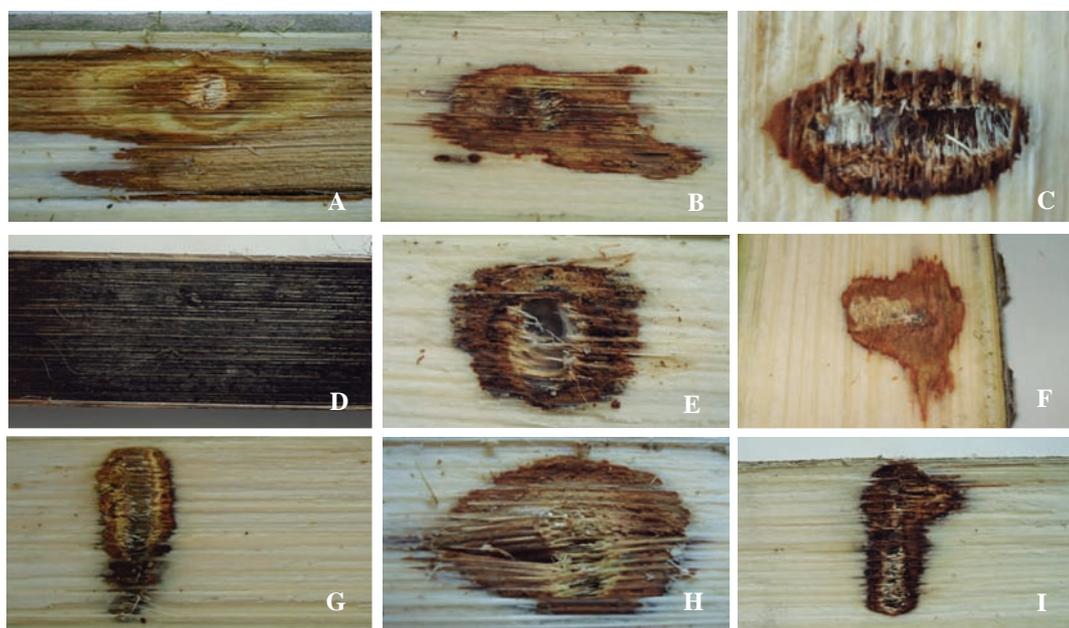


Figura 10. Lesiones producidas en pecíolos de palma. A. *Neonothopanus nambi*; B. *Curvularia affinis*; C. *Phlebia* sp.; D. *Thielaviopsis paradoxa*; E. *Coprinopsis cinerea*; F. *Penicillium* sp.; G. *Nodulisporium* sp.; H. No identificado; I. *Fusarium* sp.

En la segunda inoculación en pecíolos, de los 24 aislamientos evaluados, cinco generaron lesiones a partir del punto de inoculación. *Cladosporium cladosporioides* ocasionó lesiones de color marrón, las cuales en la zona de avance se tornaron amarillo con borde rojizo. Con el aislamiento de *Fusarium* se observó el desarrollo de lesiones de color amarillo claro, con borde rojizo, en el caso de *Coprinopsis cinerea*, lesiones pálidas que avanzaron horizontalmente

sin presencia de halo. En inoculaciones realizadas con el hongo *Thielaviopsis paradoxa* se observaron lesiones necróticas con degradación completa del tejido. Con el microorganismo D (sin identificar), lesiones de color amarillo pálido de crecimiento irregular, con borde marrón. En las bases peciolares utilizadas como testigo, se presentaron lesiones ocasionadas por el daño mecánico causado por el punto de inoculación, sin avance de las mismas (Figura 11).

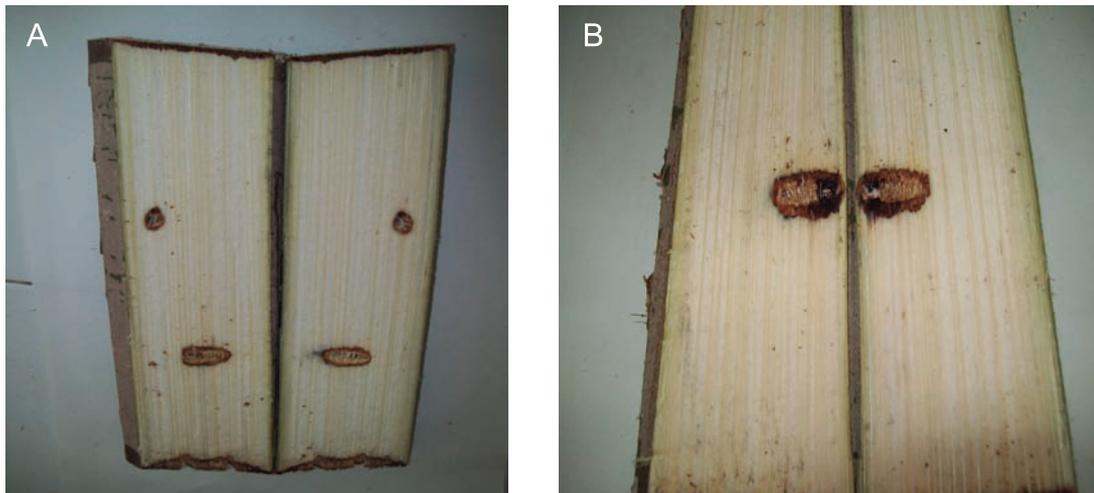
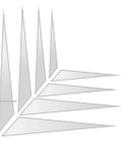


Figura 11. Daños mecánicos observados en las plantas no inoculadas con microorganismos. A. 20 días después de la inoculación. B. 30 días después de la inoculación.

La capacidad de *Thielaviopsis paradoxa* como colonizador de madera debe ser considerada en estudios posteriores, para prevenir la interferencia en la interpretación de resultados.

Aunque con los microorganismos inoculados se observaron lesiones necróticas en el tejido que avanzaron en el tiempo, con este trabajo no se logró determinar la asociación patogénica de los microorganismos aislados con la enfermedad Pudrición basal del estípite (PBE) en Indupalma Ltda. Por lo tanto, es conveniente verificar los síntomas con inoculaciones a nivel de plántulas y en tejidos de la base de la palma de aceite; con el fin de confirmar si coinciden con sintomatologías descritas en pruebas de patogenicidad para esta enfermedad, en la cual se ha observado degradación del tejido de color café con zonas de reacción de color amarillo, los cuales en algunos casos han permitido la expresión de síntomas aéreos como clorosis en hojas bajas seguidas del secamiento de las plantas (Khairudin *et al.*, 1991; Sariah *et al.*, 1994; Idris *et al.*, 2004, 2006; Rees, 2007a, b; Rees *et al.*, 2009; Nur *et al.*, 2008).

Como ha sido frecuente en la identificación de microorganismos posiblemente asociados con un problema patológico en particular, y en especial en el caso de la palma de aceite, serán necesarios nuevos estudios de patogenicidad,

que permitan dar más claridad sobre los resultados obtenidos y sobre el verdadero rol de cada uno de ellos en el desarrollo de la PBE en las plantaciones de palma de aceite en Colombia.

Conclusiones

Se identificaron síntomas externos e internos asociados con casos de la Pudrición basal del estípite de la palma de aceite, así como evidencias sobre la incidencia y severidad de cada uno de ellos.

Algunos de los síntomas internos y externos observados en este estudio coinciden con los descritos en la literatura para la Pudrición basal del estípite de la palma de aceite en los cuales la enfermedad se ha asociado con *Ganoderma boninense*, una de las más importantes en la palma de aceite y especialmente en el Sureste Asiático.

La proliferación de raíces adventicias y el desarrollo de cráter en la parte basal del estípite se identificaron como los síntomas característicos de la Pudrición basal del estípite más frecuentemente asociados con esta enfermedad.

La Pudrición basal del estípite está presente en Colombia y deber ser estudiada cuidadosamente para aclarar muchas de las dudas que se tienen desde los primeros estudios sobre ella y que persisten en esta investigación.

Agradecimientos

Los autores agradecen de manera especial al del Área de Fitopatología de Cenipalma, que contribuyó a la realización de este trabajo; al Ingeniero Daniel Pulido y a la Plantación Indupalma Ltda.

por su colaboración en el trabajo de campo; al Fondo de Fomento Palmero y al Centro de Investigación en Palma de Aceite, Cenipalma, por su apoyo en el desarrollo de esta investigación.



Referencias bibliográficas

- Barnett, H.L.; Hunter, B.B. 1998. Illustrated General Imperfect Fungi. The American Phytopathological Society. St Paul, Minnesota. USA. 218 p.
- Chinchilla, C.; Richardson, D.L. 1987. Four potentially destructive diseases of the oil palm in Central America. In: 1987 International Oil Palm/Oil Conference - Agriculture. Proceedings. PORIM, Kuala Lumpur. p. 468-470.
- Darus, A. 1995. Criterios para el control de la Pudrición basal del estipe de la palma de aceite. Palmas 16 (N° Especial): 219-225.
- Domsch, K.H.; Gams, W.; Anderson, T. 1980. Compendium of soil fungi. Acad. Press. London-New York-Toronto-Sydney-San Francisco. Press. Londres-Nueva York-Toronto-Sydney-San Francisco (1) p.859
- Franqueville, H. Breton, F. Miranti, R. Lubis, Z. Haynun, Z. Umi, S. Flori, A. Nelson, S.P.C. Durand-Gasselín, T.; Jacquemard, J.C. 2009. Implementation of an early artificial inoculation test to screen oil palm progenies for their level of resistance and hypothesis on natural infection. XVI International Oil Palm Conference and Expopalma. Cartagena, Colombia, septiembre 22 – 25 de 2009.
- Gurmit, S., 1990. *Ganoderma*. The scourge of oil palms in the coastal areas. PORIM *Ganoderma* Workshop. Bangi, Malaysia. p. 7–35
- Gurmit, 1995. Pudrición basal del estipe de palma de aceite en Malasia. Palmas 16 (N° Especial): 233 – 247
- Ho, Y.W.; Nawawi, A. 1985. *Ganoderma boninense* Pat. From basal stem rot of oil palm (*Elaeis guineensis*) in Peninsular Malaysia. Pertanika 8 (3): 425-428.
- Idris, A.S. 1999. Basal stem rot (BSR) of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) in Malaysia: factors associated with variation in disease severity. PhD. Thesis, Wye College, University of London, UK
- Idris, A.S.; Ariffin, D.; Swinburne, T.R., Watt, T.A. 2000. The Identity of *Ganoderma* Species Responsible for Basal Stem Rot Disease of Oil Palm in Malaysia-Pathogenicity Test MPOB TT N° 77b, p. 44.
- Idris, A.S.; Ismail, S.; Ariffin, D.; Ahmad, H. 2004. Prolonging the productive life of *Ganoderma* infected palms with Hexaconazole. Malaysia. MPOB TT No. 214, 4. Website: <http://mpob.gov.my>
- Idris, A.S.; Kushairi, D.; Ariffin, D.; Basri, M. W. 2006. Technique for inoculation of oil palm germinated seeds with *Ganoderma*. Malaysian Palm Oil Board, Ministry of Plantation Industries and Commodities, Malaysia. MPOB TT No. 314, 4. Website: <http://mpob.gov.my>
- Khairudin, H. 1993. Basal stem rot of oil palm caused by *Ganoderma boninense*: an update. PORIM Intl. Palm Oil Congress. Update and vision. Malaysia p. 1 - 29
- Khairudin, H.; Lim, T.K.; Abdul Razak, A.R. 1991. Pathogenicity of *Ganoderma boninense* Pat. On oil palm seedlings. Proceedings of the 1991 PORIM International Congress (Agriculture). Kuala Lumpur, Malaysia: Palm Oil Research Institute of Malaysia, p. 418–423.
- Meon, S. 2005. Potencial del manejo biológico de la Pudrición basal del tallo en palma de aceite: Problemas, retos y restricciones. Palmas 26 (1):49-54.
- Nelson, P. E.; Toussoun, T.A.; Marasas W.F.O. 1927. Fusarium species, An Illustrated Manual for Identification. The Pennsylvania State University Press, University Park and London. p. 192.
- Nieto, L. 1994. Pudrición basal del tallo de palma de aceite (*Elaeis guineensis* Jacq) causada por *Ganoderma*. Palmas 15 (2): 31 – 38
- Nieto, L. 1995. Incidencia de pudriciones de estípites de la palma de aceite (*Elaeis guineensis* Jacq) en Colombia. Palmas 16 (N° especial): 227 – 232
- Nur Ain Izzati, M.Z.; Abdull, A.H.F. 2008 Disease suppression in *Ganoderma*-infected oil palm seedlings treated with *Trichoderma harzianum*. Plant Protec. Sci., 44: 101–107.
- Pulido, D.; Mestizo, Y.; Bandera, G.; Aya, H.; Sarria, G.; Varón, F.; Martínez, G. 2011. La Pudrición basal del estípites en palma de aceite en Indupalma Ltda. En: X Reunión Técnica Nacional de Palma de Aceite. Bogotá, Septiembre 21 al 23 de 2011.
- Rees, R.W.; Flood, J.; Hasan,; Cooper, R.M. 2007(a). Low soil temperature and root-inoculum contact enhance *Ganoderma* infection of oil palm; implications for late disease appearance in plantations and screening for disease resistance. Plant Pathology 56: 862-870

De Palmo A Palma

- Rees, R.W.; Flood, J.; Hasan,.; Cooper, R.M. 2007(b). Effects of inoculum potential, shading and soil temperature on root infection of oil palm seedlings by the basal stem rot pathogen *Ganoderma boninense*. Plant pathology. [Disponible en: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-3059.2007.01621.x/pdf>]; (Consultado: 22 Marzo de 2012).
- Rees, R.W.; Flood, J.; Hasan, Potter, U.; Cooper, R.M. 2009. Basal stem rot of oil Palm (*Eleais guineensis*); mode of root infection and lower stem invasion by *Ganoderma boninense*. Plant Pathology 58: 982 - 989
- Restrepo, A.M.; Sarria, G.; Gómez, J.; Aya, H.; Martínez, G.; Varón, F.; Torres, G.; Pineda, B. 2009. Organismos fúngicos asociados a la pudrición de estípite en palma de aceite en la Zona Central colombiana. XIX Congreso de Fitopatología Colombiana. Medellín. Junio 2009.
- Rocha, P. J. 2007. Sanidad de la palma de aceite: Diagnóstico e investigación integral liderada por el gremio palmero colombiano. Palmas 28 (2): 87 – 98
- Rodríguez, P. 2001. Estudios fitopatológicos sobre pudrición de estipe en palma africana de aceite. Hongos basidiomicetos. Tesis Universidad Nacional de Colombia sede Medellín. 82 p.
- Sánchez, P.A. 1986. Principales enfermedades de la palma africana en Colombia. En: Simposio Latinoamericano de Palma Africana. CEPLAC-EMBRAPA. Sao Paulo. Brasil, p. 81-112.
- Sánchez, P. A. 1990. Enfermedades de la Palma de aceite en América Latina. Palmas 11 (4): 5 - 7
- Sanderson, F.R.; Pilotti, C.A.; Bridge. P.D. 2000. Basidiospores: their influence on our thinking regarding a control strategy for basal steam rot of oil palm. *Ganoderma Diseases of Perennial Crops* (Eds. J. Flood, P.D. Bridge and M. Holderness.) p. 113-119
- Sariah, M.; Hussin, M.Z.; Miller, R.N.G.; Holderness, M. 1994. Pathogenicity of *Ganoderma boninense* tested by inoculation of oil palm seedlings. Plant Pathology 43: 507–10.
- Susanto, A. 2009. Basal stem root in Indonesia-Biology, Economic, Importance, Epidemiology, detection and control. International workshop on Awareness, detection and Control of Oil palm devastation disease P2: p. 1-25
- Tovar, J.P.; Nieto, L.E. 1998. Caracterización de las principales pudriciones de estípite de la palma de aceite (*Eleais guineensis* Jacq), en la Zona Norte de Colombia. Palmas 19 (2): 45 - 52.
- Turner P.D. 1981. Oil palm diseases and disorders. Oxford University Press, Kuala Lumpur. 280p.
- Turner, P.D.; Gillbanks, R.A. 2003. Oil palm cultivation and management 2nd edition. The incorporated society of planters, Kuala Lumpur, 915p.
- Viridiana, I.; Flood, J.; Hasan, Y.; Aditya, R. 2010. Testing the effects of oil palm replanting practices (windrowing, fallowing and poisoning) on incidence of *Ganoderma*. International Oil Palm Conference: 1-7.



Hace más de 60 años un cultivo se abría paso entre nuestra tierra colombiana. Y hoy, gracias a un trabajo continuo y conjunto entre los palmicultores y nuestros sistemas de riego, vemos prósperos resultados.

Agua trabajando para usted



Sede Principal

Calle 70 Norte N° 2B - 166
Cali - Colombia
T. (+57 2) 664 42 05 / 09
F. (+57 2) 665 56 26

www.colpozos.com

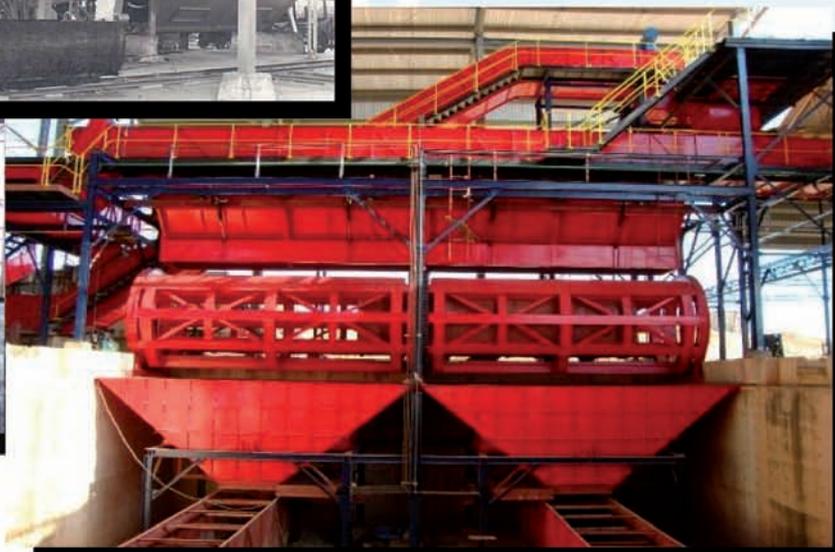
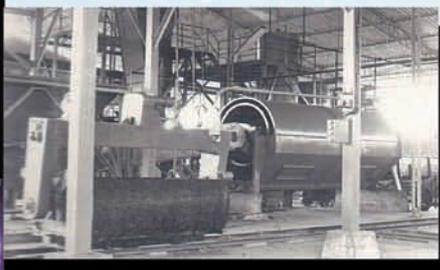


CONSULTECNICA S.A.

52 AÑOS AL SERVICIO DE LA AGROINDUSTRIA
DE LA PALMA EN LATINOAMÉRICA



Diseño, Fabricación y Montaje
de Plantas Extractoras de
Aceite de Palma



Bombas Centrifugas
Equipos para Esterilización Continua, convencional, compacta, vertical
Equipos para Plantas de Biodiésel
Tanques para Transformadores de Alta Potencia

Carrera 82B No 54A - 03 Sur
PBX: (57-1) 7841024 - FAX: (57-1) 7847035
CEL. 3153362134
email: consultecnica@consultecnica.com.co
www.consultecnica.com.co
Bogotá D.C. - Colombia

