La marchitez letal no es la marchitez vascular **africana causada por *Fusarium***

The Lethal Wilt is not the African Vascular Wilt **Caused by *Fusarium***

Nuby J. Sánchez C.[1], **Faniiy R. Fuentes**[2], **Marcelo Torres V.**[3], **Pedro J. Rocha S.**[4], **Hugo Calvache G.**[5], **Pedro L.** Gómez **C.**[6]

Resumen

Un nuevo disturbio, llamado marchitez letal, ha ocasionado la muerte a más de 14.500 palmas en la Zona Oriental de Colombia. Las pérdidas acumuladas al mes de noviembre de 2003 son de mas 100 hectáreas, Inicialmente se considero que esta enfermedad letal era la marchitez vascular del Africa. Sin embargo, los experimentos mostrados aquí demuestran que el nuevo disturbio no se relaciona con la fusariosis africana. Debido al desconocimiento del agente causal de la enfermedad, varias hipótesis han sido propuestas incluyendo La acción de fítoplasmas, bacterias y hongos. Dentro de esta última hipótesis, experimentos con 52 aislamientos de *Fusarium oxysporum* y *Fusarium* spp. aislados de palmas enfermas fueron inoculados en plántulas de palma. Las plántulas no mostraron expresión de los síntomas externos o internos tipicos de la marchitez vascular reportados para plántulas de palma de aceite. Como conclusión, el disturbio de esta zona es diferente a la marchitez vascular de África.

Summary

A new disease, called lethal wilt (or ML in Spanish), is the responsible for the death of more than L4,500 oil palms in the Colombian East Zone. The cumulative losses to November 2003 are estimated in more than 100 Ha. In its origins, this lethal disease was considered the African vascular wilt. However, the experiments showed here demonstrate that the new disease is not related to the African fusariosis. Due to the lacking of knowledge about the causal agent of the disease, several hypotheses have been proposed including the presence of phytoplasms, bacteria and fungi. Inside the last hypothesis, experiments with 52 isolates from Fus*arium oxysporum* and *Fusarium* spp. were isolated from sick palms and inoculated in oil palm plantlets. These plantlets did not show any of the typical (either external or internal) African-vascular-wilt symptoms reported for oil palm plantlets. As a main conclusion, the new disease present in this region is different to the African vascular will caused by F. *oxysporum* f.sp. *elaeidis.*

Palabras Clave

Raima de aceite. Marchitez letal. Enfermedades de las plantas. *Fusarium,* Marchitez Vascular

1 Biologa, Investigadora auxiliar, Area de Sanidad Vegetal. Cenipalma.
2 Tecnologa, **Laboratorio** de Sanidad Vegetal, C**enipalma.**
3 Ing. Agronomo, Investigador auxiliar. Area de Fisiologia y Mejoramiento. Cenipalma.
4 Bió1ogo, Ph. D. Investigador titular, Area de Fisiologia y Mejoramiento, Cenipalma.
5 Ing. Agronomo. M.*Sc.* Investigador titular, Area de Sanidad Vegetal, Cenipalma.
6 Ing. Agronomo, P*h.D.*. Director Ejecutivo, Cenipalma.
Recibido: 8 de agosto de 2003. A**probado:** 2 de **febrero** de 2004

Introducción

A partir de junio del año 2001 se reportó a Cenipalma un disturbio que, hasta el día de hoy, ha ocasionado la muerte de al menos 14.500 palmas en las plantaciones del Bajo Upía (Casanare, Colombia). El disturbio, que en la actualidad se conoce como marchitez letal (ML), se llamó inicialmente marchitez vascular por la similitud con varios de los síntomas de la fusariosis o marchitez vascular de África, ocasionada por el hongo *Fusarium oxysporum* f. sp. *elaeidis*.

Los síntomas de la marchitez vascular africana presentan variaciones en su expresión de acuerdo con el estado de desarrollo (edad) de la palma (Tabla 1). Adicionalmente, la presencia de esta fusariosis ha sido reportada en Brasil (Vande Lande, 1984) y en Ecuador (Renard y Franqueville, 1989; Mouyna *et al*, 1996). Sin embargo, en Colombia su presencia no ha sido confirmada.

Cenipalma y las plantaciones del Bajo Upía vienen realizando varios trabajos de investigación relacionados con la epidemiología y la etiología de la enfermedad. Entre las múltiples hipótesis que hasta el momento se han considerado se tienen:

1. La marchitez letal es la marchitez vascular africana o fusariosis causada por *F. oxysporum* f.sp. *elaeidis* (Acosta *et al*, 2001).
2. La enfermedad es una nueva forma o ciclo de la pudrición de cogollo (PC) que puede ser causada por *Thielaviopsis paradoxa* junto con la presencia de factores predisponentes (Franqueville, 2001).
3. La enfermedad es causada por *Ceratocystis paradoxa* y los síntomas son consistentes con los de la enfermedad *dry basal disease ofthe oil palm* (Airede, 2002).
4. La enfermedad es un disturbio vascular causado por fitoplasmas (E. Álvarez, CIAT, 2002).
5. La enfermedad es el resultado de una infección bacterial (C. Lozano, asesor Cenipalma, comunicación personal, 2003).

Con base en estas hipótesis, las plantaciones han implementado varias prácticas de manejo, entre las cuales se incluyen el uso de fungicidas (Benlate), insecticidas (Azodrin), organismos biocontroladores *(Trichoderma* sp.) y aplicaciones de antibióticos (oxitetraciclina). Otras prácticas que se han realizado son el mejoramiento del sistema de drenajes, el control de malezas, especialmente gramíneas, la desinfección de herramientas de cosecha y el incremento de las dosis de potasio. Sin embargo, estos tratamientos no han tenido la efectividad deseada y el hecho de no conocer el agente causal de la enfermedad complica aún más el panorama e impide el desarrollo y la implementación de prácticas de control más efectivas.

Como resultado de la investigación llevada a cabo por Cenipalma, en el presente artículo se describen los experimentos realizados para evaluar la patogenicidad de los aislamientos de *Fusarium* spp. y *F. oxysporum* en plántulas de previvero y que demuestran que la marchitez letal del Bajo Upía no es la fusariosis o marchitez vascular que se presenta en África.

Materiales y métodos

Los experimentos aquí presentados fueron llevados a cabo en la plantación Palmas del Casanare (Casanare, Colombia), entre los meses de junio y diciembre de 2002. La precipitación mensual para este período osciló entre 140 y 286 mm. La temperatura mínima fue de 23.1°C y la máxima de 27.1°C.

Tabla 1 Síntomas típicos, crónicos e internos de la marchitez vascular de África reportados por varios autores.

Renard, 1979	Turner, 1981	Flood y Mepsted, 1991	Franqueville y Diabaté, 1995
Síntomas típicos	Sintomatología aguda	Sintomatología aguda	Síntomas típicos
	Las primeras hojas afectadas son del centro de la corona.	Las primeras hojas afectadas son del centro de la corona.	Amarillamiento y crecimiento lento de hojas jóvenes.
	Flechas caen sin abrirse.	Flechas caen sin abrirse.	
Secamiento de las hojas bajeras.	Hojas inferiores secas y caen por el viento.	Hojas inferiores secas y caen por el viento.	Hojas inferiores secas.
Rompimiento del raquis poco más o menos en la tercera parte a partir de la base y las hojas cuelgan a lo largo del estípite.		Rompimiento de raquis a un tercio.	Rompimiento de raquis a un tercio.
	Las hojas más externas de todos los espirales mueren de manera alterna y la enfermedad progresa rápidamente.	Las hojas más externas de todos los espirales mueren de manera alterna y la enfermedad progresa rápidamente.	
Disminución del crecimiento de hojas jóvenes y amarillamiento.		Amarillamiento y crecimiento lento de hojas jóvenes.	
Numerosas fibras pardas en la periferia del estípite, a un metro del suelo.			
Fibras pardas en hojas bajeras.			
Muerte puede ocurrir de tres a cuatro meses después de aparición de los primeros síntomas.	Muerte después de dos a tres meses luego de la aparición de los primeros síntomas en el área foliar.	Muerte después de 2 a 3 meses después de aparición de los primeros síntomas en el área foliar.	Muerte 3 a 5 meses después de los primeros síntomas.
Síntomas crónicos	Síntomas crónicos	Síntomas crónicos	Síntomas crónicos
	Síntomas de marchitamiento de manera alternada en las hojas de la corona.		Disminución parcial de síntomas típicos.
	Pérdida de turgidez de las hojas más viejas y secamiento de estas.	Pérdida de turgidez de las hojas más viejas y secamiento de estas.	
Hojas secas caen. Emisión de 2, 3 ó 4 flechas que abren despacio.			Hojas secas se caen. Emisión de flechas 2-4 que se caen.
	Hojas muertas se fracturan a 90 cm o 2 m de la base del raquis doblándose alrededor del estípite. Persiste en este estado por varios años antes de que muera.	Hojas muertas se fracturan a 90 cm o 2 m de la base del raquis doblándose alrededor del estípite. Persiste en este estado por varios años antes de que muera.	
	Acortamiento de hojas después de tres a 12 meses de aparecer los primeros síntomas.	Acortamiento de hojas después de tres a 12 meses de aparecer los primeros síntomas.	
Estípite estrecho, aspecto de punta de lápiz.			
Fibras pardas poco frecuentes en la parte alta del estípite.			
Fibras pardas casi nunca en los peciolos.			
	Persiste en este estado antes de que muera.	Persiste en este estado antes de que muera.	Produce racimos por varios años.

Renard, 1979	Turner, 1981	Flood y Mepsted, 1991	Franqueville y Diabaté, 1995
Síntomas internos	Síntomas internos	Síntomas internos	Síntomas internos
	Cambio de color en el estipite de naranja a colores café.		
	Necrosis de vasos vasculares.		
	Algunas veces está afectada la base del estipite –necrosis de tejidos conductores.		
	Las raíces toman color rojizo-café en la unión entre la raíz y el estipite.		+
	Necrosis más marcada en el ápice del estipite.		
	Decoloración vascular marcada en hojas de palmas jóvenes.		
Síntomas en palmas de 1 a 3 años	Síntomas en palma joven		Palma joven
	En palmas menores de seis años Coloración amarillo—limón en hojas jóvenes.		Amarillamiento y decoloración café, parte media de la corona.
			Amarillamientos de hojas vecinas al mismo nivel y de hojas más susceptibles.
Amarillamiento de una hoja de la corona, le sigue pardeamiento y secamiento de las hojas bajeras.	Algunas veces los síntomas comienzan por la corona y las hojas más viejas comienzan a hacerse cloróticas.		
	Otras hojas de la corona se vuelven cloróticas y se secan tomando color gris-café.		
	Desecación de la hoja comienza por el ápice.		
	Ocasionalmente los folíolos de un lado de la hoja se hacen cloróticos y se secan desde la punta antes de que la hoja muera.		
La palma es achaparrada, crece despacio.			
En corte de peciolo de hojas amarillas se observan fibras pardas.			Fibras vasculares de color café.
Algunas plantas mueren rápidamente, otras sobreviven, emitiendo hojas cortas más o menos erectas.	La muerte de la palma puede ocurrir un año después de los primeros síntomas.		Secamiento y muerte después de dos meses de primeros síntomas.
	Síntomas en palma de vivero		
	Cuando la necrosis vascular se extiende, las hojas cambian de color verde normal a más claro y a amarillas.		
	Comienzo de necrosis desde la punta de la hoja a la base.		
	La necrosis ocurre casi simultán-eamente en todas las hojas.		
	A veces parece que se recupera, pero la tasa de crecimiento es lento.		
	Retardo en el crecimiento de hojas jóvenes, acortamiento.		
	Apariencia plana.		
	Internamente tejidos brillantes.		
	En el bulbo los haces cambian de color café a café oscuro.		
	El daño avanza y el bulbo se vuelve duro.		

Evaluación de síntomas

Se visitaron las plantaciones Palmar del Oriente, Palmas del Casanare y Palmeras Santana, para hacer el reconocimiento de los síntomas de la enfermedad.

Muestreos y procesamiento

Palmas enfermas, material Papua, de 13 años de edad, fueron erradicadas con motosierra para extraer tejidos de estípite (a diferentes alturas), bases peciolares, pedúnculo, meristemo, flechas, inflorescencias, frutos y raíces. Estas muestras fueron sumergidas en una solución de hipoclorito de sodio 1% durante 1 min con agitación permanente; posteriormente fueron sumergidas en etanol 70% durante un minuto con agitación. Las muestras fueron lavadas tres veces con abundante agua destilada estéril y luego secadas con papel toalla estéril. Finalmente, las muestras fueron cortadas en fragmentos de aproximadamente 5 mm y colocados en cajas Petri de 9 cm con medios de crecimiento para hongos como papa dextrosa agar acidificado (PDA), suplementado con 250 mg/1 de cloranfenicol y medios específicos para el aislamiento de *Fusarium* spp., tales como medio Komada (Komada, 1975), agar malta y medio Nash (Nash y Snyder, 1962).

Las cajas que contenían las muestras fueron incubadas a 23°C, humedad y luz permanente en una incubadora (Precision Scientific, USA). La observación del crecimiento de los microorganismos se hizo cada tercer día durante un mes. Los aislamientos de *Fusarium* spp. se purificaron mediante su siembra en medio de cultivo PDA acidificado.

Adicionalmente, las muestras previamente desinfestadas fueron colocadas en cámaras húmedas: cajas Petri de 9 cm, con papel filtro estéril, humedecido con 2 ml de agua estéril. Cada caja contenía en su interior una lámina porta-objeto, sobre la cual se depositó el tejido. Las cámaras con la muestra fueron incubadas a temperatura ambiente (entre 24°C y 30°C) durante 10 días.

Caracterización cultural y morfológica (Fig. I)

Los aislamientos de Fusarium previamente purificados fueron sembrados en cajas Petri que contenían diferentes medios de cultivo incluyendo PDA, agar clavel (Fisher *et al*, 1982) y KC1 agar (Fisher *et al*, 1983) para la producción de microconidias, macroconidias y clamidosporas. Las cajas fueron incubadas bajo las condiciones anteriormente mencionadas. Luego de 14 días, se hizo la caracterización cultural mediante determinación de la tasa de crecimiento de los hongos, coloración de las colonias y difusión de pigmentos en el medio de cultivo. Para la caracterización morfológica se emplearon las claves taxonómicas de Nelson y colaboradores (1983). Adicionalmente, se enviaron ocho aislamientos de *F. oxysporum,* al *Commonwealth Agricultural Bioscience International* (CABI, Reino Unido), para determinación de la forma especial. Finalmente, los aislamientos purificados y caracterizados fueron almacenados en papel filtro estéril, mantenidos en sobres de papel Kraft estériles y conservados a 4°C.

Pruebas de patogenicidad

Cada uno de los 52 aislamientos de *Fusarium* spp. y *F. oxysporum* purificados se sembró en medio de PDA acidificado y se incubó bajo las condiciones anteriormente mencionadas. Luego de siete días de incubación, se sembraron siete fragmentos de hongo (con medio) en frascos de vidrio que contenían 100 ml de medio de cultivo líquido Armstrong (Armstrong y Armstrong, 1981). Los frascos se incubaron durante cuatro días, bajo agitación continua a 100 r.p.m., a una

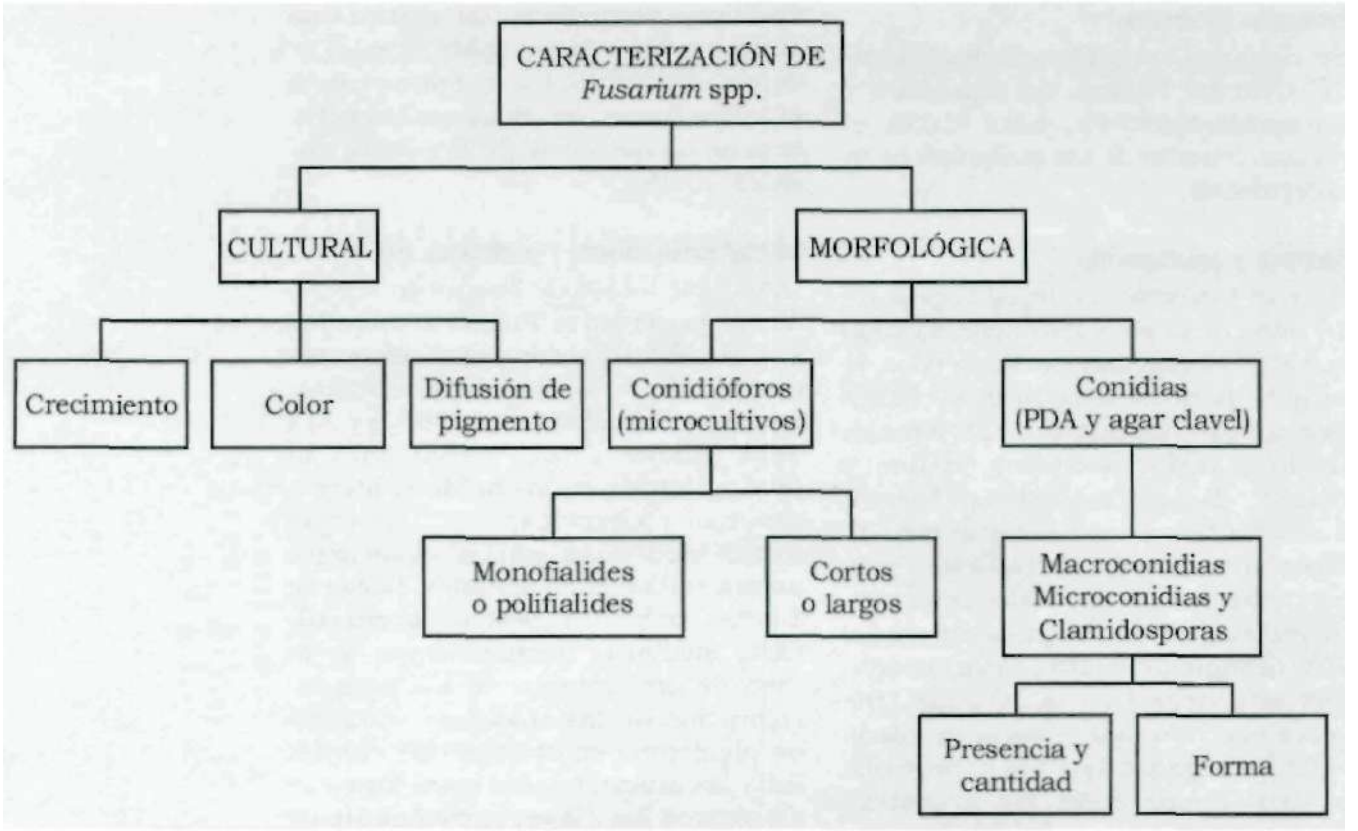

Figura 1 Caracterización cultural y morfológica de *Fusarium* spp. (basado en Nelson *et al.*, 1983)

temperatura de 24°C a 27°C. Posteriormente, fueron transferidos 2 ml de la suspensión fúngica a frascos que contenían 100 ml de medio líquido Armstrong fresco. Estos cultivos se mantuvieron bajo las condiciones anteriormente descritas durante ocho días.

Se inocularon plántulas de palma (material IRHO, códigos 2501 y 2825) con tres hojas, siguiendo la metodología sugerida por Franqueville (2002). Brevemente, un volumen de 20 ml de inóculo (de concentración $5x10^6$ esporas/ml para el ensayo 1 y $5x10^6$ esporas/ml para el ensayo 2) fue aplicado al sistema radical de cada una de las palmas, previa remoción del suelo (5 cm alrededor del bulbo). Una vez aplicado el inóculo, se cubrió el sistema radical con el mismo suelo removido. En total, se inocularon 52 aislamientos empleando cinco plántulas para el ensayo 1 y 15 para el ensayo 2. Como testigos, 10 plántulas fueron inoculadas con agua estéril en cada ensayo. Las plántulas fueron distribuidas bajo un diseño completamente al azar y mantenidas bajo polisombra (a 3 m de altura) a las mismas condiciones ambientales de la plantación (temperatura oscilante de 20°C a 35°C y humedad relativa de 70%-100%). El previvero con estas plántulas fue fertilizado siguiendo el plan de fertilización empleado por las plantaciones de la Zona Oriental (triple 15, magnesio y úrea, cada 15 días).

En otro experimento (ensayo 3), inóculos (20 ml de $5x10^6$ esporas/ml) de cinco aislamientos provenientes del estípite fueron inyectados con jeringa al bulbo. Fueron empleadas diez plántulas por inóculo. Como testigo

fueron inyectadas diez plántulas con agua estéril.

Otro ensayo (ensayo 4) consistió en aplicar inóculo (20 ml de $5x10^6$ esporas/ml) al sistema radical, ocasionando heridas mecánicas (corte con cuchillo, en tres puntos) a las raíces ubicadas cerca del bulbo.

Las plántulas que conformaron los cuatro ensayos de patogenicidad fueron distribuidas completamente al azar. Los resultados obtenidos se evaluaron mediante análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de significancia $p<0.01$. Para la comparación de promedios se realizó la prueba múltiple de Tukey ($p>0.05$).

Variables de respuesta

Las evaluaciones para todos los tratamientos se realizaron cada 15 días durante siete meses para los ensayos 1 y 2, y cinco meses para los ensayos 3 y 4. Se registraron amarillamientos y quemazones de hojas, cantidad de hojas y flechas, y altura de cada una de las plantas. A los siete meses, se realizó observación interna de las plántulas mediante corte longitudinal del bulbo en cada una de ellas.

Resultados y discusión

Sintomatología de la marchitez letal observada en campo

Los síntomas externos típicos observados en palmas adultas enfermas con marchitez letal incluyen amarillamiento y quemazón desuniforme de las hojas (Fig. 2A) y pudrición de racimos (Fig. 2B), simultáneamente o no con la aparición de los síntomas foliares. En algunos casos se observa acortamiento de hojas nuevas y fracturas de las hojas bajeras e intermedias.

Los síntomas internos incluyen la presencia muy frecuente de un halo variable en color (Fig. 2C), que va desde la base del estípite (de color crema oscuro) al bajo meristemo (de color crema oscuro a violáceo). Otros síntomas ocasionales son: presencia de haces vasculares necrosados (puntos de color marrón a negro) a diferentes alturas del estípite; cambios de coloración en el estípite (de crema claro a salmón); pudrición de flechas y de pedúnculo (Fig. 2D); pudrición fétida y acuosa del cogollo e inflorescencias en formación (Fig. 2E).

Como síntoma interno típico se presenta pudrición (seca o húmeda) de las raíces (Fig. 2F y 2G). Adicionalmente, se observan cambios de color, del blanco característico de raíces normales a coloraciones rojizas o marrones.

Algunos de los síntomas anteriormente descritos coinciden con los reportados para la marchitez vascular cuyo agente causal es *F. oxysporum* f. sp. *elaeidis* (Renard, 1979; Turner, 1980; Lande, 1984; Flood y Mepsted, 1991; Franqueville y Renard, 1990, Diabaté, 1995) o F. *oxysporum* v. *redolens* (Ho *et al.*, 1985). Sin embargo, la pudrición de racimos, flechas e inflorescencias no se ha reportado jamás en palmas que padecen fusariosis. Además, la marchitez vascular africana se presenta en palmas jóvenes (de previvero y vivero), lo cual no ha sido observado ni reportado en las plantaciones afectadas por el nuevo disturbio (marchitez letal).

Microorganismos detectados y aislados

Tejidos de estípite (a diferentes alturas), bases peciolares, pedúnculo. meristemo, flechas, inflorescencias, frutos y raíces (en total 160 tejidos) fueron extraídos de palmas con síntomas de marchitez letal. En la observación microscópica directa se detectaron bacterias de forma variada y levaduras en todos los tejidos. Esporas del hongo *Thielauiopsis paradoxa* fueron observadas en una

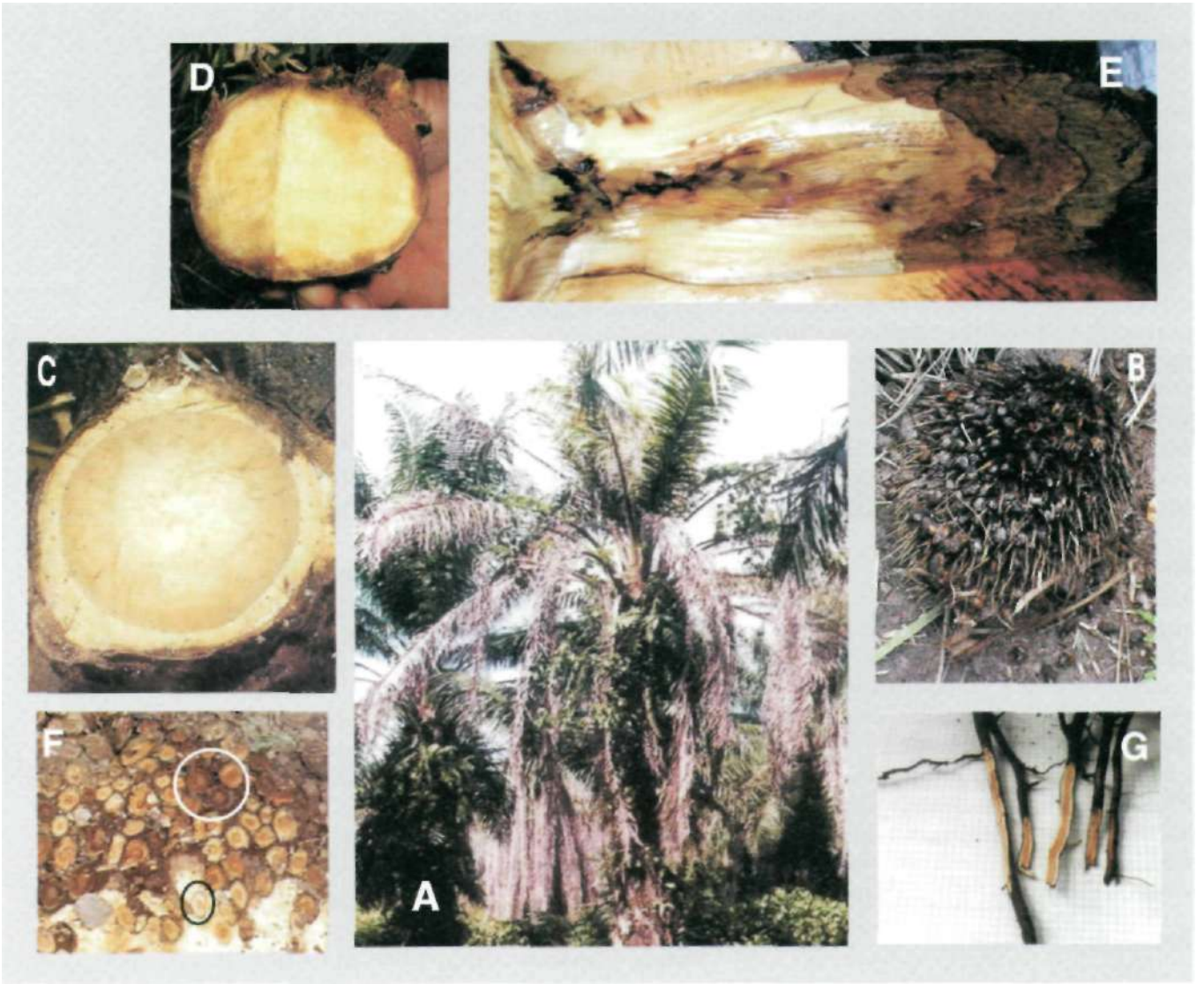

Figura 2 **Sintomatología típica de la marchitez letal. Clorosis y quemazón de hojas desuniforme con fractura de las mismas (A), pudrición de racimos (B), presencia de halo de color crema oscuro (C), pudrición del pedúnculo(D), inflorescencias (E) y raíces (F y G)**

muestra proveniente de estípite. Microconidias de *Fusarium* spp. no fueron observadas, contrario a lo reportado para palmas con marchitez vascular africana, en las que las microconidias se detectan en los haces vasculares (Turner, 1981).

Microorganismos detectados en cámara húmeda

En las 160 muestras analizadas se detectaron 284 microorganismos, representados por bacterias (51.1%) y hongos tales como T. *Paradoxa* (30.3%), *Fusarium* spp. (6.3%) y otros hongos no identificados (6%). En la flora fúngica, *T. paradoxa* se detectó con mayor frecuencia en todos los tejidos evaluados (Airede, 2002). La alta presencia de bacterias en todas las muestras analizadas determinó la necesidad de evaluar su papel como agente causal de la enfermedad (Carlos Lozano, asesor Cenipalma, comunicación personal). Es de anotar que la mayor frecuencia de un microorganismo en tejidos enfermos, no necesa

rimente implica que éste sea el agente causal de una enfermedad. Por tanto, es importante evaluar la patogenicidad y cumplir con los postulados de Koch (Agrios, 1991) para determinar su papel como agente causal de la marchitez letal.

Fusarium spp. no se detectó en bases peciolares, ni en flechas, ni en el meristemo de las palmas evaluadas (Tabla 2). No se encontró relación entre el tejido analizado y el tipo de microorganismo detectado.

Microorganismos detectados en medios de cultivo

En total, 15.572 fragmentos de diferentes tejidos, provenientes de las 256 muestras derivadas de 47 palmas, fueron sembrados en medios de cultivo general (PDA) y específicos para Fusarium (Nash, Komada y malta). En el 84% de los fragmentos no hubo crecimiento de microorganismos. En el 16% restante (2.510 fragmentos) se aislaron bacterias (24.7%), levaduras (21.1%), y hongos tales como *Fusarium* spp. (10.9%), *T. paradoxa* (9.6%) y otros en baja frecuencia como *Oideodendron* sp., *Curvularia* sp., *Rhizoctonia* sp. y *Gliocladium* sp. (Fig. 3 y 4).

Caracterización

Cultural

De los 81 aislamientos caracterizados, todos presentaron crecimiento mayor de 7 cm en diámetro después de 12 días de haber sido sembrados en medio PDA. En 17 de estos, se presentó difusión de pigmento en el medio de cultivo. Las colonias presentaron coloraciones blancas, crema, rosada y violáceas, características culturales consistentes para *F. oxysporum.*

Morfológica

Siguiendo las claves de identificación para Fusarium (Nelson *et al,* 1983), 28 aislamientos, de los 81 caracterizados, presentaron las mismas características culturales y morfológicas (Fig. 5) de *F. oxysporum.* Estos aislamientos fueron obtenidos de raíces, bajo meristemo y estípite (a diferente altura). En muestras provenientes de flechas, pedúnculo y base peciolar se detectó *Fusarium* spp. pero no *F. oxysporum.*

Tabla 2 Microorganismos detectados (en cámaras húmedas) en los diferentes tejidos evaluados. En el 72% de las palmas evaluadas se detectó 7! *paradoxa,* en el 44% *Fusarium* spp. y bacterias en el 100% de las palmas

Muestras	*T. paradoxa*	*Fusarium* spp.	Bacterias	Otros hongos
Raíces	+	+	+	+
Bases peciolares bajeras	+	-	+	-
Bases peciolares intermedias	+	-	+	-
Bases peciolares bajeras	+	-	+	-
Frutos	+	+	+	-
Pedúnculo	+	+	+	-
Estípite base	+	+	+	+
Estípite medio	+	+	+	-
Estipite alto	+	+	+	+
Meristemo	+	-	+	-
Bajo meristemo	+	+	+	+
Flechas	+	-	+	-
Inflorescencias	+	+	+	-

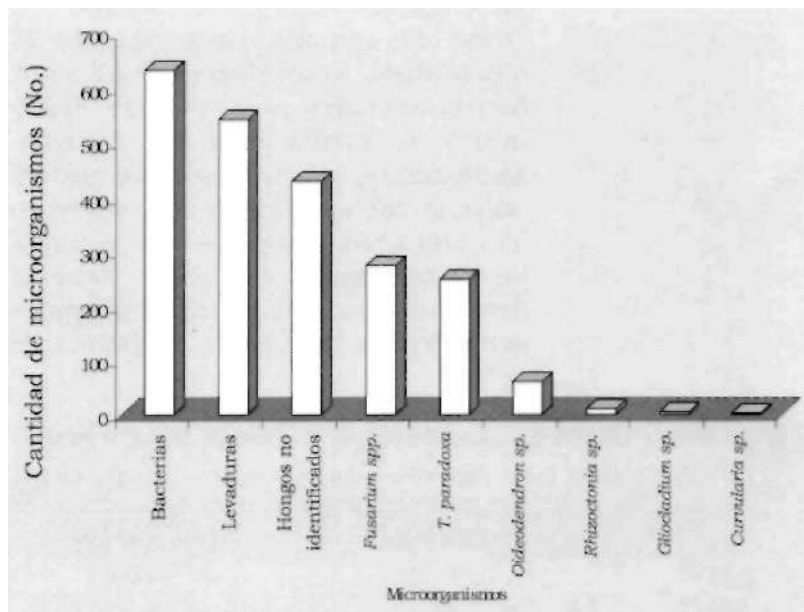

Figura 3 Microorganismos aislados en medio de cultivo provenientes de palmas con síntomas de marchitez letal

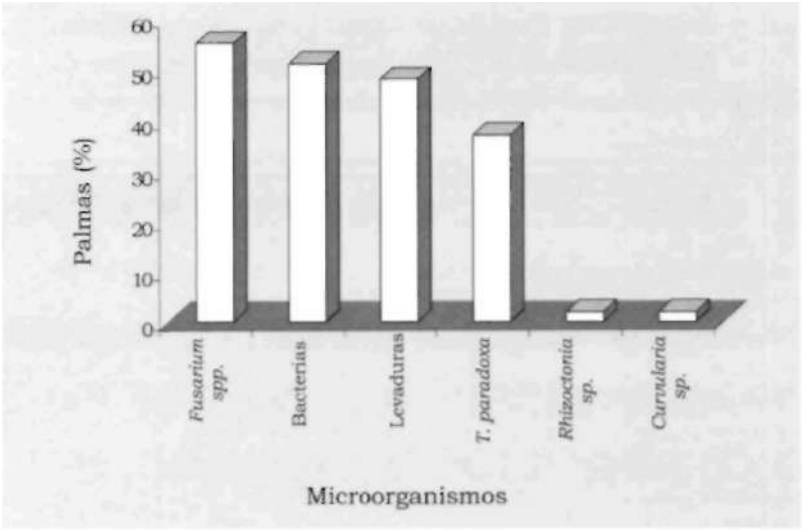

Figura 4 **Microorganismos aislados en medio de cultivo provenientes de palmas con síntomas de marchitez letal**

Identificación de la forma especial

Ocho de los aislamientos de *F. oxysporum,* seleccionados al azar, fueron enviados al CABI para determinar su forma especial. Infortunadamente, no fue posible determinarla. Sin embargo, se corroboró su identidad hasta especie. Por lo tanto, la forma especial *elaeidis* debería determinarse con pruebas de patogenicidad en plántulas de palma de aceite.

Tabla 3 Altura y cantidad de hojas promedio de las plántulas de palma material IRHO inoculadas con *F. oxysporum* y *Fusarium* spp. en los cuatro ensayos

	Promedio hojas (No.)	Promedio altura (cm)
Ensayo 1	10.4-12.2	42.8-60.6
Testigo 1	11	44
Valor de P	0.0002	0.0001
Ensayo 2	9-11	40.6-51.6
Testigo	10.3	47.9
Valor de P	0.11	0.85
Ensayo 3	9.1-9.6	38.2-43.8
Testigo	9	38.2
Valor de P	0.41	0.35
Ensayo 4	8.7-10	36-38.7
Testigo	9	38.3
Valor de P	0.43	0.96

Pruebas de patogenicidad

Las plántulas inoculadas con los 52 aislamientos de *Fusarium* spp. y *F. oxysporum* no mostraron los síntomas externos ni internos típicos de la marchitez vascular africana reportados para plántulas de palma de aceite: amarillamientos, necrosis desde la punta de la hoja a la base y acortamiento de hojas jóvenes. Tampoco se observaron coloraciones café en los haces vasculares del bulbo (Turner, 1981). Tanto la apariencia externa de las plántulas como su anatomía interna resultaron idénticas a las observadas en los testigos inoculados con agua estéril. No se presentaron diferencias significativas en la cantidad de hojas ni en la altura de las palmas inoculadas comparadas con los testigos, en los cuatro ensayos (Tabla 3).

Tejidos de raíz y de bulbo obtenidos de las plantas inoculadas y los testigos fueron sembrados en medios PDA (suplementado con 250mg/l de cloranfenicol) y Nash. De la mayoría de estos tejidos (incluidos los provenientes de testigos) se aisló *Fusarium* spp. En consecuencia, estos resultados sugieren que *Fusarium,* aunque presente en los tejidos de palmas de vivero, no ocasiona los síntomas de la marchitez vascular africana ni de enfermedad alguna.

Conclusiones

- Algunos de los síntomas observados en palmas de aceite adultas que sufren de la marchitez letal no corresponden a los reportados para la marchitez vascular africana. La pudrición de racimos, inflorescencias, flechas y raíces junto con la presencia de un halo variable en color (observado en corte del estípite) constituyen los síntomas más representativos de la marchitez letal.

- Los análisis microbiológicos llevados a cabo sobre muestras de tejidos aislados de palmas enfermas permitieron aislar bacterias y los hongos *F. oxysporum* y *T. paradoxa.*
- Ninguno de los 52 aislamientos de *F. oxysporum* fue patogénico cuando se inocularon en plántulas de vivero sanas.
- La enfermedad conocida como marchitez letal, que está afectando a las palmas de las plantaciones Palmar del Oriente, Palmas del Casanare y Palmeras Santana de la Zona Oriental, NO es la marchitez vascular de África.

Consideraciones finales

Cenipalma desarrolla experimentos conducentes a disminuir la incidencia de la enfermedad mediante la aplicación de buenas prácticas de manejo agronómico y en la búsqueda del agente causal para definir alternativas eficientes para el manejo de la enfermedad. De las múltiples hipótesis propuestas (marchitez vascular, nuevo ciclo de la PC, bacteriosis, enfermedad causada por fitoplasmas, etc.), hemos demostrado que la marchitez letal no es la fusariosis africana. Es de anotar que los experimentos aquí presentados fueron llevados a cabo en plántulas de vivero y que en estas la sintomatología no correspondió a la marchitez vascular. Sin embargo, es necesario desarrollar experimentos de patogenicidad en palmas adultas para determinar si algún miembro del género Fusarium es el agente causal de la marchitez letal.

Agradecimientos

Los autores agradecen a los ingenieros Miguel Guzmán y Marta Lía Hernández de la plantación Palmas del Casanare, a los ingenieros Rodrigo Bedoya, José Ramírez y Rubén Darío Bedoya de Palmar del Oriente, y al

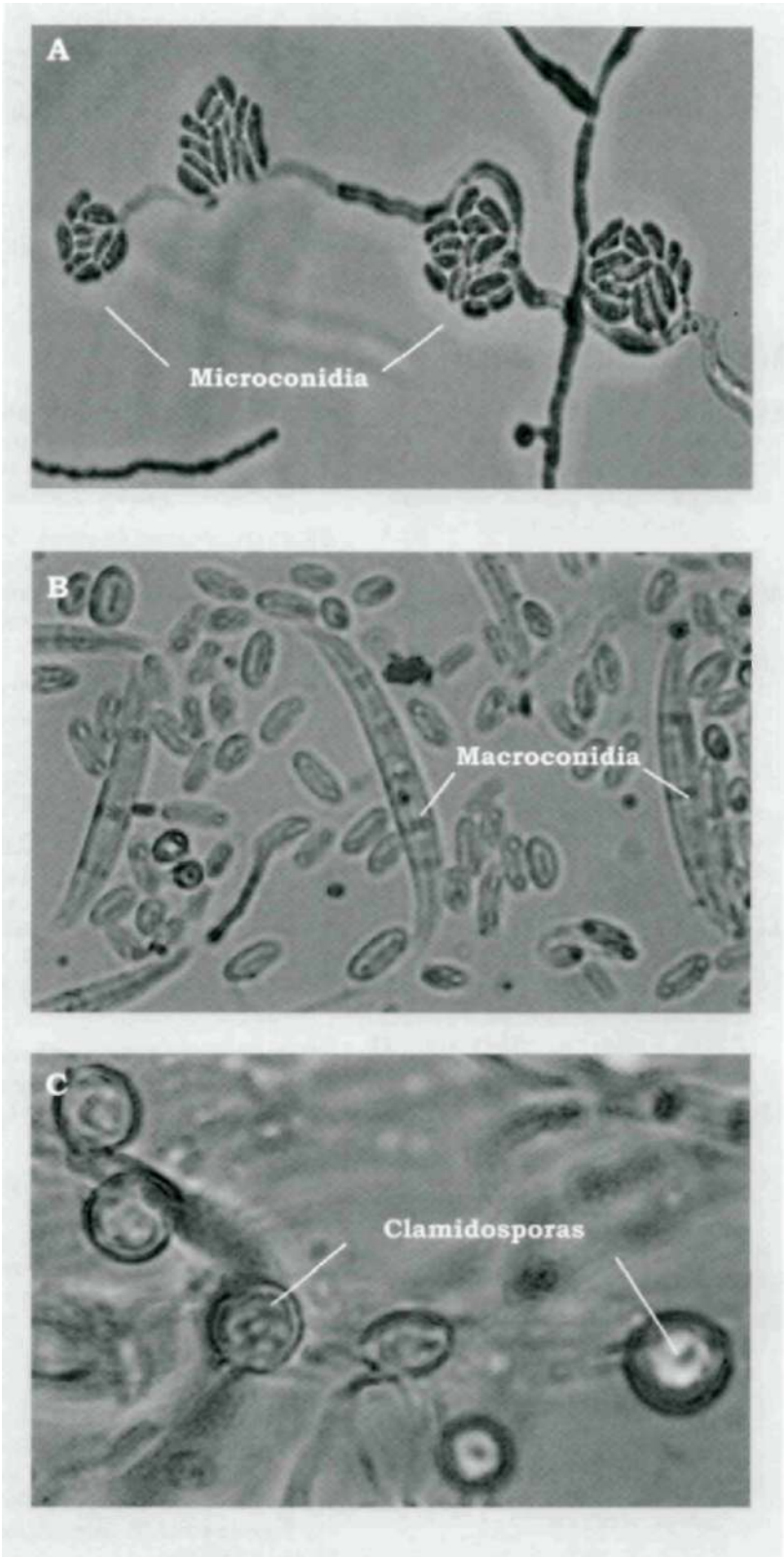

Figura 5 **Características morfológicas de *F. oxysporum.* Detalle de microconidias (A), macroconidias (B) y clamisdosporas(C)**

ingeniero José Antonio Verdugo de Palmeras Santana por su valiosa colaboración durante el desarrollo de los experimentos aquí reportados. A los doctores Alvaro Acosta (ASD, Costa Rica), Huber de Franqueville (CIRAD, Francia), Germán Arbelaéz (Universidad Nacional) y Catherine Airede (NIFOR, Nigeria) por su apoyo y discusión. Esta publicación forma parte del compromiso adquirido con Fontagro (Convenio de Cooperación Técnica IICA-BID-FTG-5811999, FTG-011999 y FTG-2411999). La investigación de Cenipalma es auspiciada por el Fondo de Fomento Palmero.

Referencias bibliográficas

ACOSTA, A.; CALVACHE H.; HERNÁNDEZ, M.L. 2001. Una "marchitez vascular" nueva enfermedad de la palma de aceite. Ceniavances (Colombia) v. 85, p. 1-4.

AGRIOS, G. 1991. Fitopatología. Noriega Eds. México.

ARMSTRONG GM, ARMSTRONG JK (1981) Formae specialis and races of *Fusarium oxysporum* causing wilt diseases. *In* PE Nelson, TA Tousson, RJ Cook, eds, *Fusarium:* Diseases, Biology, and Taxonomy. The Pennsylvania State University Press, University Park, PA, pp 391-399

ÁLVAREZ, E.; CLAROZ, J.L. 2002. Caracterización molecular y clasificación de fitoplasmas asociados con la palma de aceite. XXIII Congreso Nacional de Fitopatología, ASCOLF1, Bogotá.

FISHER, N.L.; MARASAS, W.F.O.; TOUSSOUN, T.A. 1983. Taxonomic importance of microconidial chains in *Fusarium* section Liseola and effects of water potential on their generation. Mycologia (Estados Unidos) v. 75, p.

FISHER, N.L.; BURGESS, L.W.; TOUSSOUN, T.A.; NELSON, P.E. 1982. Carnation leaves as a substrate and for preserving cultures of *Fusarium* species. Phytopathology (Estados Unidos) v. 72, p. 151-153.

FLOOD, J.; MEPSTED, R. 1990. Marchitez vascular de la palma africana: ¿un problema potencial para Malasia?.Palmas (Colombia) v. 17. p.

FRANQUEVILLE H.1984. Vascular wilt of the oil palm: relationship between nursery and field resistance. Oleagineux (Francia) v. 39, p. 516-518.

FRANQUEVILLE H.,DIABATÉS. 1995. La fusariose du palmier á huile en Afrique de l'Ouest. Plantations, recherche, développement (Francia) v. 2, no.4, p. 5-13.

FRANQUEVILLE H.; RENARD, J.L. 1988. Oil palm wilt in replantings: study methods and determination of certain environmental factors on the expression of this disease. Oleagineux (Francia) v. 43, p. 149-157.

FRANQUEVILLE H.; RENARD, J.L. 1989. Oil palm vascular wilt. Oleagineux (Francia) v. 44, p. 341-350.

FRANQUEVILLE, H.; RENARD, J.L. 1990. Improvement of oil palm vascular wilt tolerance results and development of the disease at the R. Michaux plantation. Oleagineux (Francia) v. 45, p. 399-403.

HO, Y.W.; VARGHESE G; TAYLOR G.S. (1985): Pathogenicity of *Fusarium oxysporum* isolated from Malaysia and *F. oxysporum* f. sp. *elaeidis* from Africa to seedlings of oil palm *(Elaeis guineensis).* Phytopathol. Z. (Alemania) v. 114, p. 193-202.

KOMADA, H. 1975. Development of a selective medium for quantitative isolation of *Fusarium oxysporum* from natural soil. Rev. Plant. Prot. Res. (Japón) v. 8, p. 114-25.

MOUYNA, I.; RENARD J.; BRYGOO, Y. 1996. DNA polymorphism among *Fusarium oxysporum* f. sp. *elaeidis* populations from oil palm using a repeated and dispersed sequence. Curr. Genet. (Alemania) v. 30, p. 174-80.

NASH, S.M.; SNYDER, W.C. 1962. Quantitative estimations by plate counts of propagules of the bean **root** *Fusarium* in field soils. Phytopatology (Estados Unidos) v. 52, p. 567-72.

NELSON, P.E.; TOUSSOUN, T.A.; MARASAS, W.F.O. 1983. Fusarium species. An illustrated manual for identification. The Pennsylvania Sate University Press. USA. 192 pp.

RENARD, J.L. 1979. La fusariose du palmier a huile. Diagnostic en plantation. Methodes de lutte. Oleagineux (Francia) v. 34, p. 59-63.

TURNER, P.D. 1981. Oil palm diseases and disorders. Oxford University Press. 280 pp.

VAN **DER** LANDE, H. L. 1985. Vascular Wilt of the oil palm caused by *Fusarium oxysporum* Schl. At the Paricatuba plantation in Para, Brazil: the proof of pathogenicity in oil palm seedlings in the prenursery stage. De Surinamés Landbouw. (Surinam) v. 33, p. 1-9.