

Avances en la investigación sobre las dos enfermedades más importantes en la palma de aceite en Colombia: la Pudrición del cogollo y la Marchitez letal

Advances in the Research of the Two Most Important Diseases on Oil Palm in Colombia: Bud Rot and Lethal Wilt

Autores

Gerardo Martínez*
gerardo.martinez@cenipalma.org
Mauricio Arango*
Gabriel Torres*
Greicy Sarria*
Diana Vélez*
Jessica Rodríguez*
Yury Mestizo*
Héctor Aya*
Cristian Noreña*
Francia Varón*
Andre Drenth**
David Guest***

*Programa de Plagas y Enfermedades, Centro de Investigación en Palma de Aceite, Cenipalma

** Universidad de Queensland, Brisbane, Australia

***Universidad de Sídney, Sídney, Australia.

Palabras CLAVE

Phytophthora palmivora, Haplaxius (Myndus) crudus, pruebas de patogenicidad.
Phytophthora palmivora, Haplaxius (Myndus) crudus, pathogenicity tests.

Traducción de la ponencia presentada durante el PIPOC 2011.

Recibido: marzo 6 de 2012
Aprobado: julio 21 de 2013

Resumen

La Pudrición del cogollo y la Marchitez letal son las dos principales enfermedades que se presentan en la palma de aceite en Colombia. La primera es causada por *Phytophthora palmivora* y ha destruido varias plantaciones desde 1964, cuando se registró por primera vez, y últimamente ha atacado más de 30.000 hectáreas en el suroccidente de Colombia y más de 30.000 en la Zona Central. La Marchitez letal provocó la destrucción de más de 2.000 hectáreas en la plantación Risaralda entre 1965-1975, y desde 1994 de casi mil hectáreas en el Bajo Upía, en la región Oriental. La infección de la Pudrición del cogollo ocurre en el tejido joven de folíolos inmaduros y las lesiones se observan días después, cuando los tejidos afectados quedan expuestos al ambiente exterior. Está presente en todos los estados de desarrollo de las palmas, desde el vivero hasta el fin de su ciclo de producción. La Marchitez letal solamente se observa una vez las palmas alcanzan su etapa fructífera. En este caso, existen evidencias de que un insecto chupador está involucrado en el proceso de transmisión del agente que provoca la enfermedad, y que los pastos que crecen bajo las palmas juegan un rol importante en el desarrollo de la epidemia, ya que son hospederos de los estados inmaduros del insecto. En el presente estudio mostramos los avances recientes en la investigación de estas dos enfermedades. En la Pudrición del cogollo fue posible utilizar una prueba *in vitro* con folíolos muy jóvenes para identificar las diferencias de susceptibilidad en varios estados de desarrollo, establecer el tiempo de desarrollo para los primeros



síntomas, observar el proceso de infección bajo el microscopio, determinar la producción de las estructuras y las diferencias en susceptibilidad a la infección en varios materiales o en los folíolos recolectados de palmas con diferentes tratamientos químicos, confirmar el rol de *Phytophthora palmivora* en la producción de la enfermedad y desarrollar un procedimiento promisorio para el tamizaje de materiales y moléculas resistentes para el control de este patógeno. Con la Marchitez letal, se evaluó el *Cixiidae Haplaxius crudus* van Duzee para las pruebas de transmisión, debido a sus antecedentes como vector de enfermedades en palmas de aceite y coco. Los resultados mostraron que fue posible transmitir el agente causante de la Marchitez letal con un tiempo de adquisición promedio de 2,7 días, un tiempo promedio de incubación en el insecto de 11 días y un tiempo promedio de inoculación de 2,6 días. Hubo 21% de transmisión en palmas expuestas a la enfermedad con insectos alimentados previamente en palmas enfermas y sólo 6% en los controles expuestos a insectos alimentados previamente en palmas sanas. Los últimos casos de transmisión se pueden explicar por las condiciones experimentales usadas. Hubo un periodo de incubación de 167 días para el patógeno en las palmas. Estos resultados confirmaron el rol de *Haplaxius crudus* en la transmisión del agente causante de la Marchitez letal en Colombia y ofrece nuevas oportunidades para seguir con la identificación del agente responsable de la enfermedad.

Abstract

The two most important diseases on oil palm in Colombia are bud rot and lethal wilt. The first one, caused by *Phytophthora palmivora* has destroyed several plantations since 1964 when the first cases were registered and lately wiped out more than 30.000 hectares on South-West Colombia and more than 30.000 in the Central Zone. Lethal wilt caused the destruction of more than 2000 hectares in Oleaginosas Risaralda in the decade 1965-1975, and since 1994 near one thousand hectares in Bajo Upia in the East Zone. Bud rot infection takes place in the very young tissue of immature spear leaves and the lesions are observed a few days later, when the affected tissues are exposed to the outside environment. It is present in all stages of development of the palms, since the nursery until the end of its production cycle. Lethal wilt is only observed once the palms reach their bearing stage. In this case there are evidences that a sucking insect is involved in the dissemination process of the causal agent of the disease and that grasses growing below the oil palms are playing an important role in the development of epidemics, because they are hosts for the immature stages of the insect. In this study we are presenting the recent advances in the research with these two diseases. With bud rot it was possible to use an in vitro test, using very young leaflets, to identify the differences in susceptibility in several stages of development, to establish the time for development of the first symptoms, to observe the infection process under the microscope, to determine the production of structures and differences in susceptibility to infection of several materials or on leaflets collected from palms with different chemical treatments, confirming the role of *Phytophthora palmivora* in the production of the disease and developing a promising procedure for screening of resistant materials and molecules for the control of this pathogen. With lethal wilt the *Cixiidae Haplaxius crudus* van Duzee, was selected for transmission tests because its antecedents as vector of diseases in oil and coconut palms. The results indicated that it was possible to transmit the causal agent of lethal wilt, with an average feeding acquisition time of 2.7 days, an average incubation time in the insect of more than 11 days and an average inoculation time of 2.6 days. There was 21% of transmission with insects exposed to disease palms and 6% in the controls. The latter cases of transmission can be explained by the experimental conditions used. There was an incubation period of the pathogen in the palms of 167 days. These results confirmed the role of *Haplaxius crudus* in the transmission of the causal agent of lethal wilt in Colombia and it gives new opportunities to proceed with the identification of the disease causal agent.



Introducción

Se identificó a *Phytophthora palmivora* como el agente causante de la Pudrición del cogollo (PC), la enfermedad más grave de la palma de aceite en Colombia y los países vecinos. Es responsable de la destrucción de al menos 60.000 hectáreas en la última década (Martínez, 2009 a, b, 2010; Martínez *et al.*, 2010; Rodríguez *et al.*, 2010; Sarría *et al.*, 2008 a, b; Torres *et al.*, 2010; Vélez *et al.*, 2008). Martínez *et al.*, (2010) describieron el proceso infeccioso del patógeno en folíolos inmaduros *in vitro* y registraron que el patógeno puede cumplir su ciclo reproductivo en un periodo de 24-48 horas después de la inoculación; además observaron el enquistamiento, la germinación, penetración y colonización al igual que la producción del micelio, las clamidosporas, esporangios y liberación de zoosporas para iniciar un nuevo proceso de infección. Como resultado de las observaciones en este trabajo se mejoró el procedimiento de inoculación *in vitro* para su uso en la mejor comprensión de las interacciones planta-patógeno.

Por su parte, la Marchitez letal en la palma de aceite es una enfermedad importante en Colombia. Causó la pérdida de aproximadamente 1.000 hectáreas en los últimos 10 años en el Bajo Úpía (Arango *et al.*, 2010) y más de 2.000 hectáreas entre 1965 y 1975 en Oleaginosas Risaralda. Mena *et al.* (1975) y Arango *et al.* (2011) controlaron esta enfermedad con aplicaciones de insecticidas en las palmas y control de malezas. Mena y Martínez (1977) identificaron al *Cixiidae Haplaxius pallidus* como el vector de la Marchitez sorpresiva (hoy Marchitez letal) observada en Oleaginosas Risaralda en Norte de Santander. Este insecto también se ha registrado como el vector del Amarillamiento letal del cocotero (Howard *et al.*, 1983; Howard y Gallo, 2006).

La enfermedad se ha asociado con la presencia de gramíneas en las plantaciones, ya que éstas son hospederas alternas del insecto que se alimenta de sus raíces en los estados inmaduros. Arango *et al.*, (2011) registraron que

Paspalum virgatum L. es una de las especies más favorables para su desarrollo. Los primeros síntomas de la enfermedad aparecen una vez las palmas logran su estado reproductivo, más o menos tres años después de plantadas en el campo, y se caracteriza por la pudrición de inflorescencias y racimos inmaduros y la marchitez de los folíolos que comienza desde las hojas inferiores, desde la punta de ellas hacia la base, lo que eventualmente afectará toda la palma. En el presente estudio se identificó el rol del *Cixiidae Haplaxius crudus* van Duzee en la diseminación del agente causante de la Marchitez letal en las palmas de aceite colombianas.

Materiales y métodos

La Pudrición del cogollo

Para las pruebas de inoculación *in vitro* realizadas en el laboratorio de Fitopatología en el Campo Experimental Palmar de la Vizcaína, se cosecharon cogollos de palmas jóvenes sin síntomas de la enfermedad y se almacenaron a baja temperatura durante el tiempo requerido para que llegaran a las instalaciones del laboratorio, donde se utilizaron como fuente de tejidos. Se hizo disección en las hojas lanceoladas jóvenes y tiernas bajo una cámara de flujo laminar para aislar, bajo condiciones asépticas, los folíolos inmaduros que se preservaron en una cámara húmeda. El inóculo para los ensayos se obtuvo a partir de cultivos de *P. palmivora* con ocho días de edad y presencia de esporangios. Para provocar la liberación de las zoosporas, se adicionó agua destilada fría y las placas Petri se almacenaron durante 20 minutos en condiciones de oscuridad; posteriormente se recogieron las zoosporas y se calculó la concentración en una cámara Neubauer.

Para la inoculación de las zoosporas en la concentración seleccionada (20.000 a 30.000 zoosporas/ml) se utilizó una micropipeta para aplicar 20 o 30 μ l en el centro del folíolo preparado para tal fin, y en algunos casos en tres

sitios del folíolo. Luego se sellaron las cámaras húmedas y se incubaron a 25°C. Se midió el tamaño de la lesión cada 24 y 96 horas después de la inoculación se realizó una observación al microscopio a fin de establecer el número de clamidosporas y esporangios en el centro de la gota utilizada para la inoculación y en tres campos microscópicos radiales a partir de ésta.

Se estudiaron las diferencias en susceptibilidad a la infección en la parte superior e inferior del folíolo, el efecto de la edad de los folíolos sobre el desarrollo de las lesiones, el efecto de la concentración del inóculo y el tamaño de la gota utilizada para la inoculación.

La Marchitez letal

La investigación de la Marchitez letal se realizó en Palmar de Oriente S.A., ubicado en el Bajo Úpía, Zona Oriental de Colombia. Se utilizaron palmas Compacta x Nigeria de cinco años de edad, sembradas a 4,5m x 4,5m. Tres meses antes del inicio del experimento las plantas recibieron, cada 20 días, insecticida en aspersión para reducir el riesgo de infecciones no deseadas (Arango et al., 2011; Sierra et al., 2011). Las aplicaciones se interrumpieron durante tres meses para el periodo de inoculación y se reinició después de este.

Para el establecimiento de las colonias de cría, se plantaron esquejes de *Paspalum virgatum* L. en bandejas plásticas de ocho litros; luego se cubrieron con una malla a prueba de insectos con medidas de 68x29x20 cm y 10 días después se introdujeron *H. crudus* inmaduros recolectados en el campo (Figura 1a), para dejar que se alimentaran y completaran su estado de desarrollo en su sistema de raíces. Se utilizaron adultos jóvenes para las pruebas de transmisión (Figura 1b).

Grupos de 10 insectos se introdujeron en jaulas plásticas, las cuales se instalaron en las palmas con síntomas visibles de la Marchitez letal en periodos de adquisición de al menos 24 horas. Se siguió un procedimiento similar con

los insectos utilizados como control, pero estos se alimentaron de palmas saludables y sin síntomas de la ML. Posteriormente se transfirieron a las plantas de *P. virgatum* para permitir un periodo de incubación de cinco días del patógeno en el insecto, antes de iniciar la inoculación de las palmas saludables en el campo. El periodo de inoculación fue de al menos 24 horas en cada palma. Los insectos sobrevivientes se transfirieron a una nueva palma cada 24 horas (Figura 2). Se evaluaron las palmas inoculadas cada dos semanas durante los primeros cuatro meses y cada semana después de ese periodo. Además, se estimó la tasa del desarrollo de la enfermedad (r) con la ecuación citado por Laurence et al., (2008):

$$r = \frac{2,30}{(T_1 - T_0)} \left(\text{Log}_{10} \frac{Y_1}{(1 - Y_1)} - \text{Log}_{10} \frac{Y_0}{(1 - Y_0)} \right)$$



Figura 1. a. *Haplaxius crudus* inmaduros (Fotografía M. Arango). b. *H. crudus* adulto (Fotografía B. Pineda).

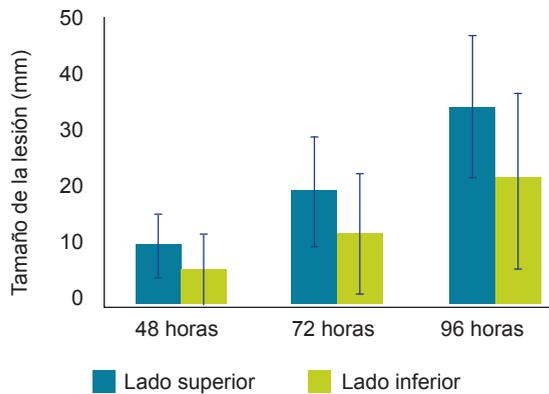


Figura 2. Tamaño promedio de lesión en inoculaciones en el lado superior o inferior.

Resultados y discusión

La Pudrición del cogollo

Hubo diferencias significativas entre el número de folíolos que desarrollaron síntomas cuando se inocularon en el lado superior 17/18 y cuando se inocularon en el lado inferior 10/18; también en el tamaño de las lesiones, el cual fue mayor en las inoculaciones en el lado superior (Figura 2). También hubo diferencias en el tamaño de las lesiones a 48, 72 y 96 horas posteriores a la inoculación, en las que los seis folíolos más externos (F1- F6) fueron más susceptibles, seguidos por el segundo grupo de seis (F7 – F12) y los menos susceptibles fueron los interiores (F13 – F18) (Figura 3).

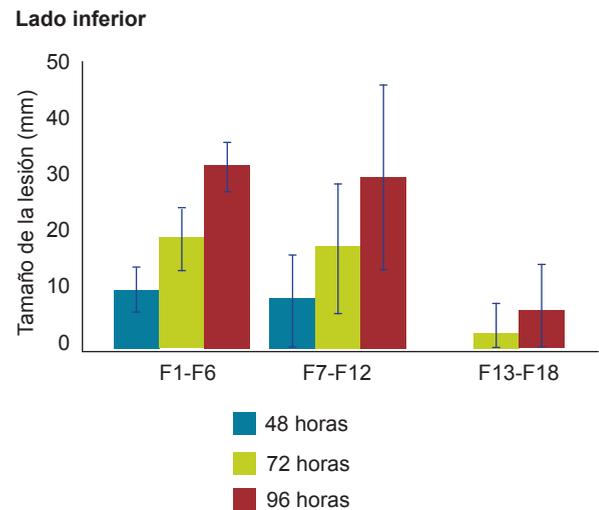
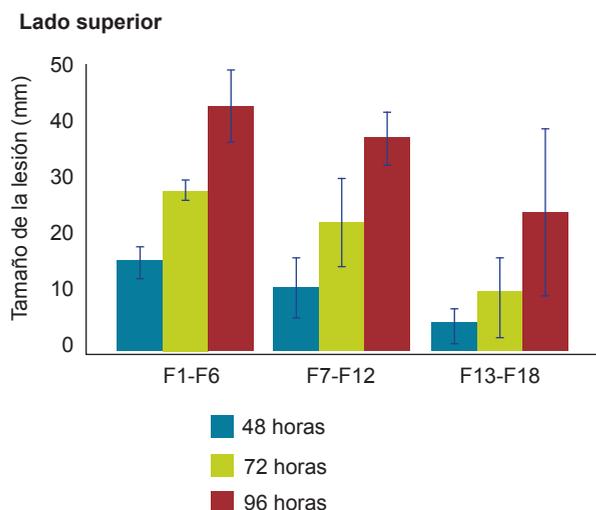


Figura 3. Tamaño promedio de la lesión en inoculaciones en el lado superior o en el inferior, dependiendo de la posición de los folíolos en la hoja lanceolada. Los folíolos del exterior fueron más susceptibles.

El número de estructuras (esporangios y clamidosporas) en el área de avance en la lesión a partir del sitio inoculado mostró diferencias importantes dependiendo de si se hacía en el lado superior o en el inferior. El número promedio de estructuras fue de 56 por campo microscópico en el primer anillo superior y 27 en el inferior. En los siguientes anillos no hubo grandes diferencias ya que el número de estructuras fue muy bajo (Figura 4).

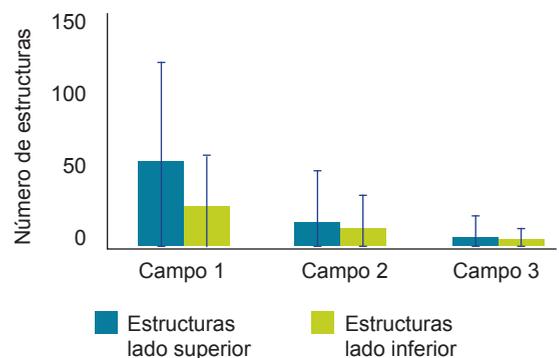


Figura 4. Número promedio de estructuras (esporangios y clamidosporas) en inoculaciones sobre el lado superior o el lado inferior.

En la evaluación del número de estructuras (esporangios y clamidosporas) en los fo-

líolos inoculados en la base, en la parte media o cerca del extremo apical, se confirmó que la parte más susceptible fue el tejido más joven en la base del folíolo; hubo una situación intermedia en la parte media y el número de estructuras fue muy bajo cerca de la

punta apical. Esto se observó en el material *Elaeis guineensis* y en menor número, pero siguiendo el mismo patrón, en los híbridos de la *Elaeis oleifera* x *E. guineensis* (OxG), con mayor resistencia a la infección por parte de *P. palmivora* (Figura 5).

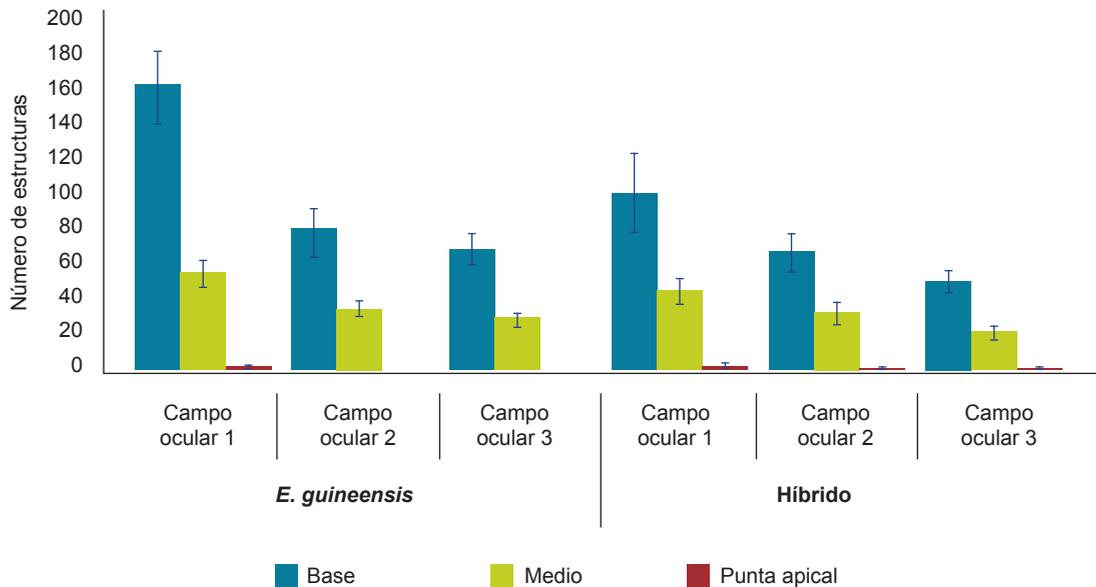


Figura 5. Diferencias en el número de estructuras en los folíolos de la *E. guineensis* o del híbrido OxG inoculados en la base, la parte media o cerca de la punta apical, 72 horas después de la inoculación.

Se observaron resultados similares en la apariencia macroscópica y en el desarrollo de las lesiones 48 y 96 horas después de la inoculación (Figuras 6 y 7). Las lesiones presentaron una apariencia húmeda en las áreas en las que el patógeno se desarrolló, y fueron muy secas en las áreas en las que el número de estructuras fue más limitado. De nuevo, hubo diferen-

cias claras entre la respuesta de los materiales *guineensis*, más susceptibles a la Pudrición del cogollo, cuando se compararon con el híbrido OxG, que tiene más resistencia al agente causante de la enfermedad. La prueba parece ser una herramienta importante para la evaluación de materiales con diferentes grados de resistencia a *P. palmivora*.

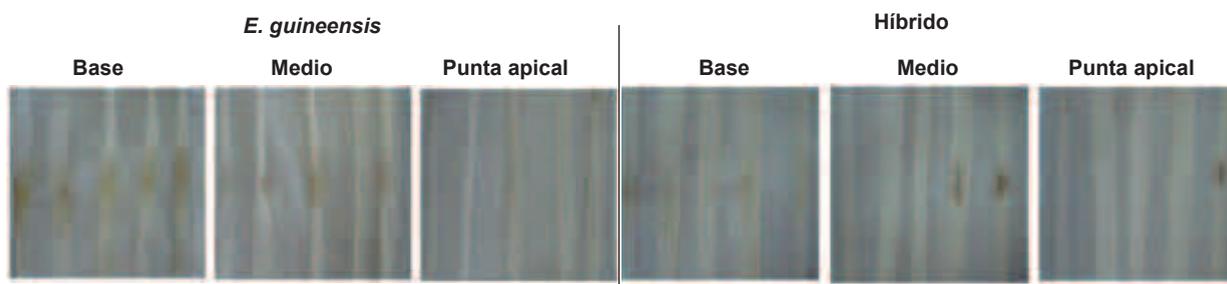


Figura 6. Apariencia y frecuencia de folíolos de *E. guineensis* y del híbrido OxG afectados 48h después de la inoculación con *P. palmivora*.

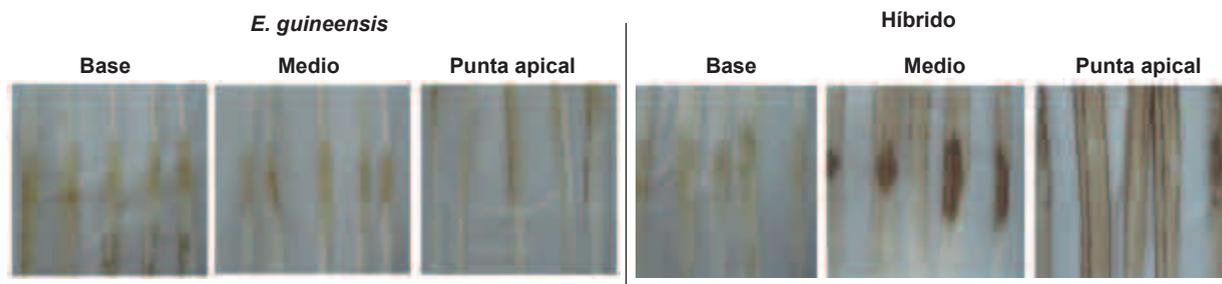


Figura 7. Apariencia de los folíolos de *E. guineensis* y el híbrido OxG 96 h después de la inoculación con *P. palmivora*.

La Marchitez letal

La Figura 8 describe el proceso de inoculación. Los síntomas de la Marchitez letal se desarrollaron en 21% de las palmas inoculadas con insectos expuestos a palmas enfermas y en 6% de los controles. El periodo de inoculación del patógeno en las palmas fue de 5,6 meses, similar al periodo de

incubación reportado por Mena y Martínez (1977). El periodo de incubación en la palma tuvo un máximo de 7,8 meses y un mínimo de 3,5 con un promedio de 167 días. Los casos positivos en las palmas de control se asociaron con el escape de insectos inoculadores de jaulas que fueron dañadas por roedores. Todos los casos positivos en el control fueron cercanos a las palmas inoculadas.

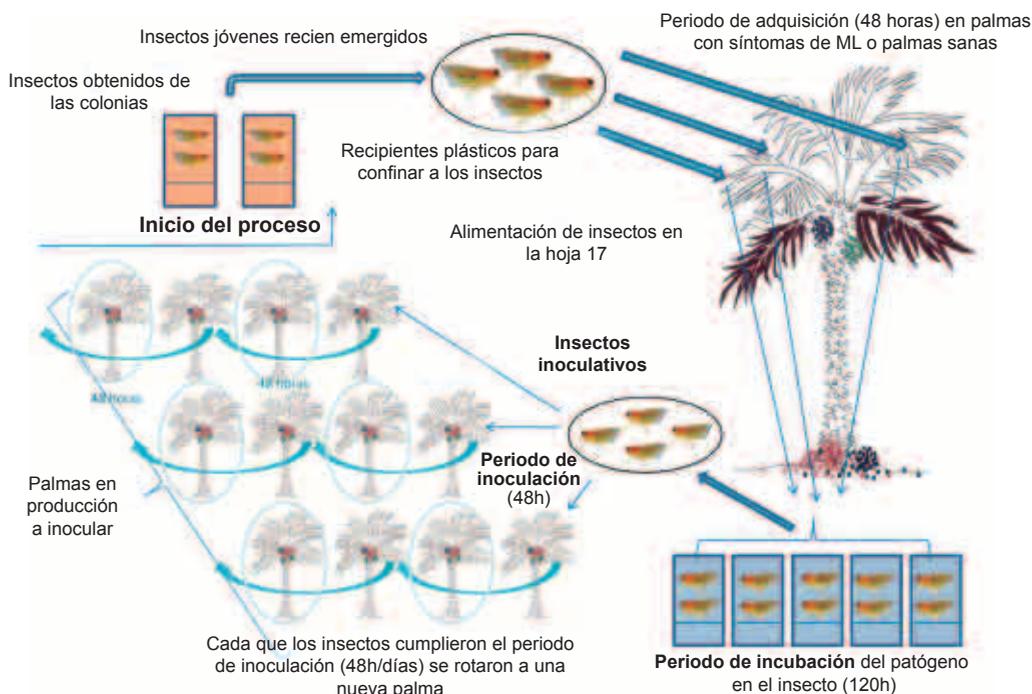


Figura 8. Proceso de inoculación: adquisición, incubación en el insecto e inoculación en las palmas saludables.

La tasa de desarrollo de la enfermedad (r) en el área donde se localizó la parcela experimental tuvo un promedio de 0,0006 unidades mes^{-1} en

las cuatro parcelas, alrededor de las palmas inoculadas, durante los 12,5 meses de la prueba. Esta tasa de desarrollo alcanzó un valor de 0,795

en la parcela de palmas inoculadas con insectos expuestos a palmas enfermas a los cinco meses; y de 0,003 en las palmas inoculadas con insectos expuestos en palmas sanas, para un valor en la

zona experimental de 0,575 (Figura 9). Estos valores muestran claramente el papel del *Haplaxius crudus* en la transmisión del agente causante de la Marchitez letal.

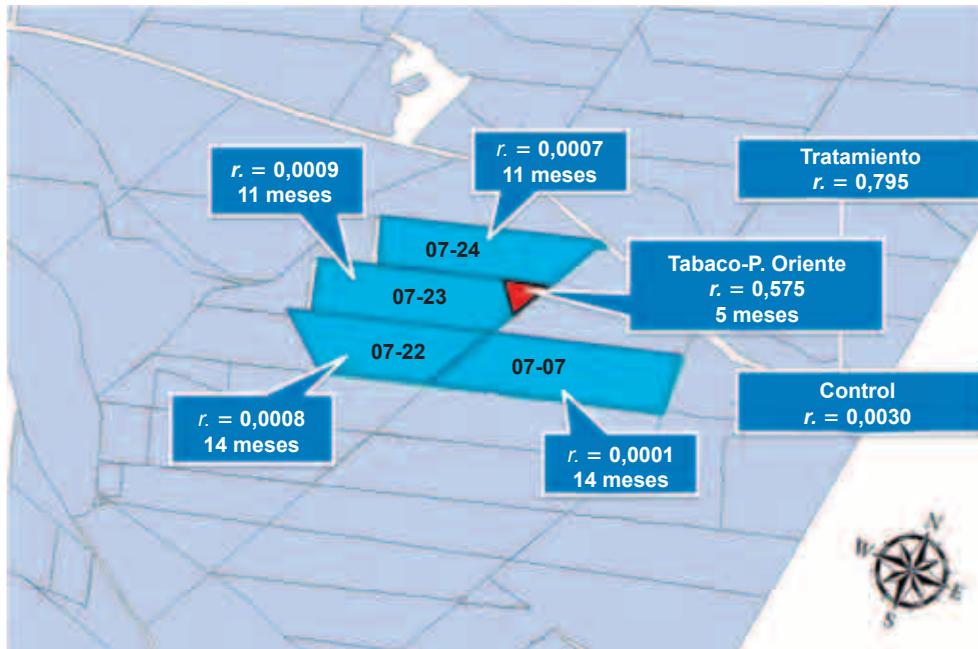


Figura 9. Tasa de desarrollo de la enfermedad (r) para la Marchitez letal en la parcela experimental y en las circundantes.

Conclusiones

La Pudrición del cogollo

Se observó el desarrollo de *Phytophthora palmivora* en un sistema *in vitro*, en el que fue posible ver diferencias dependiendo del estado de madurez y la susceptibilidad genética de los materiales; fue posible determinar el estado de susceptibilidad del material a inocular, el sitio de la inoculación y el lado del folíolo que presenta mayor susceptibilidad.

Se confirmó el rol de *Phytophthora palmivora* en la producción de la enfermedad.

Se está desarrollando un procedimiento promisorio para el estudio del proceso de *Phytophthora palmivora* en un tamizaje de materiales resistentes y de moléculas para el control de este patógeno.

La Marchitez letal

Se demostró que el vector de la Marchitez letal en la palma de aceite en el Bajo Úpía es el *Cixiidae Haplaxius crudus*.

El periodo de incubación del agente causante de la Marchitez letal en la palma de aceite tiene un promedio de 5,6 meses.

La tasa de desarrollo de la enfermedad (r) en las palmas inoculadas, las de control y las de las parcelas vecinas fue de 0,795, 0,003 y 0,0006, respectivamente.

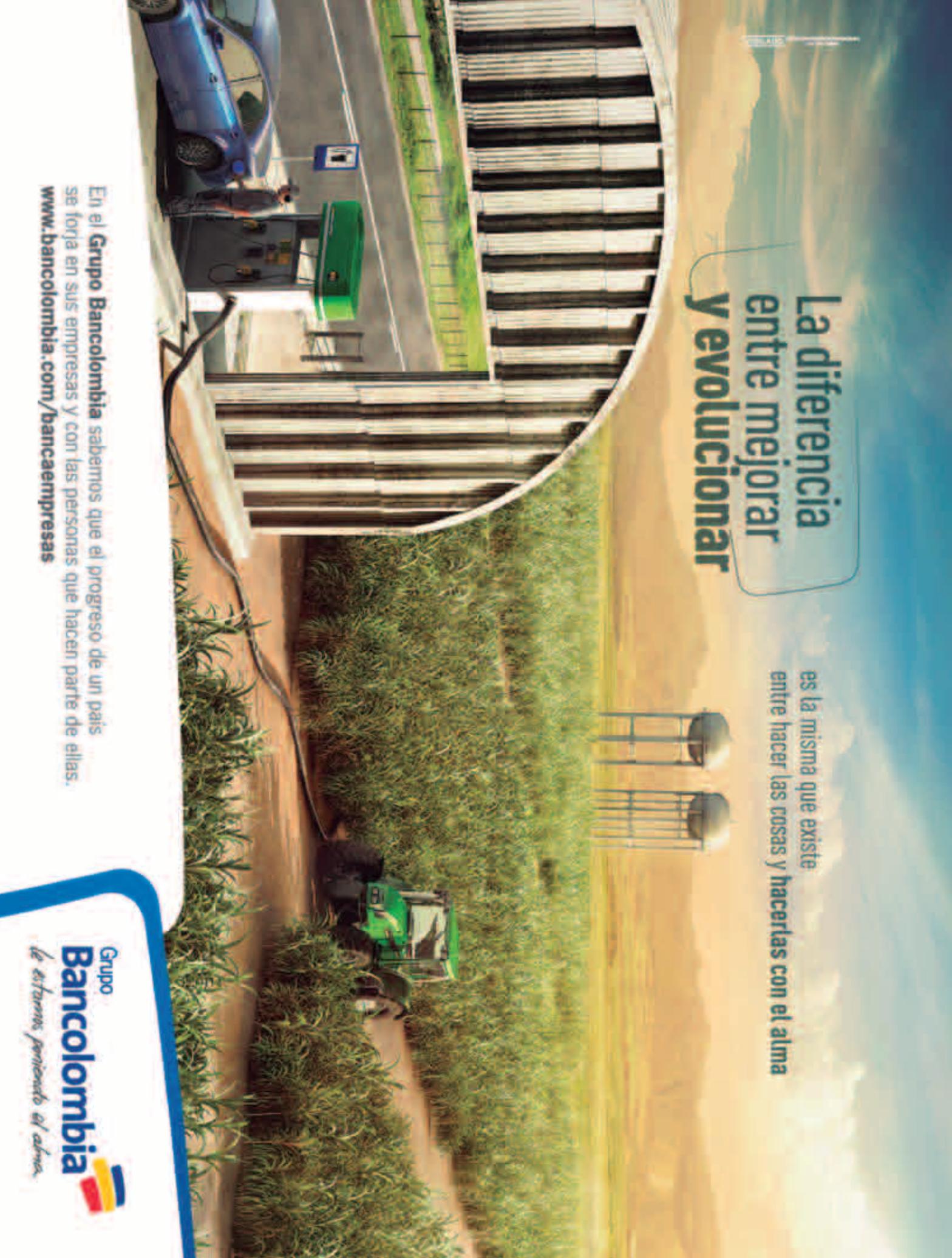
Bajo las condiciones de este experimento se observó que las hembras de *H. crudus* fueron vectores más eficientes que los machos.

Solamente uno de 36 insectos expuestos a las palmas infectadas fue capaz de transmitir el agente causal de la Marchitez letal de la palma de aceite en todas las palmas en las cuales tuvo la oportunidad de alimentarse.



Referencias

- Arango, M.; Ospina, M.; Sierra, L. J.; Martínez, G. (2011) *Myndus crudus*: vector del agente causante de la Marchitez letal en palma de aceite en Colombia. *Palmas* 32(2):13-26.
- Arango, M.; Sierra, L. J.; Aldana, R.; Martínez, G. (2011). Efecto de la aplicación de insecticidas y herbicidas en el desarrollo de la Marchitez letal (ML) de la palma de aceite en el Bajo Upía, Casanare, Colombia. *Palmas* 32 (1):11-24.
- Drenth, A.; Sendall, B. (2001) *Practical guide to detection and identification of Phytophthora*. CRC for Tropical Plant Protection, Brisbane, Australia. 41 p.
- Laurence, U.V. (2008). *Study of plant disease epidemics*. American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota. p. 80.
- Martínez, G. (2009a). Bud rot, sudden wilt, Red ring, and Lethal wilt in oil palm in America. In: *International Workshop on Awareness, detection and control of oil palm devastating diseases*. November 6. Kuala Lumpur, Malaysia.
- Martínez, G. (2009b) Identificación temprana y manejo integrado de la Pudrición del cogollo. *Palmas*, Colombia 30 (2):63-77.
- Martínez, G.; Rodríguez J.; Vélez, D.C.; Mestizo, Y.A.; Aya, H.A.; Noreña, C.A.; Varón, F. (2010) Proceso de infección de *Phytophthora palmivora* en palma de aceite. En: *Colombia. IX Reunión Técnica Nacional de la Palma de Aceite*. Bogotá.
- Mena, E.; Cardona, C.; Martínez, G.; Jiménez, O.D. (1975). Efecto del uso de insecticidas y control de malezas en la incidencia de la Marchitez sorpresiva de la palma africana (*Elaeis guineensis*, Jacq.). *Revista Colombiana de Entomología* 1 (1): 9-14.
- Mena, E.; Martínez, G. (1977). Identificación del insecto vector de la marchitez sorpresiva de la palma africana *Elaeis guineensis*, Jacq. *Revista Fitopatología Colombiana* 6 (1):2-14.
- Rodríguez, J.; Vélez, D.; Sarria, G.A.; Torres, G.A.; Noreña, C.A.; Navia, M.; Romero, H.M.; Varón, F.; Martínez, G. (2009). Identificación morfológica, molecular y patogénica de microorganismos asociados a la Pudrición del cogollo de la palma de aceite en Colombia. *Fitopatología Colombiana* 33 (2):49-56.
- Sarria, G.A.; Torres, G.A.; Aya, H.A.; Ariza, J.G.; Rodríguez, J.; Vélez, D.C.; Varón, F.; Martínez, G. (2008a) Microorganismos asociados a la Pudrición del cogollo (PC) de la palma de aceite en Colombia. *Palmas* 29 (3):19-30
- Sarria, G.A.; Torres, G.A.; Aya, H.A.; Ariza, J.G.; Rodríguez, J.; Vélez, D.C.; Varón, F.; Martínez, G. (2008b). *Phytophthora* sp., es el responsable de las lesiones iniciales de la Pudrición del cogollo (PC) de la palma de aceite en Colombia. *Palmas* 29 (3):31-41.
- Sierra, L.J.; Arango, M.; Aldana, R.; Martínez, G. 2011. Evaluación de la dosis comercial de insecticidas para el control de adultos de *Myndus crudus* (Hemiptera: Cixiidae) posible vector de la Marchitez letal de la palma de aceite en el Bajo Upía, Casanare, Colombia. *Palmas* 32 (1):25-32.
- Torres, G.A.; Sarria, G.A.; Varón, F.; Coffey, M.; Elliott, M.; Martínez, G. (2010). First report of bud rot caused by *Phytophthora palmivora* on African oil palm (*Elaeis guineensis*), in Colombia. *Plant Disease* 94(9):1163.
- Vélez, D.C.; Noreña, C.; Sarria, G.A.; Torres, G.A.; Varón, F.; Martínez, G. (2008). Evaluación y cuantificación de estructuras de *Phytophthora palmivora* el responsable de la Pudrición del cogollo (PC) de la palma de aceite. *Fitopatología Colombiana* 32 (2):45-50.



La diferencia
entre mejorar
y evolucionar

es la misma que existe
entre hacer las cosas y hacerlas con el alma

En el **Grupo Bancolombia** sabemos que el progreso de un país
se forja en sus empresas y con las personas que hacen parte de ellas.
www.bancolombia.com/bancaempresas

Grupo
Bancolombia
Le estamos poniendo el alma.