

# Capítulo II. LA INVESTIGACION SOBRE LA EPIDEMIOLOGIA DE LA ESCOBA DE BRUJA DEL CACAO [*Crinipellis perniciosa* [(Stahel) Singer] EN EL PIEDEMONTES LLANERO DE COLOMBIA: CONSIDERACIONES GENERALES

Germán Tovar

Profesor titular. Facultad de Agronomía. Universidad Nacional de Colombia. A.A. 14490. Santa Fe de Bogotá, D.C.

## ESCOBA DE BRUJA Y PRODUCCION DE CACAO

Los problemas fitosanitarios constituyen uno de los factores depresivos más importantes de la producción del cacao. Cualquiera que sea la forma social de producción es importante racionalizar al máximo la tecnología de manejo de los problemas. La investigación bajo diferentes condiciones agroecológicas, sociales y económicas permite establecer la dinámica en el comportamiento de enfermedades e insectos dañinos para proponer las alternativas de solución, en función de las características del sistema productivo.

Las diferentes zonas de producción del país por su variedad edáfica y climática pueden presentar (Fig. 1) algunos o todos los problemas registrados a lo largo de la his-

toria del cultivo, con diferentes niveles de intensidad. Entre las enfermedades más restrictivas de la producción se pueden considerar la *escoba de bruja* (*Crinipellis perniciosa*), la *moniliasis* (*Moniliophthora roreri*), la pudrición negra de los frutos (*Phytophthora* spp.) y las llagas del cuello y/o raíz (*Rosellinia* spp. y *Armillaria mellea*).

## IMPORTANCIA DE LA ESCOBA DE BRUJA DEL CACAO

### Registros de la enfermedad en Colombia.

Garcés en el año 1946 planteaba que, posiblemente, la *escoba de bruja* era la enfermedad más importante del cacao y advertía sobre su peligro no sólo para Colombia, sino también para los países cacaoteros de América Tropical, basado en las pérdidas

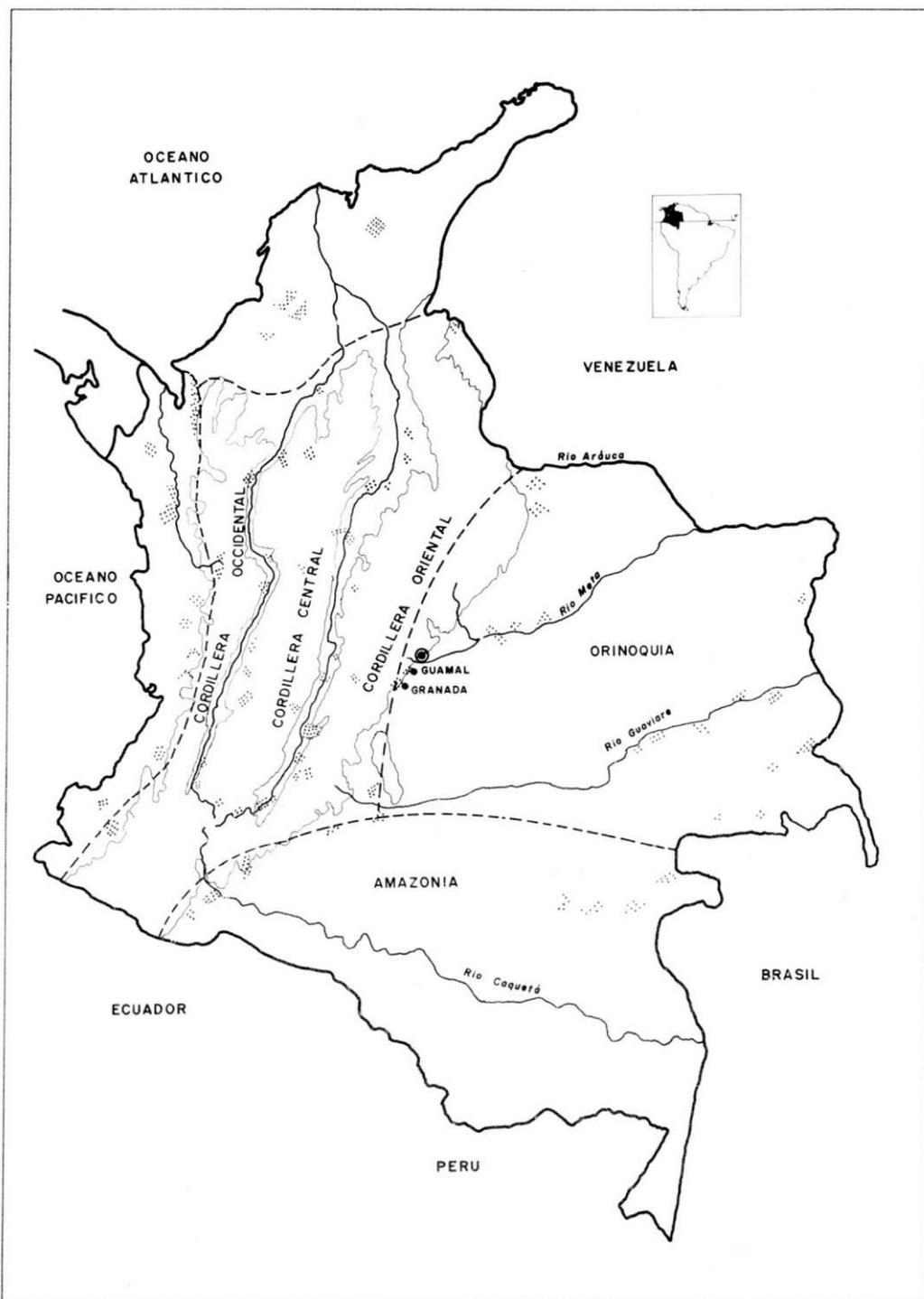


Fig. 1. Mapa de Colombia con las regiones de producción de Cacao (  ) y los municipios donde se realizaron los trabajos de investigación sobre Epidemiología de la Escoba de bruja. (  ).

ocasionadas por el hongo en algunos países.

Toro en 1923 registró por primera vez la enfermedad en Colombia, (Garcés, 1946) en la región de Tumaco, pero sólo a partir de 1962 la enfermedad comienza a propagarse de una manera importante a otras zonas de producción. Entre 1960 y 1970, la *escoba de bruja* se registra en el Caquetá, Meta, Huila, Valle, Chocó, Antioquia (Urabá) y la Comisaría del Guainía. posteriormente la enfermedad se registró en Caldas, Cauca, Córdoba y la Intendencia de Arauca. En el departamento de Santander, donde se localiza la principal zona productora de cacao del país, se registra tan sólo a fines de los años ochenta. Parece que las únicas zonas indemnes de la enfermedad son Tolima y Magdalena.

#### **Importancia de las pérdidas de enfermedad**

En Surinam, después de nueve años del primer registro de la enfermedad (1895), todos los cultivos se encontraban completamente afectados, alcanzando altos niveles de severidad y pérdidas cuantiosas (Rorer, 1913). Los rendimientos del cultivo en el transcurso de 12 años (1895-1907) descendieron en un 75% (Wardlaw, 1929). La alta incidencia y severidad alcanzada por la enfermedad en 1905 determinó el reemplazo del cultivo del cacao por el del banano. Este es un buen ejemplo de como una enfermedad puede suspender el proceso de producción-acumulación de un cultivo.

En la región de Urabá la enfermedad se registró en 1969, y en el transcurso de seis años alcanzó un alto nivel de severidad, que en conjunto con los ataques de *moniliasis* repercutió en el abandono de la mayoría de las plantaciones, especialmente las de tipo empresarial. El cultivo del cacao fue reemplazado por plantaciones de banano.

En el *piedemonte llanero*, correspondiente al departamento del Meta, en la década del setenta sucedió un fenómeno similar. En esta región las primeras explotaciones de cacao establecidas fueron de colonización (1950-1960), aprovechando el bosque con siembras de cacao nativo predominantemente. Los rendimientos de cultivos afectados disminuyeron drásticamente (alrededor de 200-300 kg/ha), situación que ha conducido al abandono paulatino de las plantaciones y a su reemplazo por cultivos más rentables, como el plátano.

Ocampo (1978), en la reunión internacional sobre *escoba de bruja* realizada en Brasil en 1978, informaba que las pérdidas registradas en Colombia por la enfermedad eran del orden de 4.000 toneladas anuales y de 15.000 hectáreas afectadas de un total de 73.000. Tovar (1984), basado en datos de la Federación Nacional de Cacaoteros, hace una estimación de 74.000 hectáreas afectadas con diferentes grados de severidad de la enfermedad, de 90.000 existentes, es decir el 82%. En la actualidad se puede considerar que la enfermedad está presente en el 90%, de los cultivos del país.

La *escoba de bruja* se encuentra ampliamente distribuida en los países cacaoteros suramericanos (Ecuador, Venezuela, Perú, Surinam, Guayana, Trinidad y Tobago). En Brasil, en la región de Rondonia, con una superficie cacaotera de 39.000 hectáreas, las pérdidas en 1981 superaron el 80% con una recolección de 8.000 toneladas. Esta experiencia constituye una vez más la prueba de la capacidad destructiva de la *escoba de bruja* en un lapso de seis a diez años en ausencia de medidas de control efectivas (Aránzazu, 1982).

#### **LA INVESTIGACION EN ESCOBA DE BRUJA**

La *escoba de bruja* del cacao es una enfermedad endémica, originaria del valle

alto del Amazonas. La enfermedad fue registrada por primera vez en 1785 con el nombre de *lagarto* por el brasileño Alexander Rodríguez, constituyendo, probablemente, el registro más antiguo de la enfermedad (Silva, 1987).

El hongo causante de la enfermedad fue descrito inicialmente, en 1915, por Stahel quien lo denominó *Marasmius perniciosus* y, posteriormente, en 1942 fue transferido por Singer al género *Crinipellis*. Hasta hoy se le reconoce como *Crinipellis perniciosus* (Stahel) Singer. A partir de la identificación del hongo responsable de la enfermedad han sido muchas y muy variadas las contribuciones científicas sobre el problema.

Entre 1940 y 1970 se desarrollaron estudios sobre la infección a nivel de varios tejidos del árbol, la determinación de hospedantes secundarios, la fructificación del hongo, la caracterización sintomatológica, evaluación de materiales por resistencia al hongo, y, en general, se hicieron estudios sobre el ciclo de la enfermedad, con un enfoque principalmente descriptivo.

El desarrollo de la epidemiología cuantitativa, o partir de las ideas emitidas por Van der Plank a fines de la década del sesenta, comenzaron a ejercer una influencia notoria en la nueva investigación fitopatológica, y la experimentación mundial en epidemiología de enfermedades de plantas empezó a tomar fuerza.

El avance de la enfermedad en el país hacia 1970, con características de alta severidad, motivaron a algunos pocos investigadores a profundizar sobre el tema, retomando el conocimiento acumulado hasta el momento. De esta manera, hacia mediados de la década del setenta se comenzaron algunos trabajos en el Instituto Colombiano Agropecuario, en la región de Urabá.

## PROPUESTA DEL PROYECTO DE INVESTIGACION

En la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional de Colombia, con sede en Bogotá, el profesor Germán Tovar, fitopatólogo asociado, propone, en 1978, un proyecto sobre "Epidemiología de *escoba de bruja* de cacao", el cual contemplaba varios subproyectos, los cuales se pretendían desarrollar en los diez años siguientes.

Las motivaciones que llevaron a plantear el proyecto de investigación fueron de diferente orden. El problema de la *escoba de bruja* presentaba niveles de gran importancia económica, con la secuela del abandono de plantaciones en algunas regiones del país, por los mínimos rendimientos obtenidos a causa de la enfermedad, y, la inminente evolución de la severidad de la enfermedad en otras regiones del país, poniendo en peligro la producción nacional. Hasta el momento eran prácticamente inexistentes los estudios sobre epidemiología cuantitativa necesarios para una mejor comprensión del manejo de la enfermedad.

El cultivo del cacao ha estado tradicionalmente abandonado con respecto a otros cultivos, tales como papa, maíz, frijol, trigo, ocupando los últimos puestos de una larga lista de productos agrícolas que el Estado, a través de su Departamento de Planeación Nacional y del Ministerio de Agricultura, ha propuesto como base del desarrollo agrícola colombiano. La estructura de investigación y los programas de formación de profesionales en el campo agropecuario han sido diseñados para atender, preferencialmente, a las necesidades de la economía de tipo empresarial, olvidando que la mayoría de los productos se generan en la economía campesina de explotación media y baja.

El cacao por ser originario del Amazonas, donde existe su gran reserva genética, puede ser una alternativa complementaria de los cereales para superar la crisis alimentaria de los países en desarrollo, por su contribución a la evolución natural del proceso productivo, permitiendo un equilibrio óptimo entre el rendimiento económico y la conservación del medio natural. Además, el cacao representa una alternativa viable para resolver el problema socio-económico de una proporción importante de colombianos.

Un aspecto más de orden coyuntural que de fondo se refiere a que la Facultad de Agronomía de Bogotá, decidió, a partir de 1978, retomar la actividad investigativa entre profesores y estudiantes como parte esencial de la formación del Ingeniero Agrónomo. Esta situación determinó la elaboración de proyectos de investigación en los cinco Departamentos de la Facultad, con el doble fin de preparar profesionales con creatividad y capacidad para analizar y resolver problemas de la agricultura nacional, y de vincularse con la comunidad en la solución de problemas reales.

En este caso particular se determinó realizar el trabajo de investigación dentro del sistema de producción del agricultor cacaotero por las ventajas comparativas que esto representaba. La zona seleccionada fue el *pedemonte llanero* en los municipios de Guamal y Granada, por su potencial agrícola en general y cacaotero en particular. La mayoría de las explotaciones de esta región son de economía campesina y muy pocas de tipo empresarial.

Con este proyecto se quiso, finalmente, contribuir al desarrollo de la epidemiología de enfermedades de plantas en el país y, especialmente, a la formación de una generación de investigadores jóvenes que pudieran atender y resolver, con una exce-

lente disposición y una sólida preparación científica, los más diversos problemas de carácter fitopatológico que afronta la producción de cultivos en Colombia.

### Filosofía de la investigación.

El proyecto se planteó dentro de una concepción de análisis de sistemas en epidemiología, con el propósito de conocer las interacciones entre el cacao, el hongo, el clima y el productor, con sus decisiones tecnológicas para el manejo del cultivo. De esta manera se quiso llegar al conocimiento causal de la estructura y comportamiento de la epidemia, con el fin de sentar las bases necesarias para la implementación de un sistema de manejo integrado de la enfermedad. El enfoque de análisis de sistemas permite organizar la experimentación mediante un conjunto de técnicas y conceptos teóricos. Es decir, que la parte experimental es cotejada permanentemente con la teoría. La parte experimental incluyó tanto ensayos de campo como de laboratorio en cámaras reguladas.

**Experimentación holística de campo.** El concepto tradicional en investigación biológica contempla, en general, que el diseño tenga una variable dependiente y varias independientes. Esta concepción puede ser inadecuada en un proceso de análisis de sistemas en epidemiología, por cuanto el enfoque debe ser holístico, es decir, del todo. Si el propósito es estudiar la naturaleza holística de la epidemia, la experimentación también debe ser holística.

La experimentación holística de campo tiene el propósito fundamental de entender y dilucidar de una manera muy cercana a la realidad la estructura y comportamiento del patosistema y tratar de descubrir la esencia natural de su regulación para la aplicación de un manejo determinista con base científica.

La experimentación holística significa cuantificación, mediciones y registros adecuados y simultáneos de las variables inherentes al hospedante (cacao), al patógeno (*Crinipellis perniciosa*), a la enfermedad (resultante de la interacción patógeno-hospedante-clima-hombre), al clima y a los factores de interferencia humana, de una manera tan natural como sea posible.

**Experimentación de laboratorio.** Tiene el propósito de complementar el análisis multivariable de la experimentación de campo. La manipulación experimental de variables individuales es, frecuentemente, más difícil en el campo que en el laboratorio. En este sentido las cámaras de crecimiento en laboratorio proveen un mecanismo adecuado para precisar el efecto de un factor dado del ambiente sobre el hospedante, del patógeno o su interacción. Sin embargo, estas pruebas de laboratorio jamás pueden reemplazar las de campo.

La investigación epidemiológica concebida de esta manera conlleva una estrategia multidisciplinaria, lo cual quiere decir que el análisis debe ser versátil con base en conocimientos teóricos en matemáticas, teoría de sistemas, manejo de programas de cómputo, experimentación biológica y procesamiento de datos, ecología, fisiología vegetal, fitopatología y meteorología. Los conocimientos metodológicos también son muy importantes, tales como el desarrollo de técnicas y la instrumentación para la realización de medidas. Esta concepción determina una investigación interdisciplinaria donde intervenga un equipo experto con una mentalidad integradora. El asocio de especialistas depende de la naturaleza y objetivos del proyecto.

**Objetivo general de la investigación.** La investigación sobre escoba de bruja del cacao en el *piedemonte llanero* del Departamento del Meta pretendió elaborar un mo-

delo que permitiera la interpretación epidemiológica de la escoba de bruja del cacao, para un adecuado manejo de la enfermedad, con el fin de aumentar la productividad del cultivo, de mejorar la condición social y económica del productor y de proteger el medio ambiente contra una mayor contaminación y deterioro.

### **Localización y características generales de la región de experimentación**

Los municipios de Guamal ( $3^{\circ}50' N$  y  $73^{\circ}21' W$ ) y de Granada ( $3^{\circ}32' N$  y  $73^{\circ}43' W$ ), donde se realizó la investigación, pertenecen a la región comúnmente llamada *piedemonte llanero* o más propiamente Región Andino-Orinocense, la cual consiste en un cinturón relativamente angosto y alargado ( $2^{\circ}36' N$  a  $7^{\circ} N$ , aproximadamente), que bordea la Orinoquia (Fig. 2), en el cual se confunden la planicie con las laderas andinas de la cordillera oriental. Comienza con una serie de lomeríos y mesas entre 200 y 300 msnm que llegan a alcanzar altitudes entre 500 y 1000 msnm antes de encontrarse con los estratos de la Cordillera Andina (Domínguez, 1987)

Las variaciones anuales del clima están definidas, fundamentalmente, por el desplazamiento de la Zona Intertropical de Convergencia (ZITC), entre las latitudes  $4^{\circ} S$  y  $15^{\circ} N$ . La región se halla en su totalidad bajo condiciones climáticas de trópico del hemisferio norte, teniendo en cuenta que alrededor del grado  $2^{\circ}$  sur (Ecuador climático) ocurre la diferenciación de condiciones climáticas de ambos hemisferios. Por consiguiente, el comportamiento climático regional al norte de  $1^{\circ}$  ó  $2^{\circ}$  sur, se presenta de la siguiente manera (Mejía, 1987):

- Tendencia seca principal: Noviembre a febrero.
- Mes más seco: Febrero.
- Paso de tendencia seca a húmeda: Marzo.

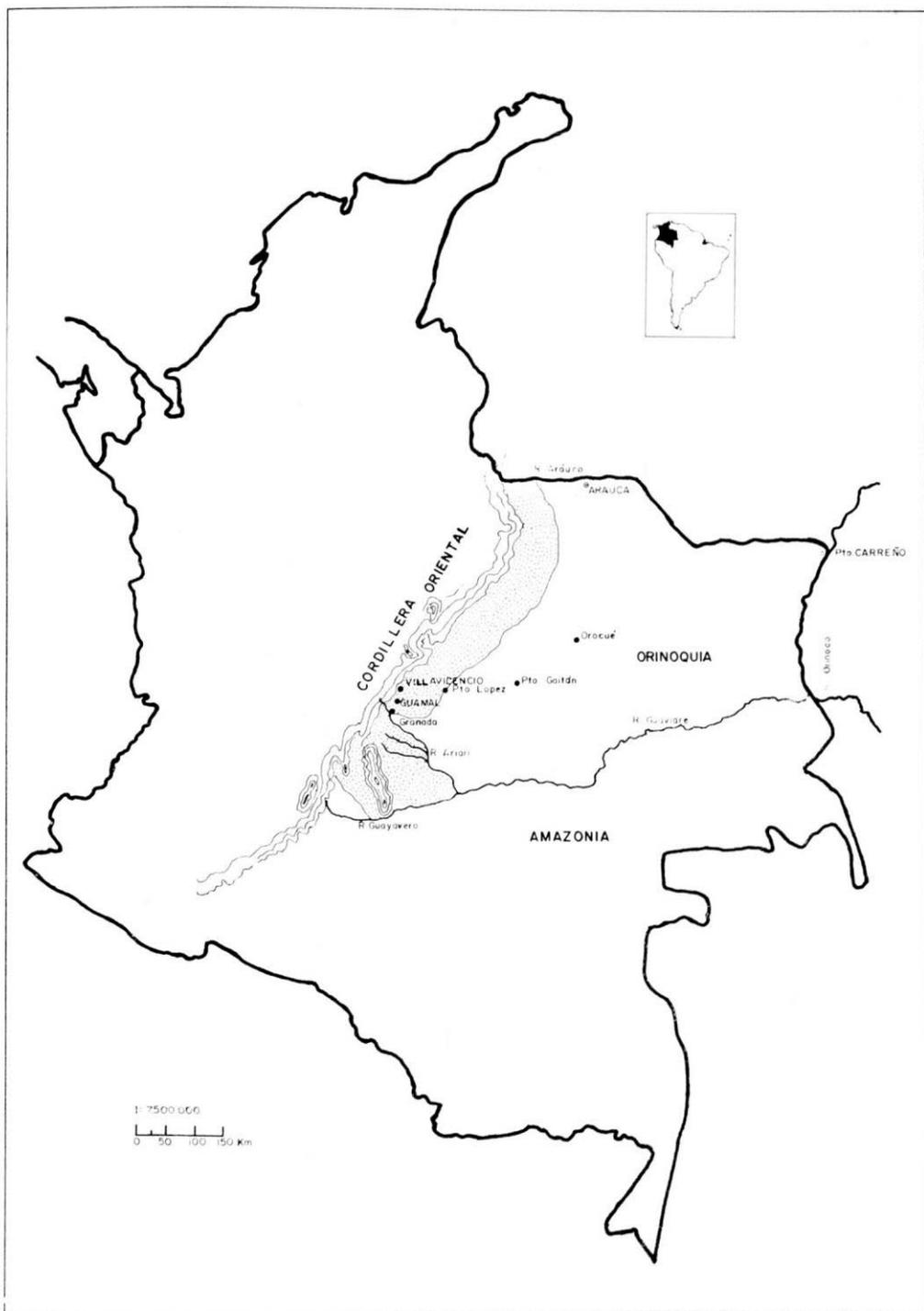


Fig. 2. Mapa de Colombia con la región del piedemonte llanero donde se realizó la investigación sobre la epidemiología de la escoba de bruja del cacao.

- Tendencia húmeda (lluviosa): Abril a julio.
- Paso de tendencia húmeda a seca: Agosto a septiembre, se denomina también estación de “salida de aguas” o “veranillo”; corresponde a la segunda estación seca del año.
- Tendencia lluviosa: Octubre a noviembre.

como un clima superhúmedo de selva tropical, según Köppen.

Los datos climatológicos de Granada y Guamal se registran en la Tabla 1. (Instituto de Hidrología, Meteorología y Adecuación de Tierras -HIMAT-, 1986).

Los suelos de *pedemonte llanero* corresponden a inceptisoles (tropets) y ultisoles de erosión ligera o inexistente.

### Características del material genético de cacao:

La descripción de algunos clones utilizados para la producción de híbridos es la siguiente (Enríquez y Soria, 1967):

- SCA-6 (Scabina): Clon amazónico ecuatoriano, seleccionado en la hacienda Sabina por Pound en 1938. Descendencia híbrida

**Tabla 1. Valores medios, máximos y mínimos de temperatura (°C), humedad relativa (%), precipitación (mm) y velocidad del viento (m/s), para dos municipios, Granada y Guamal, del piedemonte llanero**

Variable climática	Valores		
	Medio (anual)	Máximo (mensual)	Mínimo (mensual)
Granada:			
Temperatura (°C)	25,1	28,5	22,0
Humedad relativa (%)	79,0	92,0	52,0
Precipitación (mm)	2.431,3	553,0	0,0
Evaporación (mm)	1.355,8	232,0	0,0
Velocidad del viento (m/s).	1,3	5,2	0,0
Guamal:			
Temperatura (°C)	25,0	30,0	21,0
Humedad relativa (%)	80,0	-	-
Precipitación (mm)	3.752,0	502,5	37,5
Velocidad del viento (m/s).	2,7	3,4	2,2

vigorosa de alta productividad, autocompatible. Por bastante tiempo presentó alta tolerancia a la *escoba de bruja* (*C. pernicioso*) y a la *putridión parda* de la mazorca (*Phytophthora* spp.), mediana tolerancia al *mal del machete* (*Ceratocystis fimbriata*).

-SCA-12 (Scabina): Clon amazónico ecuatoriano, seleccionado en 1938. Descendencia híbrida vigorosa de alta productividad, autocompatible. Inicialmente alta tolerancia a la *escoba de bruja* (*C. pernicioso*), mediana tolerancia al *mal de machete* *C. fimbriata*.

- IMC-37 (Iquitos Maragnon Collection): Clon amazónico peruano, seleccionado en Iquitos en 1938. Autoincompatible de alta productividad. Medianamente tolerante a la *escoba de bruja* (*C. pernicioso*), y altamente tolerante al *mal del machete* (*C. fimbriata*) y susceptible a escasez de agua.

- ICS-1 (Imperial College Selection): Clon trinitario, seleccionado en River State en 1931 por Pound. Autocompatible de alta productividad. Medianamente tolerante a la *escoba de bruja* (*C. pernicioso*), y altamente susceptible al *mal del machete* (*C. fimbriata*).

- ICS-60 (Imperial College Selection): Clon trinitario, seleccionado en River State en 1931 por Pound. Autoincompatible. Medianamente tolerante a la *escoba de bruja* (*C. pernicioso*).

- ICS-6 (Imperial College Selection): Clon trinitario, seleccionado en River State en 1931 por Pound. Autocompatible, de buena productividad. Medianamente tolerante a la *escoba de bruja* *C. pernicioso*) y al *mal del machete* (*C. fimbriata*).

- PA-46 (Parinari o Peruvian Amazónico): Clon amazónico peruano, seleccionado en 1937 por Pound. Autoincompatible. Media-

namente tolerante a la *escoba de bruja* (*C. pernicioso*) y alta tolerancia al *mal del machete* *C. fimbriata*).

- SPA-9 (Selección Palmira Amazónico): Clon amazónico colombiano, seleccionado por Pound. Autoincompatible. Altamente tolerante al *mal del machete* (*C. fimbriata*).

- EET-62 (Estación Experimental Tropical de Pichilingue): Clon amazónico (nacional x desconocido) de origen ecuatoriano; seleccionado en 1944. Autocompatible, alta productividad. Medianamente tolerante al *mal del machete* (*C. fimbriata*) y baja tolerancia a *escoba de bruja* (*C. pernicioso*).

- EET-400 (Estación Experimental Tropical): Clon amazónico ecuatoriano, descendiente de Silecia-1, seleccionado en 1949. Autoincompatible. Altamente tolerante a *escoba de bruja* (*C. pernicioso*).

- TSA-654 (Trinidad Selection Amazonic): Clon híbrido (SCA-6 x IMC-67), originario de Trinidad, seleccionado por Freeman en 1957. Autoincompatible, buena productividad. Altamente tolerante al *mal de machete* (*C. fimbriata*) y a *escoba de bruja* (*C. pernicioso*).

- TSA-644 (Trinidad Selection Amazonic): Clon híbrido (SCA-6 x ICS-1), originario de Trinidad, seleccionado en 1957. Autoincompatible, buena productividad. Altamente tolerante a *escoba de bruja* (*C. pernicioso*) y baja al *mal de machete* (*C. fimbriata*).

Los híbridos más usados en plantaciones comerciales en Colombia son los siguientes:

SCA-6 x IMC- 5 IMC-67 x SCA- 6  
SCA-6 x ICS- 1 ICS- 1 x SCA- 6  
ICS- 6 x SCA- 6 ICS- 60 x SCA- 12  
EET- 96 x SCA- 6 TSA-654 x ICS- 6

## BIBLIOGRAFIA

PA -121 x ICS- 6 SCA- 12 x EET- 96  
TSA-644 x ICS- 6 SCA- 12 x IMC- 67  
ICS- 6 x IMC-67 SCA- 12 x ICS- 1  
IMC- 67 x ICS- 6 TSA-641 x ICS- 6  
PA - 46 x IMC-67 TSA-644 x PA - 46  
EET- 62 x SCA- 6 ICS- 6 x PA -121  
EET- 96 x SCA-12

El híbrido ICS-39 x SPA-9, salió de la producción de semilla hacia 1980, debido a su alta susceptibilidad a *escoba de bruja*. En la actualidad las entidades productoras de semilla entregan a los productores mezclas de aproximadamente ocho híbridos. Algunos de los entregados por la Federación Nacional de Cacaoteros son los siguientes:

ICS- 1	x	IMC-67
IMC- 67	x	ICS- 1
EET-400	x	IMC-67
EET- 62	x	IMC-67
ICS- 6	x	IMC-67
TSA-641	x	ICS- 6
TSH-565	x	ICS- 6
ICS- 60	x	SCA-12

Domínguez, C. 1987. Colombia y la Panamazonia. En: *Colombia amazónica*. Universidad Nacional de Colombia, Fondo FEN. Colombia. pp. 31 - 53.

Enríquez, C.A. y Soria, J. 1967. Catálogo de cultivares de cacao. Turrialba, Costa Rica. Instituto Interamericano de ciencias agrícolas de la OEA. Centro Tropical de Enseñanza e Investigación.

Garcés, C. 1946. La escoba de bruja del cacao. *Separata de la revista de la Facultad de Agronomía de Medellín*, Colombia. 6 (24), 329 - 369.

Instituto de Hidrología, Meteorología y Adecuación de Tierras (HIMAT). 1986. Información climatológica. Sistema de información hidrometeorológica. División de meteorología. Bogotá, Colombia.

Mejía, M. 1987. La amazonia colombiana, introducción a su historia natural. En: *Colombia amazónica*. Universidad Nacional de Colombia, Fondo FEN. Colombia. pp. 55 - 126.

Ocampo, F. 1978. Informe de la reunión sobre *escoba de bruja* de cacao. Manaos Rondônia (Brasil). *El cacaotero colombiano*, No 3, pp. 21 - 28.

Rorer, J. B. 1913. The Surinam Witches' broom disease of cocoa. *Trinidad and Tobago: Dep. Agr., Circ.* 10, 1 - 13.

Tovar, G. 1986. Escoba de bruja del cacao, ciencia y tecnología. *Agronomía colombiana*. 3, 15 - 30.

# Capítulo III.

## LA ESCOBA DE BRUJA DEL CACAO [*Crinipellis pernicioso* (Stahel) Singer] EN LA REGION DEL PIEDEMONTTE LLANERO DE COLOMBIA: ESTUDIO DEL PROCESO DE INFECCION

Germán Tovar<sup>1</sup>, Ovidio Mesa<sup>2</sup> y Doris Romero<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Profesor titular.

<sup>1</sup> y <sup>2</sup> Ingenieros Agrónomos, Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia, A.A. 14490. Santa Fe de Bogotá, D.C.

### RESUMEN

La infección se estudió mediante inoculaciones en diferentes tejidos (yemas vegetativas, cojines florales, flores, frutos) de árboles de cacao en plantaciones comerciales. La infección de las yemas vegetativas está estrechamente relacionada con el ritmo de brotación foliar y el estado de desarrollo del brote. En yemas activas F1-2 la eficiencia de infección fue más alta que en yemas dormantes I1-2. El 50% de las inoculaciones, en promedio, dio como resultado la formación de escobas típicas y el porcentaje restante estuvo representado por una gama de síntomas menos característicos (necrosis de la yema, cáncer, escobas "látigo", hipertrofia) que ocasionaron un traumatismo temporal de la yema. La aparición de los primeros síntomas se observó a partir de la 4a. semana con un promedio de 10 semanas para ye-

mas F1-2 y de 16 para yemas I1-2. La inoculación de cojines florales inactivos y activos en estados iniciales no dió lugar a la formación de escobas. La inoculación de flores polinizadas permitió el desarrollo de escobas de cojín floral, debido a la infección indirecta a través del ovario fecundado. La inoculación de frutos pequeños y recién formados de, aproximadamente, tres días permitió la infección indirecta del cojín floral con el desarrollo de un 66% de escobas típicas. En frutos de más de 2 cm de longitud y a partir de los 30 días de edad los síntomas permanecieron circunscritos al fruto. A medida que los frutos aumentaron en edad y tamaño se observó una mayor resistencia a la enfermedad y las pérdidas fueron menores.

### INTRODUCCION

El estudio de la infección de *Crinipellis pernicioso* (Stahel) Singer en cacao (*Theo-*

*broma cacao L.*) se ha venido desarrollando desde que se estableció la identificación del hongo por Stahl (1942), y actualmente se dispone de conocimientos útiles sobre el proceso infeccioso, especialmente para el diagnóstico de la enfermedad.

Las basidiosporas germinan dos horas después de su liberación, completando el proceso en, aproximadamente, cuatro horas, con una eficiencia del 95% (Baker y Crowdy, 1943; Dale, 1946). El proceso de germinación ha sido conducido con éxito en medio acuoso, solución nutritiva y atmósfera saturada de humedad; sin embargo, el proceso se interrumpe cuando la humedad relativa es menor del 90%, teniendo en cuenta que las basidiosporas son altamente sensibles a la desecación, debido a las características de la pared celular. De esta manera, períodos de desecación de menos de una hora reducen notablemente el porcentaje de germinación y, por encima de una hora, pueden conducir a la muerte de la célula. La germinación ocurrida en extracto de tejido joven de cacao previene la dicariorización del micelio y mantiene el micelio primario monocariótico, indicando que, posiblemente, un metabolito presente en brotes de tallos y frutos verdes es la causa del fenómeno (Evans y Bastos, 1980).

Las primeras observaciones sobre el proceso de infección indicaban que la penetración del tubo germinativo se realizaba a través de los estomas de hojas y frutos jóvenes en el lapso de pocas horas (Stahl, 1919) y no se obtuvieron evidencias objetivas de la penetración directa a través de la cutícula del ovario, asumiéndose que el proceso sólo tenía lugar después de la fecundación cuando aparecían los estomas. Investigaciones posteriores confirmaron la penetración a través de los estomas (Suárez-Capello, 1977; Aragundi, 1982). El hongo también tiene la capacidad de penetrar directamente a través de la epidermis

(Cronshaw y Evans, 1978; Frías, 1987; Mayorga, 1988; Sreenivasan y Dabydeen, 1989). En hojas jóvenes del clon ICS-43 después de seis, ocho y doce horas de incubación se observó que el patógeno penetraba directamente y a través de los estomas (Sreenivasan y Dabydeen, 1989). En la fase posterior a la penetración ocurre la formación de vesículas subestomatales, a partir de las cuales se desarrollan las hifas intercelulares que colonizan el tejido verde (Frías, 1987), el cual se puede observar en todas las partes de las escobas de yema vegetativa y de yema reproductiva (cojín floral), incluyendo pedicelos y pétalos de la flor (Baker y Crowdy, 1943).

La alta densidad de tricomas sobre las yemas no permite el depósito completo de las basidiosporas del hongo sobre la epidermis, haciendo que los tubos germinativos se elonguen con rapidez hacia abajo en busca de la epidermis para penetrar (Mayorga, 1988). A pesar de que existen dos modalidades de penetración, la estomatal es la más importante (Frías, 1987; Mayorga, 1988), y, frecuentemente, más de un tubo penetra un estoma (Mayorga, 1988).

El hongo puede infectar cualquier tejido meristemático en activo crecimiento, tales como yemas vegetativas, cojines florales y frutos (Baker y McKee, 1943); los tejidos del tallo, pecíolo, pedúnculo y, posiblemente, aquellos de la lámina foliar del brote en activo crecimiento son también susceptibles de ser infectados (Cronshaw, 1977). Las basidiosporas penetran por heridas mecánicas del tejido, podas e injertaciones, colonizando la corteza y la madera de las ramas, presentándose un hinchamiento y la formación de *callus* (Cronshaw, 1977; Evans *et al.*, 1977); este hinchamiento se debe al desarrollo de un cáncer interno (Baker y Crowdy, 1943). El tipo de síntoma (escoba) depende del tejido afectado y de

su estado de desarrollo, de esta manera es posible observar escobas de chupón, de yema vegetativa terminal y lateral, escobas de cojín y floración estrella (Baker y Crowdy, 1943).

Las escobas de yema vegetativa presentan inicialmente un desarrollo vigoroso y excesivo, con acortamiento de los entrenudos; las hojas son normales excepto por el grosor del pecíolo y la persistencia de las estípulas; algunas escobas son inconspicuas debido a que la yema muere casi inmediatamente después de la infección (Thorold, 1975). Una vez que ocurre la infección, la aparición de los primeros síntomas puede ser ampliamente variable, entre cuatro y seis semanas, dependiendo de la fase de crecimiento del brote en que ocurre la infección, las inoculaciones en fase de crecimiento F-1 y F-2 tienen una eficiencia del 40%, mientras que inoculaciones cuando el brote tiene 3,75 cm de largo y la yema terminal está dormante (I-1) alcanzaron una eficiencia del 13%. Las inoculaciones cuando el brote ha madurado (I-2; I-3) y la yema terminal está dormante no tienen éxito (Baker y Crowdy, 1943). Sin embargo, en otras experiencias investigativas, las inoculaciones de yemas terminales tiernas produjeron síntomas entre tres y cuatro semanas; sobre brotes desarrollados con tejido maduro, entre seis y siete semanas, y sobre yemas dormantes, doce semanas (Cronshaw y Evans, 1978).

Las escobas de cojín floral tienen características similares a las de yema vegetativa, pero con una menor proliferación de yemas axilares; en algunas ocasiones la infección resulta en una proliferación de flores denominada *floración estrella*; las flores infectadas tienen un pedúnculo alargado y son persistentes (Thorold, 1975). El desarrollo de las escobas de cojín ocurre entre tres y cinco semanas después de la inocu-

ción; sin embargo, en algunas ocasiones no hay desarrollo de la escoba y sólo se activa el cojín, mientras que en otros casos el cojín produce flores sanas en el siguiente ciclo de floración (Baker y McKee, 1943). En otros experimentos de inoculación no fue posible obtener el desarrollo de escobas, pero se observaron flores anormales (Cronshaw y Evans, 1978). La intensidad de la floración es un factor determinante en la cantidad de infección y en la aparición de síntomas (Holliday, 1956; Rudgard, 1987).

La infección de los frutos presenta una gran variedad en la expresión de los síntomas, dependiendo del estado de desarrollo de los frutos y de la modalidad de la infección (directa/indirecta). El ovario de las flores sin fecundar no se infecta porque no posee estomas, mientras que las flores fecundadas y luego inoculadas producen frutos infectados y endurecidos; el tamaño del fruto al momento de la inoculación parece determinar la cantidad y calidad de la expresión sintomalógica (Dale, 1946). La infección indirecta de la flor sobre un cojín infectado da origen a frutos partenocárpicos en forma de "fresa" o "chirimoya", los cuales tienen un escaso desarrollo, se necrosan y toman una consistencia dura (Dale, 1946; Cronshaw y Evans, 1978). La infección en frutos pequeños de 1 cm produce frutos alargados, con punta angosta y pedicelos engrosados, llamados comúnmente "frutos zanahorios"; estos frutos pueden alcanzar hasta 15 cm y luego se necrosan. En frutos grandes (mayores de 6 cm), los síntomas no aparecen hasta que están próximos a madurar, el área de influencia del punto de penetración presenta una coloración marrón oscura y las semillas son afectadas total o parcialmente. En frutos tardíamente infectados (próximos a la madurez) se notan puntos negros en la corteza con pequeños abultamientos y daño de las semillas adyacentes (Dale, 1946).

El proceso de infección en este trabajo ha sido estudiado sobre árboles de plantaciones comerciales y bajo las condiciones agro-ecológicas de la región del *pie de monte llanero* colombiano. Además de la comparación de dos sistemas de inoculación se buscó analizar el proceso de infección no sólo desde el punto de vista sintomatológico para el diagnóstico de la enfermedad, sino también desde el punto de vista epidemiológico con el fin de ampliar las bases para la comprensión de la dinámica de la enfermedad en diferentes órganos y tejidos del cacao a través del tiempo.

## MATERIALES Y METODOS

### Localización del experimento

La experimentación se realizó totalmente en condiciones de campo, en varias parcelas experimentales, correspondientes a tres explotaciones semiempresariales de cacao: "San Agustín", "Minerva" y "La Cabaña". Las dos primeras situadas en el municipio de Guamal y la última en Granada. Los árboles seleccionados para las pruebas de infección pertenecían a una población heterogénea de híbridos comerciales de diez, nueve y cinco años de edad, respectivamente.

### Técnicas de inoculación

Los basidiocarpos frescos se recolectaron a partir de escobas secas en el campo, se retiró el estípite y se conservó el píleo para obtener la liberación de las basidiosporas en cajas de Petri dispensadas con agar- decocción corteza de cacao o con agua destilada, de acuerdo con la técnica de inoculación. Las cajas eran recubiertas con papel aluminio para obtener la descarga bajo condiciones de oscuridad, logrando una abundante cantidad de basidiosporas después de un período de cuatro horas.

Teniendo en cuenta que el trabajo de inoculación en condiciones de campo (árboles) era bastante complejo y prolongado, para cada una de las pruebas se obtuvieron descargas escalonadas de las basidiosporas, con el fin de disminuir al máximo los errores a causa de traumatismos por pérdida de la viabilidad de la espora.

Para las inoculaciones se emplearon dos técnicas: 1) Suspensión de basidiosporas en agua destilada, y 2) Bloques de agar con basidiosporas. Todas las inoculaciones fueron realizadas entre las 6 pm y la 1 am en condiciones de alta humedad relativa y temperaturas moderadas (21°C).

La inoculación se realizó depositando la solución de esporas sobre el tejido, con la ayuda de una micropipeta (5µl) en el caso de la primera técnica o tomando con una aguja estéril un bloque de agar semisólido con esporas, aplicándolo en estrecho contacto con el tejido. Una vez depositado el inóculo se procedió a recubrir el sitio con una mota de algodón estéril embebida en agua destilada para asegurar una alta humedad. Además, la zona aledaña era cuidadosamente asperjada con un pulverizador DeVilbiss. El algodón se retiró después de 24 horas.

*Inoculación de yemas vegetativas terminales.* Para las inoculaciones se seleccionaron brotes que presentaban el estado de desarrollo *F-1 a F-2*, según la clave modificada de Orchard *et al.*, (1981), basada en la de Greathouse *et al.*, (1971):

- *F-1*: Activación de la yema e iniciación del desdoblamiento de las hojas.

- *F-2*: Expansión de las hojas. Hojas delgadas con pigmentos antocianínicos. Yema apical dormante.

- *I-1 e I-2*: Hojas maduras verde claro a oscuro opaco y yema terminal dormante

con estípulas cerradas completamente, dando la apariencia de una "punta de lanza".

Una primera prueba se realizó durante la primera estación lluviosa del año (mayo), seleccionando 200 yemas (F-1 - F-2) y 100 yemas (I-1 - I-2). El 50% se inoculó con la técnica de suspensión de esporas y el 50% restante con técnicas de bloques de agar. Se dispuso de un testigo de 50 yemas para cada uno de los grupos, el cual se asperjó con agua destilada.

La segunda prueba se realizó a comienzos de la segunda estación de tendencia seca (julio). La técnica de inoculación empleada fue la de bloques de agar. La tercera prueba se realizó durante la segunda estación de lluvias del año (octubre).

*Inoculación de la lámina foliar.* Se realizaron dos pruebas de inoculación en noviembre de 1981 y noviembre de 1982, durante la segunda estación de lluvias del año. Se seleccionaron en cada prueba 50 láminas foliares (F1-2), y se incluyó un testigo de 50 hojas. La técnica de inoculación empleada fue la de bloques de agar. La inoculación se realizó en el envés de la hoja, siempre en un punto cercano a la inserción de la lámina con el pecíolo.

*Inoculación de heridas.* Se efectuaron heridas en el leño descortezando una superficie de 3 cm x 2 cm, y se decapitaron los brotes terminales, inmediatamente por debajo de la yema axilar, quedando la yema contigua a 3 ó 4 cm de distancia, es decir, la longitud del entrenudo. La técnica de inoculación fue la de bloques de agar.

*Inoculación de cojines florales.* Se seleccionaron cojines activos e inactivos y se emplearon las dos técnicas de inoculación (suspensión y bloques) y se incluyó un testigo. Se realizaron tres pruebas bajo condiciones de estación húmeda y seca.

*Inoculación de flores.* Las flores se seleccionaron antes de que ocurriera la anthesis floral, y se encapsularon con secciones de tubo plástico (2,5 x 4,0 cm) desde el día anterior a la inoculación. Se adhirieron al árbol con la ayuda de plastilina y en el extremo distal se colocó una tela de gasa sujeta con una banda elástica para facilitar la oxigenación e impedir la visita de insectos a la flor. Las pruebas de inoculación se realizaron bajo diferentes modalidades, a saber: 1) Inoculación sin emasculación y sin polinizar, y 2) Inoculación después de emasculación y polinizar.

Para cada tratamiento se dejó un testigo. Las técnicas de polinización empleadas fueron la de suspensión de basidiosporas y la de bloques de agar. La polinización se hizo cruzada, para disminuir el problema de auto-incompatibilidad, empleando flores de árboles con fruto morado y polen de árboles con fruto verde, y viceversa.

*Inoculación de frutos.* Se realizaron inoculaciones por tamaño y edad de los frutos. La edad de los frutos se controló a partir de polinizaciones artificiales. Los frutos se inocularon con bloques de agar con basidiosporas, localizándolos en un surco de la mazorca en la zona cercana al pedúnculo.

## RESULTADOS

### Infeción de yemas vegetativas

La inoculación sobre yemas de brotes (I1-2) con suspensión de esporas presentó una eficiencia muy baja (10%), elevándose moderadamente cuando se empleó la técnica de bloques de agar (20-30%). El 4% de las yemas del testigo desarrollaron escobas típicas, debido a infecciones naturales (Tabla 1). La expresión sintomatológica más típica fue la denominada escoba; sin embargo se presentan en otros síntomas con una frecuencia menor ( Fig. 1).

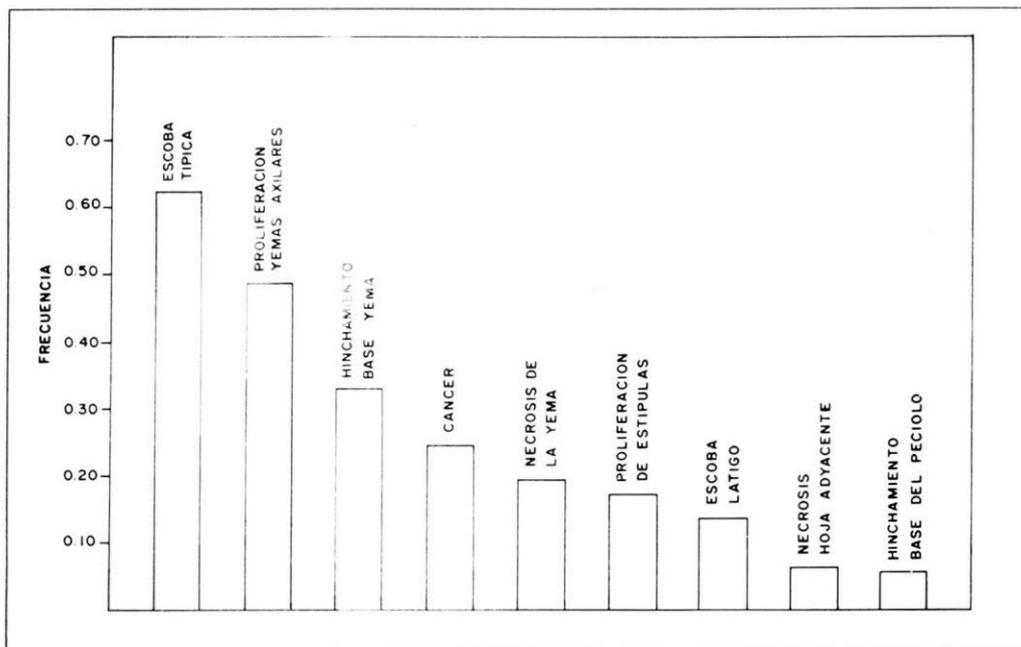


Fig. 1. Tipo y frecuencia de síntomas asociados con la infección de *C. perniciosa* sobre yemas vegetativas ( $F_1$ - $F_2$ ).

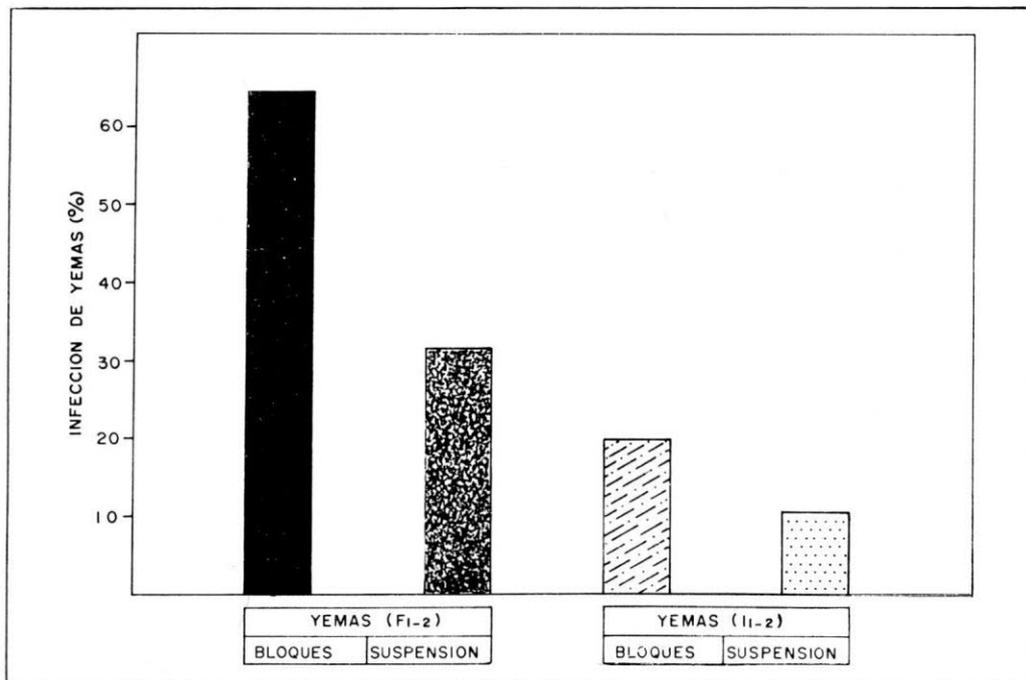


Fig. 2. Eficiencia de infección sobre yemas ( $F_{1,2}$ ) y yemas ( $I_{1,2}$ ) con dos técnicas de inoculación, bloques de agar con basidiosporas en agua destilada-estéril.

**Tabla 1. Eficiencia de infección en porcentaje para las inoculaciones sobre yemas (F1-2) y yemas (I1-2), con dos técnicas de inoculación en el transcurso de tres épocas.**

Síntoma	Primera estación húmeda del año (mayo)				Segunda Estación seca del año (agosto)		Segunda estación húmeda del año (octubre)
	Yemas (I1-2)		Yemas (F1-2)		Yemas (I1-2)	Yemas (F1-2)	Yemas (F1-2)
	S(1)	B(2)	S	B	Bloques de Agar		Bloques de Agar
Escoba típica	10	20	32	64	30,0	53,3	76,7
Necrosis	14	12	8	10	13,3	13,3	3,3
Cáncer	4	8	8	4	23,3	10,0	10,0
Hinchamiento	2	8	20	10	6,7	0,0	3,3
Total yemas enfermas	30	48	68	88	73,3	76,7	93,3
Total yemas sanas	70	52	32	12	26,7	23,3	6,7

(1) S: Suspensión de basidiosporas.

(2) B: Bloques de agar con basidiosporas.

Las inoculaciones sobre yemas de brotes (F1-2) presentaron, para las dos técnicas empleadas, una mayor eficiencia de infección (32% con suspensión y 64% con bloque de agar), que sobre yemas de brote, (I1-2) (10% y 20%, respectivamente) (fig. 2). La técnica de inoculación con bloques de agar fue, de nuevo, la más eficiente, obteniéndose un promedio de un 64,6% de escobas típicas frente a un 32% con la técnica de suspensión de basidiosporas.

En general, para las tres pruebas realizadas se observa una mayor eficiencia de in-

fección en la estación húmeda (70,4%) que en la estación seca (53,3%), tomando como referencia la formación de escobas típicas, debido a que son las más importantes desde el punto de vista epidemiológico por cuanto constituyen el potencial más importante de fuentes de inóculo. En términos generales, la eficiencia de infección es alta cuando se consideran todas las expresiones sintomatológicas, alcanzándose un nivel máximo de dicha eficiencia sobre yemas (F1-2) con técnica de bloques de agar, durante la segunda estación húmeda del año (93,3%), y un punto mínimo sobre yemas

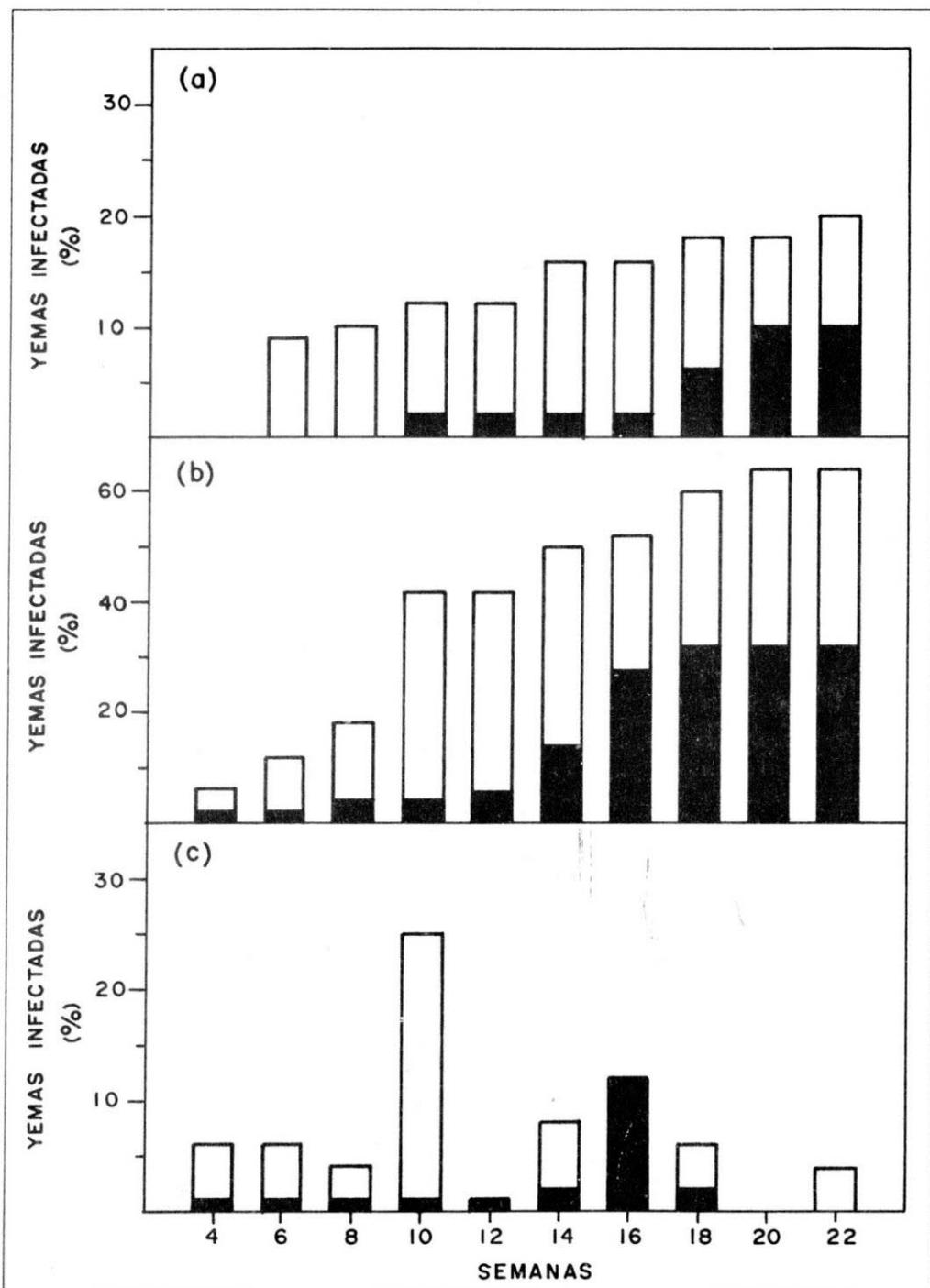


Fig. 3. (a) Porcentaje acumulado de yemas vegetativas (F<sub>1-2</sub>) infectadas con bloques de agar (□) y suspensión de basidiosporas (■); b) porcentaje acumulado de yemas (F<sub>1-2</sub>) infectadas; c) distribución del porcentaje de yemas (F<sub>1-2</sub>) infectadas en el transcurso de 22 semanas.

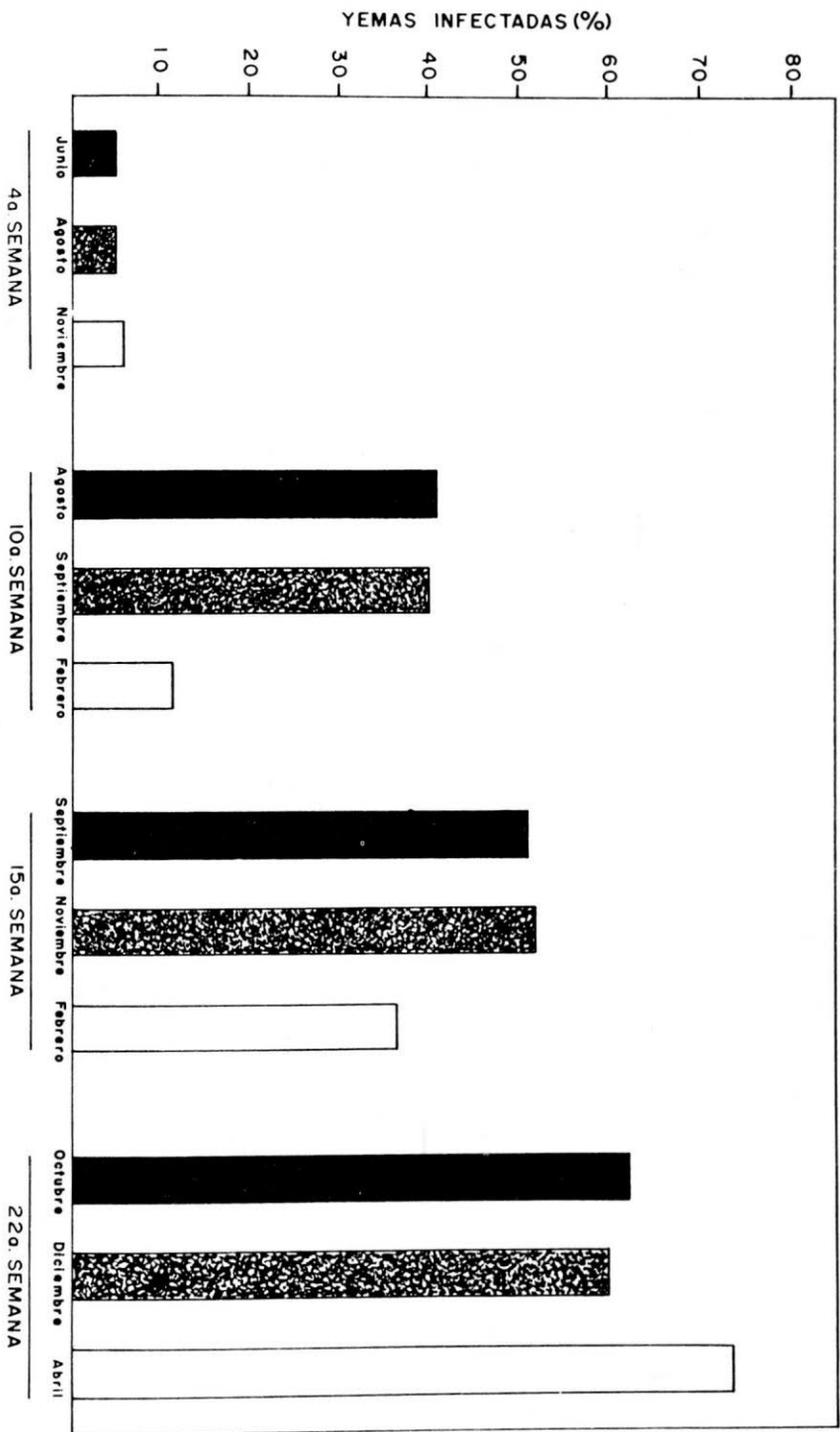


Fig. 4. Evolución del porcentaje de yemas vegetativas (Fl-2) infectadas durante tres pruebas de inoculación: 1) Estación humedad principal (■); 2) Estación seca secundaria (▨) y 3) Estación húmeda secundaria (□).

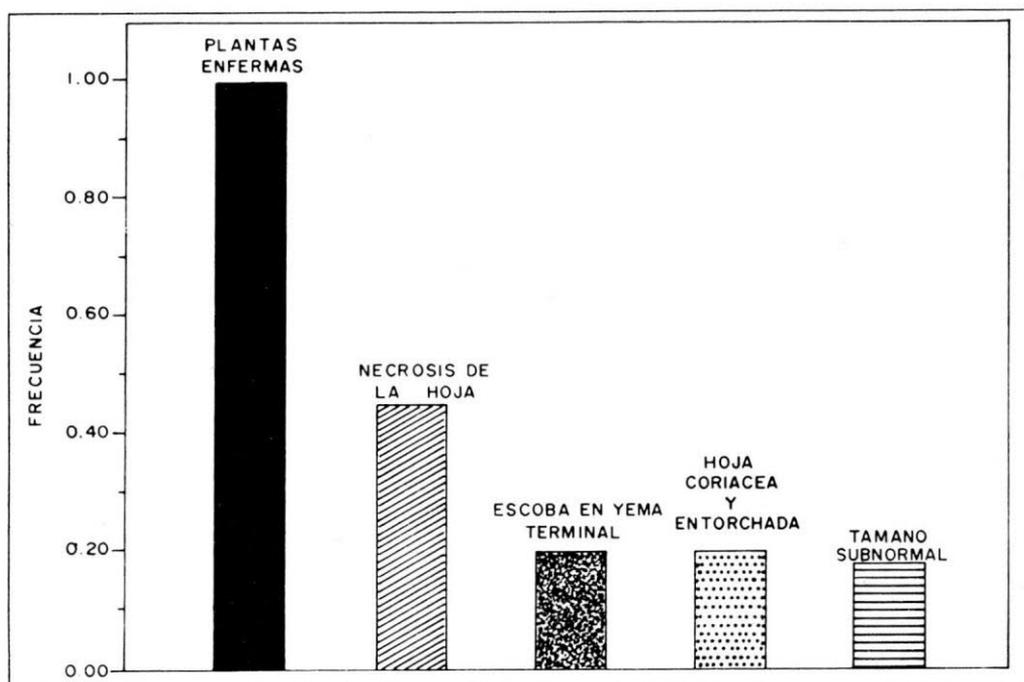


Fig. 5. Frecuencia de los síntomas aparecidos en la prueba de inoculación de la lámina foliar.

(I1-2, con la técnica de suspensión de esporas, durante la primera estación húmeda del año (30%).

La formación de escobas típicas comenzó a partir de la cuarta semana después de la inoculación, alcanzándose un máximo en la frecuencia de escobas formadas a la 10a. semana (Fig. 3c), suspendiéndose el proceso hacia la 22a. semana, para pruebas sobre brotes (F1-2), con bloques de agar durante la primera estación húmeda del año (mayo). Con la técnica de suspensión de esporas, aunque las primeras escobas se formaron a partir de la cuarta semana, la frecuencia fue débil hasta la 16a. semana cuando se alcanzó el máximo, finalizándose el proceso en la 18a. semana (Fig. 3c). Los testigos en todas las pruebas presentaron un bajo porcentaje de infección, en promedio, del 5% y el proceso de formación de escobas se presentó entre la 10a. y la 18a.

semana, lo cual puede representar una situación intermedia entre los dos grupos de pruebas.

La evolución de la infección en las tres pruebas realizadas presenta un comportamiento cualitativo similar, excepto para las pruebas de la segunda estación húmeda. En este caso la frecuencia acumulada de yemas con síntomas de la enfermedad es baja a nivel de la 10a. semana, debido a que la estación seca de diciembre-marzo (principal) determina la inactividad de los brotes y sólo cuando se dispone de humedad se reactiva la brotación, permitiendo a su vez que las infecciones latentes se expresen (Fig. 4).

#### Infección de la lámina foliar

Las inoculaciones sobre la lámina foliar tuvieron una eficiencia cercana al 100% de

infección (Fig. 5), y la manifestación sintomatológica fue variada: Necrosis de la hoja, tamaño subnormal, entorchamiento y consistencia coriácea, infección indirecta de la yema terminal y de yemas adyacentes. En el testigo las hojas presentaron un desarrollo normal.

### **Infección a través de heridas**

Las heridas del leño inoculadas no presentaron evidencias de infección, y, a partir de la cuarta semana, se comenzó a observar la cicatrización de manera similar a la del testigo. Al cabo de 18 semanas las heridas habían cicatrizado totalmente.

Las inoculaciones realizadas sobre brotes decapitados condujeron al desarrollo de escobas típicas de la enfermedad. Hasta la tercera semana se observó un proceso de cicatrización de la herida. A partir de la cuarta semana se comenzó a notar el desarrollo de síntomas. Las hojas adyacentes adquirieron una consistencia coriácea y presentaron entorchamiento; posteriormente se presentó una necrosis que descendía del punto de inoculación hasta el punto de inserción de la hoja siguiente, y la formación de escobas a partir de las yemas axilares de hojas inferiores. Estas escobas se formaron a 3 ó 4 cm de distancia del sitio inoculado. En las semanas subsiguientes hubo un necrosamiento progresivo de hojas y ramillas, comenzando por las hojas más cercanas al sitio inoculado. En el testigo no se observó necrosis pero sí se presentó el desarrollo de yemas axilares, debido a la pérdida de la dominancia apical.

### **Infección de cojines florales**

En los cojines florales cerrados no se observó reacción a la inoculación. Aparentemente no hay infección del cojín floral cerrado, pues después de 16 semanas de observación no hubo desarrollo de sínto-

mas. Sin embargo, el 30% de los cojines inoculados no entraron en actividad en contraste con el grupo de cojines del testigo, los cuales se activaron produciendo flores y frutos normales.

Los cojines inoculados en sus primeros estadios de activación no presentaron el desarrollo de escobas. Se pudo apreciar la necrosis del cojín con caída de botones y primordios florales, pero después de cuatro semanas los cojines se recuperaron y retomaron su desarrollo normal.

### **Infección en flores**

En las pruebas de flores sin emascular y sin polinizar, después de 72 horas de la inoculación, alrededor del 90% de las flores se había caído y el 10% presentaba necrosis y permanecían adheridas al cojín. En flores polinizadas, después de 72 horas, se había caído el 77%; el 13% de los frutos se necrosó y, posteriormente, se formaron escobas típicas y hubo proliferación de flores, y en el 10% de los casos se desarrollaron frutos normales.

### **Infección de frutos según tamaño.**

A medida que los frutos aumentan su tamaño la frecuencia de frutos necrosados disminuye sustancialmente; los frutos mayores de 19 cm sólo presentaron un 5% de estos frutos, en contraposición a los frutos pequeños (1-3,9 cm) donde el porcentaje de necrosis de frutos fue del 75%. Las infecciones indirectas del cojín floral, a través del pedúnculo del fruto, que conducen a la formación de escobas típicas, sólo ocurrió en un porcentaje muy reducido en los frutos pequeños. La madurez prematura y la pérdida parcial de semillas sólo ocurre en frutos de más de 13 cm de longitud, siendo la pérdida más importante. A medida que aumenta el tamaño del fruto inoculado es mayor la probabilidad de cose-

char frutos sanos (10-65%) (Tabla 2 y Fig 6). Los testigos tuvieron una cosecha de frutos sanos, superior al 90%.

### Infección de frutos según la edad

Cuando se inocularon frutos recién formados, es decir, cuando el ovario comenzó a hincharse, tres días después de la fecundación artificial, se obtuvo un elevado porcentaje de frutos necrosados y, principalmente, infecciones indirectas del cojín a través del pedúnculo, con formación de escobas típicas de cojín (66,6%) (Tabla 3, Fig. 6). La frecuencia de frutos necrosados disminuyó a medida que aumentó la edad del fruto, hasta en un 10% en el caso de frutos de 85 días. Las infecciones indirectas tienen

una frecuencia muy baja en los frutos de 30 días de edad (3,3%), y nula en frutos de 65 y 85 días. Los rendimientos en los testigos fueron elevados y las pérdidas se debieron a otros factores, tales como la marchitez fisiológica y la pudrición negra del fruto.

### DISCUSION

El establecimiento de la infección de *C. perniciosa* a nivel de las yemas vegetativas está estrechamente relacionado con el ritmo de brotación foliar a través del año y con los estados de desarrollo del brote. La concomitancia o desfase entre la producción del inóculo y el estado de desarrollo del brote receptivo se manifiesta en la pro-

**Tabla 2. Distribución porcentual de pérdidas de frutos por escoba de bruja y otros problemas en la prueba de inoculación de frutos por tamaño.**

Síntomas (Escoba de Bruja)	Tamaño (cm)							
	1-3,9	T	4-12,9	T	13-18,9	T	19	T
Necrosis total	75,0	0,0	55,0	0,0	10,0	0,0	5,0	0,0
Escoba típica.	5,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Madurez pre- matura y necro- sis de algunas almendras.	0,0	0,0	0,0	0,0	20,0	0,0	15,0	0,0
Frutos sanos.	10,0	90,0	35,0	90,0	65,0	100,0	65,0	100,0
Marchitez fisiológica.	10,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Pudrición negra. ( <i>Phytophthora</i> spp.)		0,0	10,0	10,0	5,0	0,0	15,0	0,0

T. Testigo.

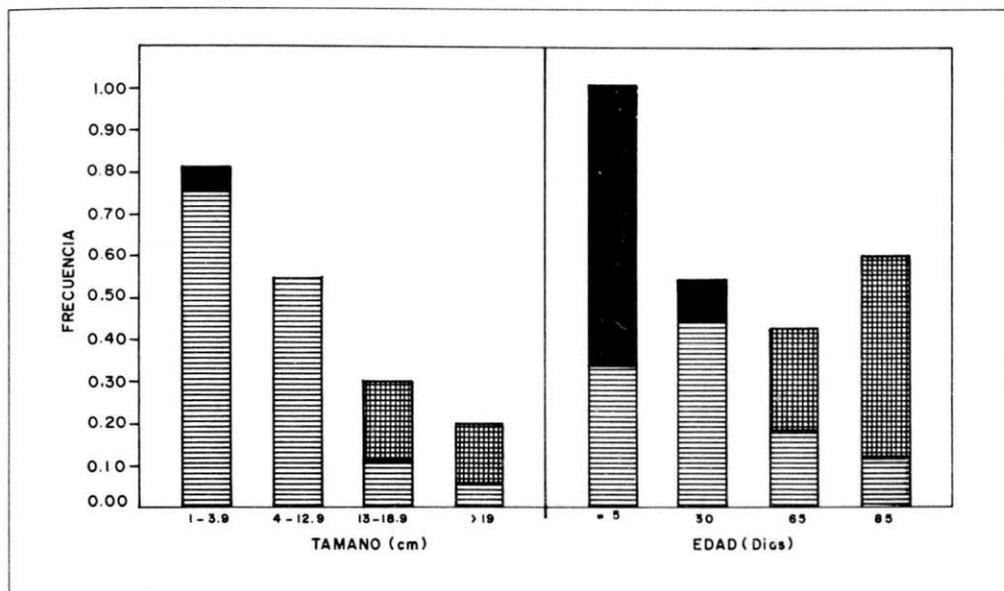


Fig. 6. Frecuencia de síntomas en la prueba de infección de frutos según su tamaño y su edad: Escoba de cojín ( ■ ); necrosis del fruto ( ▨ ) y semillas necrosadas ( ▩ ).

ducción abundante o escasa de escobas, que constituyen las fuentes de inóculo más importantes de la enfermedad. Las yemas de brotes (F1-2) en inoculaciones artificiales con bloques de agar presentan una eficiencia total de infección alta (93,3%), la cual se disminuye cuando la yema terminal ha cesado su actividad (I1-2) (73,3%). Sin embargo, desde un punto de vista epidemiológico el análisis global de la eficiencia es poco práctico por cuanto la infección de *C. perniciosa* no sólo contempla un aspecto cuantitativo, sino también un aspecto cualitativo muy importante. De esta manera, del 73,3% de yemas (I1-2) infectadas, el 30% correspondió a escobas típicas con capacidad esporulante, mientras que el porcentaje restante (43,3%) estuvo representado por una gama de síntomas menos característicos (necrosis de la yema, cáncer, escobas látigo, hipertrofias), que sólo ocasionan traumatismos temporales de la yema terminal, y, sobre todo, no constituyen una fuente de inóculo real puesto que no tienen

capacidad esporulante. Es preciso hacer notar que la yema inactiva no sólo reduce la formación de escobas típicas, sino que atenúa la manifestación sintomatológica. En contraposición, en las yemas activas (F1-2) el nivel de la respuesta es mayor (76,7% de escobas típicas) y las reacciones intermedias sólo representan el 16,16%.

Las inoculaciones con suspensión de basidiosporas en agua, a pesar de su elevada concentración, son menos eficientes (10% en yemas I1-2 y 32% en yemas F1-2), considerando únicamente la formación de escobas típicas.

Teniendo en cuenta que la infección natural en el campo es una cuestión de probabilidad, se puede suponer que la eficiencia natural de las infecciones en yemas sea relativamente baja. Esto se deberá constatar en la dinámica de la producción de escobas de yema, en parcelas, en el campo. Desde otro punto de vista, los conocimientos lo-

grados podrán ser de utilidad en inoculaciones artificiales para evaluación de resistencia de materiales de cacao y en pruebas de patogenicidad.

La producción de los primeros síntomas puede ir desde cuatro semanas, aproximadamente, en yemas tiernas, hasta doce semanas en yemas dormantes (Cronshaw y Evans, 1978). Estos resultados coinciden con los encontrados para la técnica de inoculación con suspensión de basidiosporas; sin embargo con la técnica de bloques de agar, que fue la más eficiente, para cualquier tipo de yema, la aparición de síntomas comienza a la cuarta semana, con un

período de incubación promedio de 10 semanas para yemas (F1-2) y de 16 semanas para yemas (I1-2) (Fig. 3c). De esta manera, parece que las infecciones ocurridas en un mismo tiempo no conducen necesariamente al desarrollo de escobas en el siguiente ciclo de brotación; esto conllevaría, hipotéticamente, a no poder establecer una correlación elevada entre la producción del inóculo y los flujos de brotación, que tienen, aproximadamente, una frecuencia bimensual, donde cada uno de los cuatro estados de desarrollo puede transcurrir en un lapso de dos semanas (Greathouse *et al.*, 1971; y Orchard *et al.*, 1981). Si se tiene en cuenta que las emisiones de brotes ob-

**Tabla 3. Distribución porcentual de pérdidas de frutos por escoba de bruja y otros problemas en la prueba de inoculación de frutos por edad.**

Síntomas (Escoba de Bruja)	Edad (días)							
	Recién Formados	T	30	T	65	T	85	T
Necrosis total	33,3	0,0	53,3	10,0	16,5	0,0	10,0	0,0
Escoba típica.	66,6	10,0	3,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Madurez pre- matura y necro- sis de algunas almendras.	0,0	0,0	0,0	0,0	26,4	0,0	52,8	0,0
Frutos sanos.	0,0	70,0	43,0	80,0	50,5	80,0	33,3	100,0
Marchitez fisiológica.	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Pudrición negra. ( <i>Phytophthora</i> spp.)	0,0	20,0	10,4	10,0	6,5	20,0	3,8	0,0

T: Testigo.

servadas en el campo no son masivas, podría sugerirse que no todas las yemas se activan en todos los ciclos de brotación.

La expresión sintomatológica puede ser marcadamente atenuada cuando las condiciones de sequía son drásticas durante el verano y el árbol detiene prácticamente su actividad vegetativa, pero esto no significa que las infecciones se supriman; así, por ejemplo, las inoculaciones de octubre no siguen exactamente el mismo patrón de las inoculaciones en otras épocas (Fig. 4), siendo la expresión sintomatológica baja en enero, pero, una vez que comienzan las lluvias, y con el las primeras brotaciones del año, la producción de escobas sigue su curso. Esta situación particular revela que la actividad del hongo está estrechamente asociada a la actividad del tejido del hospedante (yema).

Las infecciones de la lámina foliar (F1-2) producen diferentes reacciones y avanzan sistémicamente pudiendo llegar a yemas terminales y laterales, formando escobas típicas; lo mismo ocurre cuando se inoculan heridas, producto de la decapitación del brote. La madera, cuando se realizan heridas y se hacen inoculaciones, no presenta ninguna reacción, cicatrizando normalmente; en cambio, la madera del cojín puede resultar indirectamente afectada indicando el avance del hongo por los haces vasculares una vez que ha sido infectado el ovario fecundado o los frutos pequeños. Desde un punto de vista práctico las heridas y cortes de la madera en la realización de podas de sostenimiento no son receptivas a la infección de *C. pernicioso*.

Se ha registrado en la literatura científica que el desarrollo de escobas de cojín tarda entre tres y cinco semanas, aunque no siempre se producen síntomas (Baker y Mckee, 1943); sin embargo, el cojín floral es una estructura compleja que pasa por diversos

estados de desarrollo, y que, por lo tanto, puede requerir de una condición específica para que se infecte y desarrolle escobas. Tanto los cojines inactivos como los activos en primeros estados de desarrollo (previamente a la antesis floral) no condujeron a la formación de escobas; en el caso de los segundos se pudo apreciar la necrosis de los primordios y la caída de botones florales.

Las flores inoculadas sin polinizar después de su apertura, se cayeron en su mayor parte (90%) después de las 72 horas y 10% de ellas sufrieron necrosis, permaneciendo adheridas. Fue a partir de flores polinizadas cuando se comenzaron a obtener escobas de cojín, posiblemente por infección indirecta a través del ovario fecundado e hinchado (pequeño fruto), y otros síntomas como proliferación de flores, lo cual coincide con la apreciación de Stahel (1919).

Las repercusiones epidemiológicas de estas observaciones son especialmente notables, teniendo en cuenta que un sólo árbol de cacao produce millares de flores, que en su inmensa mayoría se caen por falta de polinización después de 72 horas, tiempo suficiente para lograr una infección en el caso de que la flor no fecundada fuera receptiva. También se puede suponer lo que pasaría si los cojines cerrados o primordios y botones, no sólo recibieran la infección, sino que la transformarían en escobas, bastaría simplemente con que la lluvia que corre por el árbol llevara las basidiosporas para infectar los cojines que entrarán en contacto con ella.

Se ha dicho que la intensidad de la floración es un factor determinante en la cantidad de infección (Holliday, 1956; Rudgard, 1987), pero mucho más importante que la intensidad es la tasa de cuajamiento y los períodos en que ésta ocurre con mayor frecuencia, a partir de los cuales se podría

establecer una relación con la producción del inóculo.

Las pruebas de inoculación de frutos por tamaño y por edad permitieron aclarar con mayor precisión el desarrollo de las escobas de cojín. En frutos pequeños (1-3,9 cm) o recién formados (3 días), las infecciones indirectas de cojín floral produjeron 5% y 66,6% de escobas típicas, respectivamente. O sea, que en un intervalo de algunos milímetros y al menos 1 cm de longitud del fruto la infección indirecta se reduce drásticamente (Fig. 6). A partir de un tamaño de 2 cm de longitud y de los 30 días de edad del fruto los síntomas quedan circunscritos al propio fruto (necrosis total, parcial y pérdida de semillas). La experiencia sobre infección en frutos demostró que a medida que el fruto avanza en edad y tamaño la resistencia a la enfermedad es mayor y las pérdidas son menores; así, por ejemplo, las infecciones en frutos de tres meses en la mayoría de los casos sólo causan la necrosis parcial de la corteza o una maduración prematura de este tejido, acompañada de la necrosis de algunas pocas almendras. Las épocas de mayor cuajamiento de frutos y los primeros dos meses de su desarrollo tienen una alta receptividad a la infección y, por consiguiente, un mayor riesgo de pérdidas a causa de la *escoba de bruja*. Las épocas de alto riesgo (pronosis positiva) podrían ser bien establecidas en tanto que se conozca la dinámica del inóculo a través del tiempo.

Los estudios sobre la infección de *C. perniciososa* a nivel de diferentes órganos y tejidos del cacao no solamente son útiles por cuanto permiten la descripción sintomato-lógica para el diagnóstico de la enfermedad, sino por cuanto contribuyen a establecer y esclarecer aspectos básicos, para la mejor comprensión del proceso epidémi-co.

## BIBLIOGRAFIA

- Aragundi, J.A. 1982. Culture and histology of *Crinipellis perniciososa* (Stahel) Singer. M. Sc. Thesis. University of Florida, 51 pp.
- Baker, R.E.D. y Crowdy, S.H. 1943. Studies in the witches'broom disease of cocoa caused by *Marasmius perniciosus* Stahel. Part I. Introduction, Symptoms and etiology. *Memoir of the Imperial College of Tropical Agriculture*. Trinidad. No. 7, 28 pp.
- Baker, R.E.D. y Mckee, R.K. 1943. Witches'broom disease investigations VI. The infection of flower cushions and pods of cocoa by *Marasmius perniciosus* Stahel. *Tropical Agriculture*. Trinidad. 20. 188 - 194.
- Cronshaw, K. 1977. Observaciones recientes sobre las infecciones causadas por *Crinipellis perniciososa* (Stahel). Singer en cacao. *Mesa redonda interamericana sobre enfermedades del cacao*, Quevedo, Ecuador. 3 pp.
- Cronshaw, K. y Evans, H.C. 1978. witches'broom disease of cocoa (*Crinipellis perniciososa*) in Ecuador. 11. Methods of infection. *Annals of Applied Biology*, 89, 193 - 200.
- Dale, W.T. 1946. Witches'broom disease investigations XII. Further studies on the infection of cacao pods. *Tropical Agriculture*, Trinidad, No. 23, 217 - 221.
- Evans, H.C. y Bastos, C.N. 1980. Basidiospore germination as a mean of assessing resistance to *Crinipellis perniciososa* (witches'broom disease) in cocoa cultivars. *Transactions of the British Nycological Society*, 74, 525 - 536.
- Evans, H.C.; Edwards, D.F. y Rodríguez, M. 1977. Research on cocoa diseases in Ecuador: Past and present. *Pans*, 23, 68 - 80.
- Frías, G.A. 1987. An inoculation method to evaluate resistance to witches'broom disease of cocoa. Ph. D. Thesis. University of Florida. Gainesville, Florida.
- Greathouse, D.C.; Laetscha, W.M. y Phinney, B.O. 1971. The shoot growth rhythm of a tropical tree *Theobroma cacao*. *American Journal of Botany*, 58, 281 - 286.
- Holliday, P. 1956. Further observations on the susceptibility of imperial college selections to witches'broom disease *Report cacao research of the imperial college of tropical Agriculture*, Trinidad, 1955-1956. pp. 48 - 53.

- Mayorga, M.H. 1988. Host-parasite relationships between isolates of *Crinipellis perniciosa* and cocoa hybrids from Colombia. *M. Phil. Thesis*. University of London.
- Orchard, J.E.; Collin, K. y Hardwick, K. 1981. Biochemical and physiological aspects of leaf development in cocoa. (*Theobroma cacao* L.) V. changes in auxins and cytokinins. *Café, Cacao, Thé*, 25(1), 25 - 28.
- Rudgard, S.A. 1987. Witches' broom disease on cocoa in Rondonia, Brazil: Infection of vegetative flushes and flower cushions in relation to host phenology. *Plant Pathology*, 36, 523 - 530.
- Stahel, G. 1919. Bijdrage tot de kennis der krullontenziekte. Paramaribo, Suriname. *Bull. van der Landbouw in Surinam*, 39. (English translation by B.G. Mont-serin). *Tropical Agriculture, Trinidad*, 9, 167 - 176.
- Sreenivasan, T.N. y Dabydeen, S. 1989. Modes of penetration of young cocoa leaves by *Crinipellis perniciosa*. *Plant Disease*, 73, 478 - 481.
- Suarez-Capello, C. 1977. Growth of *Crinipellis perniciosa* (Stahel) Singer *in vivo* and *in vitro*. *Ph. D. Thesis*. University of London.
- Thorold, C.A. 1975. Witches' broom disease. In: *Disease of cocoa*. Oxford University Press. pp 11 - 26.