



AVANCES TÉCNICOS

212

Cenicafé

Gerencia Técnica / Programa de Investigación Científica / Febrero de 1995

EL SECAMIENTO DE LOS CÍTRICOS EN LA ZONA CAFETERA CENTRAL

Dagoberto Capera Borja*; Jairo E. Leguizamón Caycedo*; J. Arthemo López Ríos***

A partir de 1981, la Federación Nacional de Cafeteros de Colombia, mediante el Programa de Desarrollo y Diversificación de Zonas Cafeteras incentivó el cultivo de los cítricos en la zona cafetera central. Se estima que en el país existen 22.500 hectáreas sembradas en cítricos, dentro de las cuales hay 10.500 tecnificadas. En la Zona Cafetera Central, se encuentran cerca de 8.000 hectáreas tecnificadas, que generan una producción de unas 280.000 toneladas al año, con un valor de la producción anual de 17.000 millones de pesos y un impacto social ocupacional de 5.000 empleos directos.

Desde 1981, se observó un secamiento de árboles de la variedad lima Tahití en producción. Posteriormente, la enfermedad se registró en huertos de tangelos, mandarinas y naranjas.

Según ASOCÍTRICOS, de las 8.000 hectáreas tecnificadas sembradas en la Zona Cafetera Central, entre el 1 y el 10 % se encuentran afectadas por este



* Ingeniero Agrónomo. Universidad Nacional de Colombia. Palmira, Valle del Cauca, Colombia.

** Investigador Principal I. Fitopatología. Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafe. Chinchiná, Caldas, Colombia.

*** Coordinador Programa ETIA. Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafe. Chinchiná, Caldas, Colombia.

problema. A partir de su detección, la enfermedad ha recibido diferentes nombres, como "**Muerte Súbita**", "**Muerte Basal**" o "**Secamiento de los Cítricos**". A su vez, surgieron muchas hipótesis en relación con su etiología, atribuida a condiciones adversas del clima, problemas nutricionales, distintos microorganismos, e incompatibilidades copa-patrón, entre otros.

Teniendo en cuenta que la enfermedad se ha incrementado causando pérdida de árboles en los huertos, y dada la incertidumbre respecto a la definición de su agente causal, se desarrolló la investigación cuyos resultados permitieron determinar la etiología y definir las medidas de manejo del problema.

SÍNTOMAS

Los síntomas externos se caracterizan porque una o varias ramas de los árboles afectados tienen hojas opacas, amarillentas, con los bordes volteados hacia arriba (epinastia) y posteriormente presentan defoliación.

Luego las ramas se secan y finalmente, muere la copa del árbol. En algunos casos hay gran proliferación de chupones en el patrón.

Los síntomas internos se aprecian al hacer cortes transversales tanto en las ramas como en el tronco, y se caracterizan como lesiones de color pardo oscuro con bordes irregulares amarillo-rojizos en forma de estrella. Estas lesiones se sitúan principalmente dentro del cilindro central (Figura 1). Los síntomas internos se han visto solamente en el patrón mandarina Cleopatra. En los demás patrones usados en la zona cafetera central no se observaron los síntomas.

En la corteza no se aprecian síntomas superficiales, pero al hacer cortes longitudinales se observa en el interior de la madera (leño), manchas pardo oscuras con bordes amarillo-rojizos. Es una pudrición seca del leño que no presenta gomosis.



Figura 1. Corte transversal de una rama de un árbol adulto de tangelo Mineola recolectada en el campo. Nótese las lesiones de color pardo oscuro con bordes irregulares de color amarillo-rojizo, en forma de estrella.

ORGANISMO CAUSANTE

Aislamiento. Para su determinación se recolectaron ramas y trozos de troncos en huertos de tangelo, naranja, mandarina y lima, en los departamentos de Caldas, Quindío, Risaralda y norte del Valle del Cauca. A partir de tejido vegetal con síntomas típicos de la enfermedad se realizaron los aislamientos en el Laboratorio de Fitopatología de CENICAFÉ. Para ello, se efectuaron siembras en los medios de cultivo Papa-Dextrosa-Agar (PDA) y Agar V8 (AV8), así como la inoculación de tejido vegetal afectado en frutas maduras de naranjas y limones. Además, se realizó el montaje de rodajas finas de ramas y troncos afectados, en bolsas plásticas, a manera de cámara húmeda. Con las anteriores técnicas se aislaron conjuntamente o en forma separada los hongos *Fusarium* spp., *Verticillium* sp., *Trichoderma* sp., *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp., *Rhizopus* sp., *Botryodiplodia theobromae* (sin. *Diplodia natalensis*) y *Ceratocystis* sp.

Después de obtener cultivos puros de los hongos *Fusarium* spp., *Verticillium* sp., *Botryodiplodia theobromae* y *Ceratocystis* sp., se realizaron las inoculaciones para dar cumplimiento a los postulados de Koch, y así confirmar la patogenicidad de éstos.

Inoculación. Se realizó bajo umbráculo (árboles en almácigo o bolsa) y en el campo (árboles adultos). Para el primer caso (inoculaciones de árboles en bolsa), se utilizaron las variedades tangelo Mineola/mandarina Cleopatra, naranjas Hamlin/citrumelo 4475 y Valencia/Sunki x English, mandarina Oneco/mandarina Cleopatra y lima Tahití/limón Volckameriano, de un año de edad. Para tal efecto se utilizaron tres métodos:

1. Inoculación en el patrón a 10 cm por encima del nivel del suelo (14, 15). De todos los hongos inoculados solamente *Ceratocystis* sp. causó síntomas internos a los 30 días, caracterizados por una coloración pardo-rojiza en el interior de leño de los patrones mandarina Cleopatra y limón Volckameriano.
2. Inoculación a 10 cm por encima del punto de unión copa-patrón (14, 15). Con los hongos inoculados, solamente *Ceratocystis* sp. causó síntomas externos entre 25 y 125 días, manifestados por muerte de la copa en todas las variedades empleadas.
3. Inoculación a varias ramas de la copa (16). Los hongos *Botryodiplodia theobromae* y *Ceratocystis* sp. causaron síntomas externos iniciales en todas las variedades, caracterizados por el secamiento de ramas entre 8 y 10 días (Figura 2), y entre 25 y 60 días, respectivamente. *Ceratocystis* sp., no solamente causó secamiento de ramas en las variedades mencionadas sino también la muerte de la copa. *Botryodiplodia theobromae* causó pudriciones de la corteza durante las inoculaciones, contrario a lo ocurrido con *Ceratocystis* sp.

En relación con los testigos para los árboles en bolsa, también se utilizaron los tres métodos anteriores de inoculación, sin el hongo, y no hubo manifestación de síntomas.

En general, en las inoculaciones de los árboles en bolsa, *Botryodiplodia theobromae* causó secamiento de ramas mientras que *Ceratocystis* sp., además de originar el secamiento de ramas, causó la muerte de las copas.

Por otra parte, se hicieron inoculaciones de árboles en el campo (3-6 años de edad), en varias ramas de la copa

(naranja Valencia, tangelo Mineola, lima Tahití, mandarinas) y el tallo. Con *Botryodiplodia theobromae*, se presentó solamente secamiento de ramas jóvenes (diámetro inferior a 2 cm) para todas las especies de cítricos a los 25 días después de la inoculación (Figura 3). Al realizar cortes transversales de las ramas jóvenes inoculadas, se observó en el interior del leño una mancha parda con bordes rojizos incipientes.

Respecto a las inoculaciones con *Ceratocystis* sp., se observaron síntomas externos, caracterizados por secamiento de ramas en tangelos, mandarinas, naranjas y limas, similares a los observados en campo para los cítricos estudiados.



Figura 2. Secamiento de una rama entre 8 y 10 días después de ser inoculada con *Botryodiplodia theobromae* en un árbol de tangelo Mineola de 12 meses de edad.



Figura 3. Secamiento de una rama 25 días después de la inoculación con *Botryodiplodia theobromae* en un árbol adulto de tangelo Mineola.

La naranja Valencia presentó incluso muerte progresiva de la copa a los cuatro meses después de inoculado el hongo en el tallo (Figura 4), síntomas parecidos a los observados en árboles adultos afectados en campo. Al cortar transversalmente las ramas y tallos inoculados, se observaron síntomas internos caracterizados por lesiones de color pardo con bordes amarillo-rojizos (Figura 5), similares a los vistos en campo (Figura 1).

Los tallos y ramas testigo en árboles adultos, no mostraron ningún tipo de síntomas.

Las inoculaciones en los árboles en almácigo como en campo se realizaron depositando colonias de los hongos separados o en conjunto, sobre heridas previamente hechas con un bisturí o sacabocados y con un serrucho, en varias ramas al azar y en el tallo. Inmediatamente después se construyó una cámara húmeda en los sitios de inoculación con algodón embebido en agua destilada y cubierto con papel parafilm. Dichas cámaras húmedas se eliminaron a los 5 y 15 días respectivamente. El inóculo se preparó, para el caso de *Botryodiplodia theobromae* en PDA sometido a fotoperíodo continuo (9) y *Ceratocystis* sp. en el medio de cultivo AV8, en completa oscuridad (11). El crecimiento para ambos patógenos ocurrió entre 20 y 25 días, a un promedio de temperatura de 25 °C.



Figura 4. Secamiento de la copa en un árbol adulto de naranja Valencia, cuatro meses después de la inoculación en el tallo con *Ceratocystis* sp.



Figura 5. Corte transversal de una rama inoculada con *Ceratocystis* sp. en un árbol adulto de tangelo Mineola. Nótese las coloraciones pardas con halo amarillo-rojizo.

Con los testigos se siguió el mismo procedimiento de inoculación tanto en árboles en bolsa como en campo, excepto que al causar las heridas se levantó la corteza asperjándose con agua destilada estéril. De lesiones obtenidas en los árboles inoculados en umbráculo y en el campo, se aislaron en los medios de cultivo PDA y AV8 en forma pura los hongos *Botryodiplodia theobromae* y *Ceratocystis* sp. Con estos aislamientos multiplicados asépticamente se repitieron las inoculaciones, obteniéndose nuevamente los síntomas iniciales y se reaislaron de nuevo los hongos con las mismas características de los inóculos iniciales.

Adicionalmente, se realizaron inoculaciones mezclando entre sí los patógenos *Fusarium* spp., *Verticillium* sp., *Botryodiplodia theobromae* y *Ceratocystis* sp., pero no se obtuvieron síntomas. Estas inoculaciones se realizaron con el fin de descartar que la enfermedad fuere causada por un complejo fúngico.

Identificación. Los aislamientos obtenidos de *Botryodiplodia theobromae* y *Ceratocystis* sp. fueron confirmados respectivamente por el International Mycological Institute (CAB, Inglaterra) y el investigador Jairo Leguizamón (CENICAFÉ, Colombia). Estos patógenos fúngicos muestran características similares a las registradas en la literatura consultada. *Botryodiplodia theobromae* presenta picnidios negros, solitarios, globosos, confluentes, erupentes, ostiolados,

de 300-700 micras de diámetro; conidióforos cortos, simples. Las picnidiosporas jóvenes son hialinas, no septadas y granulares; cuando están maduras son oscuras, biceldadas, elipsoides u ovoides, estriadas, de 17-43 x 10-18 micras (Figura 6). Las colonias son inicialmente blanquecinas y al madurar se tornan grises o negras (1, 17). Respecto a *Ceratocystis* sp., los peritecios son periformes o redondos, solitarios, color pardo, de 80-280 micras de diámetro, con una longitud ostiolar de 500-600 micras. Ascosporas hialinas, elipsoidales, de 4,5-8 x 3,5-6,5 micras (Figura 7). Colonias blanco-grisáceas con tonalidades verde-oliva, que al madurar se tornan de color pardo oscuro (4, 6, 8).

Con el fin de apoyar la investigación de acuerdo con los resultados logrados, se realizaron comparaciones histológicas entre las muestras recolectadas en campo con aquellas obtenidas en árboles adultos durante la fase experimental (árboles en campo inoculados con *Ceratocystis* sp. y *Botryodiplodia theobromae*). En *Botryodiplodia theobromae*, mediante la tinción con azul de metileno, se observaron sustancias con apariencia gomosa de color azul oscuro en los vasos conductores del xilema del tangelo Mineola, que causan el taponamiento de éstos impidiendo la circulación de agua y nutrimentos, razón por la cual, las ramas jóvenes se secan.

Con *Ceratocystis* sp. se observan sustancias de apariencia gomosa de color azul-verdoso, al utilizar la tinción con azul de metileno (Figura 8), similares a muestras recolectadas en campo de árboles afectados por este microorganismo fúngico. También la presencia de micelio septado en el xilema y ocurre una propagación intracelular, tanto en los árboles adultos inoculados (Figura 9), como en las muestras recolectadas de árboles afectados en campo.

Al realizar las comparaciones histológicas hay similitud entre las muestras recolectadas en campo de árboles enfermos, con las de árboles adultos que fueron inoculados con *Ceratocystis* sp. durante la investigación.

Conclusiones. De la gran diversidad de microorganismos aislados solamente dos cumplieron los postulados de Koch. El primero, *Botryodiplodia theobromae*, tal como lo registra la literatura consultada (3, 7, 10, 12, 17), causa secamiento de ramas jóvenes



Figura 6. Picnidio y picnidiosporas de *Botryodiplodia theobromae*. Obsérvense marcados con las flechas, las picnidiosporas ovoides, de color pardo, biceldadas. Fotografía al microscopio óptico de transluz (40X). Tinción con azul de lactofenol.

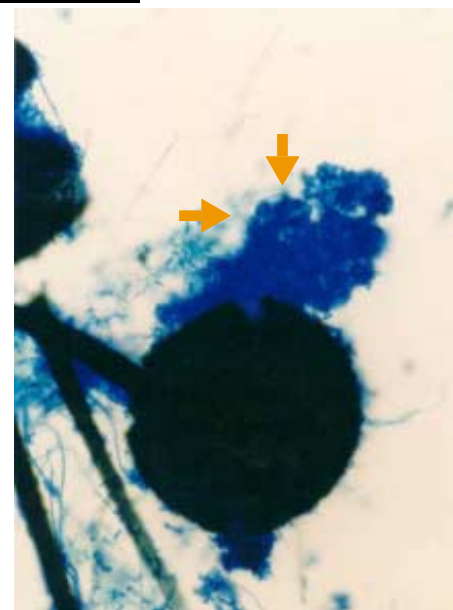


Figura 7. Peritecio y ascosporas de *Ceratocystis* sp. Obsérvense marcados con las flechas, las ascosporas. Fotografía al microscopio óptico de transluz (40X). Tinción con azul de lactofenol.

nes en todas las especies de cítricos. El segundo, *Ceratocystis* sp., además de causar secamiento de ramas, originó la muerte de copas.

Con base en los resultados anteriores, el microorganismo causante del "**Secamiento de los Cítricos**" es *Ceratocystis* sp., puesto que además de cumplir con los postulados de Koch, al lograrse la reproducción de los síntomas externos e internos, cumple con las comparaciones histológicas entre las muestras recolectadas en campo de árboles afectados por la enfermedad con las de árboles adultos inoculados con *Ceratocystis* sp. durante la investigación.

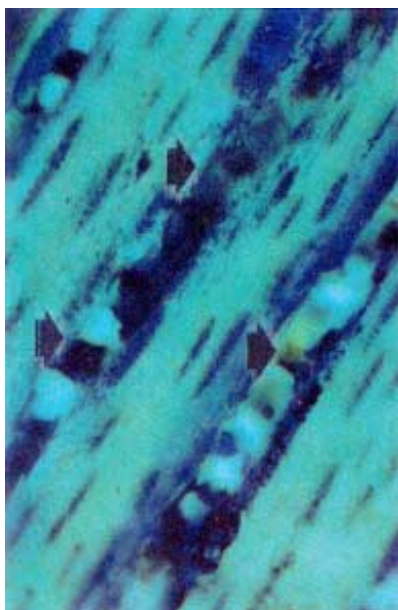


Figura 8. Sustancia con apariencia gomosa de color azul-verdoso en el xilema de un árbol adulto de tangelo Mineola. La rama de donde se extrajo el tejido para la observación al microscopio óptico de transluz (40X) estaba afectada por *Ceratomyces* sp. Corte longitudinal. Tinción con azul de metileno.

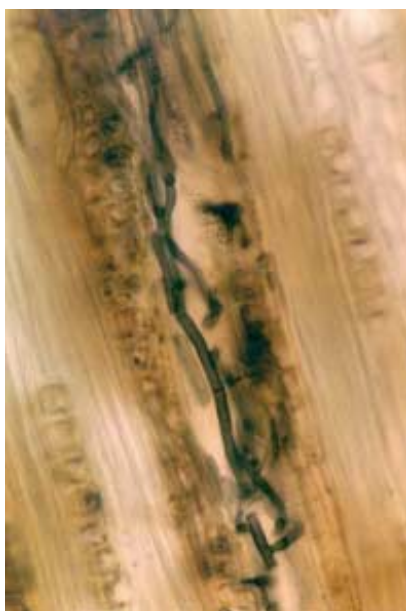


Figura 9. Presencia de micelio septado en el xilema de un árbol adulto de tangelo Mineola. La rama de donde se extrajo el tejido para observarlo al microscopio óptico de transluz (63X) fue inoculada con *Ceratomyces* sp. Corte longitudinal. Tinción con azul de toluidina.

Ceratomyces sp., es un microorganismo fúngico habitante del suelo, cuya dispersión puede ocurrir por el viento, el agua, los insectos y por el hombre, mediante el uso de herramientas infestadas, así como el transporte del inóculo en suelo presente en botas y zapatos.

Por su sistema de ataque se considera un microorganismo débil, puesto que requiere de heridas en la planta para iniciar la infección.

Estas heridas pueden presentarse en tallos y ramas y son causadas con las herramientas utilizadas para realizar las labores de desyerbas, deschuponadas, descope y podas.

Así mismo, los operarios cuando suben a los árboles durante las labores de recolección causan desgarraduras con los zapatos al apoyarse sobre el tronco y las ramas. Estas heridas predisponen a los árboles al ataque del hongo (2, 4, 5, 8, 11)

ALTERNATIVAS DE MANEJO

Se recomienda hacer el siguiente programa de manejo preventivo con base en la información bibliográfica, tanto para *Ceratomyces* sp. (2,4,5,6,8,10,13) como para *Botryodiplodia theobromae* (6,7,10,12,13,17)

- a. En huertos nuevos o sin el problema, se debe asegurar la sanidad del material por sembrar, puesto que éste puede llevar el patógeno desde el vivero. Sólo se debe sembrar material sano.
- b. Evite en lo posible causar heridas a los árboles durante las diferentes labores del cultivo, puesto que estos patógenos requieren de ellas para infectar. Estas heridas pueden ser ocasionadas en los tallos con las herramientas utilizadas para realizar las labores de desyerba y deschuponada.
- c. Durante las labores de podas (como las de formación y mantenimiento), se recomienda desinfectar las herramientas al pasar de un árbol a otro, asperjando con cualquiera de los siguientes fungicidas: benomyl (Benlate, 4 g/L agua),

thiabendazole (Mertect, 4 ml/L agua), carbendazim (Bavistin y/o Derosal, 4 g o ml/L agua).

- d. Para el manejo preventivo de la enfermedad se deben proteger las heridas realizadas al árbol, inmediatamente después de las podas, desparasitadas, deschuponadas y la recolección. Para tal efecto, se recomienda:

- Hacer cortes limpios evitando desgarrar el tejido y asperjar inmediatamente sobre las heridas Permanganato de Potasio al 1%, o cualquiera de los fungicidas antes mencionados en las mismas dosis.

- Tratar las heridas inmediatamente con cualquiera de los fungicidas antes mencionados y en las mismas dosis.

- Aplicar por último una pasta cicatrizante (a base de brea o tapagoterías). Es necesario revisar periódicamente estas heridas para tener certeza que está ocurriendo una adecuada cicatrización.

- e. Evitar que los operarios suban a los árboles durante las labores de recolección, porque causan heridas con los zapatos, así como desgarrar de ramas. Para tal fin, se deben usar canastillas de recolección.
- f. Eliminar las ramas que muestren síntomas. Se debe realizar el corte sucesivo hasta que el leño no muestre síntomas internos (coloraciones pardas con bordes amarillo - rojizos), procediendo inmediatamente al tratamiento de las heridas como ya se indicó, y quemando las ramas afectadas.
- g. Las labores de podas deben ser ejecutadas en épocas secas.
- h. Adecuar brigadas sanitarias cuyo propósito sea la revisión de heridas después de las deschuponadas, desparasitadas, cosechas y podas, con el fin de protegerlas como ya se indicó.
- i. No dejar frutos sobre el suelo puesto que son fuente de inóculo.
- j. Evitar en los viveros el uso de aserrín (viruta de madera), porque en éste se puede encontrar el inóculo de *Ceratocystis* sp.

CITRICULTOR:

PREVENGA EL "SECAMIENTO DE LOS CÍTRICOS" EVITANDO HERIDAS AL ÁRBOL O TRATÁNDOLAS CON FUNGICIDAS, OPORTUNAMENTE

LITERATURA CITADA

1. BARNETT, H. Illustrated genera of Imperfecti fungi. 2a. ed. Minneapolis, Burgess Publishing Company, 1969. p. 178.
2. BORROTO, C.; BORROTO, A. Citricultura tropical. Tomo 2. La Habana, Henpes. 1991. p. 105-106.
3. CAPDEVILA, J. Frutales y hortalizas. Erradicación de elementos hostiles. Barcelona (España), Aedos, 1981. p. 318-331.
4. CASTAÑO, J.J. La llaga macana o cáncer del tronco y de los tallos del cafeto. Boletín Técnico CENICAFÉ 1 (10):1-26. 1953.
5. CASTRO C., B.L. Nuevas recomendaciones para el control de la llaga macana del cafeto. Chinchiná, CENICAFÉ, 1991. 4 p. (Avances Técnicos CENICAFÉ No. 160).
6. DOMSCH, K.; GAMS, W.; ANDERSON, T. Compendium of soil fungi. Volumen 1. London, Academic Press. 1980. p. 161-162.
7. HURTADO, V. Manejo de una plantación de cítricos. In: El cultivo de frutales en el Valle del Cauca. Cali, Federación Nacional de Productores de Frutas y Hortalizas. 1990. p. 47-49.
8. MORRIS, M.; WINGFIELD, M.; DE BEER, C. Gummosis and wilt of *Acacia mearnsii* in South Africa caused by *Ceratocystis fimbriata*. Plant Pathology 42:814-817. 1993.
9. PERERA, E.; LAGO, E. Influencia del fotoperíodo sobre el crecimiento micelial y la formación de picnidios en el hongo *Diplodia natalensis*. Ciencias de la Agricultura (26):14-18. 1986.
10. PÉREZ, L. Enfermedades de las plantas. Medellín, Lealón. 1994. p. 41-42.
11. RESTREPO, G. La llaga macana del cafeto. Informe Final. CENICAFÉ, Chinchiná, 1994. 12 p.
12. SÁNCHEZ, L.; JARAMILLO, C.; TORO, J. Fruticultura colombiana. Los cítricos. SENA-ICA, Cali. 1987. p.83. (Manual de Asistencia Técnica no. 42).
13. SNOWDON, A. A colour atlas of post-harvest. Vol. 1: General introduction and fruits. Barcelona, Wolfe Scientific Ltd., 1990. p. 80.
14. TAMAYO, P.; GRANADA, G.; VARON, F. Pudrición de injertos de limón Tahití. ASCOLFI Informa 10 (2):12-16. 1984.
15. TIMMER, L. Host range and host colonization, temperature effects and dispersal of *Fusarium oxysporum* f. sp. citri. Plant Diseases 72 (6):699-702.1982.
16. VALDES, S.; BERNARD, A.; ZAMORA, V. *Fusarium* spp., agente causal del descortezamiento del tangelo y otras especies de cítricos. Ciencia y Técnica en la Agricultura 12 (3):45-53. 1989.
17. WHITESIDE, J.; GARNSEY, M.; TIMMER, L. Compendium of citrus diseases. 2a. ed. Minnesota, APS Press. 1989. p. 14-34.

Los trabajos suscritos por el personal técnico del Centro Nacional de Investigaciones de Café son parte de las investigaciones realizadas por la Federación Nacional de Cafeteros de Colombia. Sin embargo, tanto en este caso como en el de personas no pertenecientes a este Centro, las ideas emitidas por los autores son de su exclusiva responsabilidad y no expresan necesariamente las opiniones de la Entidad.

Cenicafé

Centro Nacional de Investigaciones de Café
"Pedro Uribe Mejía"

Chinchiná, Caldas, Colombia
Tel. (6) 8506550 Fax. (6) 8504723
A.A. 2427 Manizales
cenicafe@cafedecolombia.com

Edición: Héctor Fabio Ospina Ospina
Fotografía: Gonzalo Hoyos Salazar
Diagramación: Olga Lucía Henao Lema