

## DETERMINACION DEL AGENTE CAUSAL DE LA MUERTE DESCENDENTE DEL *Pinus patula* Schiede y Deppe EN EL DEPARTAMENTO DEL VALLE DEL CAUCA

CLAUDIA HELENA HOYOS \*

### RESUMEN

*El agente causal de la muerte descendente del Pinus patula en plantaciones del Valle del Cauca correspondió al hongo Diplodia natalensis Pole Evans (Sin. Botryodiplodia theobromae Pat.).*

*Este hongo se consideró como el incitante primario de la enfermedad a partir del cumplimiento de los postulados de Koch y la confrontación de los síntomas registrados en árboles afectados en el campo, y aquellos descritos por varios investigadores producidos por Diplodia natalensis.*

*Diplodia natalensis se presentó como patógeno agresivo en la zona de estudio debido muy probablemente a la presencia de condiciones medioambientales desfavorables para el crecimiento adecuado del Pinus patula.*

*Palabras claves: Pinus patula, Diplodia natalensis, muerte descendente, proliferación de yemas.*

### ABSTRACT

*THE CAUSAL AGENT OF Pinus patula DIEBACK IN THE CAUCA VALLEY DEPARTMENT, COLOMBIA*

*By means of pathogenicity test it was found Diplodia natalensis Pole Evans (Sin. Botryodiplodia theobromae Pat.)*

\* Ingeniera Forestal. Universidad Nacional de Colombia, Seccional Medellín. Apartado Aéreo 12166.

*to be the pathogen for dieback in Pinus patula Schiede et Deppe grown in the Cauca Valley, Colombia.*

*Symptoms observed are similar to those described by several authors as due to Diplodia natalensis.*

*The severity of the attack by D. natalensis possibly is attributable to the fact that P. patula is growing in an environment not suitable for its development.*

*Key words: Pinus patula, Diplodia natalensis, dieback buds proliferation.*

## INTRODUCCION

A mediados de 1984 se detectó una enfermedad en plantaciones de *P. patula* entre dos y siete años de edad, caracterizada por una abundante restitución de yemas laterales como consecuencia de la muerte y secamiento de la yema terminal; por hipertrofia, heridas y cáncer en yemas, ramas y fuste y finalmente por la muerte descendente de los individuos.

Inicialmente se planteó una hipótesis fundamentada en la dualidad del incitante primario de la enfermedad, ya que los síntomas anteriormente anotados parecían obedecer tanto a una marcada deficiencia de boro como a la acción directa de un organismo fitopatógeno. Hoyos (1987), descartó la primera de ellas a partir de análisis foliares realizados en diferentes plantaciones. Así mismo se cuantificó el efecto de la enfermedad sobre el rendimiento en volumen en los rodales afectados, resultando en una disminución del mismo equivalente a 80 m<sup>3</sup>/ha/año en promedio en plantaciones entre siete y nueve años de edad y, a mediano plazo, en la pérdida total de la inversión.

El objetivo principal de este estudio consistió en la identificación del agente causal de la enfermedad. Como complemento de la etiología se estimó el grado de afección, el cual permitió establecer que el avance en la severidad de los síntomas estaba directamente relacionado con la edad de los individuos. Para julio de 1986, todos los árboles en las plantaciones muestreadas se encontraron afectados, en mayor o en menor grado, por la enfermedad.

## CONDICIONES MEDIO AMBIENTALES

La precipitación en la zona de estudio está comprendida entre 1.754 mm y 3.000 mm correspondientes a alturas sobre el nivel del mar entre 1.300 m y 1.900 m, respectivamente. La precipitación se distribuye en dos períodos de lluvia; el primero entre marzo y mayo y el segundo entre septiembre y noviembre.

Dependiendo de la altitud, la temperatura promedio anual se sitúa entre 16°C y 20°C. De acuerdo con la clasificación bioclimática propuesta por Holdridge (1982), las plantaciones muestreadas se encuentran ubicadas en su mayoría, en la transición fresca de las zonas de vida bosque húmedo y muy húmedo Premontano.

## REVISION DE LITERATURA

Buchanan (1976) establece que el hongo *Diplodia pinea* se ha registrado en 19 países y en varias partes de todos los continentes. Los rebrotes de los árboles afectados generalmente mueren y, cuando son infectados tempranamente, a menudo quedan curvados o enrollados. Ataques repetidos resultan en una reducción del crecimiento y vigor y en deformación de los árboles; infecciones masivas terminan en la muerte de éstos. Gibson (1969), menciona que *D. pinea* produce enfermedad en los tejidos del tronco y de los conos de *P. patula*, cáncer y muerte descendente en las ramas. Este hongo que se conoce como un parásito facultativo, ha producido grandes pérdidas asociado con daños por granizadas que coinciden con las lluvias de verano. Los rodales jóvenes son completamente destruidos y los rodales viejos pueden sufrir reducción en el incremento. Además, produce pérdidas secundarias debido al costo de las medidas de control sobre los rodales afectados.

Young (1936), en su investigación sobre un hongo parásito que afectaba las plantaciones de especies exóticas en "Queesland", Australia, identificó dos especies de *Diplodia* sobre diferentes especies de *Pinus* en las cuales la naturaleza del daño era típicamente la misma. Se estudiaron e identificaron especímenes de material muerto y cultivos puros de este hongo asociado con dos tipos de muerte descendente. La especie asociada con la muerte descendente de *Pinus radiata* resultó ser *Diplodia pinea*, mientras

que la asociada con la muerte descendente de *Pinus taeda* y *Pinus caribaea* fue *Diplodia natalensis*.

Arboles afectados de *Casuarina equisetifolia* presentaron muerte descendente durante los años secos en Puerto Rico. La enfermedad se caracterizó por cáncer a lo largo del tronco que produjo descortezado longitudinal y manchas oscuras en la madera. A partir de muestras de tejido afectado, se aisló el hongo *Botryodiplodia theobromae*, el cual se consideró como el organismo causal de la enfermedad (Liu y Martorrel 1973).

Se ha registrado a *B. theobromae* como un patógeno facultativo dañino, el cual produce numerosas enfermedades, solo o asociado con otros hongos primarios (Punithalingam 1978).

En el Este de Africa *B. theobromae* produjo un tipo de muerte descendente en varias especies de *Pinus* (incluyendo el *P. patula*), debido posiblemente a condiciones de stress hídrico (Gibson, 1969).

Tobón (1984) realizó estudios fisiológicos y morfológicos de los géneros *Diplodia* y *Botryodiplodia* con el fin de encontrar diferencias taxonómicas entre ambos. Este autor afirma que se ha presentado una gran confusión taxonómica debido a variaciones de condiciones de cultivo en los diferentes estudios realizados por varios investigadores. Finalmente concluye que no se encontraron diferencias taxonómicas en cuanto a morfología y ornamentación conidial entre estos géneros.

Webster *et al*, citados por Tobón (1984), concluyeron en uno de sus estudios que *D. natalensis* y *B. theobromae* son sinónimos y afirman, que los caracteres utilizados previamente para su identificación estuvieron influenciados por los medios de crecimiento.

## METODOLOGIA

Inicialmente se determinaron los síntomas y signos de la enfermedad por medio de reconocimientos de campo en las diferentes plantaciones afectadas.

### *Aislamiento e identificación*

Con el fin de determinar si el agente causal de la muerte descendente de *P. Patula* correspondía a la acción de un organis-

mo fitopatógeno, se realizó la siembra en laboratorio de tejido afectado a partir de muestras recolectadas en el campo.

Posteriormente se aislaron cultivos puros de los siguientes hongos: *Fusarium sp*, *Pestalotia funerea*, *Penicillium sp* y *Botryodiplodia sp*, dentro de los cuales se escogió este último para la realización de pruebas de inoculación, debido a la gran similitud entre los síntomas observados en el campo y aquellos reportados por varios investigadores en relación con este género.

Con el fin de conocer la forma más eficiente de cultivo y manejo del hongo, se realizó un ensayo de siembra en diferentes medios de crecimiento y pH, aplicando varias técnicas de esporulación. Los medios empleados fueron los siguientes: Mellin y Norcrham modificado (MNM), Sabourau (Sb), agar nutritivo (AN), agar malta (AM), papa-zanahoria-agar (PZA) y agar agua (AA). Los pH utilizados estuvieron entre 5,0 y 7,0. Los tratamientos de esporulación fueron: rajaduras + luz ultravioleta; rajaduras + luz ordinaria; acículas + luz ultravioleta; acículas + luz ordinaria; acículas + rajaduras + luz ultravioleta; testigo (luz ordinaria y temperatura ambiente de 21°C).

### *Ensayos de inoculación*

El huésped consistió en plántulas de *P. patula* de cuatro meses de edad. Los tratamientos fueron los siguientes:

1. Punción con solución de esporas maduras e inmaduras a una concentración de 40.000 esporas/ml,
2. Punción con macerado de estromas,
3. Frotado con solución de esporas y
4. Punción con agua destilada estéril (testigo).

La punción se efectuó en la región subapical en los últimos 5 cm antes del tope; el frotado se realizó alrededor del tallo y acículas en las regiones apical y subapical.

El número de plántulas inoculadas fue de 45 por tratamiento.

La fuente de inóculo consistió en estromas maduros aislados de cepas de dos meses de edad sobre agar malta.

Luego de realizada la inoculación, se procedió a la formación de cámaras húmedas empleando bolsas transparentes de polietile-

no adheridas a las macetas por medio de bandas de caucho; la fuente de agua consistió en un recipiente plástico sobre la tierra de la maceta. Todas las plántulas inoculadas se dispusieron en un laboratorio bajo condiciones iguales de luz, temperatura y humedad.

## RESULTADOS Y DISCUSION

### *Sintomatología*

*Yemas terminales*: Disparamiento pronunciado en ramas líderes y secundarias, generalmente con malformaciones, hipertrofia en los tejidos, ausencia marcada de acículas, heridas de un color azul violeta y resinosis.

*Yema apical*: Muerte descendente seguida por muerte de yemas laterales, lo que se traduce en una proliferación de yemas a partir del primer verticilo que tratan de sustituir la líder, presentando a través de su desarrollo la misma sintomatología en forma reiterativa.

*Verticilos*: Pronunciada hipertrofia, gran proliferación de ramas y muerte de algunas en la base del nudo, heridas y finalmente cáncer acompañado de resinosis.

*Ramas*: Malformaciones, heridas pronunciadas, chancros y cáncer.

*Fuste*: Malformaciones, hipertrofia, chancros y cáncer; mancha en la madera.

Como última expresión de la enfermedad se presentó la muerte descendente y progresiva de los individuos.

### *Fitopatógeno*

El ensayo de siembra realizado, demostró la efectividad del tratamiento de esporulación acículas estériles de *P. patula* + luz ultravioleta, en especial para el medio agar malta, en el cual se presentó la mayor fructificación en cuanto a cantidad y tamaño de estromas y a la rápida formación y madurez de esporas.

A los cinco días después de la siembra se observó una abundante formación de picnidios; a los siete días se presentó abundante formación de estromas, especialmente en agar malta y en general, en todos los tratamientos con acículas + rajaduras, expuestos tanto, a la luz ultravioleta como a la luz ordinaria. A los 25 días, se empezaron a observar esporas maduras. También pudo observarse que pH(s) muy ácidos y básicos inhiben el crecimiento de *Botryodiplodia*; un rango óptimo podría estar entre 5,0 y 6,5.

Luego de cultivar y purificar el hongo *Botryodiplodia* en sus condiciones más favorables se procedió a su descripción e identificación: crecimiento rápido, micelio inicial blanco, luego verde oliva a gris y finalmente negro cuando está maduro; estromas velludos; conidias inmaduras hialinas, granulares y ovales; conidias maduras con septo, no constrictas, elípticas, estrías longitudinales de color café,  $21,3-33,6 \times 15,0-18,9$  micras, en agar malta. De acuerdo con esta descripción, el hongo aislado correspondió a *Botryodiplodia theobromae* (Sin. *Diplodia natalensis*).

### Ensayos de inoculación

En el tratamiento N° 1, el 40% de las plántulas desarrolló muerte descendente y el 60% presentó heridas pronunciadas a lo largo del punto de infección. En el tratamiento N° 2, el 44% desarrolló heridas restringidas a partir del punto de infección. En el tratamiento N° 3, sólo un individuo (2%) desarrolló muerte descendente, 20% presentó secamiento de acículas y malformaciones a partir del punto de infección y el 78% resultó aparentemente no infectado. Por último en el tratamiento N° 4 (testigo), el 100% de las plántulas no desarrolló síntomas.

El resultado más contundente de inoculación se presentó en el tratamiento N° 1, en el cual el porcentaje de infección total correspondió al 100%.

Posteriormente, se tomaron muestras de tejido afectado a partir de las yemas terminales muertas, las cuales se sembraron en agar malta en el laboratorio, resultando finalmente el hongo inoculado (*D. natalensis*); con lo cual se comprobaron los postulados de Koch.

Con base en los resultados obtenidos se llegó a la conclusión que el agente causal de la muerte descendente de *P. patula* correspondió al hongo *D. natalensis*. Los síntomas que exhibieron

las plántulas inoculadas en el tratamiento N<sup>o</sup> 1 correspondieron a los síntomas que presentaron los individuos menores de dos años en el campo.

Comúnmente *D. natalensis* (Sin. *B. theobromae*) ha sido considerado por muchos investigadores como saprófito y parásito sobre un amplio rango de especies vegetales en los trópicos. Excepcionalmente se ha registrado como un patógeno débil o como un patógeno facultativo.

Considerando que la mayor parte de las plantaciones muestreadas no se encuentran bajo las condiciones medioambientales más adecuadas para el buen crecimiento y desarrollo de esta especie, no es difícil suponer que un patógeno facultativo se torne agresivo sobre individuos susceptibles que crecen en condiciones desfavorables.

Con base en la experiencia de reforestadores e ingenieros forestales en el establecimiento de plantaciones de *P. patula* a partir de la década del cincuenta en nuestro país, se sabe que esta especie presenta los mejores crecimientos a una altitud superior a los 2.000 m y en zonas húmedas a muy húmedas, específicamente en las zonas de vida bosque húmedo y muy húmedo montano bajo. El clima de la región de origen de esta especie presenta la característica de veranos lluviosos, al igual que en Suráfrica, donde se ha introducido exitosamente en plantaciones. En esta estación existe una buena humedad en el suelo, la cual permite que los árboles no se afecten por las altas tasas de transpiración. Todo lo contrario sucede en la estación seca en nuestro país donde la falta de lluvias crea un déficit de humedad en el suelo. En la zona de estudio, las dos estaciones secas son fuertes y prolongadas, especialmente entre los meses de noviembre y febrero, donde las altas temperaturas producen una tasa de transpiración igualmente elevada, lo que podría llevar a una especie de stress hídrico en los árboles.

Con base en las características medioambientales presentes en la zona de estudio se concluye que existen factores desfavorables para el adecuado crecimiento de *P. patula*, condición que hace las plantaciones más susceptibles al ataque de cualquier organismo patógeno.

## BIBLIOGRAFIA

- BUCHANAN, T. S. Diplodia twig blight of pine. p. 89-191. *En:* v Autor. Important forest insects and diseases of mutual concern to Canada, the United States and Mexico. Canada, Department of Forestry and Rural Development, 1976.
- GIBSON, I. A. S. Diseases of *Pinus patula*. A review. E.A.A.F.R.O. Technical Note N° 24 (1969); pp. 1-9.
- HOLDRIDGE, Leslie R. Ecología basada en zonas de vida. San José, Costa Rica: Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura, 1982. 216 p.
- HOYOS E., Claudia Helena. Determinación del agente causal de la muerte descendente del *Pinus patula* Shiede y Deppe en el Valle del Cauca. Medellín, 1987. 150 p. Tesis (Ingeniería Forestal). Universidad Nacional de Colombia.
- LIU LII, Jang; MARTORREL, Luis F. 1973. *Diplodia* stem canker and dieback of *Cuararina equisetifolia* in Puerto Rico. *En:* The Journal of Agriculture of the University Puerto Rico. Vol. 57, N° 3 (1973): pp. 225-261.
- PUNITHALINGAM, E. *Botryodiplodia theobromae*. *En:* CMI Descriptions of Pathogenic fungus and bacteria N° 519 (1976); pp. 1-3. Original no consultado. Resumen en: Forestry Abstracts. Vol. 38, N° 10 (octubre, 1977); p. 535.
- TOBON A., José Darío. Estudios fisiológicos y morfológicos sobre los géneros *Diplodia* Fr y *Botryodiplodia* Sacc. Medellín, 1984. 107 p. Tesis (Ingeniero Agrónomo). Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Agronomía.
- YOUNG, H. E. The species of *Diplodia* affeting forest trees. *En:* Queensland Agricultural Journal. Vol. 46 (1936); pp. 310-327.