

# ESTUDIOS ETIOLOGICOS Y EPIDEMIOLOGICOS DE LA MANCHA BLANCA DEL "GUANABANO" *Annona muricata* L. EN EL VALLE DEL CAUCA

Patricia Hoyos P. \*

Ruben D. Zarate R. \*\*

## COMPENDIO

El trabajo evaluó la incidencia y severidad de la enfermedad en Ginebra y Cerrito. La "mancha blanca" ataca el follaje, en especial las hojas maduras, las cuales se desprenden prematuramente, pudiendo inducir fuerte defoliación y "paloteo" de los árboles. La incidencia de la enfermedad puede llegar al 100 o/o y la severidad puede afectar más del 50 o/o del área foliar; la severidad real varió entre 20 y 30 o/o. La enfermedad es producida por *Cercospora* sp., posiblemente *C. annonae*. El mejor crecimiento micelial se logró en jugo V-8 y la máxima esporulación en PDA acidificado. No se encontraron estructuras correspondientes al estado sexual del hongo. Los síntomas se reprodujeron 30 días después de la inoculación. Este patógeno se disemina por la lluvia y el viento. La humedad relativa, la temperatura y la precipitación elevadas favorecen el desarrollo de la enfermedad. Árboles en condiciones de mal manejo agronómico son atacados con más intensidad. La ecuación  $Y=15.27 + 0.243x$  correlaciona la severidad estimada (Y) con la severidad real (X).

## ABSTRACT

The presence of the "White Spot" has been slowly increasing in various productive zones of sour-sop (*Annona muricata* L.) within the Valle del Cauca Colombia. This work includes evaluations of incidence and severity of the disease in two regions: Ginebra and Cerrito. The "White Spot" strikes the leaves, specially those full-grown, which fall prematurely. The disease can induce a heavy defoliation or shedding ("paloteo") of the trees. The incidence of the "White Spot" can reach 100 o/o and the severity can affect more than 50 o/o of the leaf area. The real severity was within 20 and 30 o/o. The disease is caused by the fungus *Cercospora* sp probably *C. annonae*. The mycelium grows best in the V-8 juice and has its maximum sporulation in PDA acidified. No structure of the sexual state of the fungus were found. The symptoms are reproduced 30 days after inoculation. The rain and wind spread the diseases agent. The high relative humidities, temperatures and precipitations help the development of the disease. Trees which have had a poor agronomical management are striked with more intensity. The equation  $Y=15.27 + 0.243x$  correlate the estimated severity (Y) and the real severity (X).

\* Estudiante de pre-grado. Universidad Nacional de Colombia. Palmira

\*\* Universidad Nacional de Colombia. Palmira.

## 1. INTRODUCCION

Con el auge del cultivo del guanábano *Annona muricata* L. en el Valle han aumentado los problemas agronómicos, en especial los de carácter fitosanitario. Entre las enfermedades se encuentran la antracnosis foliar (producida por *Colletotrichum gloeosporioides*), la pudrición seca (inducida inicialmente por *C. gloeosporioides* y luego por otro hongo saprofitico, *Fusarium coeruleum*) y la pudrición parda o blanda del fruto (causada por *Rhizopus stolonifer*) (Zárate, 6). Ultimamente se ha detectado la presencia de una enfermedad foliar caracterizada por lesiones ligeramente circulares, inicialmente de color pardo y bordes definidos; el centro de la lesión posteriormente se torna blanquecino y el tejido necrosado puede romperse y desprenderse. Debido a ésta característica predominante se le dominó mancha blanca.

El trabajo tuvo como objetivo determinar la etiología de la mancha blanca, relacionar las condiciones ambientales con su incidencia y severidad y desarrollar un patrón aproximado para evaluar la severidad de la enfermedad.

## 2. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.

### 2.1. Determinación etiologica de la enfermedad.

Se describieron los síntomas de la enfermedad en árboles de guanábano en diferentes estados de desarrollo. Muestras de hojas con síntomas representativas de la enfermedad, desinfectadas con hipoclorito de sodio al 3 : 1 000 durante 2 minutos, se colocaron en cámara húmeda.

Trozos de tejido afectado y sano, de aproximadamente 1 mm, se sembraron en PDA (papa-dextrosa-agar) acidificado con ácido láctico al 0.25 o/o y se incubaron a 25°C. Los primeros crecimientos se purificaron y replicaron en el mismo medio de cultivo, se hizo una descripción detallada de las colonias y montajes y observaciones al microscopio de gran aumento.

A partir de cultivos puros de 30 días de edad se prepararon suspensiones en agua destilada estéril, a las cuales se les adicionó Tween 80 (polyoxyethylen-sorbitamenooleat) y se inocularon (punción más aspersión de la suspensión y aspersión de la suspensión sin heridas previas) en plantas sanas de 12 meses y hojas sueltas. Se utilizaron 10 plantas u hojas por tratamiento y 5 plantas u hojas testigo. Los mismos tratamientos se realizaron con mezclas de los distintos aislamientos.



Los reaislamientos se hicieron en PDA acidificado y se efectuaron las correspondientes confrontaciones taxonómicas con los organismos inoculados. Se realizaron cortes manuales de tejido afectado para observar las estructuras del patógeno y sus cuerpos fructíferos. Se prepararon microcultivos (French y Hebert, 3) y se realizaron pruebas adicionales de comportamiento del patógeno en diferentes medios de cultivo.

## 2.2. Estudios epidemiológicos preliminares.

La incidencia de la enfermedad se evaluó sobre 210 árboles en la finca "El Guabito" de Ginebra y sobre 100 en la finca "El Tesoro" de El Cerri-to), de la siguiente manera:

$$I(o/o): \frac{\text{Número de árboles con síntomas de la enfermedad}}{\text{Número de árboles evaluados}} \times 100$$

Para medir la severidad se recolectaron 10 hojas/árbol y se clasificaron mediante la siguiente escala: grado 1 (10 o/o del área afectada), 2(11-20 o/o), 3(21-40 o/o), 4(41-60 o/o) y 5(60 o/o del área foliar afectada). La severidad se estimó por la fórmula:

$$S(o/o): \text{severidad promedio: } \frac{\sum(h \times g) \times 100}{5n}$$

donde:

h: número de hojas con igual grado de daño

g: grado de daño

n: número de hojas evaluadas

Para calcular la severidad real se calcaron sobre papel las hojas enteras y las lesiones y se obtuvo su peso relativo. Se utilizó la fórmula sugerida por Large (4):

$$S(o/o) : \frac{(n 0.5 + n 2.0 + n 6.0 + n 16.5 + n 37)}{N}$$

donde:

n: número de plantas por grado en porcentaje

N: número total de plantas evaluadas

0.5, 2.0, 6.0, 16.5 y 37: promedio de los intervalos de clase.

Se analizó gráficamente el efecto de los factores climatológicos y de las prácticas culturales sobre los porcentajes de incidencia y severidad. Se definió una escala gráfica para medir porcentaje de severidad, con base en el máximo valor obtenido por el método del peso relativo (porcentaje de severidad real). Los métodos de evaluación se compararon por el análisis de regresión y correlación.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSION

#### 3.1. Descripción de los síntomas de la enfermedad.

El ataque del patógeno se caracteriza inicialmente por pequeños puntos oscuros en el haz y envés de las hojas. Cuando la lesión alcanza su forma y tamaño definitivo (0.3-0.5 cm de diámetro), el centro de éstas se torna blanquecino y luego se desprende. En una hoja se puede presentar desde una hasta muchas lesiones o manchas. Las hojas afectadas se pueden desprender prematuramente.

Si el árbol es fuertemente atacado, generalmente se defolia, dándole un aspecto de "paloteado", lo cual afecta su desarrollo y crecimiento.

#### 3.2. Aislamiento y purificación del patógeno.

Inicialmente se obtuvo un crecimiento fungoso, constituido por un micelio acenocítico y verde oliva, conidias alargadas, acirculares, hialinas y divididas por varias celdas, que correspondió al género *Cercospora* (Barnett, 1).

Al cabo de 45 días, se observó sobre algunas de las colonias de *Cercospora* un crecimiento micelial oscuro y conidias curvadas, divididas por 3 o hasta 5 celdas. Al microscopio se pudo constatar, que correspondió al género *Curvularia*.

#### 3.3. Pruebas de patogenicidad.

El aislamiento perteneciente al género *Cercospora* indujo y reprodujo los síntomas de la mancha blanca. Al inocular *Cercospora* más *Curvularia* la infección fue un poco inferior que cuando se inoculó *Cercospora* solo.

Probablemente *Curvularia* induzca cierto grado de antagonismo con *Cercospora* o su presencia indique alguna capacidad parasitaria o saprófita sobre *Cercospora* o se desarrolla por contaminación ambiental. Con todo, este hongo no tiene ninguna relación con la enfermedad.



La infección llegó a un 80 o/o cuando se inoculó sobre follaje de plantas y a un 60 o/o cuando se inocularon hojas desprendidas del árbol. Estos resultados posiblemente tengan relación con las condiciones de humedad, temperatura y luz en que se mantuvieron ambos materiales o quizá influyó la actividad metabólica, mayor en las plantas que en las hojas sueltas.

A pesar de que el hongo penetra por los estomas, al haber otras aberturas naturales o daños mecánicos, es probable que se incrementen las posibilidades de infección.

### 3.4. Pruebas de medios de cultivo.

En hojas de soya-agar (HSA) y agar-agua (AA) el crecimiento micelial fue escaso y no esporuló el patógeno. En hojas de guanábano agar (HGA) y jugo V-8 se logró mayor crecimiento, pero escasa esporulación del patógeno. En papa-dextrosa-agar (PDA), acidificado con ácido láctico al 0.25 o/o, se logró mayor esporulación a pesar del tamaño reducido de las colonias.

### 3.5. Características del patógeno.

El patógeno pertenece al género *Cercospora* (Familia: Dematiaceae) y la especie posiblemente corresponda a *C. annonae*, registrada sobre anónáceas (Finch, 2), pero de la cual no se halla en la literatura disponible ninguna información sobre sus características. La longitud promedio de las conidias fue de 4.18 micras, el diámetro en el ápice de 1.161 micras y de 1.223 en la base. El promedio de celdas fue de 6, pero varió entre 3 y 10 celdas por conidia. No se encontraron esporas de origen sexual. Los cuerpos fructíferos del patógeno corresponden a esporodoquios.

### 3.6. Estudios epidemiológicos preliminares

Los valores de incidencia (Cuadro 1) fueron muy altos (entre 86 y 95 o/o), lo cual podría indicar que las condiciones ambientales de las zonas son favorables para el desarrollo de *Cercospora* y/o que los cultivares son susceptibles al ataque del patógeno.

Los porcentajes de severidad superaron los niveles del 50 o/o (estimada) y del 30 o/o (severidad real).

La incidencia y severidad aumentan en las épocas de máxima precipitación y humedad relativa (Figura 1 y 2).

Cuadro 1

**Incidencia y severidad de la mancha blanca *Cercospora* sp. del guanábano, *Annona muricata* L., en las zonas de Ginebra y Cerrito, Valle**

Finca	Municipio	m s n m	Fecha	Incidencia o/o	Severidad (o/o)	
					Estimada	Real
El Guavito	Ginebra	1120	Mayo	86.66	38.47	26.21
			Nov.	93.57	54.00	24.25
El Tesoro	Cerrito	1030	Junio	91.53	59.84	30.87
			Nov.	95.00	65.28	32.66



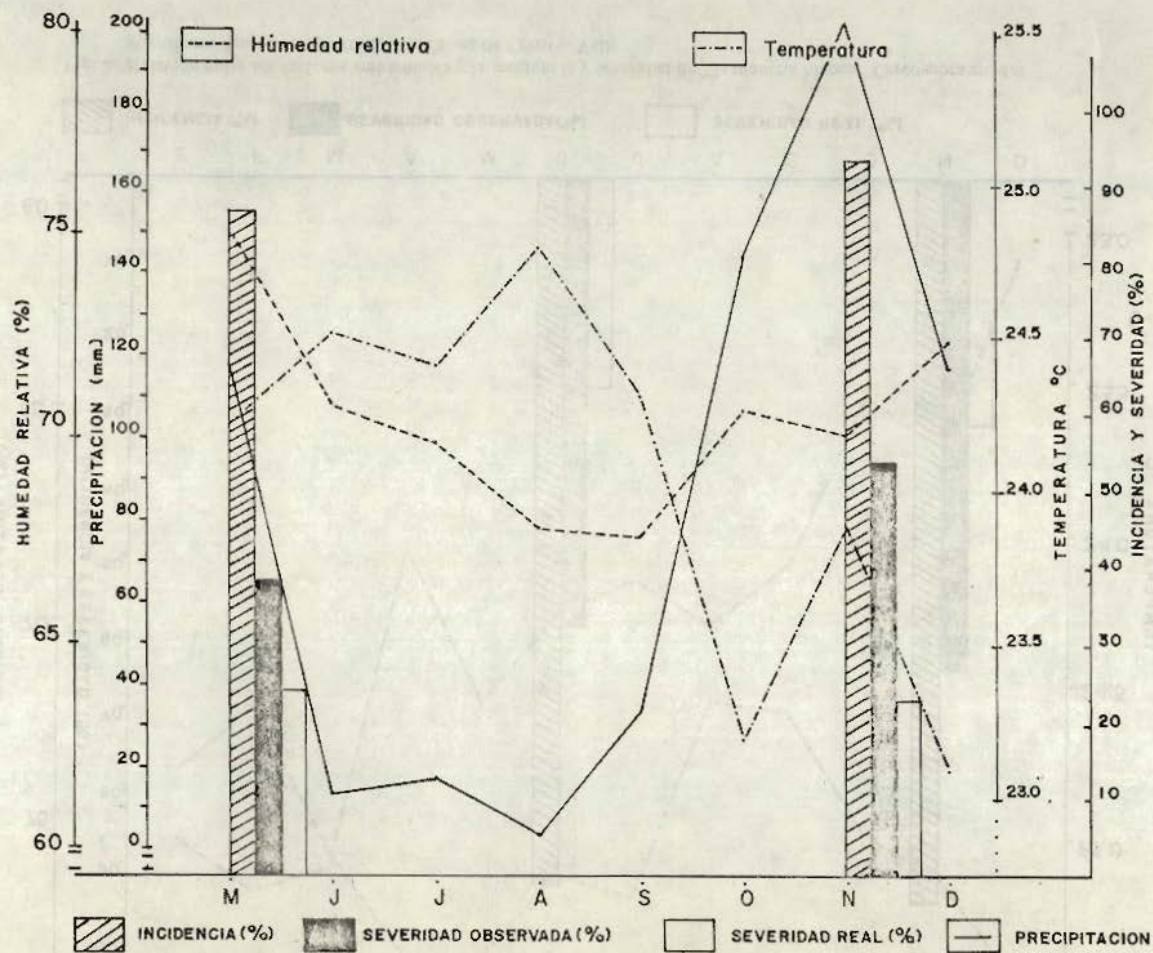


Fig. 1 Relación entre los factores ambientales y la incidencia y severidad de "la mancha blanca" *Cercospora* sp. del guanabano *Annona muricata* L. en la zona de Ginebra, Valle.

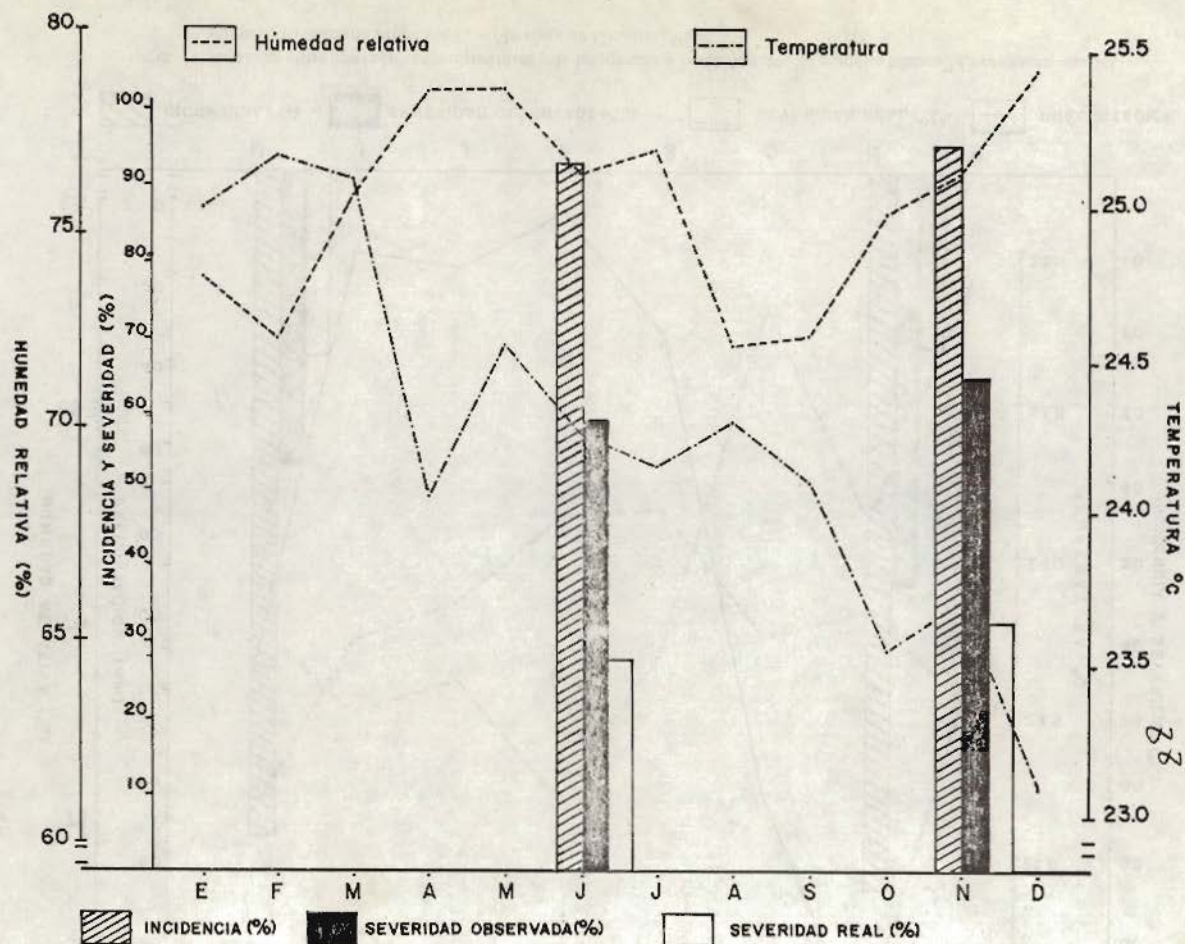


Fig. 2. Relación entre los factores ambientales y la incidencia y severidad de "la mancha blanca" *Cercospora* sp. del guanabano *Annona muricata* L. en la zona de Cerrito, Valle.



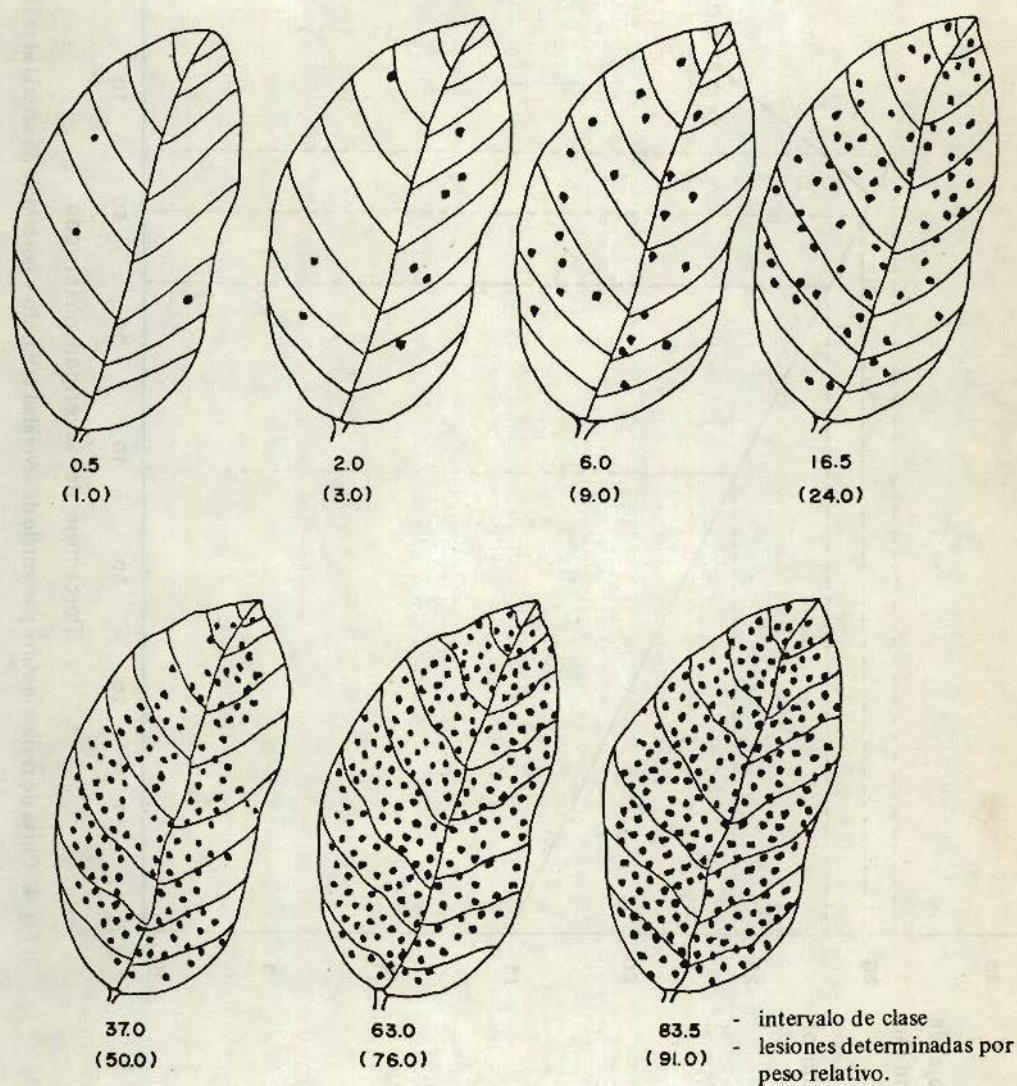


Fig. 3. Escala de severidad real de la "mancha blanca" *Cercospora* sp. en guanábano *Annona muricata* L.

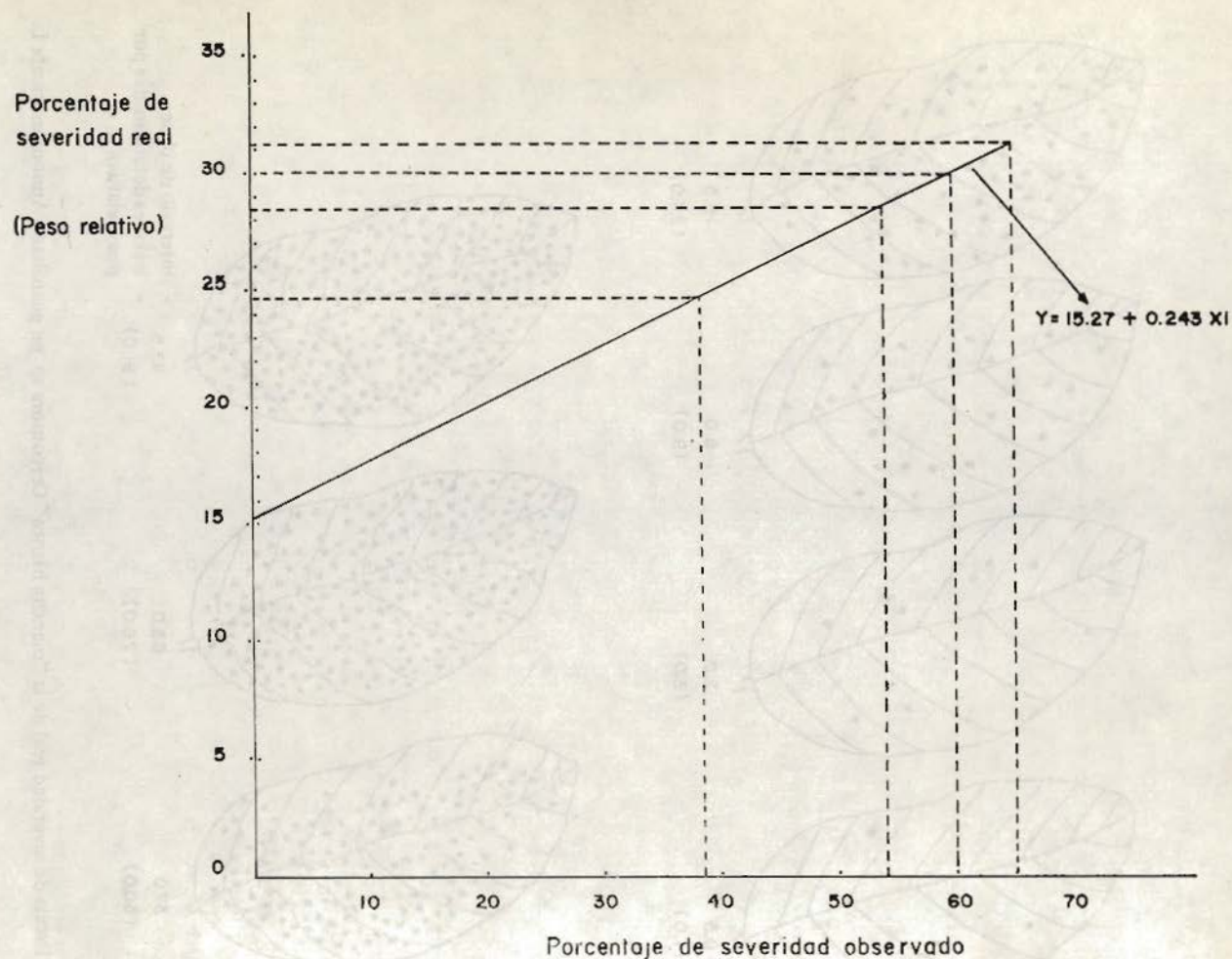


Fig. 4. Curva de regresión entre porcentaje de severidad estimado y porcentaje de severidad real.



Los cultivos o árboles ubicados en sitios enmalezados, con problemas nutricionales y en general, con problemas de manejo, mostraron mayores porcentajes de incidencia y severidad de la enfermedad.

### 3.7. Escala de severidad con base en la severidad real.

Con base en la escala logarítmica propuesta por Large (4) y Van Der Plank (5) que comprende valores 1, 3, 9, 24, 50, 76, y una vez obtenido el máximo de severidad real (sistema del peso relativo), el cual correspondió a un 80 o/o de área foliar afectada, se desarrolló la escala gráfica de severidad (Figura 3).

Al comparar los dos sistemas de evaluación de la severidad, se obtuvo una curva de regresión entre severidad real (peso relativo) y severidad estimada, la cual está representada por la ecuación  $Y: 15.27 + 0.243x$ , donde Y: o/o severidad real y X: o/o de severidad estimada (Figura 4). Estos posiblemente permitirán la evaluación de materiales de guanábano en condiciones de campo y laboratorio con muy poca variación y facilitarán los cálculos sobre evaluación de pérdidas en producción y resistencia de los cultivos de *A. muricata*.

## 4. CONCLUSIONES

- 4.1. El hongo *Cercospora* sp. (posiblemente *C. anonae*) es el agente causal de la mancha blanca del guanábano *Annona muricata* L.
- 4.2. Desinfestando las hojas con síntomas con hipoclorito de sodio al 3: 1000 por 2 minutos y colocándolas en agua destilada estéril se facilita el aislamiento del agente causal.
- 4.3. El mejor crecimiento micelial se logró en jugo V-8 y la mayor esporulación en PDA acidificado.
- 4.4. En las zonas estudiadas fueron muy altas la incidencia (86-95 o/o) y la severidad (niveles superiores al 50 o/o para la estimada y del 30 o/o para la real) de la mancha blanca.
- 4.5. Se desarrolló una escala y un modelo de evaluación de la severidad real y estimada de la mancha blanca.
- 4.6. El patógeno se disemina por el viento y el agua lluvia y penetra principalmente por los estomas.

## 5. BIBLIOGRAFIA

1. BARNETT, H. I. and HUNTER, B. B. Illustrated genera of imperfect fungi. 3a. ed. Burges Publish, 1972.
2. FINCH, H. C. Los hongos comunes que atacan cultivos en América Latina. México, Trillas, 1971. 188 p.
3. FRENCH, E. F. y HEBERT, T. T. Método de Investigación Fitopatológica. San José, IICA, 1980. 289 p.
4. LARGE, E. C. Measuring plant disease. Annu. Rev. Phytopathol. 4: 9-28. 1969.
5. PLANK, J. E. VAN DER. Plant disease: epidemics and control. New York, Academic Press, 1967. 149 p.
6. ZARATE, R. D. Estudios etiológicos de las principales enfermedades del guanábano *Annona muricata* L. en el Valle del Cauca. Palmira, Facultad de Ciencias Agropecuarias, 1981. 55 p.