

Síntomas e identificación del agente causal del complejo Pudrición de Cogollo de la palma de aceite, *Elaeis guineensis* Jacq.

*Symptoms and identification of the casual agent of bud rot complex in oil palm, *Elaeis guineensis* Jacq.*

Luis EDUARDO NIETO PAEZ.*

RESUMEN

Para la revisión externa del proyecto complejo Pudrición de Cogollo de la palma de aceite, se presentaron los resultados de las investigaciones que Cenipalma había desarrollado en búsqueda de la caracterización e identificación del agente causal de la enfermedad. En el experimento de caracterización de los síntomas típicos, se destacó que la enfermedad no era de carácter letal y que el amarillamiento de las hojas jóvenes disminuía considerablemente durante las temporadas secas. De la misma forma en la búsqueda de un diagnóstico precoz, se resaltó que los síntomas iniciales: quemazón de folíolos bajeros de hojas jóvenes y epinastis, bajo condiciones de alta precipitación y en áreas de foco, las palmas afectadas evolucionaron en un alto porcentaje a pudrición de cogollo. Finalmente se describieron los principales pasos del proceso de reproducción de los síntomas típicos de la enfermedad, mediante inoculación de palmas sanas de 8, 30 y 72 meses, con los hongos *Thielaviopsis* sp., *Fusarium solani* y *Pythium* sp., así como la etapa de reisolamiento y comparación de las cepas utilizadas para reproducir la enfermedad con la cual se concluyeron los postulados de Koch, mediante los cuales se confirmó que los hongos utilizados eran agentes causales del complejo pudrición de cogollo.

SUMMARY

As a review of the oil palm bud rot complex project, the results of studies conducted by Cenipalma on the characterization and identification of the causal agent of the disease were presented. Experiments carried out to characterize the typical symptoms showed that the disease is not lethal and that young frond yellowing decreased significantly during dry seasons. In terms of early diagnosis, when initial symptoms appear, such as scorching of the lower leaflets of young fronds and epinasty, under heavy rainfall conditions and in foci areas, a high percentage of affected oil palms develop bud rot. Finally, the main steps of the reproduction process of the typical disease symptoms were described, including inoculation of healthy 8, 30 and 72 month old palms with *Thielaviopsis* sp., *Fusarium solani* and *Pythium* sp., as well as re-isolation and comparison of the strains used to reproduce the disease. As a result, Koch's postulates were confirmed, which leads to the conclusion that the above mentioned fungi were the causal agents of bud rot complex.

Palabras Claves: Palma de Aceite, *Elaeis Guineensis*, Pudrición de Cogollo, *Thielaviopsis* sp., *Fusarium Solani*, *Pythium* sp.

* Ing. Agrónomo, M.Sc en Fitopatología. Cenipalma. Apartado Aéreo 2548. Villavicendo, Colombia.

La Pudrición de Cogollo es una amenaza real para el cultivo de la palma de aceite (*Elaeis guineensis* Jacq.) en Latinoamérica y ha destruido grandes plantaciones, como La Arenosa, en Turbo (Ant), Colombia, hace más de 30 años. En los últimos ocho años ha acabado con lotes completos en las dos plantaciones más grandes del Ecuador, Palmeras del Ecuador y Palmar de Oriente. En Denpasa, en Brasil, ha habido pérdidas tan grandes que se abandonó una división de la plantación, porque se vieron incapacitados para erradicar el número de palmas enfermas que se presentaban mensualmente.

Al comparar la situación en Ecuador, Brasil y Surinam, donde el control de la enfermedad se basa en la erradicación, con la de Colombia, donde alrededor del 50% de las plantaciones están afectadas con una incidencia del 3% y se está aprendiendo a manejar el problema, se observa un gran optimismo, porque se ha demostrado que no es de carácter letal ni es sistémica y las palmas enfermas generalmente se recuperan en un alto porcentaje, con o sin ayuda de la cirugía. Sin embargo, el costo de esta operación es relativamente alto: se calcula que en 1995 se gastaron cerca de seis millardos (un millardo = mil millones) de pesos en el manejo de la enfermedad, pero su control no fue muy eficiente. Sin embargo, se ha observado que la curva de incidencia exponencial que ocurría en algunas plantaciones anualmente, ha descendido considerablemente.

Se considera que esta promisoriosa situación es el resultado de la acción investigativa de Cenipalma desde su creación hace cinco años, que junto con la colaboración de algunas plantaciones, en experimentos claves, ha logrado resultados contundentes sobre el conocimiento de la enfermedad.

SINTOMAS

Los síntomas típicos de la enfermedad se determinaron por la observación quincenal de 143 palmas en la plantación La Cabaña. Allí se registraron los cambios que se presentaron en el follaje de las palmas afectadas durante cerca de dos años. Además se hicieron cirugías a palmas enfermas para relacionar la sintomatología interna con la externa. Lo anterior permitió definir que los síntomas más típicos de la enfermedad son: a) pudrición de la flecha, que puede ser seca o húmeda b) amarillamiento de las hojas jóvenes que generalmente aparece en los meses de alta precipitación y humedad relativa. Estos síntomas desaparecen en los periodos secos.

Las plantas con pudrición seca de la flecha se recuperan sin tratamiento alguno, pero este síntoma fue poco frecuente. Un alto porcentaje de las plantas observadas presentan pudrición húmeda - seca; la pudrición descendió hacia el meristemo, mostrando diferentes colores y olores en las zonas necrosadas, además de otros caracteres.

El amarillamiento foliar no fue permanente, pero si oscilante, principalmente en los meses de mayor precipitación, al final del período de lluvias. En cuanto a la recuperación, se encontró que había mucha variación respecto al tiempo que las palmas demoraron en recuperarse. Algunas lo hicieron entre 3-4 meses, otras entre 10-12 meses y otras entre 2-3 años, todo esto generalmente correlacionado con la profundidad del daño en cada palma. Esto permite concluir que la pudrición de la flecha (PF), por lo superficial, es un síntoma leve de la pudrición del cogollo (PC), y por lo tanto son síntomas correspondientes a la misma enfermedad.

SINTOMAS DE PREDICCIÓN

Se ha observado que cuando se tratan plantas con síntomas iniciales (PF), éstas se curan en un alto porcentaje, mientras que cuando se presenta necrosis profunda (PC), para la erradicación del patógeno se requieren cirugías profundas y asépticas que frecuentemente fallan. Consecuentemente, con el fin de detectar síntomas muy iniciales de PC que permitieran predecir la ocurrencia de la enfermedad, se marcaron palmas sanas y semanalmente se registró en ellas cualquier síntoma indicativo de PC.

Los síntomas de predicción observados fueron: quemazón de los folíolos de las hojas jóvenes, clorosis, epinastis (amplitud del ángulo de inserción foliar), manchas necróticas grandes, irregulares y acuosas, acortamiento de las hojas, moteado y bandas blancas o amarillas. Esto permitió concluir lo siguiente:

- Ningún síntoma inicial se presentó sólo: siempre ocurrieron varios síntomas.
- El desarrollo de la PC a partir de los síntomas anteriores dependió de períodos cercanos a la saturación de humedad ambiental.
- Los síntomas quemazón de los folíolos de las hojas jóvenes, clorosis y epinastis, se consideraron como síntomas principales, porque en la mayoría

de los casos desarrollaron la PC durante el invierno. Los otros síntomas mencionados fueron secundarios.

IDENTIFICACION DEL AGENTE CAUSAL

Registros sobre la caracterización del agente causal de la PC descartan agentes abióticos (macro o microelementos) y bióticos sistémicos (virus, micoplasmas, fitomonas, hongos y bacterias sistémicas), sin embargo, dan una alta probabilidad para agentes bióticos, como hongos y bacterias, localizados en el tejido tierno y nutricionalmente rico de los tejidos sobre el meristemo. Por esta razón, los trabajos sobre la identificación del agente causal estuvieron dirigidos a aislar, purificar y probar la patogenicidad de especies fungosas aisladas de tejidos de plantas enfermas.

Los trabajos realizados al respecto fueron los siguientes: a) Uno ya publicado, en donde se analizaron muestras de tejido tomado de 18 palmas enfermas. El 81% de los aislamientos pertenecían a *Fusarium* spp. y sólo un 10% eran de *Thielaviopsis* sp., b) un trabajo de tesis orientado hacia el reconocimiento de hongos asociados a la PC en varias plantaciones de los Llanos Orientales, realizado por V.M. Buitrago, registró los mismos resultados. El *Fusarium solani* (Mart.) App. Et Wr. tuvo la mayor frecuencia de aparición, seguido de *F. oxisporum* (Schl.) Syd. Et Hans. *Thielaviopsis* sp. se observó sobre tejidos en cámara húmeda, pero no se pudo aislar y c) un trabajo realizado en la Universidad de los Andes, registró a *F. solani* como uno de los hongos de mayor frecuencia en los tejidos afectados.

Igualmente se hicieron aislamientos del suelo y de raíces, bajo la hipótesis de que probablemente había involucrado un hongo del género *Phytophthora*. Se encontró que *F. solani* y *Thielaviopsis* sp. eran los hongos más comunes y que ocasionalmente *Pythium* sp. se encontraba también presente.

REPRODUCCION DE LA ENFERMEDAD

Analizados los resultados obtenidos sobre reproducción de la enfermedad, se concluyó que probablemente ésta no se había reproducido porque no se había usado un método apropiado de inoculación, por lo que se insistió en este aspecto.

La inoculación se hizo por suspensión y con los métodos de absorción radical, algodón humedecido con esporas en raíces superficiales y profundas, microinyección al estipe, absorción a raíz desnuda, punción en axilas e inyección al estipe y al cogollo. Todos los métodos fueron negativos, excepto el de absorción a raíz desnuda que necrosó las plantas inoculadas, y el método de inyección al cogollo que indujo pudrición de flecha y de cogollo.

El método de inoculación por inyección al cogollo se refinó empleando una aguja hipodérmica, de las usadas para inyectar insulina en humanos, para inocular palmas pequeñas y una broca fina de 3/16 de pulgada usada para inocular palmas adultas en el campo. Paralelamente, las palmas se mantuvieron en una lámina de agua bajo inundación permanente o haciendo un riego saturado en el campo.

En general, el método de inoculación fue el mismo, pero el tamaño y grosor de las agujas varió según el tamaño y la edad de las plantas. En palmas de 8 meses se usó la aguja hipodérmica, con la que se depositaron en el cogollo 0,2 ml de la suspensión de esporas; en palma de 30 meses, se usó una broca de 1/8 pulgada para inyectar de 0,3 a 0,5 ml del inóculo; y en el campo, la perforación se hizo con una broca de 3/16 de pulgada a 15 cm de profundidad y a 10-15 cm sobre el meristemo. Después de la perforación, se aplicaron 3-4 ml de la suspensión de conidias.

Tabla Daño en la flecha y en el cogollo de palmas sanas inoculadas con hongos fitopatógenos aislados de palmas enfermas.

Tratamiento y patógeno inoculado	Lesión a los 10 días (en la flecha)	Lesión a los 30 días en el:		
		Cogollo	Pecíolo	Plantas recuperadas
PLANTAS INUNDADAS				
<i>Fusarium</i> sp (CH)	5/6	5/6	4/6	2
<i>Thielaviopsis</i> sp + <i>Fusarium</i> sp (CH)	4/6	4/6	3/6	0
Testigo	0/6	0/6	0/6	0
PLANTAS CON RIEGO NORMAL				
<i>Fusarium</i> sp (CH)	6/6	3/6	3/6	3
<i>Thielaviopsis</i> sp + <i>Fusarium</i> sp (CH)	3/6	4/6	2/6	0
Testigo	0/6	0/6	0/6	0/6

(CH) = Plantas en cámara húmeda. Los testigos se inocularon con agua destilada estéril.

En la Tabla 1 se observan los resultados de las inoculaciones en palmas que tuvieron el riego normal y las que estuvieron bajo inundación previa. Se observa que en casi todas las palmas de 8, 30 y 72 meses, inoculadas con *Thielaviopsis sp.*, *Fusarium sp.* y *Pythium sp.*, la reacción fue positiva, mientras con las otras especies fungosas no se logró producir síntomas de PC.

El período de incubación, para la aparición de los primeros síntomas, en palmas de 8 meses inoculadas con *Thielaviopsis sp.* y *Pythium sp.* fue de 7 días después de la inoculación y con *Fusarium sp.* de 10 días (Tabla 2).

Tabla 2. Tiempo de incubación para la aparición de los primeros síntomas de PC en palmas sanas de diferentes edades.

Hongo inoculado	Edad de las palmas inoculadas (meses).		
	8	30	72
<i>Thielaviopsis sp.</i>	7	10	20
<i>Fusarium solani</i>	10	14	26
<i>Pythium sp.</i>	7	10	24

Los primeros síntomas en palmas de 8 meses consistieron en quemazón en las flechas, seguidos por secamiento y necrosis de las hojas centrales. A las tres semanas aparecieron varios hongos contaminantes debido a la alta humedad relativa durante la incubación. En algunas palmas de 30 meses de edad, inoculadas con *F. solani*, se observó una hoja quebrada a los 30 días de la inoculación. Al abrir las plantas centralmente se observó que algunas de ellas tenían los tejidos del cogollo descompuestos, macerados y con olor putrefacto, síntomas estos similares a las observaciones bajo condiciones de campo. Otras palmas tenían los tejidos suberizados, casi a nivel del meristemo. El primer síntoma fue común al inocular con *Thielaviopsis sp.* y el segundo con *F. solani*. Se observó que la recuperación de las palmas inoculadas con *F. solani* fue más rápida que cuando se inocularon con *Thielaviopsis sp.* En los testigos, los tejidos heridos por la penetración de la broca cicatrizaron y fueron expulsados al crecer las plantas.

Una de las palmas inoculadas con *Thielaviopsis sp.*, en el campo, mostró además de la pudrición de las

flechas, amarillamiento de una hoja central. La afección causada por *Pythium sp.* fue más severa que la inducida por los otros patógenos, ya que a los 76 días todas las flechas estaban necrosadas.

REASLAMIENTOS

Para confirmar que la PC fue realmente inducida por las especies de hongos inoculados, se hicieron aislamiento de tejidos del cogollo de las palmas afectadas. *Thielaviopsis sp.* se reisoló casi puro, y se ha reinoculado varias veces con resultados similares.

En el caso de *F. solani*, los reisolamiento no mostraron colonias similares a las de la cepa utilizada; quizás ocurrieron contaminaciones de los tejidos necrosados por otras cepas o especies de *Fusarium*, o el hongo alcanzó a mutar en los tejidos afectados. Esto será tema de investigaciones futuras.

En resumen, la cepa original de *Thielaviopsis sp.* fue igual a la reisoladas, pero la de *F. solani* fue un poco diferente en el medio del cultivo.

CONCLUSIONES

- Los hongos *F. solani*, *Thielaviopsis sp.* y *Pythium sp.* puestos dentro del cogollo, reprodujeron los mismos síntomas de pudrición de cogollo que las palmas de campo.
- La patogenicidad de *Thielaviopsis sp.* fue mayor que la de los otros hongos inoculados.
- Palmas inoculadas con *F. solani* presentaron una recuperación más lenta que las inoculadas con *Thielaviopsis sp.* cuando incubaron sin alta humedad relativa.
- Como con *Thielaviopsis sp.* se cumplieron los postulados de Koch, se puede dar por concluida la primera etapa de la investigación sobre la identificación del agente causal de la pudrición de cogollo de la palma de aceite. Con los otros hongos se continuarán los trabajos, partiendo de cultivos monospórticos que ofrecen una mayor uniformidad en los resultados.