

Capítulo X A. LA ESCOBA DE BRUJA DEL CACAO EN LA REGION DEL PIEDEMONTE LLANERO DE COLOMBIA: EL VIENTO COMO AGENTE DE DISEMINACION DE *Crinipellis perniciososa* (STAHSEL) SINGER.

Germán Tovar¹, Ricardo Briceño², Mario Ortíz² y Fernando Serna².

¹ Profesor Titular.

¹⁻² Ingenieros Agrónomos. Facultad de Agronomía. Universidad Nacional de Colombia. A.A. 14490. Santa Fe de Bogotá, D.C.

RESUMEN

Se estudió la importancia de la diseminación de *C. perniciososa* a través del viento; el ritmo estacional de captura de basidiosporas y su relación con la fructificación del hongo y la liberación circadiana de las esporas en función del clima. Además se analizaron algunos aspectos sobre gradientes de la enfermedad en plantaciones comerciales. Se estableció una correlación altamente significativa ($P < 0,01$) entre la fructificación del hongo y la captura de basidiosporas. El ritmo de liberación y dispersión fue significativamente constante, con una captura máxima entre las 02:00 y las 07:00 h. La regresión de la captura con la humedad relativa mostró una respuesta de tipo cuadrático ($r^2 = 0,62$) con un punto óptimo de humedad del 96%. La evaluación de gradientes secundarios en una plantación de cacao híbrido de 3 y 5 años de

edad mostró una correlación negativa altamente significativa entre el índice de escobas/árbol y la distancia al área foco. Los coeficientes de correlación encontrados estuvieron entre $r = -0,92$ y $r = -0,98$. El horizonte de infección promedio para tres focos estudiados fue de 200 m. Teniendo en cuenta las edades de los cultivos se estimó un progreso de la enfermedad de 66,6 m/año, a partir del foco.

INTRODUCCION

Las basidiosporas de *C. perniciososa* son liberadas, principalmente, durante la noche (Stahel, 1919) siendo importante la turgencia y expansión del píleo (Baker y Crowdy, 1943). Se ha señalado que la liberación tiene lugar entre 15° y 30°C (Bastos, 1982). La humedad relativa cerca del punto de saturación es óptima para la liberación de las basidiosporas; cuando la humedad rela-

tiva es baja el basidiocarpo se deshidrata interrumpiéndose el proceso (Baker, Crowdy y Thorold, 1941; Medeiros, 1974; Capriles, 1977). En condiciones *in vitro* se encontró una alta significancia entre la liberación y la interacción entre temperaturas por humedad relativa, el proceso ocurrió entre 10° y 30° C (Rocha y Wheeler, 1985). La captura de basidiosporas en trampas Burkard presentó un pico entre las 00:00h y 02:00h de 2000/m³ en Rondonia - Brasil (Rudgard, 1987).

La diseminación natural del hongo es anemófila y los focos de infección tienen valor a una distancia de 90 m en la dirección del viento (Baker, Crowdy y Thorold, 1941). Estudios realizados en Trinidad mostraron que la dispersión a partir de un foco se hace a cortas distancias (menos de 100m) (Holliday, 1945).

La diseminación ocurre en la noche hacia las 22:00h; con velocidades de viento entre 1,1 y 1,3 m/s las esporas podrían ser transportadas a distancias de 40 a 50 km, sino existen barreras que las intercepten o lluvias que las regresen al suelo (Solórzano, 1977). Se ha observado la infección de plántulas a partir de fuentes localizadas a 1,5 km (Evans y Solórzano, 1981).

El gradiente de dispersión a partir de un grupo de escobas suspendidas sobre plántulas - trampa mostró que 1/3 de las plantas debajo de una fuente fueron infectadas, siendo la diseminación lateral prácticamente nula; la diseminación de las esporas fue mínima y la importancia de la infección muy baja (Rudgard, 1987). Plántulas de cacao del clon ICS 95, alejadas 285 m de una línea-foco de escobas, presentaron un 8,6% de individuos afectados (Aragundi *et al.*, 1987).

Los patógenos pueden presentar un ritmo diario o circadiano de liberación y

diseminación significativamente constante, y el fenómeno debe ser investigado en el laboratorio y en condiciones de cultivo (Ingold, 1971). Existen varios patrones de liberación, y en el patrón nocturno la mayor concentración de esporas ocurre entre la puesta y levantamiento del sol, muchos ascomycetos y basidiomycetos pertenecen a este grupo (Meredith, 1973; Gregory, 1973).

En el presente trabajo se analiza la importancia de la diseminación de *C. pernicioso* a través del viento, el ritmo estacional de captura y su relación con la fructificación del hongo, la liberación circadiana de basidiosporas en función del clima y, además, se discute la evaluación sobre gradientes de la enfermedad en plantaciones comerciales.

MATERIALES Y METODOS

Estudio del ritmo diario estacional de dispersión de basiosporas.

La captura de basidiosporas se hizo en una trampa volumétrica tipo Burkard, la cual aspiraba un volumen de aire constante de 10 l/min, es decir, 14,4 m³/día. La trampa se localizó a 2,5 m sobre el nivel del suelo y la ranura de penetración del aire se situó a 1 m de distancia de las ramas de los árboles más próximos. En un primer experimento se realizó la captura diaria y en otro la captura se realizó durante dos días por semana. Para el registro de la captura se recortó la cinta adhesiva en secciones de 48 mm que correspondían a capturas de 24 horas. Cada sección fue colocada sobre una lámina portaobjeto y se recubrió con una laminilla, sellando el montaje con esmalte. Las láminas se observaron bajo el microscopio con un aumento de 630X, con nonio calibrado en milímetros. El recuento de las basidiosporas se realizó haciendo recorridos verticales cada 2 mm, con lo que se obtuvieron registros horarios. En una segunda prueba el registro se hizo re-

corriendo la parte media de la cinta con un ancho de pasada de 0,1 mm (1μ). La identificación del hongo se realizó sobre la base de las dimensiones de la basiospora, 7-11,4-5 μ (Singer, 1942).

Registros de la fructificación del hongo.

La fructificación se registró sobre las escobas secas que se removían en la parcela experimental, estableciendo el índice de basidiocarpos por escoba y por semana.

Captura de esporas en zonas cercanas al suelo.

Se utilizaron varias trampas de impactación montadas sobre veletas, colocadas a 0,25; 0,75 y 1,50 m sobre el nivel del suelo, con tres repeticiones por altura. Las trampas consistieron en láminas porta-objetos de 7,6 x 2,5 cm recubiertas con *Gelvatol* (adherente utilizado para la cinta de la Burkard), vaselina y papel adhesivo "contact"® transparente, las cuales se colocaron sobre las veletas en un ángulo de 45 grados en relación con el suelo.

Registro de variables climáticas.

Los registros se hicieron en la parcela experimental, para lo cual se dispuso de un termohigrógrafo "Thies", colocado a 2,5 m de la altura en una caseta meteorológica, y de un pluviógrafo. Los datos sobre velocidad del viento fueron tomados de la estación HIMAT-Guamal.

Estudio del ritmo circadiano de liberación en condiciones de laboratorio.

La prueba se realizó en los laboratorios de fitopatología de la Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá. En una cámara recubierta con tela de polietileno transparente se colocó en un extremo la trampa volumétrica Burkard, las escobas secas fue-

ron suspendidas en cuerdas en el centro de la cámara, y a un metro de las escobas, y, en el otro extremo, se colocó un ventilador con el fin de producir una corriente de aire con dirección a la trampa Burkard. Además, para inducir la fructificación sobre las escobas se colocaron dos vaporizadores con el fin de procurar una atmósfera saturada de humedad y una temperatura adecuada para la fructificación del hongo. La temperatura y la humedad se registraron en una higrotermógrafo *Thies*.

Evaluación de gradientes de dispersión en una plantación comercial de cacao.

En la plantación comercial donde se realizaron los estudios de diseminación, de aproximadamente 150 ha, sembradas en cacao híbridos (finca "La Cabaña" Granada), se evaluaron los gradientes de enfermedad en tres lotes a partir de focos constituidos por dos lotes, de 12 ha y una hectárea, sembrados con cacaos nativos de once años de edad severamente afectados por la *escoba de bruja*. Los lotes área - foco fueron conservados debido a su relativa alta productividad, a pesar del alto grado de ataque de la enfermedad. Se evaluaron dos lotes (No. 17 y No. 6) en el eje de la influencia del lote - foco de 12 ha. (No. 1) y un lote (No. 7) en el eje de la influencia del lote - foco de una hectárea (No. 4).

El lote No. 17, con una extensión de 2,5 ha fue sembrado en junio de 1980, con un espaciamiento de 2m x 2,5m; el lote No. 6, con una extensión de 17 ha, fue sembrado en junio de 1978 con un espaciamiento de 4,5m x 3m y el lote No. 7, con una extensión de 4,5 ha, fue sembrado en marzo de 1978 con un espaciamiento de 4m x 4m. Para la evaluación del gradiente se tomaron sitios cada 30m a partir del borde del lote cercano al foco hasta el extremo mas alejado. En cada sitio se tomaron tres árboles al azar y se removieron y contaron las escobas de

yema y de cojín, obteniendo un índice de escobas por árbol y por sitio. La evaluación se efectuó en octubre de 1983.

RESULTADOS

Captura anual de basidiosporas en la trampa Burkard

La curva anual de captura obtenida en Guamal durante 1982 presentó un desarrollo trimodal (Fig. 1) con máximos en abril, agosto y octubre. El máximo de abril presentó un valor de 100 basidiosporas por hora y por semana, siendo aproximadamente dos veces mayor que cualquiera de los otros máximos (40 basidiosporas/hora/semana). El máximo valor de captura se obtuvo en abril y fue de 6151 basidiosporas/día/14,4 m³ de aire. Se estableció una correlación significativa ($P < 0,05$) entre la fructificación y la captura en el mismo mes ($r = 0,75$).

La curva de captura para 1984 presentó un comportamiento bimodal, con dos máximos; el primero se presentó en el mes de junio (promedio de 241,9 basidiosporas/hora/semana) el segundo en octubre (promedio de 173,9 basidiosporas/hora/semana). Para 1985 los máximos se situaron en mayo (promedio de 316,7 basidiosporas/hora/semana) y en agosto (promedio de 311,2 basidiosporas/hora/semana) (Fig. 2a). Se encontró una correlación entre la fructificación y la captura, para los dos años, altamente significativa ($P < 0,01$, $r = 0,89$) (Fig. 2b).

Ritmo circadiano de diseminación de basidiosporas

Se determinó con base en los datos obtenidos para 1982. La variación en la concentración horaria de basidiosporas en el aire dentro de la plantación de cacao, es

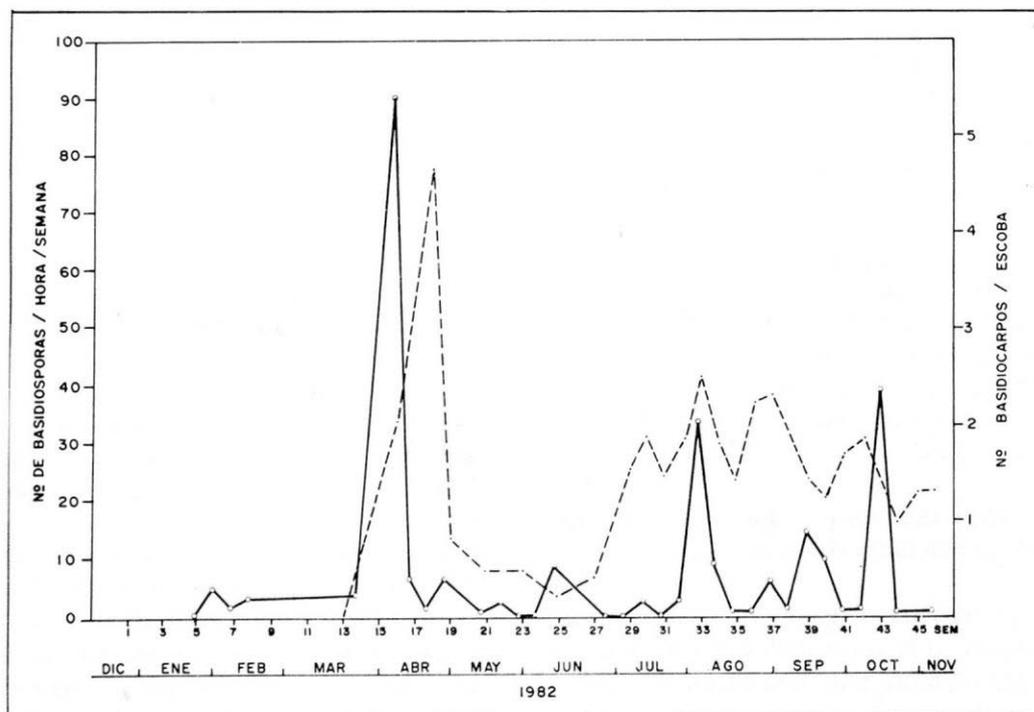


Fig. 1. Número de basidiosporas por hora y por semana capturadas en la trampa volumétrica BURKARD y su relación con la fructificación del hongo (número de basidiocarpos por escoba).

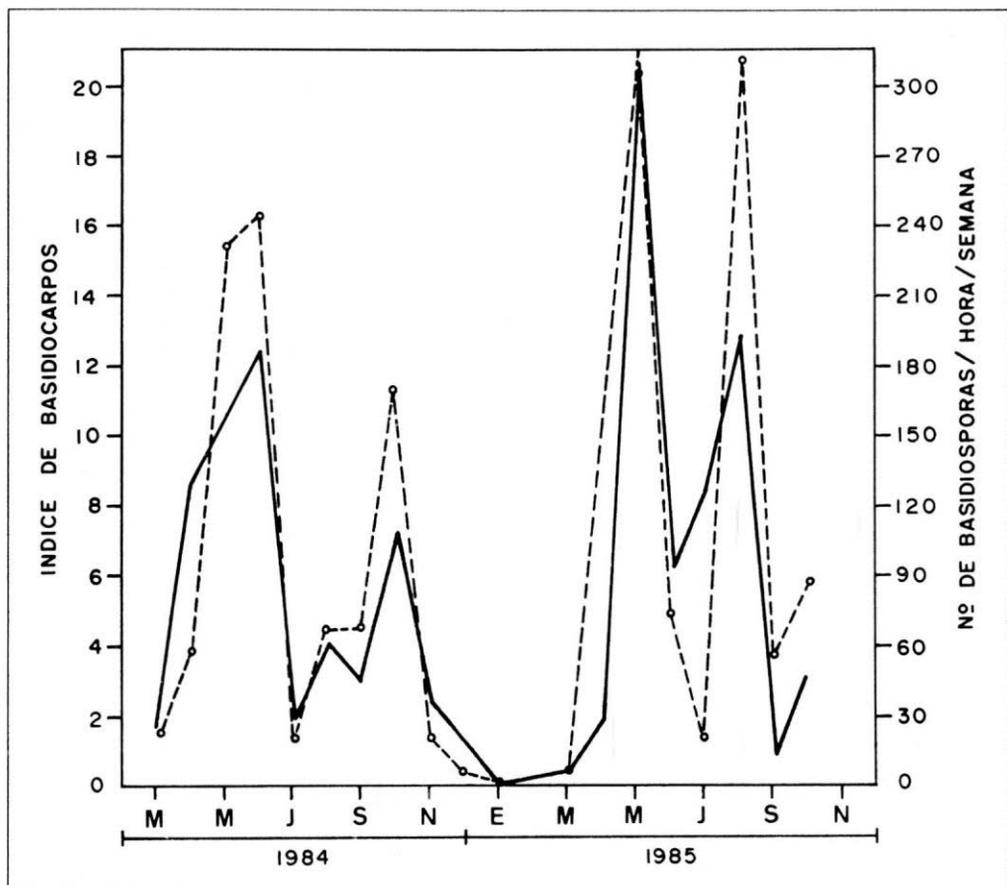


Fig. 2a. Número de basidiosporas por hora y por semana capturadas en la trampa volumétrica BURKARD e índice de basidiocarpos por escoba registrados durante 1984 y 1985.

un reflejo de la liberación. Según los datos promediados por hora durante una semana de alta esporulación (4 al 11 de abril de 1982), la máxima captura ocurrió entre las 02:00 h y las 07:00 h; de las 07:00h hasta las 09:30 h., la captura descendió sensiblemente, en un 50% y en un 75% hasta las 11:30h. El descenso continúa hasta ser un 88% del máximo, obtenido hacia las 15:00 h, a partir de la cual comienza a incrementarse lentamente el número de basidiosporas capturadas, para nuevamente alcanzar su valor máximo en horas de la madrugada (Fig. 3a). El ritmo diario de diseminación en una semana con baja esporulación (23

al 30 de mayo) sigue una tendencia parecida (Fig. 3b).

El ritmo diario de liberación también fue determinado en condiciones de laboratorio, en cámara de esporulación donde las escobas esporulantes se localizaron a un metro del orificio de succión de la trampa, produciendo una turbulencia por medio de un ventilador. De esta manera se determinó con mayor exactitud el ritmo de la liberación, debido a que las basidiosporas liberadas fueron rápidamente succionadas por la trampa, acortándose el tiempo de captura. Esta observación resultó de com-

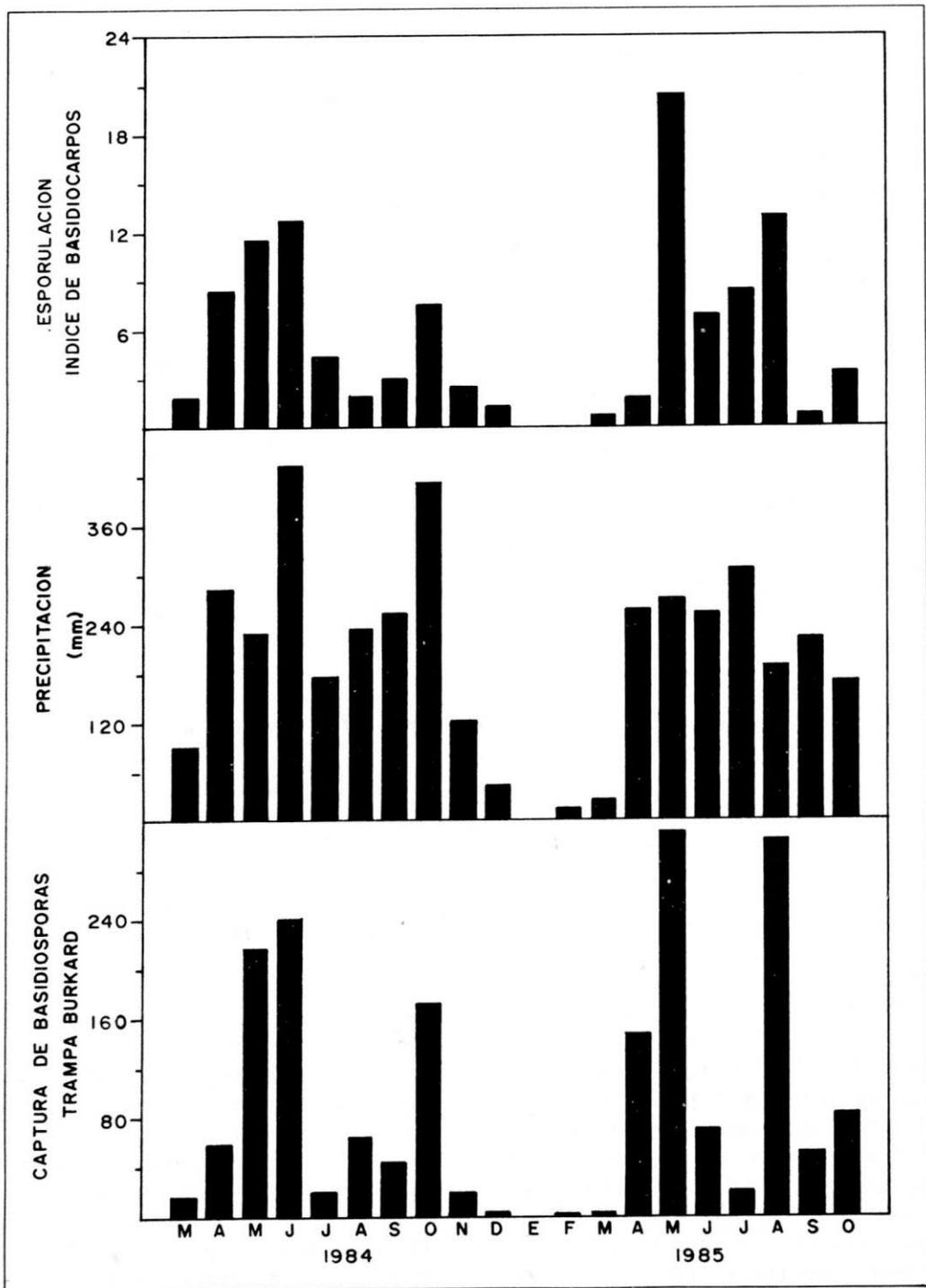


Fig. 2b. Relación entre la captura de basidiosporas en la trampa BURKARD, la fructificación del hongo y la distribución mensual de la precipitación durante 1984 y 1985.

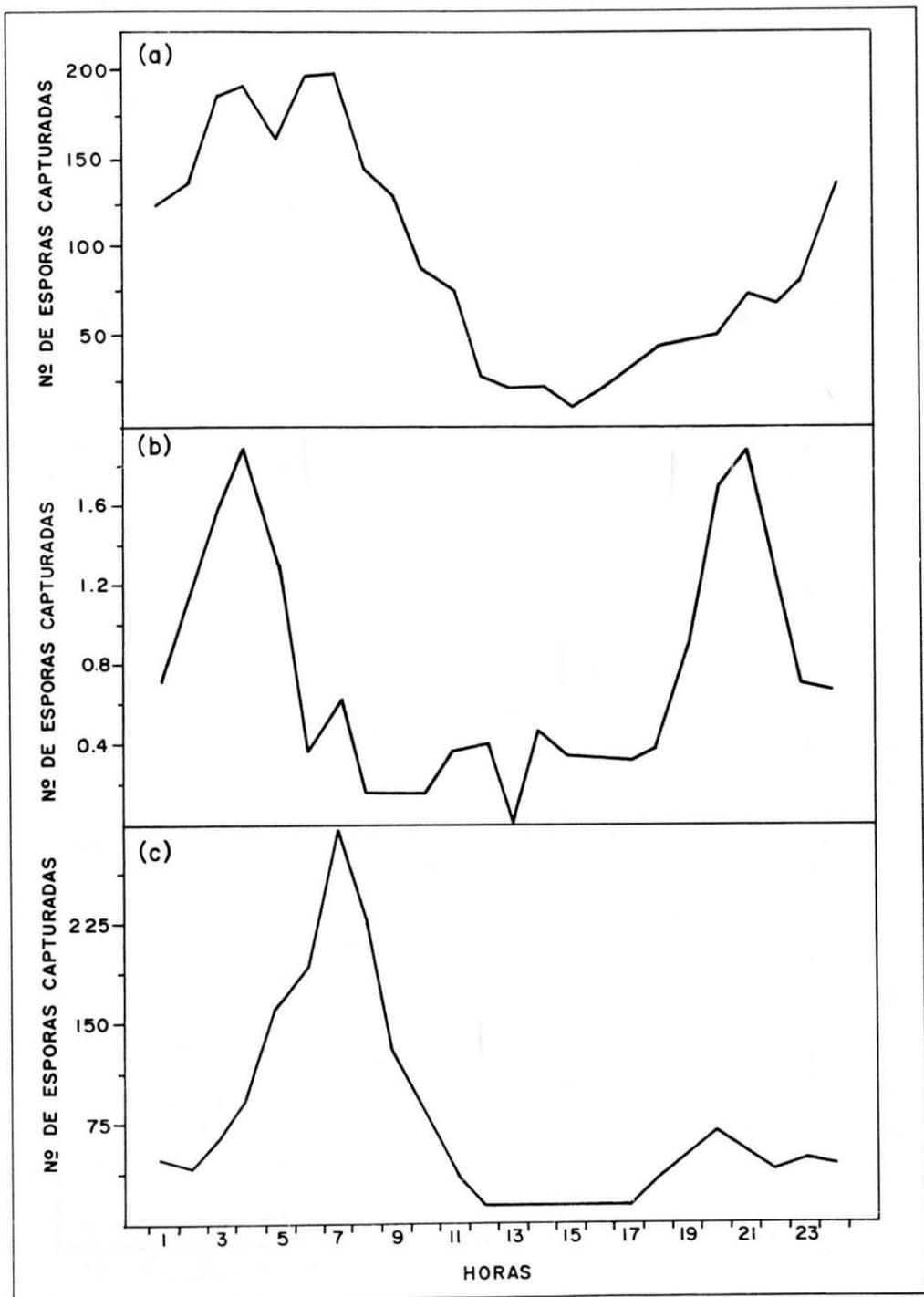


Fig. 3. Ritmo circadiano de liberación y diseminación de basidiosporas de *C. pernicioso*: (a) Semana de alta fructificación del hongo en el campo; (b) Semana de baja fructificación en el campo y (c) Ritmo circadiano determinado en condiciones de laboratorio.

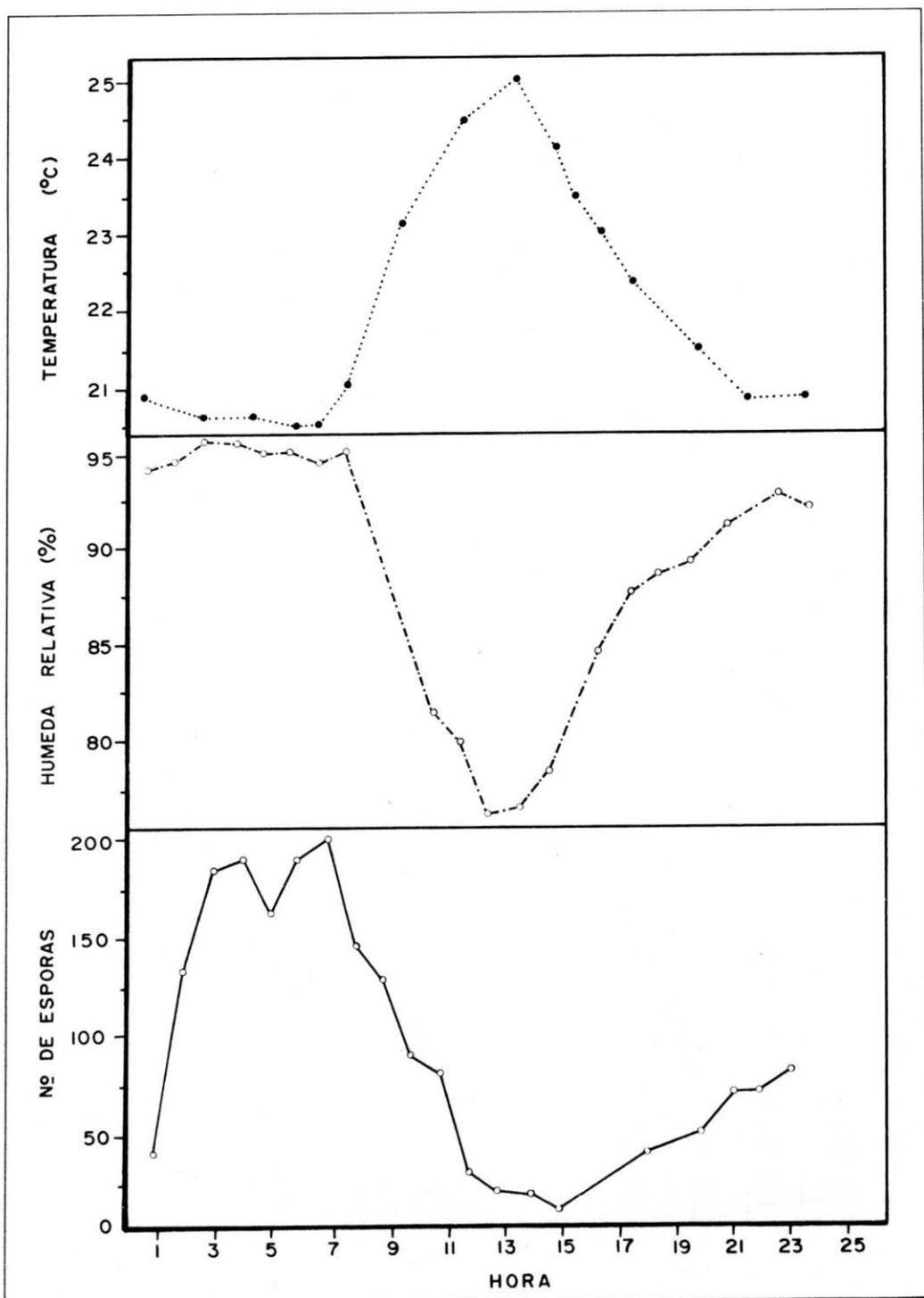


Fig. 4. Relación entre la captura diaria de basidiosporas en la trampa BURKARD y la temperatura y la humedad relativa.

parar la alta captura registrada (promedio de 300 basidiosporas/hora) con el índice de basidiocarpos/escoba bastante bajo, de 0,4 en promedio para 8 días de muestreo (Fig. 3c), que es menor que el registrado para la época de baja esporulación que fue de 0,8. La captura diaria mostró una relación estrecha con la humedad relativa y la temperatura en condiciones de campo durante la época de alta esporulación (Fig. 4). La captura se produce en horas de la noche y de la madrugada cuando se presenta, invariablemente, una alta humedad relativa, mayor del 93%, y, simultáneamente, con las temperaturas más bajas del día, aproximadamente, 21°C. Se encontró una correlación altamente significativa ($P < 0,01$) entre la humedad relativa y la captura ($r = 0,78$) y una correlación negativa altamente significativa ($P < 0,01$) con la temperatura ($r = -0,74$). La correlación entre captura y viento no pudo ser establecida, teniendo en cuenta que el viento influye poco en el proceso de liberación. Además, la velocidad del viento, medida a nivel del horario, no presenta un ritmo definido, como el establecido, por ejemplo, para la humedad relativa.

Si los datos de la captura diaria se analizan sólo entre las 17:00 h y las 07:00 h se obtiene una curva que podría ajustarse a una distribución normal (Fig. 5), y sobre ésta se puede inferir la parte de la población de basidiocarpos que están liberando sus basidiosporas.

La ecuación que predice la captura diaria en función de la humedad relativa es de tipo cuadrático:

$$Y = -261,82 + 0,0447 X^2$$

El modelo matemático explica adecuadamente la liberación de las basidiosporas (62,5%) en función de la humedad relativa. La temperatura y el viento contribuyeron

muy poco a la explicación del modelo, cuando se tuvieron en cuenta. El óptimo de liberación se obtuvo con una humedad relativa del 96% (Fig. 6).

Captura de basidiosporas en zonas cercanas al suelo

La mayor cantidad de basidiosporas se registró en la trampa de impactación situadas a 1,50 m de altura sobre el nivel del suelo (50,5%), observándose una disminución a medida que se baja en altura, 31,1% a 0,75 m y 18% a 0,25 m (Fig. 7). La vaselina y el papel adhesivo "contac"® presentaron la mejor superficie de impactación.

Evaluación de gradientes de dispersión en una plantación comercial

Los gradientes encontrados, debido a la edad de los lotes de cacao (3 y 5 años), correspondían, posiblemente, a gradientes secundarios, producto de 2 a 4 ocasiones de diseminación, teniendo en cuenta el ciclo anual de la enfermedad. La regresión del número de escobas con la distancia para el lote No. 17 presentó un coeficiente de correlación alto ($r = -0,98$) y la ecuación de predicción encontrada fue la siguiente (Fig. 8):

$$x = 80,11 - 0,57 d \quad r = -0,98$$

donde, x = índice de escobas por árbol

d = distancia a la fuente

La ecuación de predicción para el lote No. 6 fue la siguiente (Fig. 9):

$$x = 297 - 0,92 d \quad r = -0,93.$$

Para el lote No. 7 se halló la siguiente ecuación (Fig. 10):

$$x = 80,65 - 0,43 d \quad r = -0,96$$

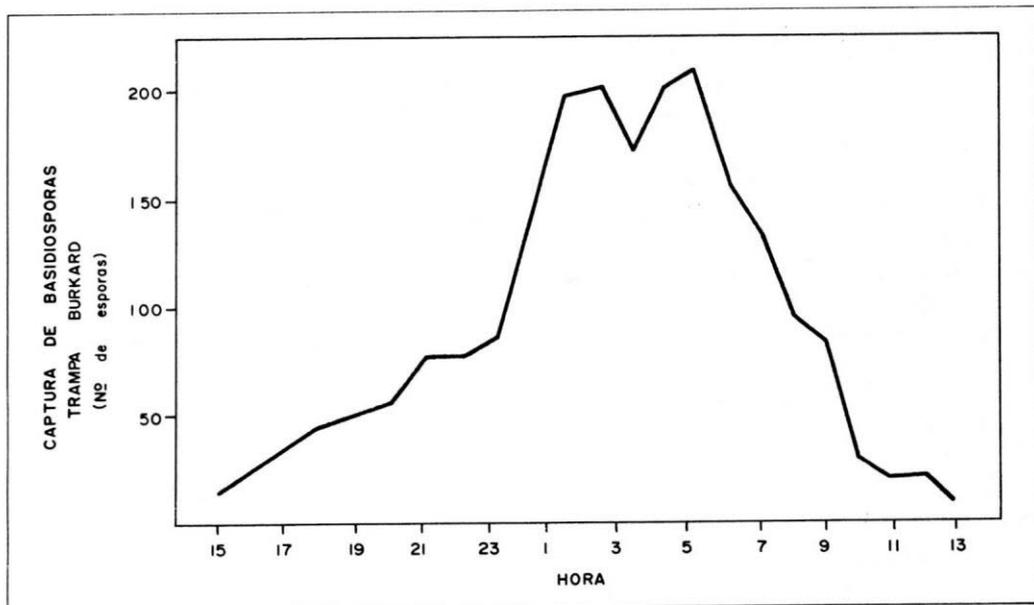


Fig. 5. Distribución horaria de la captura de basidiosporas de *C. pernicioso* registrada en la trampa BURKARD.

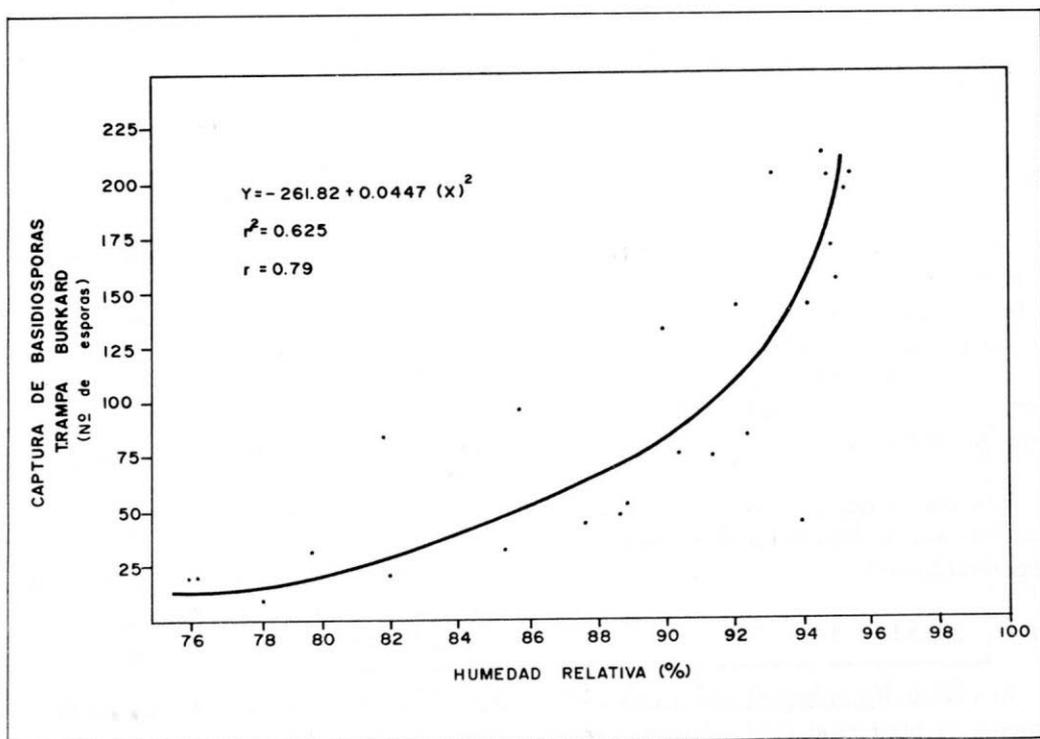


Fig. 6. Relación entre la captura de basidiosporas de *C. pernicioso* registrada en la trampa BURKARD y la humedad relativa.

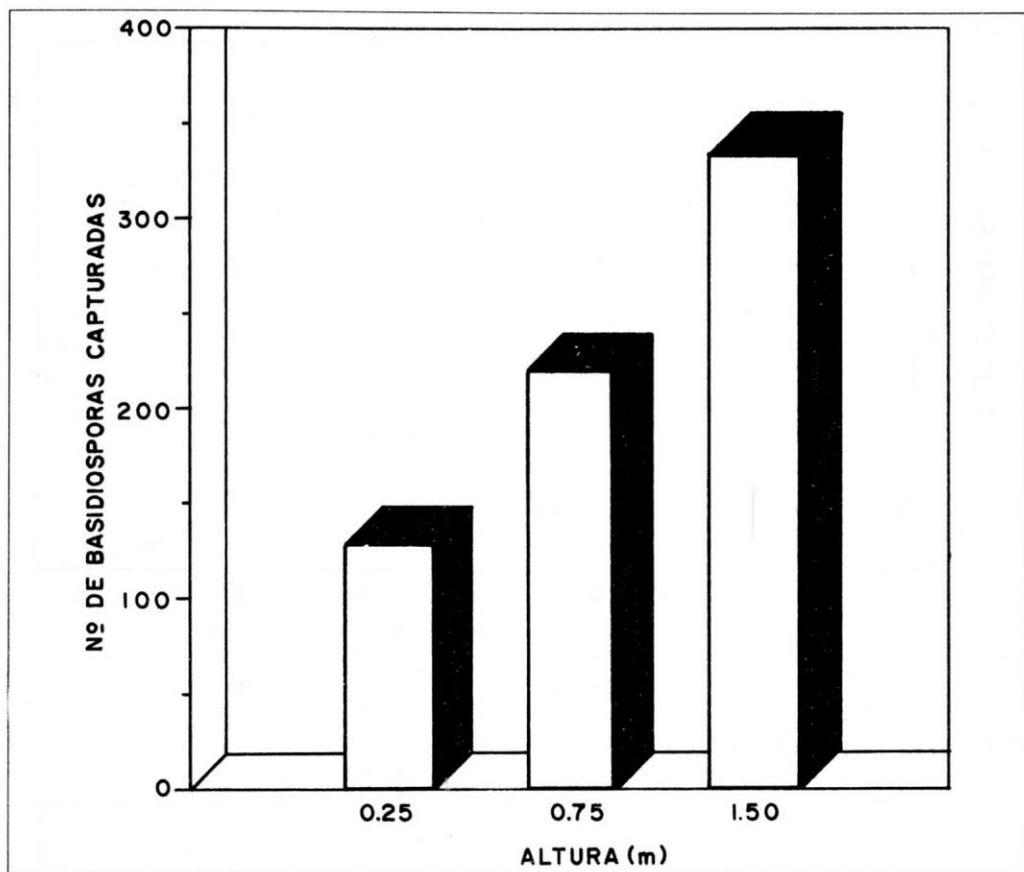


Fig. 7. Número de basidiosporas de *C. pernicioso* capturadas en las trampas de impactación colocadas a 0,25 0,75, y 1,5 m sobre el nivel del suelo.

DISCUSION

El ritmo estacional de captura de basidiosporas de *C. pernicioso* es una consecuencia de las fluctuaciones de la fructificación del hongo a través del año, y constituye una medida directa de la importancia de su diseminación por el viento e indirecta de la liberación de basidiosporas. La correlación entre la fructificación y la captura de basidiosporas en la trampa volumétrica Burkard fue altamente significativa ($P < 0,01$), indicando que cualquiera de estas variables inherentes al patógeno pueden ser utilizadas en trabajos epidemiológicos. Los registros de captura horario de las ba-

sidiosporas permitieron establecer un ritmo de liberación y dispersión significativamente constante, con una captura máxima entre las 02:00 h y las 07:00h. La periodicidad de la liberación pudo ser corroborada en condiciones de laboratorio. Con base en los registros de captura entre las 17:00 h y las 07:00 h se obtiene una curva de distribución de tipo normal. La mayor captura se presenta en las horas de la noche y la madrugada, cuando se presenta una alta humedad relativa (93%) y las temperaturas más bajas del día ($\approx 21^\circ \text{C}$), pudiéndose establecer correlaciones altamente significativas con las dos variables. La regresión de la captura con la humedad relativa

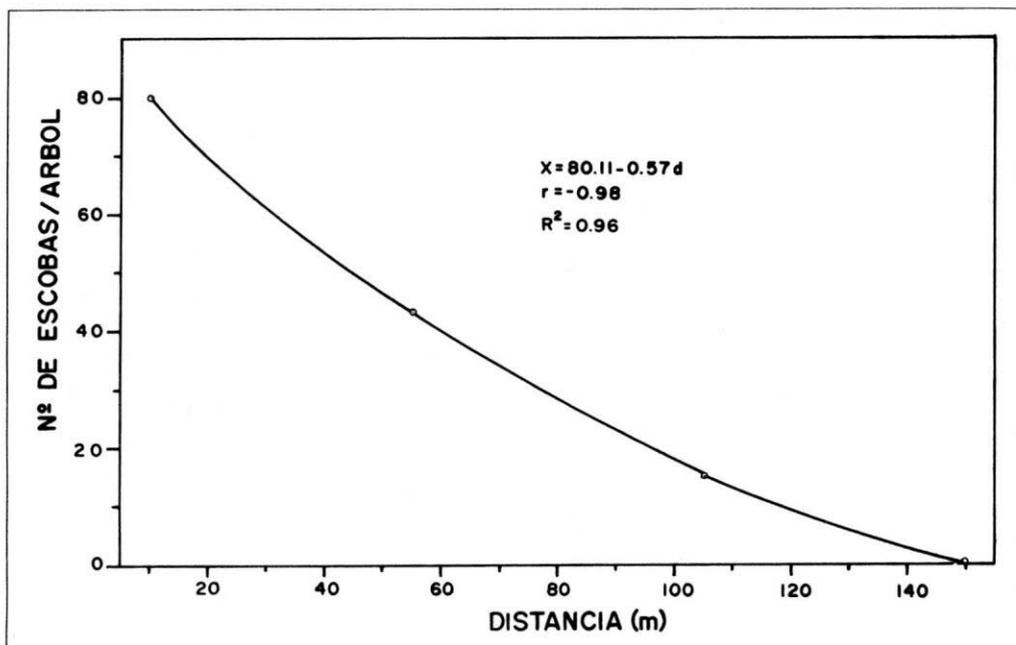


Fig. 8. Variación del número de escobas por árbol en un lote de cacao de 2,5 ha situado a 20 m de un área foco.

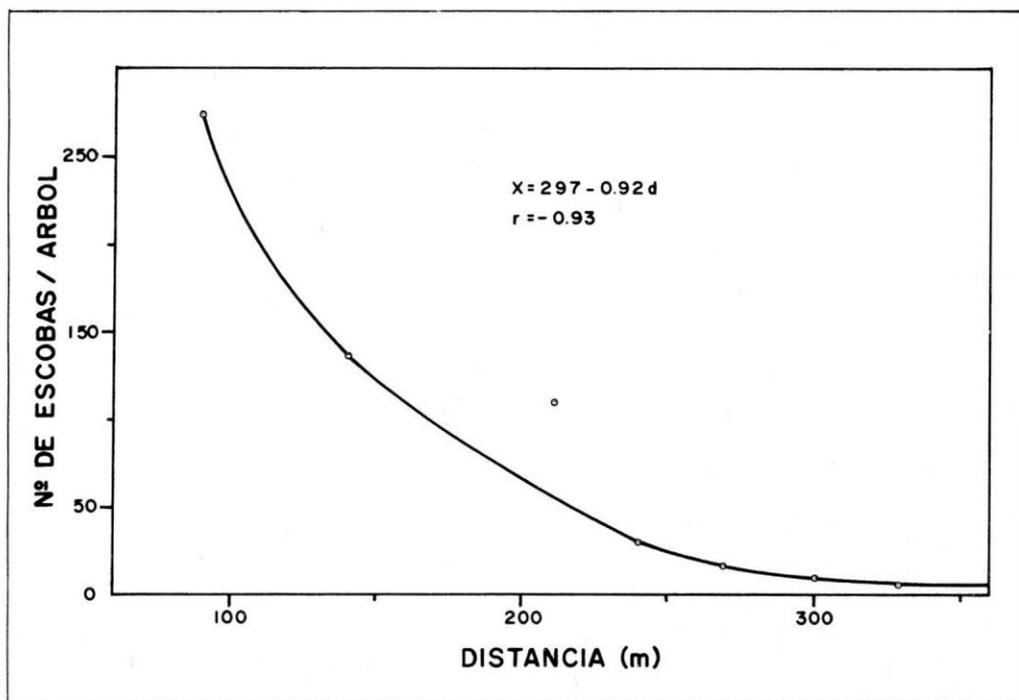


Fig. 9. Variación del número de escobas por árbol en un lote de cacao de 17 ha situado a 100 m de un área foco.

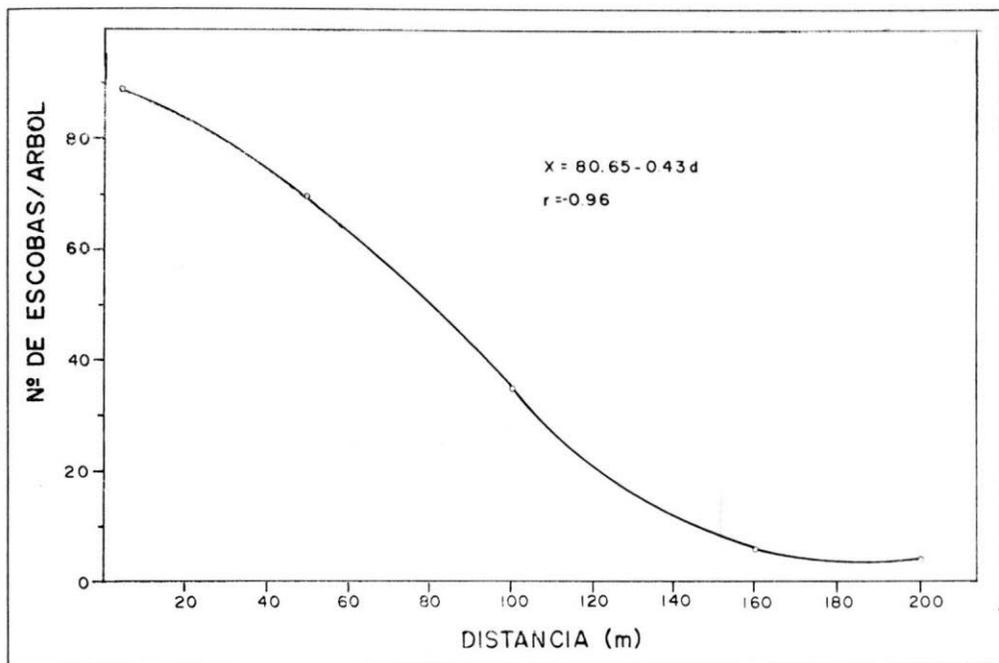


Fig. 10. Variación del número de escobas por árbol en un lote de cacao de 4,5 ha situado a 10 m de un área foco.

muestra una respuesta de tipo cuadrático, explicando en un 62,5% la liberación de la basidiosporas en función de la humedad relativa, con un punto óptimo de humedad del 96%. La liberación ocurre en un intervalo amplio de temperatura, de 20° a 30° C (Bastos, 1982).

La captura en trampas de impactación colocadas sobre veletas fue mayor a 1,50 m de altura (50%), disminuyendo con la altura, dando una indicación de la distribución de inóculo en el espacio tridimensional.

La diseminación a partir de focos de infección ha sido valorada en varias ocasiones, habiéndose encontrado que la dispersión se hace a cortas distancias, entre uno y cien metros (Baker *et al.*, 1941; Holliday, 1954; Rudgard, 1987). En condiciones de una plantación comercial relativamente jo-

ven (3 - 5 años), la evaluación de gradientes, producto de varias ocasiones de diseminación se encontró una correlación negativa alta entre el índice de escobas/árbol y la distancia al área - foco. Los coeficientes de correlación encontrados para tres lotes de cacao fueron los siguientes: Lote No. 17; $r = -0,98$, lote No. 6; $r = -0,93$, lote No. 7; $r = -0,92$.

El valor de las pendientes entre 0,5 y 1 permite apreciar, a pesar de tratarse de un conjunto de gradientes secundarios, una disminución neta del número de escobas a partir de la fuente con un horizonte de infección, promedio, para los tres lotes de 200 m, donde el número de escobas es nulo. Teniendo en cuenta las edades de los lotes se puede estimar que entre 1978 y 1983 la enfermedad se desplazó en línea recta a partir del foco 200 m, es decir, 66,6 m/año. Estos resultados a pesar de no deri-

varse de un protocolo experimental diseñado específicamente para el estudio de gradientes, presenta un interés práctico dando un orden de magnitud, aproximado, de la diseminación a partir de un foco, que no se aparta grandemente de otros datos encontrados en la literatura científica.

BIBLIOGRAFIA

Aragundi, J.; Frías, G.; Solórzano, G.; Schmidt, R. y Purdy, L.H. 1987. Estudios sobre gradientes de infección y dispersión de la escoba de bruja del cacao en el Ecuador. *Actas 10a. Conferencia Internacional de Investigación en cacao*. 1-27 de mayo de 1987. Santo Domingo, República Dominicana. pp. 375 - 379.

Baker, R.E.D. and 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.; Crowdy, S.H. and Thorold, C.A. 1941. Witches' broom disease investigations. In: *Tropical Agriculture, Trinidad, 20*, 183 - 194.

Bastos, C.N. 1982. Influencia da temperatura na liberação e germinação de basidiosporos de *Crinipellis perniciosus* (Stahel) Singer. *Informe Técnico*, 1980, CEPEC/CEPLAC, Itabuna, Bahía, Brasil. pp. 307 - 308.

Capriles de R, L. 1977. Enfermedades del cacao en Venezuela. Caracas. Fondo Nacional del cacao. pp. 12-26.

Evans, H.C. and Solórzano, G. 1981. Witches' broom disease; wrong experiment - right results. *Proceedings of the 8th. International Cocoa Research Conference*. Cartagena, Colombia. pp. 415 - 418.

Gregory, P.H. 1973. *The microbiology of the atmosphere*. 2nd ed. Leonard Hill, London. 377 pp.

Holliday, P. 1954. Control of Witches' broom disease of cocoa in Trinidad. *Tropical Agriculture, Trinidad, 31*, 312 - 317.

Ingold C.T. 1971. *Fungal spores. Their liberation and dispersal*. Clarendon Press, Oxford. 302 pp.

Medeiros, G.A. 1974. Conceptos básicos sobre la escoba de bruja del cacao. CEPLAC, Salvador, Bahía, Brasil. 11 pp.

Meredith, D.S. 1973. Significance of spores release and dispersal mechanisms in plant disease epidemiology. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 11, 313 - 342.

Rocha, H.M. and Wheeler, B.E.J. 1985. Factors influencing the production of basidioscarps and the deposition and germination of basidiospores of *C. perniciosus*, the causal fungus of Witches' broom disease on cocoa (*Theobroma cacao*). *Plant Pathology*, 34, 319 - 328.

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.

Singer R. 1942. A monographic study of the genera *Crinipellis* and *Chaetocalathus*. *Lilloa*, 8, 441 - 534.

Solórzano, G.R. 1977. Factores ambientales involucrados en la producción de basidiocarpos de *Marasmius perniciosus* Stahel. *Tesis Ing. Agrónomo*. Universidad de Manabí, Ecuador.

Stahel, G. 1919. Bijdrage tot kennis der krullotenziekte, Paramaribo, Surinam. *Bull. van der landbouw in Surinam*, 39 (English translation by B.G. Montserin). *Tropical Agriculture, Trinidad*, 9, 167-176.