

FLUCTUACION POBLACIONAL DE *Botryodiplodia theobromae* Pat. EN MANGO¹

Eugenia González*, Gerardina Umaña²/*, Luis Felipe Arauz**

RESUMEN

Se determinó la fluctuación poblacional de *Botryodiplodia theobromae* Pat. (= *Lasiodiplodia theobromae* Pat.) durante la época de floración y producción, en una parcela de mango cv. 'Haden amarilla' con desechos de poda y en otra sin desechos, mediante la captura de esporas diseminadas por viento y lluvia. Se realizaron aislamientos de pedúnculos de inflorescencias y pedicelos de frutos, con el fin de determinar la colonización endofítica del hongo. La población del hongo fue similar en ambas parcelas, lo cual estuvo relacionado con la dirección del viento, tamaño pequeño de las parcelas en observación y la cercanía de la parcela con desechos con la parcela sin desechos. La cantidad de esporas diseminadas por lluvia fue mayor en la parcela sin desechos de poda. Las capturas de esporas fueron mayores en los periodos de lluvia y alta humedad relativa. La presencia endofítica del hongo sólo se presentó en la parcela sin desechos de poda, en el aislamiento hecho al tejido interno del pedicelo.

ABSTRACT

Population fluctuation of *Botryodiplodia theobromae* Pat. in mango. The fluctuation of the spore population of *Botryodiplodia theobromae* Pat. (= *Lasiodiplodia theobromae* Pat.) was determined over a flowering and production cycle in 2 contiguous half-hectare mango plots, which had been pruned on the previous year. In one of the plots, prunings were left on the ground. Prunings were eliminated from the other plot. Air- and rain-borne spores were captured. Endophytic colonization of mango panicles and pedicels by *B. theobromae* was also studied, by means of isolation from inflorescence peduncles and fruit pedicels. Air-borne spores counts were similar in both plots. Interplot interference due to the wind during the experiment is discussed as a possible cause of this result. The population of rain-borne spores was larger in the plot where the prunings were removed. Spore capture was greater in periods of rain or high humidity, at the beginning and at the end of the dry season. Endophytic colonization was found only in the plot where prunings were removed.

INTRODUCCION

La pudrición peduncular o pudrición basal del mango es una de las principales enfermedades a nivel poscosecha en muchos países productores del mundo. En Costa Rica esta enfermedad es considerada como la segunda más importante después de la antracnosis y en otros países productores de mango, como Australia y la India, la enfermedad se considera una de las más

1/ Recibido para publicación el 25 de junio de 1998.

2/ Autora para correspondencia.

* Laboratorio de Tecnología Poscosecha, Centro de Investigaciones Agronómicas, Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica.

** Laboratorio de Fitopatología, Centro de Investigaciones en Protección de Cultivos, Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica.

dañinas en poscosecha (Johnson et al. 1990, Sharma et al. 1994).

La pudrición peduncular puede ser causada por un gran número de patógenos, cada uno de los cuales va cobrando importancia de acuerdo con las condiciones ambientales (temperatura, estrés hídrico, precipitación) y del hospedero (estrés nutricional), así como de la zona donde se encuentre el cultivo (Johnson 1994). Entre los hongos que causan esta enfermedad se encuentran: *Botryodiplodia theobromae* (= *Lasiodiplodia theobromae*) (Pat.) Griff. & Maubl., *Dothiorella mangiferae* H. et P. Syd. et But., *Dothiorella dominicana* Petrak et Cif., *Pestalotiopsis mangiferae* (P. Henn.) Stey, *Phomopsis mangiferae* Ahmad, *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. y *Diplodia natalensis* (Pathak y Srivastava 1967, Snowdon 1990, Johnson 1994). En Costa Rica el principal agente causal de la enfermedad es *Botryodiplodia theobromae* (Arauz y Umaña 1986).

Se han encontrado gran cantidad de cuerpos fructíferos del hongo en hojas secas, frutos momificados, ramillas enfermas y panículas secas que han quedado como desechos dentro de la plantación después de un ciclo del cultivo, al igual que en ramas, ramillas y corteza de los árboles, por lo cual estos desechos se consideran como la principal fuente de inóculo para la siguiente cosecha. Durante períodos de alta humedad relativa las esporas son expulsadas fuera de los picnidios, se acumulan en la atmósfera que rodea el cultivo y, por medio de la lluvia o el viento son depositadas sobre la base del pedicelo para luego infectarlo (Pathak y Srivastava 1969, Prakash y Raof 1989, Pusey 1989, Arauz y González-Lobo 1986).

La diseminación del hongo empieza luego de que las esporas son liberadas del picnidio, para lo cual es necesario que haya suficiente humedad (Arauz et al. 1994). Además, son importantes la lluvia y el viento, por estar directamente relacionados con la diseminación de las esporas dentro de la plantación. El hongo puede diseminarse también a través de esporas que permanecen en el suelo (Punithalingam 1976).

Varios de los hongos de la pudrición peduncular del mango logran colonizar endofíticamente el tejido de ramas antes del establecimien-

to de las inflorescencias, y semanas después de la floración llegan a alcanzar el pedicelo del fruto; sin embargo, estas infecciones permanecen latentes hasta que la fruta madura (Johnson 1994).

Aunque el tipo de infección endofítica es de gran importancia para la enfermedad, se considera que la mayor infección de los frutos ocurre después de la cosecha, cuando el hongo entra a través de la herida dejada al eliminar el pedicelo y colocar la fruta sobre el suelo para realizar la eliminación del látex ("deslechado"), o por medio de heridas realizadas por daño mecánico durante su manejo poscosecha. Según Johnson (1994), las infecciones que se dan a través de inóculo presente en el suelo se desarrollan más rápido que aquellas que provienen de infecciones endofíticas.

Una vez que el hongo ha llegado a la fruta y ocurre la infección, permanece en estado de latencia hasta que la fruta madura, momento en el cual los síntomas de la enfermedad empiezan a aparecer (Johnson 1994).

El objetivo de este trabajo fue estudiar la fluctuación de la población de las esporas del hongo *Botryodiplodia theobromae*, desde la floración hasta la cosecha de mango, bajo 2 sistemas de manejo de los residuos de poda, así como determinar la presencia endofítica del patógeno.

MATERIALES Y METODOS

Fluctuación de la población de esporas de *B. theobromae* en una plantación de mango

Se determinó la fluctuación del hongo *B. theobromae* mediante el recuento de esporas diseminadas por viento y por lluvia capturadas en un lote de 1 ha con árboles de la variedad 'Haden amarilla' sembrados a una distancia de 12 x 12 m, de más o menos 15 años de edad y recientemente podados. El trabajo se hizo durante la etapa de floración y producción de verano (diciembre de 1996 a mayo de 1997) en una plantación de mango en la cual no se utiliza riego, ubicada en Orotina, Alajuela, a una altura de 300 msnm y con una precipitación anual de 3000 mm. El lote fue dividido en 2 parcelas de media hectárea. En una de las parcelas

los desechos de poda permanecieron en el campo alrededor del tronco de los árboles durante la evaluación, según la práctica de la finca, mientras que en la otra éstos fueron sacados y colocados al final del lote, en el borde de uno de los costados de la parcela con desechos. Para la captura de esporas diseminadas por viento se utilizó una trampa Burkard, y para las esporas diseminadas por lluvia se usaron 4 trampas de lluvia, colocadas en el centro de cada una de las parcelas. Las trampas de lluvia consistieron en un erlenmeyer de 250 ml con un embudo y 100 ml de una solución de sulfato de cobre a una concentración de 13%, colocadas alrededor de la trampa Burkard; las trampas de lluvia se cambiaron cuando se llenaban, lo que dependió de la intensidad de la precipitación.

Para hacer los recuentos de esporas capturadas con la trampa Burkard, las cintas obtenidas cada semana fueron divididas en 7 secciones y colocadas sobre portaobjetos con una solución de lactofenol, para luego subdividir cada sección en 24 h, de tal forma que al hacer los recuentos se obtuvo el total de esporas capturadas por hora. Los recuentos de esporas se transformaron a esporas/L de aire absorbido/h. Tomando en cuenta que la trampa de la parcela sin desechos de poda absorbía 11 L de aire/min y la que estaba en la otra parcela absorbía 9 L de aire/min, el número de esporas/h de cada parcela se dividió entre los factores 660 (sin desechos) y 540 (con desechos).

Los resultados fueron relacionados con datos de precipitación, temperatura y humedad relativa (esta sólo de abril y mayo). Se utilizó la dirección del viento para determinar la dirección del movimiento de las esporas diseminadas por este. Los datos climáticos fueron obtenidos de la estación meteorológica automática de Orotina del Instituto Meteorológico Nacional, ubicada a 5 km de la finca estudiada.

Para el recuento de las esporas capturadas con las trampas de lluvia, se tomaron alícuotas de 10 ml de la solución contenida en el erlenmeyer y se filtraron a través de miliporos de 1.2 μm de diámetro, utilizando vacío. Cada filtro se colocó sobre un portaobjetos y se le aplicó una solución de lactofenol, para el recuento de las esporas presentes, y obtener el número de esporas capturadas/ml de agua.

Colonización endofítica del hongo

Se hicieron aislamientos de panículas y de pedicelos recolectados durante la época de floración y producción de fruta de las 2 parcelas estudiadas. Se escogieron 10 árboles al azar de cada parcela y de cada uno de ellos se obtuvo de 2 a 4 panículas en estado "D" y en estado "I" (escala de estados de inflorescencia de mango según Schoeman et al. 1995), durante la floración y un fruto con pedicelo durante la producción. Las muestras se procesaron utilizando la parte interna de la base del pedicelo de las panículas y los frutos. Posteriormente, se desinfectaron en una solución de hipoclorito de sodio al 1% por 1 min y se colocaron en platos petri con Papa Dextrosa Agar (PDA). Se hicieron 2 repeticiones por cada árbol muestreado. Los platos fueron incubados en una cámara a $23\pm 1^\circ\text{C}$ durante 10 días. Al cabo de este tiempo se identificaron los organismos que se presentaron en los platos y se determinó su frecuencia.

RESULTADOS Y DISCUSION

Fluctuación de la población de las esporas del hongo

Comparación entre las 2 parcelas estudiadas. La Figura 1 muestra que la fluctuación del número de esporas capturadas con la trampa Burkard, fue similar en las 2 parcelas evaluadas, observándose unos picos de mayor descarga en la parcela donde los desechos de poda se habían dejado en el campo, al inicio de la época de floración (21 y 23 de diciembre y el 20 de enero), mientras que la parcela donde los desechos se sacaron del campo presentó 2 picos al final de la época estudiada (13 y 26 de mayo).

Esas mismas tendencias se obtuvieron en la captura de esporas con trampas de agua, donde los mayores picos se presentaron al inicio de la floración y al final del período de producción (Figura 2), especialmente en la parcela sin desechos de poda.

Es probable que, en el caso de los datos obtenidos con los recuentos de la trampa Burkard, este comportamiento puede deberse en parte al viento, pues el que predominó fue el que se dirigía hacia el noreste, de modo que la diseminación de las esporas estaría principalmente orientada hacia la parcela sin desechos de poda. El inóculo proveniente de la parcela con desechos de poda y del resto de los desechos acumulados en uno de los bordes de esta, posiblemente influyeron en parte sobre la parcela sin desechos (Figura 3), aunque también se considera que parte de los resultados pueden deberse a un tamaño pequeño de parcela para las observaciones, a la cercanía de las 2 parcelas (con y sin residuos de poda) y a la influencia del inóculo del resto de la plantación.

Los resultados en la captura de esporas con trampas de lluvia revelaron los mayores picos de descarga en la parcela sin desechos de po-

da; en este caso las esporas capturadas provienen de la lluvia, la cual se registró por primera vez a finales de enero. Las esporas diseminadas por el viento y acarreadas hacia la parcela sin desechos de poda, posteriormente fueron diseminadas por la lluvia, lo cual hizo que se encontrara en las trampas de agua mayor cantidad de esporas. Al respecto Hirst (1959), menciona que la deposición de las esporas de hongos, diseminadas por el viento, es influida por la recolección de éstas en las gotas de lluvia, mediante un proceso conocido como "barrido por lluvia" ("rain-scrubbing"), donde las esporas pueden funcionar como núcleos de condensación de las gotas de lluvia o quedar incluidas en éstas por atracción electrostática. Además, menciona que los estudios acerca de éste tipo de diseminación han demostrado que este proceso es efectivo, con respecto a la dispersión de esporas.

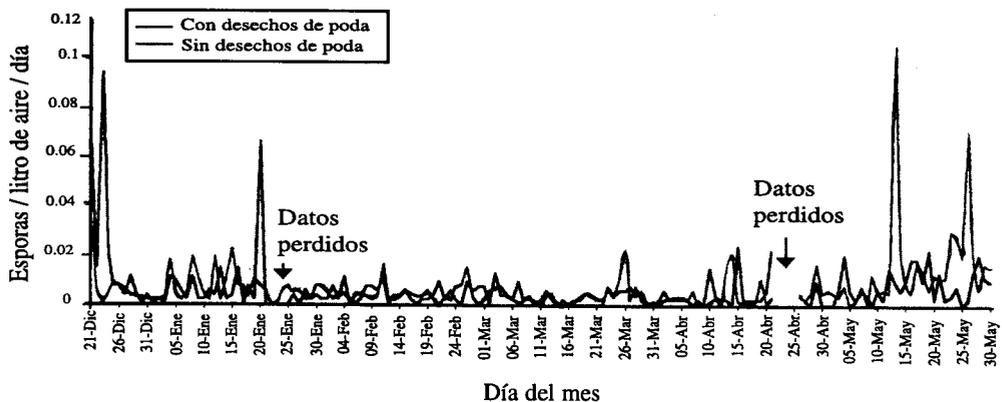


Fig. 1. Variación de la cantidad de esporas de *Botryodiplodia theobromae* capturadas con una trampa Burkard durante la época de floración y producción de una plantación de mango ubicada en Orotina. 1997.

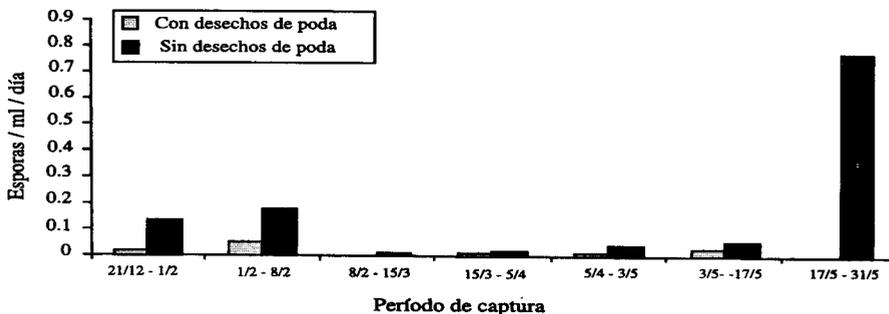


Fig. 2. Variación de la cantidad de esporas de *Botryodiplodia theobromae* capturadas con trampas de lluvia durante la época de floración y producción de una plantación de mango ubicada en Orotina. 1997.

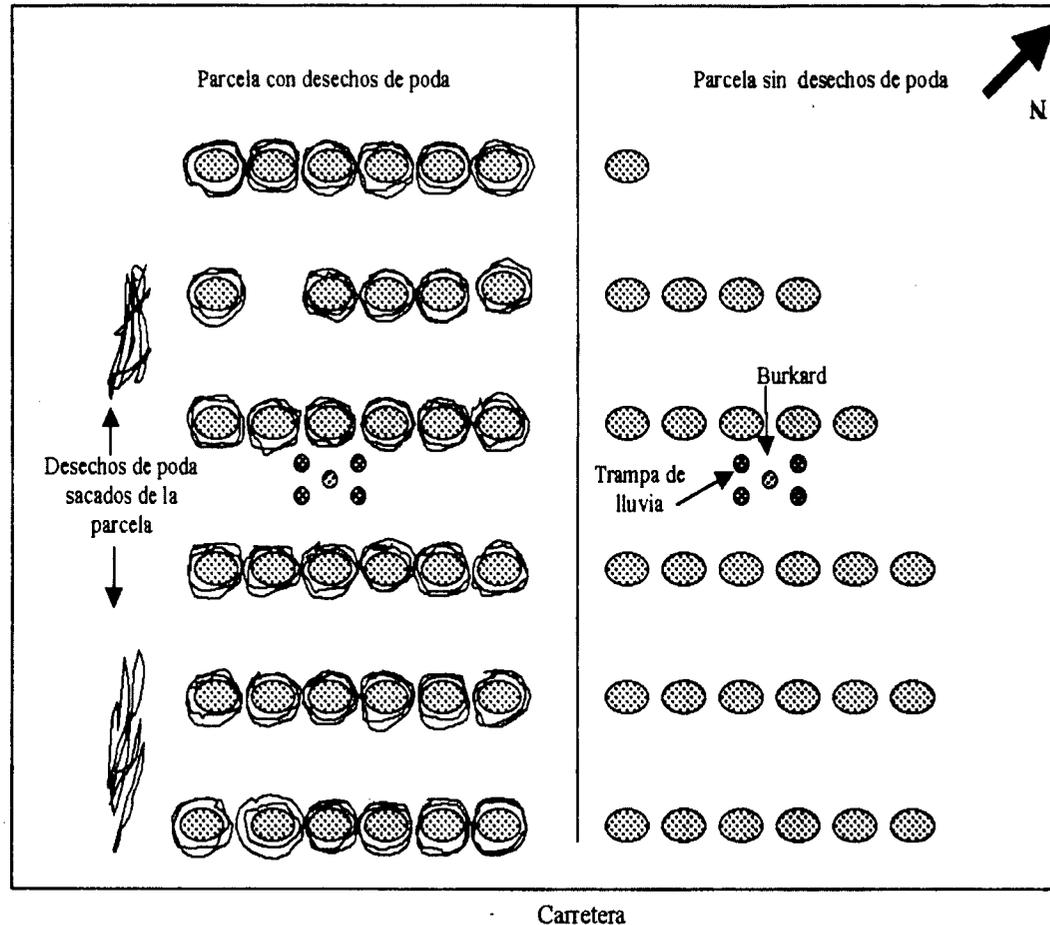
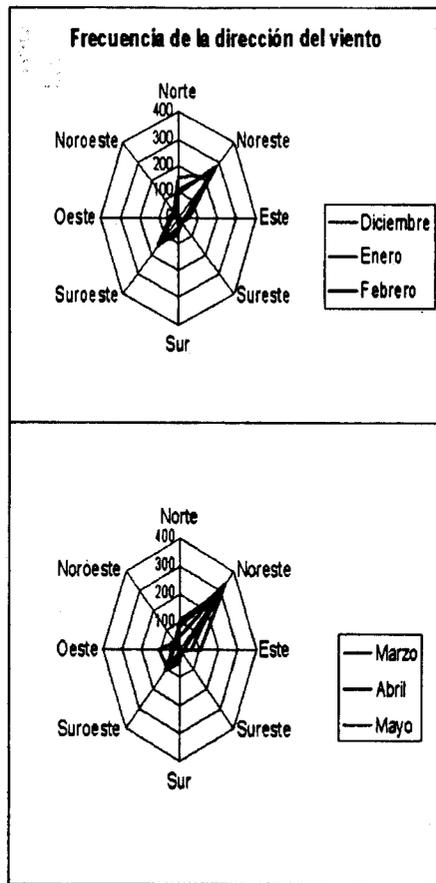


Fig. 3. Situación de la finca de mango, ubicación de las 2 parcelas donde se realizaron las capturas de esporas con respecto a la dirección del viento de diciembre de 1996 a mayo de 1997 y prácticas culturales.

Relación de la humedad relativa con la captura de esporas

Sólo se obtuvo datos de humedad relativa para los meses de abril y mayo, los cuales se muestran en la Figura 5, donde se observa que la disminución de captura de esporas está relacionada con una reducción en la humedad relativa, lo cual a la vez coincide con días de alta temperatura y sin lluvias (Figura 4). Es probable que la disminución en la captura de esporas haya ocurrido porque los picnidios necesitan absorber agua para abrirse y así liberar las esporas. Además, los mayores picos de descarga obtenidos el 13 y 26 de mayo, estuvieron relacionados con humedades relativas altas. Verma y Singh (1969), encontraron que la muerte descendente en mango causada por *B. theobromae*, presentó su máximo durante el período de mayor humedad relativa. Esta misma condición de humedades relativas altas, puede ser la que esté relacionada con los picos de descarga encontrados al inicio de la época estudiada, ya que como se observa en la Figura 4, durante este período no se registró ninguna lluvia que pudiera estar afectando la fluctuación de la población del hongo (sin embargo, no había datos de humedad relativa disponibles para esta época). Pusey (1989), encontró que la liberación de ascósporas de *Botryosphaeria* (teleomorfo de *B. theobromae*) estaba relacionada con días de alta humedad; sin embargo, no en todos los días se habían registrado lluvias, por lo que sugiere que la liberación se debía a la humedad atmosférica.

Relación de la precipitación con la captura de esporas

La captura de esporas de *B. theobromae* disminuyó durante los días en que se registraron lluvias de moderadas a fuertes, mientras que después de la lluvia el número de esporas aumentó (Figura 4). Gottwald y Bertrand (1982), encontraron también el mismo comportamiento para el hongo *Fusicladium effusum*, pues la concentración de esporas durante el día disminuyó justo antes de una lluvia y durante esta. Esto difiere de lo encontrado por Sutton (1981) para los hongos *Botryosphaeria obtusa* y *Botryosphaeria dothidea*, donde

la mayor captura de esporas se daba durante y justo después de las lluvias. Durante la etapa final del período de captura se observa que en general el número de esporas aumentó con respecto a los otros meses, lo cual coincidió con un aumento en la frecuencia de las lluvias y esto con el inicio de la época lluviosa en la zona de Orotina.

Relación de la temperatura con la captura de esporas

Se encontró que cuando hubo picos de descarga de esporas hubo también una disminución en la temperatura; sin embargo, esto puede ser un efecto aparente, debido a que la baja temperatura coincide con días de lluvia (Figura 4) y alta humedad relativa (Figura 5), los cuales se consideran como los factores de mayor importancia en la liberación y diseminación de las esporas, y su efecto si es directo sobre estos fenómenos (Punithalingam 1979, Arauz et al. 1994). De igual forma, el período en el que se presentaron las mayores temperaturas (aproximadamente del 14 febrero al 11 abril) coincidió con las menores descargas de esporas; sin embargo, las lluvias fueron muy pocas (Figura 4) y probablemente la humedad relativa se haya mantenido baja, como se observa en la figura 5 para mediados de abril.

Colonización endofítica del hongo

Los aislamientos de panículas no mostraron la presencia endofítica de *B. theobromae* (Cuadro 1), mientras que en los de pedicelos de frutos se presentó con una frecuencia de 14%. Sin embargo, en este caso, sólo se encontró en la parcela sin desechos de poda y en uno de los tipos de aislamientos (tejido interno) (Cuadro 2). La ausencia de *B. theobromae* en las inflorescencias podría indicar que no hubo colonización endofítica, pero también podría ser que el hongo hubiera sido afectado por tratamientos fungicidas aplicados en el mango o por otros microorganismos que interfirieran sobre los aislamientos. Al respecto Johnson y colaboradores (1991), encontraron que varios de los hongos que causan la pudrición peduncular del mango (*Dothiorella*

dominicana y *mangiferae*, *Botryodiplodia theobromae*, *Phomopsis mangiferae*, *Cytosphaera mangiferae* y *Pestalotiopsis* sp.) y otros como *Alternaria alternata*, se presentaron endofíticamente en tejido de ramas de árboles antes de la emergencia de la inflorescencia, sin embargo, al hacer un seguimiento continuo de tejido de inflorescencias durante el período de floración hasta la cosecha en una plantación con historia de altos niveles de pudrición peduncular, sólo encontraron *Dothiorella* spp., *P. mangiferae*, *Pestalotiopsis* sp. y *C. mangiferae*. A la vez, observaron que la frecuencia de *Dothiorella* disminuyó a

medida que pasó el tiempo, lo que sugiere que era posible que los residuos de fungicidas cúpricos en los tejidos muestreados estuvieran afectando la colonización endofítica por parte de este patógeno; además, que la presencia de *Alternaria* no permitía una determinación precisa de la presencia de *Dothiorella* cuando el micelio de ambos se presentaba en cantidades similares.

La baja frecuencia de aislamiento en los pedicelos de frutos podría estar influida por una distribución heterogénea del hongo en el tejido del pedicelo, tal como ha sido informado en el caso de *Dothiorella* sp. (Johnson et al. 1991).

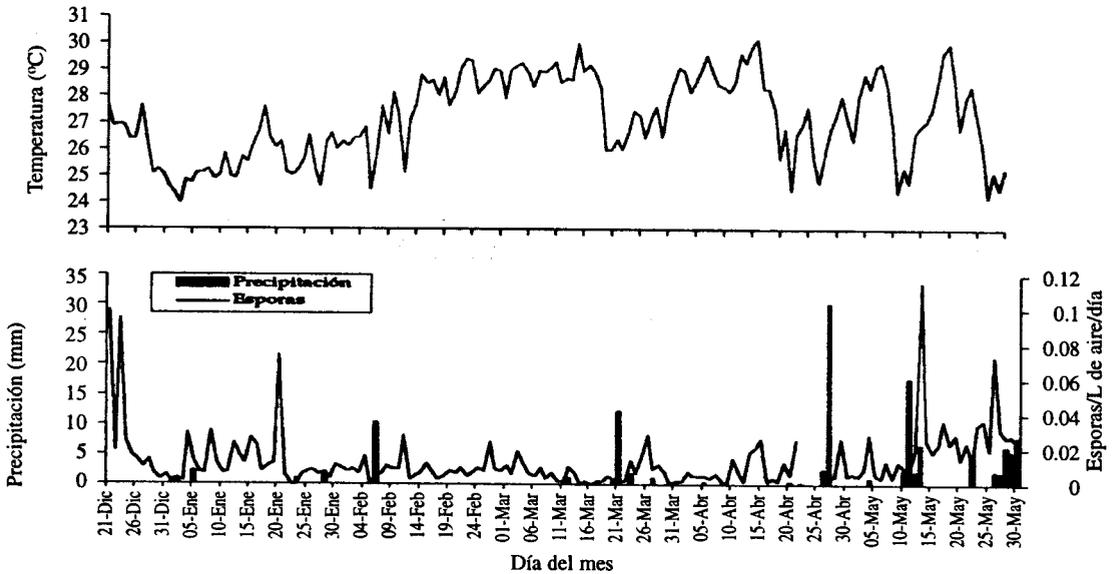


Fig. 4. Relación entre la precipitación y la temperatura con la cantidad de esporas de *Botryodiplodia theobromae* capturadas con una trampa Burkard durante la floración y producción de una plantación de mango ubicada en Orotina, 1997.

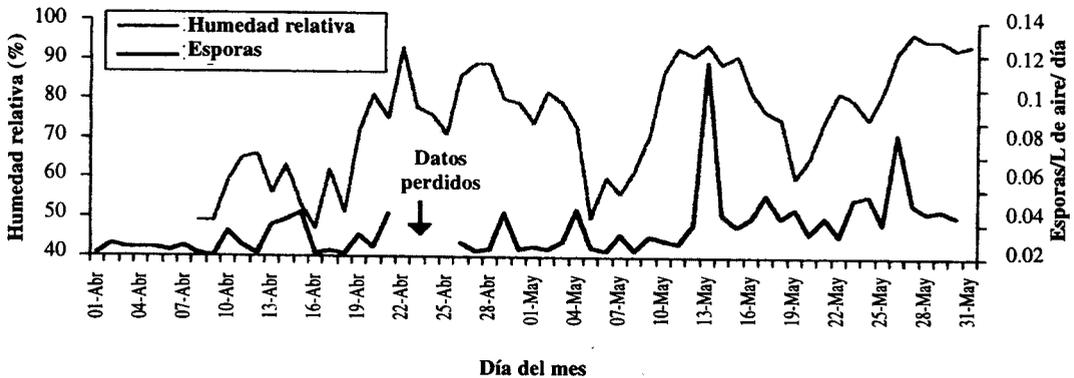


Fig. 5. Relación entre la humedad relativa y la cantidad de esporas de *Botryodiplodia theobromae* capturadas con una trampa Burkard durante abril y mayo de 1997 en una plantación de mango ubicada en Orotina.

Cuadro 1. Frecuencia de los organismos aislados de tejido de panículas de mango de una plantación ubicada en Orotina. Laboratorio Tecnología Poscosecha, Universidad de Costa Rica.

Orotina	Frecuencia del organismo (%)			
	Parcela sin desechos de poda		Parcela con desechos de poda	
	Estado "D"*	Estado "I"*	Estado "D"*	Estado "I"*
<i>Cladosporium</i>	22	47	67	27
<i>Penicillium</i>	56	27	17	14
Bacteria	11	7	8	36
<i>Aspergillus</i>	0	7	0	0
<i>Curvularia</i>	0	0	8	0
<i>Pestalotia</i>	0	7	0	0
<i>Fusarium</i>	0	0	0	5

* Estado de desarrollo de la inflorescencia según Schoeman et al. (1995).

Cuadro 2. Frecuencia de los organismos aislados de tejido de pedicelos de frutos de mango de una plantación ubicada en Orotina. Laboratorio de Tecnología Poscosecha, Universidad de Costa Rica.

Orotina	Frecuencia del organismo (%)			
	Parcela sin desechos de poda		Parcela con desechos de poda	
	Tejido interno	Tejido externo	Tejido interno	Tejido externo
<i>Botryodiplodia</i>	14	0	0	0
<i>Cladosporium</i>	62	76	77	69
<i>Penicillium</i>	8	2	5	3
Bacteria	8	7	14	3
<i>Aspergillus</i>	0	2	0	3
<i>Colletotrichum</i>	8	2	0	6
<i>Pestalotia</i>	8	0	0	8

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos con respecto a la fluctuación de la población de *B. theobromae*, sugieren que la precipitación y la humedad relativa son los factores climáticos que tienen influencia sobre la variación de la población del hongo.

No se encontró colonización endofítica del hongo en las panículas, mientras que en los pedicelos de frutos este tipo de infección se presentó con una frecuencia de 14%, esto último puede ser de importancia a la hora del combate de la enferme-

dad, lo que hace su manejo más difícil en comparación cuando la infección se da a través de heridas.

LITERATURA CITADA

- ARAUZ, L.F.; GONZALEZ-LOBO, M. 1986. Fuentes de inóculo de algunas enfermedades de poscosecha del mango. *Agronomía Costarricense* 10:217-220.
- ARAUZ, L.F.; UMAÑA, G. 1986. Diagnóstico e incidencia de las enfermedades poscosecha del mango en Costa Rica. *Agronomía Costarricense* 10:89-99.

- ARAUZ, L.F.; WANG, A.; DURAN, J.A.; MONTERREY, M. 1994. Causas y pérdidas poscosecha de mango a nivel mayorista en Costa Rica. *Agronomía Costarricense* 18:47-51.
- GOTTWALD, T.R.; BERTRAND, P.F. 1982. Patterns of diurnal and seasonal airborne spore concentrations of *Fusicladium effusum* and its impact on pecan scab epidemic. *Phytopathology* 72:330-335.
- HIRST, J.M. 1959. Spore liberation and dispersal. In: *Plant pathology, progress and problems 1908-1958*. Ed. by C.S. Holton. Wisconsin. APS. p. 529-538.
- JOHNSON, G.I. 1994. Stem-end rot. In: *Compendium of tropical fruit diseases*. Ed. by R.C. Ploetz, G.A. Zentmyer, W.T. Nishijima, K.G. Rohrbach, H.D. Ohr. American Phytopathological Society. U.S.A. APS Press. p. 39-41.
- JOHNSON, G.I.; SANGCHOTE, S.; COOKE, A.W. 1990. Control of stem end rot (*Dothiorella dominicana*) and other postharvest diseases of mangoes (cv. Kensington Pride) during short- and long-term storage. *Tropical Agriculture* 67:183-187.
- JOHNSON, G.I.; MEAD, A.J.; COOKE, A.W.; DEAN, J.R. 1991. Mango stem end rot pathogens-infection levels between flowering and harvest. *Annals of Applied Biology* 119:465-473.
- PATHAK, V.N.; SRIVASTAVA, D.N. 1969. Epidemiology and prevention of *Diplodia* stem-end rot of mango fruits. *Phytopathologische Zeitschrift* 65:164-175.
- PRAKASH, O.; RAOOF, M.A. 1989. Die back disease of mango (*Mangifera indica*), its distribution, incidence, cause and management. *Fitopatología Brasileira* 14:207-214.
- PUSEY, P.L. 1980. Availability and dispersal of ascospores and conidia of *Botryosphaeria* in peach orchards. *Phytopathology* 79:635-639.
- PUNITHALINGAM, E. 1976. *Botryodiplodia theobromae*. CMI-Descriptions of plant pathogenic fungi and bacteria No. 519.
- SCHOEMAN, M.H.; MANICOM, B.Q.; WINDFIELD, M.J. 1995. Epidemiology of powdery mildew on mango blossoms. *Plant Disease* 79:524-528.
- SHARMA, I.M.; RAJ, H.; KAUL, J.L. 1994. Studies on post-harvest diseases of mango and chemical control of stem end rot and anthracnose. *Indian Phytopathology* 47:197-200.
- SUTTON, T.B. 1981. Production and dispersal of ascospores and conidia by *Physalospora obtusa* and *Botryosphaeria dothidea* in apple orchards. *Phytopathology* 71:584-589.
- VERMA, O.P.; SINGH, R.D. 1969. Epidemiology of mango dieback caused by *Botryodiplodia theobromae* Pat. *Indian Journal of Agricultural Science* 40:813-818.