
***Lasiodiplodia theobromae* afectando el Cultivo de Palto (*Persea americana*) en las condiciones de Piura-Perú¹**

I. Alama, E. Maldonado, y E. Rodríguez-Gálvez²

² Facultad de Agronomía, Departamento Académico de Sanidad Vegetal, Universidad Nacional de Piura
Campus Universitario s/n, Urb. Miraflores, Castilla, Piura

Resumen

Los objetivos de la presente investigación fueron describir la sintomatología, estudiar la incidencia y determinar la etiología de la enfermedad conocida como cancrrosis y muerte regresiva del palto. La descripción de los síntomas en los diferentes órganos de los árboles y las evaluaciones de la incidencia de la enfermedad, se hicieron en las zonas de Sol-Sol y Pedregal, Alto Piura. En el laboratorio de Fitopatología de la Universidad Nacional de Piura, se obtuvieron aislamientos monoconidiales del hongo a partir de tejido afectado. Las pruebas de patogenicidad se hicieron utilizando dos métodos de inoculación, primero inoculando micelio del hongo por heridas en el ápice del tallo y segundo, inyectando suspensiones conidiales en tallos de plántones variedad Hass injertado sobre patrón Topa Topa. También, se estudiaron las características culturales, morfológicas y biométricas del hongo. Se observaron cancrros acompañados de exudaciones blanquecinas y grumosas de tamaño variable en ramillas, ramas y tronco principal del árbol; en algunos casos muerte regresiva del follaje y defoliación y, en casos extremos la muerte total del árbol. En frutos la pudrición se inició en el punto de inserción del pedúnculo. La incidencia de la enfermedad fue de 86% en Sol-Sol y de 80% en Pedregal. El agente causal de la enfermedad fue identificado como *Lasiodiplodia theobromae*.

Palabras clave: *Cancrosis, muerte regresiva, palto, incidencia, pedúnculo, Lasiodiplodia theobromae.*

***Lasiodiplodia theobromae* affect the cultivation of Palto (*Persea americana*) under the conditions of Piura, Peru**

Abstract

The purposes of the present research were to describe the symptomatology, to study the incidence and to determine the etiology of the well-known disease called canker and avocado die back. The symptoms description in different organs of the trees and the evaluations of the incidence disease, were made in Sol-Sol and Pedregal zones, High Piura. In the laboratory of the National University of Piura, monoconidial isolates of the fungus from affected tissue were obtained. Pathogenicity tests were made using two methods of inoculation, first inoculating mycelium of the fungus by wound in the stem apex and second, injecting conidial suspensions into stems of small trees Hass variety grafted on Topa Topa. The cultural, morphologic and biometric characteristics of the fungus were studied, too. Cankers accompanied by whitish and clotted sap exudations of variable size in small branches, branches and main trunk of the tree were observed; in some cases foliage die back and defoliation and in extreme cases causing the death of the whole tree. In fruits, the rot begun in the point of peduncle insertion. The disease incidence was 86% in Sol-Sol and 80 % in Pedregal. The causal agent of the disease was identified as *Lasiodiplodia theobromae*.

Key words: *canker, die back, avocado, incidence, peduncle, Lasiodiplodia theobromae.*

¹ Trabajo de investigación que obtuvo el segundo puesto de premiación en el XVIII congreso peruano de Fitopatología realizado en la ciudad de Huaraz del 23 al 31 de Agosto del 2005.

² Autor para correspondencia, E-mail: erg@unp.edu.p

Introducción

El aguacate o palta (*Persea americana*) es una de las frutas más completas para la alimentación humana, contiene vitaminas A, B6, B3, B2, C, D, E, K; minerales como potasio, manganeso, magnesio, hierro y fósforo, y proteínas. Es tan alto su contenido en vitamina E, que la convierte en un poderoso antioxidante; del mismo modo, su alto contenido en grasas no saturadas le permiten disminuir significativamente el nivel de colesterol en la sangre (Franciosi, 1992)

Debido a su alto consumo per capita en el extranjero, la demanda de fruta de palta exportable se ha incrementado notablemente, convirtiéndose en uno de los cultivos alternativos de gran preferencia en el Perú. En los últimos años las áreas sembradas de palto en el Perú, se han incrementado en 70%, aproximadamente.

Las enfermedades tanto en pre- como en post-cosecha constituyen un factor limitante en la producción de este cultivo, destacando en las condiciones de Piura, la antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*), la pudrición radicular (*Phytophthora sp.*) y la marchitez (*Verticillium sp.*) (Rodríguez-Gálvez, datos no publicados).

En los últimos años se ha observado una fuerte incidencia de lesiones o chancros en las ramas de palto con presencia de exudaciones blanquecinas y muerte regresiva que causaron alarma en los agricultores.

Con estos antecedentes se desarrolló la presente investigación que tuvo como objetivo, describir la sintomatología, determinar la incidencia de la enfermedad e identificar al agente causal.

Material y métodos

Lugar de ejecución. - Las actividades de campo de esta investigación se desarrollaron en dos plantaciones de palto var. Hass. La primera, ubicada en Chulucanas Alto Piura,

fundo Sol Sol con árboles de 8 años de edad. La segunda, ubicada en San Lorenzo, fundo Pedregal con árboles de 10 años de edad. La fase de laboratorio se desarrolló en el laboratorio de Fitopatología de la Universidad Nacional de Piura.

Descripción de sintomatología en campo

Los síntomas de la enfermedad se analizaron *in situ*, observando minuciosamente los mismos en los diferentes órganos afectados del árbol, describiéndolos y tomando fotografías.

Recolección de muestras. De tallos y ramas afectadas por la enfermedad se recolectaron muestras, se colocaron en bolsas plásticas debidamente codificadas y se llevaron al laboratorio para su análisis respectivo. Para la extracción de las muestras se utilizó una cuchilla desinfectada en una solución acuosa de hipoclorito de sodio al 1,5% (w/w).

Incidencia de la enfermedad. Se evaluó tres veces con frecuencia de 60 días el 10% del total de árboles en cada fundo. Se consideró positivo aquel árbol que presentó por lo menos un órgano con los síntomas de la enfermedad. La incidencia se expresó en porcentaje de plantas afectadas.

Obtención de aislamientos. Las muestras recolectadas se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 1,5% en agua (w/w) durante 2 min, se lavaron en agua destilada estéril 3 veces por 1 minuto y se colocaron sobre papel absorbente para su secado final. En la cámara de flujo laminar (Nuair-USA) se cortaron porciones de tejido afectado de 2 mm de lado y se sembraron en medio Papa Dextrosa Agar (PDA), colocando 4 porciones por placa. Las placas sembradas se incubaron a 28 ± 1 °C durante 7 días a la sombra. Los aislamientos obtenidos se repicaron a tubos conteniendo PDA inclinado, conservándose a 5 °C en la refrigeradora.

Obtención de aislamientos monoconidiales.

De cada colonia fungosa se obtuvo una solución conidial utilizando agua destilada estéril (Rodríguez-Gálvez, 1995) y a partir de ésta se realizaron diluciones sucesivas en placa; obteniéndose aislamientos monoconidiales a partir de la dilución 10^{-5}

Pruebas de patogenicidad. Los aislamientos monoconidiales fungosos se inocularon en plántones sanos de palto de la variedad Hass injertados sobre patrón Topa Topa. Se realizaron 2 métodos de inoculación. El primero cortando el tallo a la altura del ápice con un bisturí estéril y colocando sobre el área de corte un disco, de 6 mm de diámetro, de agar con micelio del hongo de 7 días de edad. El segundo, consistió en inyectar a tallos sanos, una suspensión conidial del hongo a una concentración de 10^4 con.ml⁻¹ utilizando una jeringa hipodérmica estéril. Los plántones inoculados se cubrieron con bolsas plásticas humedecidas y se colocaron en el tinglado. Las evaluaciones se hicieron diariamente observando la aparición de síntomas y el avance de la enfermedad durante 4 meses después de la inoculación. Las plantas fueron regadas interdiario utilizando solución nutritiva Hoagland estéril.

Características culturales del patógeno. De cada aislamiento que reprodujo los síntomas de la enfermedad, se evaluó el color y la forma de la colonia en medio PDA. Se midió la velocidad de crecimiento a 25°C, 28°C, 30°C y 35°C tanto en PDA como en CMA (Harina de Maíz Agar). Para esto se sembró en el centro de cada placa un disco de agar con micelio del hongo y se evaluó diariamente el crecimiento radial de la colonia.

Características morfológicas y biométricas. Se evaluó la presencia, tamaño, forma y color de estructuras vegetativas y reproductivas. Para realizar las mediciones de estructuras se hicieron montajes de cada aislamiento, observándose al microscopio compuesto (Axioskop-Zeiss, Oberkochen Alemania) con lámina micrométrica incorporada. Se

realizaron un total de 100 mediciones por estructura.

Resultados

Sintomatología. - El síntoma más conspicuo fue la presencia de chancros acompañados de exudados blanquecinos y grumosos de tamaños variables ubicados indistintamente en el tronco y ramas de árboles jóvenes y adultos afectados (Figs. 1-8). Al realizar cortes longitudinales de la corteza en la zona de los chancros, la zona sub-epidérmica ubicada debajo de los chancros siempre presentó tejido necrotizado de color marrón oscuro, cuya intensidad aumentó a medida que se profundizaba, comprometiendo en muchos casos al cilindro central (Figs. 8a y 8b). Otro síntoma observado con frecuencia fue la necrosis del follaje y de ramillas, las mismas que presentaron muerte total del tejido con avance basipetal, produciendo un síntoma típico de muerte regresiva (Figs. 9-10). La necrosis de follaje originó una defoliación severa y muerte de todo el árbol; en estas condiciones, los árboles afectados fueron podados severamente (Fig. 11). Sin embargo, en muchos casos a pesar de realizada esta medida cultural, la corteza ya estaba infectada y presentaba necrosis (Fig. 12). Un tercer síntoma observado fue la pudrición de frutos en la parte de inserción al pedúnculo (Fig. 13); al realizar cortes longitudinales de frutos afectados se observó una pudrición interna que comprometía gran parte del mesocarpio (Fig. 14).

Incidencia de la enfermedad. La mayor incidencia de la enfermedad se presentó en la zona de Sol Sol con un porcentaje inicial de 52% de plantas afectadas, valor que luego se incrementó a 65% y terminó en la última evaluación con 86%. En la zona de Pedregal la incidencia de la enfermedad se inició con 56%, ascendió a 74% y finalizó con 80% de plantas afectadas.

Aislamientos fungosos. De la zona de Chulucanas se obtuvo 50 aislamientos fungosos de los cuales 80% pertenecieron al género *Lasiodiplodia* spp., 10% a

Colletotrichum spp. y 10% a *Fusarium* spp. De la zona de Pedregal se obtuvo 80% del género *Lasiodiplodia* spp., 10% del género *Fusarium* spp., 5% de *Colletotrichum* spp. y 5% de *Alternaria* spp.

Pruebas de patogenicidad. 20 aislamientos del género *Lasiodiplodia* spp. y 5 de los otros géneros obtenidos fueron ensayados por cada sector. Todos los aislamientos de *Lasiodiplodia* spp. provocaron la formación de chancros con secreciones blanquecinas, así como muerte regresiva (Figs. 15-17). El análisis microscópico de los exudados blanquecinos revelaron únicamente la presencia de cristales más no así la presencia de estructuras del patógeno (Fig. 18). Los aislamientos de *Colletotrichum* spp., *Fusarium* spp. y *Alternaria* spp. no produjeron ningún síntoma. De los 2 métodos de inoculación probados, el más eficiente fue el de corte del tallo, que permitió observar el avance basipetal de la necrosis. De todas las muestras inoculadas que presentaron los síntomas típicos de la enfermedad, se logró reaislar a *Lasiodiplodia* spp. en medio PDA.

Velocidad de crecimiento. La velocidad de crecimiento del hongo dependió de dos factores estudiados: La temperatura y el medio de cultivo. A 30°C en medio PDA el patógeno creció 20,22 mm/día llenando la placa en 4,5 días. En medio CMA la velocidad de crecimiento fue de 11,03 mm/día y completó la placa en 8 días. A 28°C el patógeno creció a 14,46 mm/día en PDA y 8,74 en CMA. El menor crecimiento del hongo se registró a 35 °C con velocidades de 11,14 mm/día en PDA y 6,9 mm/día en CMA.

Características culturales. En PDA el hongo formó micelio aéreo abundante, algodonoso de color gris oscuro, en CMA el micelio fue rastrero, ralo, de color oscuro, pudiendo diferenciarse fácilmente los picnidios formados.

Características morfológicas y biométricas.- Las hifas del patógeno son septadas, oscuras y miden de 1,5-2,8 µm de diámetro. Sobre éstas, se forman estructuras

de fructificación asexuales llamados picnidios, de color oscuro, con medidas promedio de 493,04 x 622,82 µm (Fig. 19), con ostiolos en la parte apical por donde son expulsadas las conidias. La formación de los picnidios también se observó sobre muestras vegetales infectadas por el patógeno y expuestas a la luz solar (Fig. 21). Dentro de los picnidios se formaron conidias hialinas y aseptadas cuando están inmaduras y oscuras y septadas con estrías longitudinales cuando están maduras, de 26,54 x 11,35 µm (Fig. 20). En condiciones de alta humedad relativa, se observó a las esporas salir de los picnidios unidas una tras otra formando hilos (Fig. 22).

Con las características anteriormente descritas y tomando como referencia a Sutton (Sutton, 1980), se identificó al hongo *Lasiodiplodia theobromae* como el agente causal de la enfermedad.

Discusión

El agente causal de la enfermedad en estudio es *Lasiodiplodia theobromae* y constituye el primer reporte científico en el Perú, que reporta a este patógeno afectando palto, descartando fehacientemente la posible participación de *Dothiorella* spp., que estuvo considerado de manera empírica, como responsable de cancrisis y muerte regresiva en palto.

La incidencia de la cancrisis fue semejante en la zonas evaluadas y superaron el 80% de plantas afectadas al terminar esta investigación, lo que demuestra la peligrosidad de la misma. Los síntomas de muerte regresiva se observaron sólo en el 10% de las plantas afectadas con cancrisis, lo que indicaría que es un síntoma terminal de la enfermedad. Es posible que este síntoma se presente cuando el patógeno invade el sistema vascular de la planta, ocasionando un bloqueo del transporte de agua y nutrientes.

La presencia de chancros ha sido reportada en manzano por Latorre y Toledo (1984); y en palto por Faber y Ohr (1999), los mismos que indicaron como agente causal a *Dothiorella*

spp. Es conocido que los patógenos están distribuidos geográficamente y por lo tanto predominan de acuerdo a las condiciones agro-climáticas de la zona donde se desarrollan las plantaciones (Delgado, Comunicación personal), lo que supone que en el norte del Perú la cancrisis y muerte regresiva del palto es ocasionada por *L. theobromae* Pat.

Los síntomas de muerte regresiva observados en el presente estudio se asemejan a los descritos en palto por Rondón y Guevara (1984), Mori y Panizo (1984) y Rondón y Figueroa (1973); los mismos que reportan a *L. theobromae* como el agente causal de la enfermedad, sin embargo en esas condiciones no reportaron la presencia de canchros.

Además de palto, *L. Theobromae* ha sido reportado causando muerte regresiva en otros hospedantes como *Fortunella margarita* (Ko, 2004), mango (Rodríguez-Gálvez, 2003; Rodríguez-Gálvez *et al.* 1999) y *Passiflora edulis* (Cedeño *et al.*, 1995); estos reportes sustentan la tesis de la no especificidad del patógeno.

Los síntomas de pudrición de frutos en palto, observadas en la presente investigación, han sido también reportados en otros hospedantes como mango (Rodríguez-Gálvez, 2003), coincidiendo en que, el inicio de la infección se inicia a través del pedúnculo del fruto.

La velocidad de crecimiento de *L. Theobromae* en PDA fue más rápida que en CMA coincidiendo con el crecimiento de todos los hongos en general, sin embargo el desarrollo del hongo en CMA tiene una ventaja, ya que permite visualizar rápidamente la formación de los picnidios debido al crecimiento ralo del micelio; esto es importante para fines netamente experimentales.

Respecto a los hongos aislados de muestras afectadas como *Colletotrichum* spp., *Alternaria* spp. y *Fusarium* spp., se deben

considerar como agentes contaminantes ya que no produjeron ningún síntoma al ser inoculados en plantas sanas. Es importante recalcar que en trabajos previos se determinó que estos hongos son parte de la filosfera del mango en las condiciones de Piura (Rodríguez-Gálvez y Culqui, datos no publicados).



Fig. 1: Cancro ubicado en la intersección de una rama al tronco. **Fig. 2:** Cancro con exudaciones blancuecinas ubicadas a lo largo de una rama. **Fig. 3:** Cancrosis diseminada en las ramas principales del árbol, obsérvese las secreciones blancuecinas. **Fig. 4:** Cancro ubicado en una rama aparentemente sana.



Fig. 5: Cancrosis en dos ramas jóvenes de una misma planta, obsérvese las secreciones blanquecinas, aún en la rama muerta (Flecha). **Fig. 6:** Cancrosis y exudaciones en el tallo de una planta joven. **Fig. 7:** Cancrosis con exudaciones en tres ramas de una misma planta. **Fig. 8a:** Cancrosis en una rama, las secreciones blanquecinas se retiraron. **8b:** Tejido necrotizado ubicado debajo del cancro, luego de realizar un corte longitudinal.



Fig. 9: Muerte regresiva en un árbol adulto, obsérvese la defoliación resultante de la muerte de las hojas y ramas. **Fig. 10:** Muerte regresiva en un árbol adulto. Obsérvese la necrosis de ramas y hojas.



Fig. 11: Árbol podado severamente a consecuencia de la cancrrosis y muerte regresiva. **Fig. 12:** Tocón del árbol podado pero con la infección severa del hongo, las manchas negras (Flecha) que se observan corresponden a estructuras reproductivas del patógeno. **Fig. 13:** Pudrición del fruto en la zona de inserción del fruto, obsérvese la zona necrotizada. **Fig. 14:** Al cortar el fruto afectado se observa la pudrición del mesocarpio que se inicia en la zona de inserción y avanza a todo el fruto

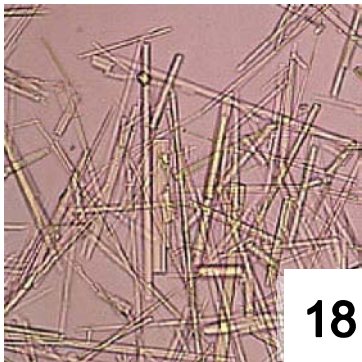


Fig. 15: Síntoma de cancosis son presencia de secreciones blanquecinas en plantón de palto inoculado artificialmente mediante inyección de conidias del hongo. **Fig. 16:** Muerte regresiva en un plantón de palto inoculado artificialmente mediante corte del tallo, obsérvese la zona necrótica de avance de la enfermedad. **Fig. 17:** Plantón de palto afectado por muerte regresiva luego se ser inoculado artificialmente mediante corte de tallo. **Fig. 19:** Cristales componentes de los exudados presentes en los cancos, obsérvese que no se encuentran estructuras del patógeno.

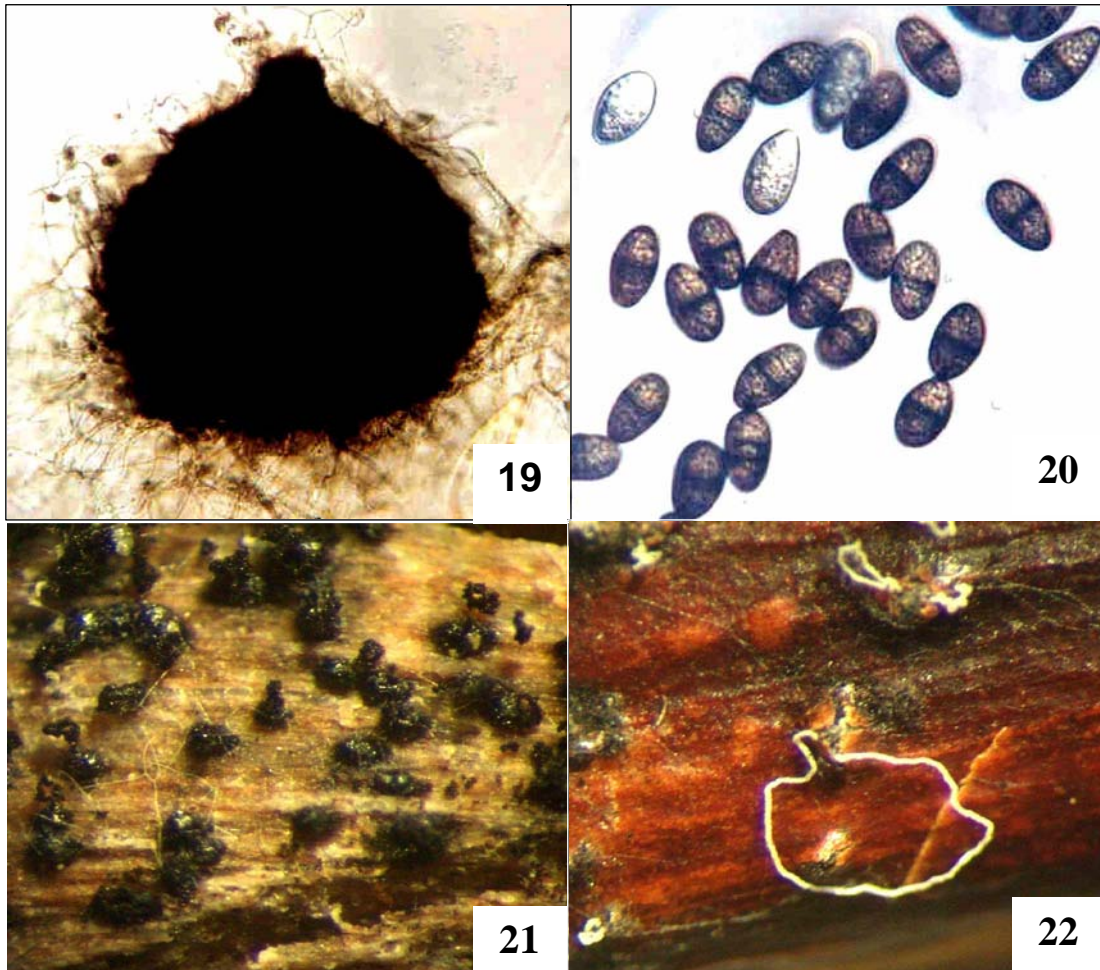


Fig. 19: Picnidio de *Lsiodiplodia theobromae* **Fig. 20:** Esporas inmaduras (blancas y aseptadas) y maduras (oscuras y septadas). **Fig. 21:** Picnidios formados sobre tejido vegetal infectado por el hongo. **Fig. 22:** Conidias unidas unas a otras formando “hilos” y saliendo de un picnidio en condiciones de alta humedad relativa.

Referencias bibliográficas

Cedeño, L; C. Carrero; S. Mohali; E. Palacios-Prü y Quintero, 1995. K. Muerte Regresiva en Parchita causada por *Lasiodiplodia theobromae* en Venezuela. Fitopatol Venezo.; 8(1):11-14.

Faber, B. and Ohr, H.D. 1999. UC IPM Pest Management Guidelines: Avocado, UC DANR Publication 3339.

Franciosi R. 1992. El cultivo del Palto en el Perú. Lima: Fundeagro; p. 124.

Ko, W.H. 2004. *Lasiodiplodia theobromae* as a causal agente of Kumquat dieback in Taiwan. Plant Dis. 88:1383.

Latorre, BA. y Toledo MV. 1984. Occurrence and relative susceptibilty of apple cultivars to *Botryosphaeria* canker in Chile. Plant Disease. 68: 36-39.

Mori, Z. y Panizo, C. 1984. Muerte descendente en manzano, palto y mango inducidos por *Botryodiplodia theobromae*. Fitopatología 19:47 (Abstr.)

Rodríguez-Gálvez, E. 2003. Muerte Regresiva del mango. Ed. Filmart Pueblo Libre-Lima. 28 pp.

Rodríguez Gálvez, E. 1995. Lichtmikroskopische, elektronenmikroskopische und immunelektronenmikroskopische Untersuchungen der Wirt-Pathogen Interaktion *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* und Baumwolle (*Gossypium barbadense* L. cv. Pima). Dr. Koster Verlag. Berlin. Bundesrepublik Deutschland. 123 pp.

Rodríguez-Gálvez, E., Maldonado, E. y Ayala Díaz, M. 1999. Incidencia de la muerte apical descendente causada por *Lasiodiplodia theobromae* en el cultivo de mango en Piura, Perú. Fitopatología 34 (2): 90-95

Rondón, A. y Guevara, Y. 1984. Algunos aspectos relacionados con la muerte regresiva del aguacate (*Persea americana* Mill). Agronomía Tropical. 34(1-3): 119-129.

Rondón, A. Y Figueroa, M. 1973. Enfermedades mas importantes en el cultivo del aguacate en Venezuela. II Seminario de Fruticultura, Caracas. Fondo de Desarrollo Frutícola. 500-512 pp.

Sutton, B. C. 1980. The Coellomycetes. Commonwealth Mycological Institute. Kew, Surrey, England. 696 pp.