

## ANÁLISIS MORFOMÉTRICO DEL GÉNERO *Colletotrichum* EN PALMA ACEITERA

Morphometric analysis to the genus *Colletotrichum* en oil palm

Domínguez, Ilka<sup>1</sup>; Mohali, Sari<sup>2</sup>; Pino, Henry<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Entomología, <sup>2</sup>Centro de Estudios Forestales y Ambientales de Postgrado (CEFAP), <sup>3</sup>Laboratorio de Fitopatología, Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela, 5101-A.

Inicio de la investigación: enero 2011; finalización: noviembre 2012

### RESUMEN

La palma aceitera es una planta tropical propia de climas cálidos. Su origen se ubica en el golfo de Guinea en el África occidental. De ahí su nombre científico (*Elaeis guineensis* Jacq) y su denominación popular palma africana de aceite. Siembra de grandes extensiones de este cultivo, ha ocasionado que se produzcan condiciones favorables para el desarrollo de enfermedades. La antracnosis es una de las patologías más importantes a nivel de vivero y plantaciones jóvenes. La investigación tuvo como objetivo realizar la caracterización y análisis morfométrico del agente causal de la enfermedad, a través de la identificación microscópica de las estructuras del patógeno, incluyendo la descripción de su forma y tamaño; la caracterización morfológica basada en la evaluación macroscópica del diámetro de la colonia, tasa de crecimiento, patrón de crecimiento, tipo de micelio y color. Los 50 aislamientos provenientes de los diferentes tejidos de plantas de palma aceitera fueron identificados a través de la caracterización morfométrica con la especie del hongo *Colletotrichum gloeosporioides*.

**Palabras clave:** Palma aceitera, *Elaeis guineensis* Jacq, antracnosis, *Colletotrichum gloeosporioides*.

### ABSTRACT

The oil palm is a tropical plant itself warm climates. Its origin is located on the Gulf of Guinea in West Africa. So its scientific name (*Elaeis guineensis* Jacq) and popular name palm oil. Large plantings of this crop, it has caused favorable for disease development conditions occur. Anthracnose is one of the most important pathologies level nursery and young plantations. The research aimed to perform morphometric analysis and characterization of the causative agent of the disease, through the microscopic identification of the structures of the pathogen, including a description of its shape and size; morphological

characterization based on macroscopic evaluation of colony diameter, growth rate, growth pattern, type and color of mycelium. The 50 isolates from different tissues of oil palm plants were identified by morphometric characterization with the species of the fungus *Colletotrichum gloeosporioides*.

**Key words:** Oil palm, *Elaeis guineensis* Jacq, anthracnose, *Colletotrichum gloeosporioides*.

## INTRODUCCIÓN

El cultivo de la palma aceitera también llamado palma africana, se ha venido expandiendo en forma acelerada en un número creciente de países de América del Sur. La palma aceitera (*Elaeis guineensis* Jacq.) es originaria de África Occidental, donde las poblaciones locales la utilizan para los más diversos usos, desde los alimenticios a los medicinales, incluyendo también el uso de sus fibras, así como de su savia para la fabricación de vino de palma. Durante el siglo XX se transforma en cultivo comercial, estableciéndose en varios países africanos para luego ser introducida en América, difundiéndose y adaptándose rápidamente por todo el continente (Carrere, 2006).

La producción mundial de aceite de palma se calcula en más de 3.000 millones de toneladas métricas. Los principales países productores son: Malasia (41.5%), Indonesia (36.5%), Nigeria (3.8%), Tailandia (2.9%), Colombia, Zaire, Costa de Marfil, y otros países africanos y sudamericanos (Grupo El Chao, 2008; Mingorance *et al.*, 2004). Para el año 2008 la producción en Venezuela se estimó en 327.750 toneladas/año y el área cosechada fue de 26.713 ha (FAOSTAT, 2010). Es un cultivo que tarda entre 4 y 5 años para empezar a producir frutos y alcanza su mayor producción entre los 20 y 25 años (Grupo El Chao, 2008; Carrere, 2006). Dentro de los cultivos de semillas oleaginosas es el que produce mayor cantidad de aceite por ha, con un contenido del 50% en el fruto. Puede rendir de 3.000 a 5.000 Kg de aceite de pulpa por ha, además de 600 a 1.000 Kg de aceite de palmiste (Grupo El Chao, 2008; Vallejo, 1984). En los últimos años en Venezuela se ha generado gran interés por la siembra y procesamiento de este cultivo, debido al alto déficit de aceites y grasas vegetales que alcanza alrededor de un 80% de la demanda interna; de aquí que el mismo haya sido considerado rubro bandera por el Gobierno Nacional (Labarca *et al.*, 2006). El cultivo de la palma aceitera es actualmente beneficioso para Venezuela por dos razones fundamentales: por sus altos rendimientos de aceite por hectárea y por los múltiples productos y subproductos de valor agrícola e industrial; en síntesis este cultivo agrónomicamente es mucho más eficiente que cualquier otro producto oleaginoso (Hernández *et al.*, 2002).

Según Raygada (2005), los agroecosistemas donde frecuentemente se cultiva la palma aceitera reúnen todas las características favorables para la presencia de fitopatógenos y el desarrollo de enfermedades, ya que es un cultivo de trópico y monocultivo que cubre grandes extensiones. La presencia de las enfermedades está relacionada con ataques de hongos, bacterias, nematodos, virus, micoplasmas, protozoarios y otros microorganismos infecciosos. También se presentan enfermedades fisiogénicas o no parasitarias producto de factores climatológicos o edáficos. No obstante, todos los factores que tienden a debilitar y disminuir el

desarrollo normal de la palma aceitera benefician la aparición, prevalencia y severidad de las enfermedades (ACUPALMA, 2008; FONAIAP, 1991). Las enfermedades en palma aceitera y su importancia económica varían de un país a otro y dentro de una misma localidad. En general puede ocasionar el debilitamiento de las plantaciones, la disminución de la longevidad de las plantas y finalmente pérdidas en la calidad y cantidad de los frutos. Las enfermedades de la palma aceitera se pueden presentar a nivel de los folíolos, estipe, racimos, flechas, sistema vascular y raíces de la planta (ACUPALMA, 2008; FONAIAP, 1991).

*Colletotrichum* y su teleomorfo *Glomerella* es uno de los géneros de hongos patógenos más importantes en las plantas alrededor del mundo; especialmente se ha asociado con problemas de pre-cosecha y post-cosecha en cultivos de las regiones tropicales y sub-tropicales. El hongo causa enfermedades económicamente significativas, afectando todos los estados de la planta desde semillas hasta plantas maduras. Los síntomas de la enfermedad son comúnmente conocidos como "Antracnosis" (Freeman *et al.*, 1998; Bailey & Jeger, 1992; Sutton, 1992). Las antracnosis son enfermedades del follaje, tallos o frutos que típicamente aparecen como manchas grandes o pequeñas de colores oscuros, o lesiones ligeramente sumidas que poseen un contorno ligeramente levantado. Además de las manchas foliares, las antracnosis con frecuencia tienen una etapa inicial prolongada en la infección de los frutos y pueden producir la muerte descendente de las ramas de las plantas, es una enfermedad que ataca severamente plantas bajo algún tipo de estrés, particularmente nutricional (ej. excesos de fertilización), o de suministro de agua (déficit seguido de excesos) (Salazar *et al.*, 1992).

La presente investigación tuvo como objetivo realizar la caracterización y análisis morfométrico del agente causal de la antracnosis en plantas de palma aceitera de la zona Sur del Lago de Maracaibo-Venezuela, para cotejar los resultados obtenidos con los reportes de esta enfermedad en otros hospederos.

## **MATERIALES Y MÉTODOS.**

### **Localización**

Se colectaron plantas sintomáticas entre cuatro y seis años de edad, de una plantación de 300 ha de palma aceitera de la especie *Elaeis guineensis* Jacq., ubicada en la hacienda "La Trinidad", situada en el sector Río Frio en la jurisdicción de los municipios Caracciolo Parra y Olmedo del estado Mérida y Sucre del estado Zulia de Venezuela.

### **Aislamiento y purificación de *Colletotrichum* sp.**

Se evaluaron cinco lotes con aproximadamente 3190 plantas en producción y de cada lote se extrajo una muestra de cinco plantas con síntomas visibles de antracnosis, para un total de 25 plantas colectadas. Este material fue resguardado para su transporte, en bolsas plásticas para hojas y raquis, y en bolsas de papel para los frutos. El material fue llevado al laboratorio de fitopatología donde se examinaron con lupa estereoscópica con el fin de detectar la presencia de las estructuras (signos) de patógenos. Se efectuaron aislamientos de las hojas, raquis y frutos, de donde se observaron los síntomas de antracnosis. Siguiendo la metodología propuesta por Agrios (2004), de la zona de avance se cortaron

fragmentos de tejido de 2-3 mm de longitud, seguidamente fueron sumergidos por 1 minuto en solución al 0,5% de hipoclorito de sodio (NaClO) y luego lavados en tres cambios de agua destilada estéril (ADE), secados con papel absorbente estéril y sembrados asépticamente en placas de agar-agua suplementado con ácido láctico (AA) (2,25g de agar, 100mL de ADE, ácido láctico 50%). Posteriormente las placas se incubaron a una temperatura de  $25 \pm 2$  °C y 8 horas de luz blanca fluorescente; las colonias emergentes se observaron con microscopio y fueron transferidas a los 8 días a cuñas de medio de cultivo de papa-dextrosa agar (PDA) (19,5g de PDA comercial, 500mL de ADE). La identidad inicial del patógeno se estableció comparando las características morfológicas de las estructuras reproductivas con la información registrada en la literatura especializada. Los aislamientos del hongo se purificaron por cultivo monoconidial a partir de las cuñas de preservación. Para ello se tomaron los aislados provenientes de las hojas, raquis y frutos de *Colletotrichum* sp. con un tiempo de crecimiento de 15 días. Con una aguja de disección estéril se tomó material de la zona de producción de conidias y se colocó en un tubo de microcentrífuga que contenía 1 mL de ADE. Se agitó suavemente para el desprendimiento de las conidias y se agitó en vortex hasta homogeneizar. Una vez efectuada la suspensión se realizó la estimación del título en la cámara Neubauer. De la suspensión de conidias para los aislados de hoja, raquis y fruto, se tomó un volumen que contenía 50 conidios/iL para ser sembrados en placas individuales en medio de cultivo PDA, a este volumen se le agregaron 0.3 mL de ADE y se dispersó con una varilla de vidrio estéril por toda la placa sin dejar que se secase completamente. Una vez que la suspensión es absorbida por el medio, las placas fueron colocadas invertidas y el hongo se incubó a una temperatura de  $25 \pm 2$  °C y 8 horas de luz blanca fluorescente. Se observó la germinación de las conidias bajo el estereoscopio, evidenciándose a las 48 horas de haberse efectuado la siembra. Posteriormente, se tomó una aguja previamente esterilizada a la flama, se ubicaron las conidias que germinaron en forma aislada y se tomó el segmento de agar de donde se encontraban éstas. Se transfirieron una por una las conidias en germinación a cuñas de medio PDA para su preservación.

#### **Identificación morfológica**

El análisis macroscópico de las colonias consistió en la evaluación de la forma y tipo de micelio de los aislados monoconidiales. Para esto se extrajeron fragmentos de micelio creciendo en PDA, de 8 mm de diámetro que fueron transferidos a placas petri con medio PDA e incubados en la oscuridad a 25°C. Se evaluó el diámetro de la colonia y la tasa de crecimiento, a partir de la medición diaria de las colonias durante 6 días. Esta evaluación se discriminó por sitio de aislamiento (hoja, raquis y fruto) y por día. El color de las colonias fue reconocido usando la nomenclatura del color propuesta por Kornerup & Wanscher (1978). Para el análisis microscópico se evaluó la forma y el tamaño de las conidias que se registró a los 9 días de haberse sembrado las colonias. Las conidias fueron removidas de la zona de producción (masas de color naranja pálido), y posteriormente montadas en lactofenol para efectuar las mediciones en un microscopio fotónico Zeiss, modelo Axioplan. Se midió la longitud y ancho en  $\mu\text{m}$  de 60 conidias de tres aislamientos que fueron seleccionados al azar de hoja, raquis y fruto que presentaban

heterogeneidad en el color de sus colonias, los mismos fueron también incluidos en la secuenciación. Los datos morfológicos fueron analizados usando la prueba de Oneway (ANOVA) y la prueba de comparación de medias de Duncan que fue calculada a  $P < 0.05$ , con el paquete estadístico SPSS Statistics 17.0 versión para Windows.

## RESULTADOS.

### Aislamiento y purificación del hongo *Colletotrichum* sp.

Los síntomas de antracnosis en las plantas de palma aceitera infectadas naturalmente se caracterizaron por presentar en los foliolos de las hojas, manchas alargadas, redondeadas o irregulares en sentido de las nervaduras y hacia el ápice del foliolo, con una coloración marrón oscura que luego se tornó grisácea y con bordes amarillos; en los raquis se observaron manchas alargadas e irregulares con una coloración marrón clara o grisácea y con bordes levantados bien definidos de color marrón oscuro. Al efectuar un corte transversal en los raquis se detectó una coloración marrón oscura en las fibras que lo componen. Los frutos se observaron altamente afectados con lesiones necróticas que poseen superficies corchosas hundidas en el ápice y en la base, con bordes levantados bien definidos de color oscuro; hacia el centro de los frutos se presentaron lesiones concéntricas hundidas de color marrón oscuro y en las lesiones se detallaron pequeños acérvulos subcuticulares y subepidermales de color negro dispuestos en forma dispersa, así como la aparición de un micelio conspicuo de color gris oscuro y masas de conidios de color naranja pálido o salmón. En la fase más avanzada de la enfermedad se observó necrosis en todo el fruto rodeado de un micelio de color gris oliva y blanco con masas de conidios de color naranja pálido. De las 25 plantas sintomáticas colectadas en los 5 lotes de producción, se obtuvieron un total de 100 aislamientos entre hojas, raquis y frutos. Una vez purificados, se redujo este número a 50 aislados monoconidiales presuntivos de *Colletotrichum* sp. con base en la caracterización macro y microscópica descrita en la sección metodológica.

### Identificación morfológica

Los 50 aislamientos monoconidiales sub-cultivados en PDA desarrollaron colonias fúngicas similares a las colonias iniciales aisladas de las plantas sintomáticas. El patrón de crecimiento de todas las colonias fue radial o en círculos concéntricos. El tipo de micelio fue liso en los primeros días y aéreo con aspecto algodonoso o denso a mayor edad de la colonia; sin embargo, en algunos aislados se observaron colonias con micelio subaéreo y plano. El 80% de las colonias evaluadas presentan micelio de tipo aéreo-algodonoso, mientras el 20% se caracterizaron por un micelio de tipo subaéreo-plano. El diámetro de las colonias de los 50 aislados en PDA después de 6 días de incubación en la oscuridad a 25°C, no fue significativamente diferente por sitio de aislamiento ( $P=0.281$ ) (Tabla 1.2). En los aislados de hoja, el diámetro alcanzado tuvo un rango de (59,00 - 87,50 mm) con una media de 76,06 mm; para raquis (72,00- 85,00 mm) con una media de 76,10 mm y para fruto (60,00- 81,50 mm) una media de 73,06 mm (Tabla 1.1). No se presentaron diferencias significativas en la tasa de crecimiento diaria por sitio de aislamiento ( $P=0.955$ ) (Tabla 2.2); así, para los aislados de hoja el crecimiento fue

de 11,34 mm d<sup>-1</sup>, raquis 11,35 mm d<sup>-1</sup> y fruto 10,84 mm d<sup>-1</sup> (Tabla 2.1). Los colores evaluados siguiendo la nomenclatura propuesta por Kornerup & Wanscher (1978) fueron: blanco= -A1; gris claro= 1C1; gris oliva= 1-2-3D2; gris oscuro= 1F1; amarillo pálido= 3-4A3; amarillo vivo= 3A8; naranja pálido= 5-6A3 y Marrón oliva= 4F3. Se observó policromía en el tope y reverso de todas las colonias evaluadas; sin embargo, la característica color fue restrictiva para agrupar las colonias por sitio de aislamiento, debido a que el grupo fue muy heterogéneo. En el 50% de los aislamientos predomina los colores gris oliva, gris claro y gris oscuro, mientras el otro 50% de las colonias tienen coloraciones que van desde el blanco, naranja pálido, amarillo pálido, amarillo vivo y marrón oliva, independientemente del sitio de aislamiento. En algunas colonias se observó la presencia de acérvulos de color gris oscuro. Las conidias producidas *in vitro* en los tres aislamientos seleccionados para la evaluación, se identificaron como nucleadas hialinas, rectas, cilíndricas con extremos obtusos que se produjeron en masas de consistencia pegajosa de color naranja; así mismo se observó la presencia de acérvulos con setas, sin embargo, esta característica no fue objeto de medición en la investigación. Las dimensiones de las conidias fueron las siguientes: para el aislado Hoja 24 (10,0 x 5,0 – 17,50 x 7,50 μm) con promedio de (14,50 x 5,58 μm); aislado Fruto 28 (10,0 x 5,0 – 17,50 x 7,50 μm) con promedio de (13,16 x 5,50 μm) y aislado Raquis 02 (12,50 x 5,0 – 17,50 x 7,50 μm) con promedio de (14,54 x 5,64 μm) (Tablas 3.1 y 4.1). Se detectó diferencia significativa en los promedios obtenidos para la longitud de las conidias de los tres aislamientos ( $P=0.000$ ) (Tabla 3.2), no obstante en los promedios del ancho de las conidias no hubo diferencia significativa ( $P=0.739$ ) (Tabla 4.2). De estas observaciones morfológicas resultó evidente que las características morfométricas evaluadas son distintivas de los hongos del género *Colletotrichum*.

**Tabla 1. Una sola vía. Diámetro de la colonia por sitio de aislamiento (mm)**

**Tabla 1.1 Descriptiva**

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Minimum	Maximum
Hoja	25	76,0600	6,58489	1,31698	59,00	87,50
Raquis	10	76,1000	4,78307	1,51254	72,00	85,00
Fruto	15	73,0667	5,73170	1,47992	60,00	81,50
Total	50	75,1700	6,06311	,85745	59,00	87,50

**Tabla 1.2 Análisis de varianza**

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	94,812	2	47,406	1,306	,281
Within Groups	1706,493	47	36,308		
Total	1801,305	49			

**Tabla 1.3 Prueba de comparación de medias Duncan<sup>a,b</sup>**

Sitio de Aislamiento	N	Subset for alpha = 0.05
		1
Fruto	15	73,0667
Hoja	25	76,0600
Raquis	10	76,1000
Sig.		,207

**Tabla 2. Una sola vía. Tasa de crecimiento diaria (mm)**

**Tabla 2.1 Descriptiva**

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Minimum	Maximum
Hoja	6	11,3433	2,89412	1,18152	7,06	14,31
Raquis	6	11,3500	2,90067	1,18419	7,30	14,03
Fruto	6	10,8450	4,01989	1,64111	5,27	15,23
Total	18	11,1794	3,12253	,73599	5,27	15,23

**Tabla 2.2 Análisis de varianza**

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1,007	2	,503	,046	,955
Within Groups	164,747	15	10,983		
Total	165,753	17			

**Tabla 2.3 Prueba de comparación de medias  
 Duncan<sup>a</sup>**

Sitio de Aislamiento	Subset for alpha = 0.05	
	N	1
Fruto	6	10,8450
Hoja	6	11,3433
Raquis	6	11,3500
Sig.		,806

**Tabla 3. Una sola vía. Longitud de las conidias (µm)**

**Tabla 3.1 Descriptiva**

					Minimum	Maximum
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error		
Hoja 24	60	14,5000	1,70989	,22075	10,00	17,50
Fruto 28	60	13,1667	1,51732	,19589	10,00	17,50
Raquis 02	60	14,5417	1,75222	,22621	12,50	17,50
Total	180	14,0694	1,77330	,13217	10,00	17,50

**Tabla 3.2 Análisis de varianza**

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	73,403	2	36,701	13,272	,000
Within Groups	489,479	177	2,765		
Total	562,882	179			

**Tabla 3.3 Prueba de comparación de medias**

Sitio de Aislamiento	N	Subsetforalpha = 0.05	
		1	2
Fruto 28	60	13,1667	
Hoja 24	60		14,5000
Raquis 02	60		14,5417
Sig.		1,000	,891

**Tabla 4. Una sola vía. Ancho de las conidias ( $\mu\text{m}$ )**

**Tabla 4.1 Descriptiva**

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Minimum	Maximum
Hoja 24	60	5,5833	1,04117	,13441	5,00	7,50
Fruto 28	60	5,5000	,98183	,12675	5,00	7,50
Raquis 02	60	5,6458	1,06693	,13774	5,00	7,50
Total	180	5,5764	1,02657	,07652	5,00	7,50

**Tabla 4.2 Análisis de varianza**

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,642	2	,321	,302	,739
Within Groups	187,995	177	1,062		
Total	188,637	179			

**Tabla 4.3 Prueba de comparación de medias Duncan<sup>a</sup>**

Sitio de Aislamiento	Subsetforalpha = 0.05	
	N	1
Fruto 28	60	5,5000
Hoja 24	60	5,5833
Raquis 02	60	5,6458
Sig.		,470

## DISCUSIÓN

El establecimiento de plantaciones de palma aceitera en zonas tropicales húmedas, como la zona Sur del Lago de Maracaibo en Venezuela, ha traído como consecuencia un cambio profundo en su ecología. Muchas de estas plantaciones se derivan a partir del desplazamiento de bosques primarios, creando un medio homogéneo, prácticamente permanente, que favorece la adaptación y multiplicación de poblaciones de fitopatógenos en forma rápida. La detección y caracterización temprana de microorganismos fitopatógenos en estos cultivos, permite implementar controles fitosanitarios que garantizan el mantenimiento de estos sistemas agrícolas. La sintomatología observada en la palma aceitera en la región bajo estudio, en áreas específicas de la planta como hojas y raquis, corresponde con lo reportado por Chinchilla & Escobar (2007), Apuy-Medrano (1997) y Salazar *et al.*, (1992) donde señalan que *Glomerella cingulata*. (An: *Colletotrichum gloeosporioides*) es el hongo más comúnmente asociado a la llamada antracnosis en plantas de vivero en América tropical y cuyos síntomas se describen como manchas alargadas hacia las partes laterales de la hoja en sentido de las nervaduras, con lesiones acuosas de aspecto

hundido al principio y que luego pasan a coloraciones marrón oscuro rodeadas de bordes amarillos, tornándose finalmente grisáceas y coalesciendo para necrosar grandes áreas de tejido. En ataques severos puede producir la muerte total de la planta; Aderungboye (1977) señala que los hongos *Botryodiplodia palmarum*, *Melanconium* sp. Y *Glomerella cingulata* son causantes de la antracnosis en plantas de palma aceitera en Asia y África, pero que son enfermedades de menor importancia económica. Cabe destacar que en Venezuela y el resto de América latina, no hay reportes de antracnosis afectando plantas adultas de palma aceitera y causando la pudrición y pérdida de sus frutos y racimos. *Colletotrichum gloeosporioides* ha sido reportado afectando un amplio rango de hospederos a nivel mundial, incluyendo la antracnosis en palmas de otras especies. Oruade-Dimaro & Ekundayo (1992), reportaron por primera vez a este patógeno como el causante de manchas en las hojas de las plántulas de *Rhaphia hookeri*, que es una palma de gran importancia económica en Nigeria, por la producción de alcoholes y papel a partir de sus tallos y hojas. Por otra parte, Uchida & Kadooka (1997), señalan que *Colletotrichum gloeosporioides* es el responsable de las manchas en las hojas de Red Sealing Wax Palm, una importante palma ornamental en Hawái; los mismos autores mencionan que *Colletotrichum* sp. es un patógeno de gran impacto en Estados Unidos por causar pérdidas económicas en palmas como *Phoenix roebelenii*, *Caryota mitis*, *Washingtonia* sp., *Paurotis* sp. En investigaciones más recientes, Carrington *et al.*, (2001), caracterizaron morfológicamente a *Colletotrichum gloeosporioides* como el causante de la caída prematura de frutos de Saw palmetto (*Serenoa repens*), palma de gran importancia en la industria farmacéutica de Estados Unidos, mientras que Charchar *et al.*, (2002), hicieron el primer reporte de *Colletotrichum gloeosporioides* causando pequeñas manchas circulares e irregulares necróticas de color marrón-negro en las hojas de Gueroba (*Syagrus oleracea* (Mart.) Becc.), importante palma ornamental del Brasil. Nakamura *et al.*, (2008), caracterizaron morfológicamente al hongo *Colletotrichum gloeosporioides* responsable de causar severas manchas en la hojas de la *Sentry Palm* (*Howea belmoreana* Becc.), palma ornamental cultivada en Japón.

En esta investigación se logró obtener una población de 50 aislados monoconidiales del hongo causante de la antracnosis en un cultivo de palma aceitera en la zona Sur del Lago de Maracaibo- Venezuela. Se efectuó la identificación morfológica de los aislamientos sub-cultivados en PDA; los resultados obtenidos en el patrón de crecimiento y tipo de micelio de las colonias de *Colletotrichum* en palma aceitera, corresponde con la tipificación hecha por Freeman *et al.*, (1998), para colonias de *C. gloeosporioides* y *C. acutatum* en frutos de almendra, aguacate y fresa; así como también en un gran número de investigaciones realizadas en diferentes hospederos a nivel mundial (Martínez *et al.*, 2009; Nakamura *et al.*, 2008; Andrade *et al.*, 2007; Meizhu *et al.*, 2005; Talhinhos *et al.*, 2005; Photita *et al.*, 2005; Lu *et al.*, 2004; Afanador-Kafuri *et al.*, 2003; Benítez *et al.*, 2003; Álvarez *et al.*, 2002; Freeman *et al.*, 2000).

Se demostró estadísticamente que por sitio de aislamiento (hoja, raquis y fruto), no hay variabilidad en el diámetro de las colonias de los 50 aislados en palma aceitera. Los diámetros de las colonias obtenidos, después de 6 días de incubación (hoja: 76,06 mm, raquis: 76,10 mm, fruto: 73,06 mm), coinciden con lo

descrito por Whitelaw- Weckert *et al.*, (2007), para la especie *Colletotrichum gloeosporioides* en plantaciones de uva en Australia, donde después de 6 días de desarrollo las colonias alcanzaron un diámetro de 75,0-78,2 mm con una media de 76,7 mm. En otros estudios Talhinhos *et al.*, (2005), reportan que el diámetro alcanzado por *C. gloeosporioides* en aislados de olivo en Portugal, después de 5 días de incubación fue de 52,5 mm, mientras que Andrade *et al.*, (2007), señala un crecimiento de 53,0 mm después de 5 días de desarrollo de las colonias en aislados de lechosa (*Carica papaya*) en Brasil. Similarmente Nakamura *et al.*, (2008), indica que después de 5 días de incubación, el diámetro de las colonias de aislados en Sentry Palm (*Howea belmoreana* Becc.) en Japón fue de 40 mm. La medición del diámetro de las colonias en todas estas investigaciones incluyendo el reporte en palma aceitera, se basó en incubaciones a temperaturas de 25°C. Por otra parte, no hubo diferencias significativas en las tasas de crecimiento por sitio de aislamiento entre los aislados de palma aceitera (hoja: 11,34 mm d<sup>-1</sup>, raquis: 11,35 mm d<sup>-1</sup>, fruto: 10,84 mm d<sup>-1</sup>) estos resultados fueron confrontados y coinciden con los reportes de Photita *et al.*, (2005), en aislados de *C. gloeosporioides* en plantas herbáceas en Tailandia, donde la tasa de crecimiento fue de 11,4 mm d<sup>-1</sup> y Andrade *et al.*, (2007), en aislados de *C. gloeosporioides* en lechosa donde la tasa de crecimiento fue de 11,0 mm d<sup>-1</sup>.

La identificación morfológica basada en el color de las colonias del patógeno responsable de la antracnosis en palma aceitera en Venezuela, fue un criterio limitante para la caracterización de la especie del hongo *Colletotrichum*, debido a la policromía existente en los 50 aislados tanto en el tope como en el reverso de las colonias evaluadas. Los resultados obtenidos en esta investigación demostraron la alta variabilidad fenotípica de esta población, adicionado a la complejidad de agrupar a los aislados por sitio de aislamiento dependiendo de su coloración, ya que no existió un patrón de color de las colonias dependiendo del tipo de tejido de procedencia del aislado. A través de la característica color de las colonias, inferimos que se pudiera estar en presencia de dos especies del hongo *Colletotrichum* en los aislados de palma aceitera. Los resultados obtenidos en este estudio, fueron comparados con la información suministrada por Sutton (1992) en su revisión del género *Glomerella* y su anamorfo *Colletotrichum*, donde reporta que la especie *C. gloeosporioides* presenta colonias heterogéneas altamente variables, desde blanco grisáceo a gris oscuro en el tope y blanco a gris oscuro en el reverso; sus conidias se forman en masas de color salmón pálido, mientras que para la especie *C. acutatum* las colonias son de color blanco, gris y marrón grisáceo en el tope y en el reverso de rosado a carmín, sus conidias se forman en masas de color rosa, salmón rosado y naranja rosado. Sumado a esto también se cotejaron estos resultados y concordaron con las investigaciones hechas por Martínez *et al.*, (2009); Nakamura *et al.*, (2008); Andrade *et al.*, (2007); Meizhu *et al.*, (2005); Talhinhos *et al.*, (2005); Photita *et al.*, (2005); Lu *et al.*, (2004); Afanador-Kafuri *et al.*, (2003); Benítez *et al.*, (2003); Álvarez *et al.*, (2002); Freeman *et al.*, (2000) y Freeman *et al.*, (1998), en aislados de *C. gloeosporioides* en diferentes hospederos y países de origen; así como las investigaciones en aislados de *C. acutatum* realizadas por Peres *et al.*, (2005); Peres *et al.*, (2002); Freeman *et al.*, (1998); Timmer *et al.*, (1998) y Adaskaveg & Hartin (1997).

Los promedios obtenidos en las dimensiones de las conidias de los tres aislamientos evaluados son característicos de la especie *C. gloeosporioides*, según lo señalado por Sutton (1992), donde hace referencia a conidias alargadas, cilíndricas, extremos obtusos, base truncada y dimensiones de 12-17 x 3,5-6  $\mu\text{m}$ . En los resultados se obtuvieron diferencias altamente significativas en los promedios de la longitud de las conidias por sitio de aislamiento a un nivel de significancia del 0.05, es decir las conidias de los aislamientos provenientes de la hoja y el raquis son más largas que las conidias provenientes del aislado del fruto; sin embargo, no hubo diferencias significativas en el ancho de las conidias por sitio de aislamiento. Estas comparaciones de medias del largo y ancho de las conidias también han sido reportadas por Photita *et al.*, (2005) en tres grupos de *C. gloeosporioides* aislados de plantas herbáceas en Tailandia, encontrando diferencias altamente significativas en estas variables.

La heterogeneidad morfológica observada entre los 50 aislados de *Colletotrichum* en la palma aceitera de la zona Sur del Lago de Maracaibo en Venezuela, probablemente se deba a la adaptabilidad que tiene este patógeno a condiciones diversas de temperaturas y medios de crecimiento. La caracterización morfológica de los hongos, fundamentada en la evaluación del diámetro de la colonia, tasa de crecimiento, patrón de crecimiento, tipo de micelio y color de las colonias, aunado a la forma y tamaño de la estructuras reproductivas como las conidias, son procedimientos poco satisfactorios para la identificación de las especies, principalmente por la diversidad de estas características como resultado de la heterogeneidad intraespecífica en *Colletotrichum* sp. (Freeman *et al.*, 1998). Por ende se recomienda emplear técnicas moleculares para la diferenciación entre las poblaciones del género *Colletotrichum* sp. de muchos hospederos además que estas han sido utilizadas satisfactoriamente en las últimas décadas para la identificación de especies de hongos fitopatógenos.

### CONCLUSIONES

A partir de los estudios realizados en esta investigación basados en la identificación morfométrica se logró determinar que la especie del hongo fitopatógeno *Colletotrichum gloeosporioides* es el agente causal de la antracnosis en un cultivo de palma aceitera en la zona Sur del Lago de Maracaibo en Venezuela.

La sintomatología presentada en las plantas y frutos de palma aceitera infectados naturalmente en campo, era característica de la antracnosis ocasionada por especies del hongo *Colletotrichum* sp. Los 50 aislamientos monoconidiales subcultivados en medio de cultivo PDA desarrollaron colonias con un patrón de crecimiento radial y en círculos concéntricos. El tipo de micelio para el 80% de las colonias fue aéreo con aspecto algodonoso y para el 20% fue de tipo sub aéreo plano. El diámetro de las colonias no fue significativamente diferente por sitio de aislamiento. No se presentaron diferencias significativas en la tasa de crecimiento diaria de las colonias. Se observó policromía en el tope y reverso de todas las colonias evaluadas, por tanto esta característica fue condicional para agrupar las colonias por sitio de aislamiento. Se detectaron diferencias significativas en los promedios obtenidos en la medición de la longitud de las conidias producidas *in vitro*, sin embargo en los promedios del ancho no hubo diferencia significativa. La variabilidad de las

características macro y microscópicas evaluadas son propias de los hongos del género *Colletotrichum* sp.

Los sistemas tradicionales de identificación con base en las características morfológicas no deben tomarse como único criterio de identificación y caracterización de especies dentro del género, ya que estas deben complementarse con pruebas más eficaces y certeras como las basadas en las técnicas moleculares.

## REFERENCIAS

- Acupalma. La Palma Aceitera. Asociación Venezolana de Cultivadores de Palma Aceitera. Venezuela. [en línea]. <http://www.acupalma.org.ve> [consulta: 18 mayo, 2008].
- Adaskaveg, J. E. and Hartin, R. J. 1997. Characterization of *Colletotrichum acutatum* Isolates Causing Anthracnose of Almond and Peach in California. PHYTOPATHOLOGY Vol. 87, No. 9, 1997.
- Aderungboye, F. O. 1977. Diseases of the Oil Palm. *International Journal of Pest Management*, Volume 23, Issue 3, 1977, Pages 305 – 326.
- Afanador-Kafuri, L., Minz, D., Maymon, M., and Freeman, S. 2003. Characterization of *Colletotrichum* Isolates from Tamarillo, Passiflora, and Mango in Colombia and Identification of a Unique Species from the Genus. PHYTOPATHOLOGY. Vol. 93, No. 5, 2003.
- Agrios, G. 2004. Fitopatología. 2da edición. Editorial Limusa, Mexico.
- Álvarez, E., Ospina, C., MEJÍA, J., y Llano, G. 2002. Caracterización Morfológica, Patogénica y Genética del Agente Causal de la Antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*) en Guanábana (*Annona muricata*) en el Valle del Cauca. Fitopatología Colombiana/ Volumen 28 Número 1.
- Andrade, E. M., Uesugi, C. H., Ueno, B., & Ferreira, M. 2007. Caracterização Morfocultural e Molecular de Isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* Patogénicos ao Mamoeiro. Fitopatol. Bras. 32(1), jan - fev 2007.
- Apuy-Medrano, M. 1997. Etiología y manejo de la antracnosis en viveros de palma aceitera (*Elaeis guineensis* Jacq). Editorial San José, Universidad de Costa Rica, CR.
- Bailey, J.A., and Jeger, M.J. 1992. Preface. *Colletotrichum: Biology, Pathology and Control*. Wallingford, UK: CAB International.
- Benítez, F., Huerta, G., Holguín, F., y Toledo, J. 2003. Efecto de *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz y Sacc en la Caída de Frutos de Mango (*Mangifera*

- indica* L.) CV Atauito en el Soconusco, Chiapas, México. Revista Mexicana de Fitopatología, Julio-Diciembre, año/Vol. 21, número 002.
- Carrere, R. 2006. Palma Aceitera, de la Cosmética al Biodiesel. Movimiento Mundial por los Bosques Tropicales. Montevideo- Uruguay.
- Carrington, M. E., Roberts, P. D., Urs, N. V. R. R., MCGovern, R. J., Seijo, T. E., and Mullahey, J. J. 2001. Premature fruit drop in saw palmettos caused by *Colletotrichum gloeosporioides*. Plant Dis. 85:122-125.
- Charchar, M. J. D'A., Anjos, J. R. N., and Akimoto, A. K. 2002. First Report of Anthracnose Caused by *Colletotrichum gloeosporioides* on Gueroa in Brazil. PlantDis. 86:72, 2002.
- Chinchilla, C., y Escobar, R. 2007. El Anillo Rojo y otras Enfermedades de la Palma Aceitera en Centro y Suramérica. ASD Oil Palm Papers, N° 30 1-27. 2007.
- FAOSTAT. [en línea]. <http://faostat.fao.org>. [consulta: 04 febrero, 2010].
- FONAIAP. 1991. El Cultivo de la Palma Aceitera. Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Serie Paquetes Tecnológicos N° 9.
- Freeman, S., Katan, T., and Shabi, E. 1998. Characterization of *Colletotrichum* Species Responsible for Anthracnose Diseases of Various Fruits. The Volcani Center, Bet Dagan, Israel. Plant Disease / Vol. 82 No. 6.
- Freeman, S., Minz, D., Jurkevitch, E., Maymon, M., and Shabi, E. 2000. Molecular Analyses of *Colletotrichum* Species from Almond and Other Fruits. PHYTOPATHOLOGY Vol. 90, No. 6, 2000.
- Grupo el Chao. 2008. Historia de la Palma Africana. Venezuela. Grupo El Chao. Historia de la Palma Africana. Venezuela. [en línea]. <http://www.elchao.com/palma.htm>. [consulta: 18 mayo, 2008].
- Hernández, J.A., Contreras, C., Palma, R., Sarria, J., Pietrosevoli, S. 2002. Efecto de los Restos de la Palma Aceitera sobre el Desarrollo y Reproducción de la Lombriz Roja (*Eisenias* sp.). Rev. Fac. Agron (LUZ). 2002, 19: 304-311.
- Kornerup, A., and Wanscher, J.H. 1978. Methuen Handbook of Colour, Third edition. London, UK: Eyre Methuen.
- Labarca, M., Sanabria, N., Arcia, A. 2006. Patogenicidad de *Pestalotiopsis palmarum* Cooke, sobre Plantas de Vivero de Palma Aceitera (*Elaeis guineensis* Jacq). Rev. Fac. Agron (LUZ). 2006, 23: 417-426.

- Lu., G., Cannon, P., Reid, A., and Simmons, C. 2004. Diversity and molecular relationships of endophytic *Colletotrichum* isolates from the Iwokrama Forest Reserve, Guyana. *Mycol. Res.* 108 (1): 53–63 (January 2004).
- Martínez, E., Hío, J., Osorio, J., and Torres, M. 2009. Identification of *Colletotrichum* species causing anthracnose on Tahiti lime, tree tomato and mango. *Agronomía Colombiana* 27(2), 211-218, 2009.
- Meizhu, D., Schardl, C. L., Nuckles, E. M., Vaillancourt, L. J. 2005. Using mating-type gene sequences for improved phylogenetic resolution of *Colletotrichum* species complexes. *Mycologia*, 97(3), 2005, pp. 641–658.
- Mingorance, F., Minelli, F., and Le Du, H. 2004. El Cultivo de la Palma Africana en el Chocó. Primera Edición. Human Rights Everywhere. Colombia.
- Nakamura, M., Hayasaki, Y., Ryosho, S., Iwai, H. 2008. Anthracnose of belmore sentry palm (*Howeabel moreana* Becc.) caused by *Colletotrichum gloeosporioides* (Penzig) Penziget Saccardo. *J Gen Plant Pathol* (2008) 74:86–87.
- Oruade-Dimaro, E.A., and Ekundayo, C. 1992. Seedling Blight Disease of pp. 41-44.
- Peres, N. A., Timmer, L. W., Adaskaveg, J. E., Correll, J. C. 2005. Lifestyles of *Colletotrichum acutatum*. *Plant Disease / Vol. 89 No. 8.*
- Peres, N., Kuramae, E., Dias, M., and De Sousa, N. 2002. Identification and Characterization of *Colletotrichum* spp. Affecting Fruit after Harvest in Brazil. *J. Phytopathology* 150, 128-134 (2002).
- Photita, W., Taylor, P.W.J., Ford, R., Hyde, K.D. and Lumyong, S. 2005. Morphological and molecular characterization of *Colletotrichum* species from herbaceous plants in Thailand. *Fungal Diversity* 18: 117-133.
- Salazar, S., Mora, O., Sosa, M. 1992. Enfermedades de la Palma Aceitera en la Región Centro Occidental de Venezuela. FONAIAP DIVULGA N° 41 Julio-Diciembre 1992.
- Sutton, B. C. 1992. The genus *Glomerella* and its anamorph *Colletotrichum*. In: Bailey, J.A., and Jeger, M.J. *Colletotrichum: Biology, Pathology and Control*. Wallingford, UK: CAB International.
- Talhinhas, P., Sreenivasaprasad, S., Neves-Martins, J., and Oliveira, H. 2005. Molecular and Phenotypic Analyses Reveal Association of Diverse *Colletotrichum acutatum* Groups and a Low Level of *C. gloeosporioides* with Olive Anthracnose. *APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY*, Vol. 71, No. 6, June 2005, p. 2987–2998.

- Timmer, L. W., Brown, G. E., and Zitko, S. E. 1998. The Role of *Colletotrichum* spp. in Postharvest Anthracnose of Citrus and Survival of *C. acutatum* on Fruit. *Plant Disease* / Vol. 82 No. 4.
- Uchida, J., and Kadooka, C. 1997. *Colletotrichum* Leaf Spot of Red Sealing Wax Palm. College of Tropical Agriculture and Human Resources, University of Hawaii at Manoa, Honolulu, Hawaii. *Plant Disease* January 1997 PD-10.
- Vallejo, G. 1984. Aspectos Generales del Cultivo de la Palma Africana de Aceite en Colombia. Memorias del 1er. Encuentro Nacional sobre Palma de Africana. FEDEPALMA. Villavicencio, Colombia.
- Whitelaw-Weckert, M. A., Curtin, S. J., Huang, R. Steel, C. C., Blanchard, C. L., and Roffey, P. E. 2007. Phylogenetic relationships and pathogenicity of *Colletotrichum acutatum* isolates from grape in subtropical Australia. *Plant Pathology* (2007) 56, 448–463.