

# Primer reporte de *Pestalotiopsis* spp. en palmeras de *Acrocomia aculeata* en Paraguay

First report of *Pestalotiopsis* spp. in palmers of *Acrocomia aculeata* in Paraguay

Daniela Inés Haupenthal<sup>1\*</sup>, Marco Maidana Ojeda<sup>2</sup>, Lidia Quintana de Viedma<sup>3</sup>, Claudia Beatriz Sorol<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Católica Nuestra Señora de la Asunción. Hohenau, Paraguay.

<sup>2</sup>Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Católica Nuestra Señora de la Asunción. María Auxiliadora, Paraguay

<sup>3</sup>Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales (FaCAF), Universidad Nacional de Itapúa.

\*Autor para correspondencia (danielahaupenthal@hotmail.es)

Recibido: 04/04/2017; Aceptado: 17/04/2017

## RESUMEN

La palmera *Acrocomia aculeata* (Jacquim) Loddiges ex Martius (Arecaceae), nativa de Paraguay, es una especie útil para los pobladores rurales quienes obtienen rédito económico de la venta de los frutos a las industrias que extraen aceites. La evaluación del estado sanitario de las plantas constituyó un requisito para llevar a cabo la implantación del cultivo de esta especie, razón por la cual el objetivo de este trabajo fue identificar el agente causal de manchas foliares en palmeras de *A. aculeata* y evaluar medios de cultivo para su desarrollo. Se tomaron muestras de folíolos en cuatro localidades del departamento de Itapúa, Paraguay. Se realizó el aislamiento y purificación del hongo sembrando fragmentos de folíolos en Agar Dextrosa (AD) Papa. La investigación se realizó desde agosto de 2015 a febrero 2016 en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencia y Tecnología (FaCyT) de la Universidad Nacional de Itapúa (UNI), Encarnación y en el laboratorio de Fitopatología de la Facultad Ciencias Agropecuarias (FCA), Universidad Católica Nuestra Señora de la Asunción, Campus Itapúa (UCI), Hohenau. Se analizaron las características de las colonias utilizando claves de identificación. La prueba de patogenicidad se realizó en seis plantas sanas; después de la inoculación fueron monitoreadas cada tres días y a los 21 d se realizó el re-aislamiento del patógeno de las hojas que presentaban síntomas. Se tomó parte de las lesiones y se realizó la descripción morfológica. Se evaluaron cinco medios de cultivo AD: AD-Papa, AD-Avena, AD-Poroto, AD-Pulpa de Acrocomia, AD-Almendra de Acrocomia. Las características del hongo purificado, las manchas foliares que aparecieron después de la inoculación de los plantines y la descripción morfológica de las colonias coincidieron con las atribuidas al individuo del género *Pestalotiopsis*, constituyendo el primer reporte de este hongo en palmeras de *A. aculeata* en Paraguay. El mayor crecimiento de las colonias ocurrió en el medio de cultivo compuesto por AD-Papa.

**Palabras clave:** *Acrocomia aculeata*, Mbokaja, *Pestalotiopsis*.

## ABSTRACT

The palm tree *Acrocomia aculeata* (Jacquim) Loddiges ex Martius (Arecaceae), native from Paraguay is an useful species for the rural settlers who obtain economic revenue from the sale of the fruits to industrialization plants that extract oils. The implantation of crops required the evaluation of the health status of the plants, which is the reason why the objective of this work was to identify the causal agent of foliar spots in *A. aculeata* palms and to evaluate culture media for its development in vitro studies. Folioles samples were taken at four locations in Itapúa, Paraguay. Isolation and purification of the fungus was carried out by planting fragments of folioles in Potato Dextrose Agar (AD) culture. The research was carried out from August 2015 to February 2016 in the Laboratory of Microbiology of the Faculty of Science and Technology (FaCyT) of the National University of Itapúa (UNI), Encarnación and in the Phytopathology laboratory of the Faculty of Agricultural Sciences (FCA), Catholic University Our Mother of Asunción, Campus Itapúa (UCI), Hohenau. The macroscopic characteristics of the colonies were analyzed using identification keys. The pathogenicity test was carried out on six healthy plants, after inoculation were monitored every three days and at 21 days by re-isolation of the pathogen from leaves with symptoms were performed. The lesions were taken and the morphological description was made. Five culture media were evaluated, all AD: AD-Potatoes, AD-Oat, AD-beans, AD-Acrocomia pulp, AD-Acrocomia almond. The characteristics of the purified fungus, the foliar spots that appeared after inoculation of the seedlings and the morphological description of the colonies coincided with those attributed to individuals of fungus from the genus *Pestalotiopsis*, constituting the first report of this pathogen in the palm of *A. aculeata* in Paraguay. The highest growth of the colonies occurred in the culture medium composed of AD-Potatoes.

**Key words:** *Acrocomia aculeata*. Mbokaja, *Pestalotiopsis*.

## INTRODUCCIÓN

La palmera *Acrocomia aculeata* (Jacquim) Loddiges ex Martius (Arecaceae), nativa de las regiones tropicales y subtropicales del continente americano, se distribuye desde el sur de Florida, Estados Unidos, hasta el sur de Brasil y norte de Argentina, sin embargo está ausente en Ecuador y Perú (Henderson et al. 1995; Ciconini et al., 2013; Plath et al., 2016). En Paraguay se la encuentra en los departamentos de Amambay, Canindeyú, Alto Paraná, Itapúa, San Pedro, Cordillera, Central y Paraguairí, aunque con mayor abundancia en la región oriental, más precisamente en la cuenca del río Paraguay (Brack y Weik 1994). Se estima que en 2008 existían alrededor de 6.000.000 ha de palma de coco (MAG, 2008). Esta especie heliófila habita en pastizales, áreas perturbadas, tierra cultivada y en los márgenes de los caminos (Scariot et al. 1991).

El “mbokaja”, nombre vernáculo en Paraguay, es una planta útil para los pobladores rurales, dado que con las hojas construyen los techos de las viviendas y elaboran accesorios para el hogar, y además obtienen beneficios económicos de la venta de los frutos a plantas de industrialización (Lorenzi y Negrelle 2006; Ciconiniet al. 2013). Del procesamiento de los mismos se extrae aceite de almendra y de pulpa, se genera expeller que mezclado con granos constituye alimento balanceado para animales, y residuos que se emplean en hornos y calderas.

Las industrias aceiteras en Paraguay se iniciaron con la explotación de éstos frutos en la década de los años 40 y hacia 2012 existían diez (Poetsch et al. 2012). No obstante la mayor parte de la materia prima se aprovecha en el mercado interno, en ocasiones se exportan ambos tipos de aceite (O.C.I.T. 2012). Aunque históricamente el material se obtiene por aprovechamiento de las poblaciones naturales, el cultivo de *A. aculeata* se declaró de interés nacional en 2005. A partir de entonces, y muy probablemente impulsadas por la Ley N° 4309/11 de fomento a la forestación y/o reforestación, se iniciaron algunas experiencias de cultivo con esta especie. El interés por implantar cultivos ordenados requirió de conocimientos que permitieran el manejo correcto del material local, en este sentido uno de los aspectos a evaluar es el estado sanitario de las plantas. Al respecto ENTABAN (2009) señala que la ocurrencia de enfermedades en *A. aculeata* es bastante reducida; McDonald (2008) indica que no se realizaron estudios sistematizados sobre la presencia de enfermedades en Paraguay y Toledo de Albuquerque et al. (2014) mencionan que la información es escasa y advierten sobre la ocurrencia de plantas con signos de enfermedad en las hojas, las cuales se presentan marchitas y con

manchas amarillentas con centro de color negro, al parecer causadas por un hongo, posiblemente *Phaeophora acrocomiae*.

Según Mirisola Filho (2009) la distribución espaciada que presentan las plantas de *A. aculeata* las hace menos vulnerables a los patógenos, porque de ese modo no están sujetas a estrés por competición por factores tales como la luz, los nutrientes, el agua y el espacio. Además, indica que la variabilidad genética que presentan las poblaciones les confiere diferentes niveles de resistencia. Sin embargo, Toledo de Albuquerque et al. (2014) informaron sobre cinco especies de hongos que afectan a palmeras de *A. aculeata* en Brasil causando los siguientes daños; *Passalora acrocomicola* que causa manchas foliares; *Camarotella acrocomiae* produce lija; *Phytophthora palmivora* causa pudrición de raíz y meristemas, *Curvularia* sp. y *Alternaria alternata* asociadas a tejidos dañados, pero no patogénicos.

El ataque por hongos a las hojas de la palma aceitera *Elaeis guineensis* ha ocasionado pérdidas severas, de hasta 40%, en la producción de frutos de las plantaciones comerciales y se ha determinado que los agentes causales de las manchas foliares pertenecen al género *Pestalotiopsis* (Montañez et al. 1997; Labarca et al. 2006), sin embargo no hay informes sobre este patógeno afectando a *A. aculeata*.

El género *Pestalotiopsis* fue elegido para acomodar a la mayoría de las especies del antiguo género *Pestalotia*, el cual quedó constituido tan solo por *Pestalotia pezizoides* De Not.; otras especies de *Pestalotia* fueron transferidas al género *Truncatella* (Kruschewsky 2010).

Los hongos de *Pestalotiopsis* son cosmopolitas, diversos y complejos y presentan las variaciones en las estructuras de fructificación, en el tamaño y la morfología de los conidios, incluso a nivel intraespecífico como respuesta a cambios ambientales, las cuales dificultan la determinación (Karakaya 2001; Oliveira et al. 2012; Figueiredo 2016). Por ello, la caracterización molecular constituye una herramienta certera para la taxonomía de hongos e imprescindible para los estudios filogenéticos de los mismos (Oliveira et al. 2012).

La diversidad de *Pestalotiopsis* también se verifica al encontrar especies saprófitas, fitopatógenas y endofíticas, sin embargo los trabajos realizados por Araujo et al. (1991) y por Cardoso et al. (2003) relatan que las especies del género *Pestalotiopsis* que afectan a plantas de la familia Arecaceae, pueden ser consideradas patógenos débiles y que su presencia está asociada a la de insectos que causan lesiones en las hojas y a otros agentes patógenos.

Generalmente, las manchas foliares producidas por *Pestalotiopsis* spp. en palmeras se concentran en la zona cercana a las nervaduras de los folíolos, que corresponde a la región de mayor afluencia de savia y la más preferida por los insectos chupadores para su alimentación. Las manchas se hacen confluentes y gran parte de la lámina foliar se necrosa en más del 95%, especialmente en las hojas inferiores (Sánchez 1990).

Después de inocular plantas de previvero de un mes de edad, de la palma aceitera (*Elaeis guineensis* Jacq.), y de evaluar las características de las colonias y conidios, Labarca et al. (2006) reportaron la patogenicidad de *Pestalotiopsis palmarum* Cooke. Por su parte Cardoso et al. 2003, estudiaron la etiología y el progreso de la mancha de pestalotia del cocotero (*Cocos nucifera* L.) y determinaron que en todas las evaluaciones la incidencia de la enfermedad fue del 100% y la mayor severidad se registró en presencia de microácaros y cochinillas.

Aunque el ciclo de las enfermedades infecciosas suele estar relacionado con el ciclo de vida del patógeno, éste se refiere fundamentalmente a la aparición, desarrollo y prevalencia de una enfermedad y no al patógeno mismo (Arauz, 1998); los eventos principales se inician con la inoculación y penetración para después pasar al establecimiento de la infección, colonización (invasión), crecimiento, reproducción, dispersión y supervivencia del patógeno en ausencia de su hospedante (Agrios, 2005).

El objetivo de este trabajo fue identificar el agente causal de manchas foliares en las palmeras de *Acrocomia aculeata* y evaluar medios de cultivo para su desarrollo.

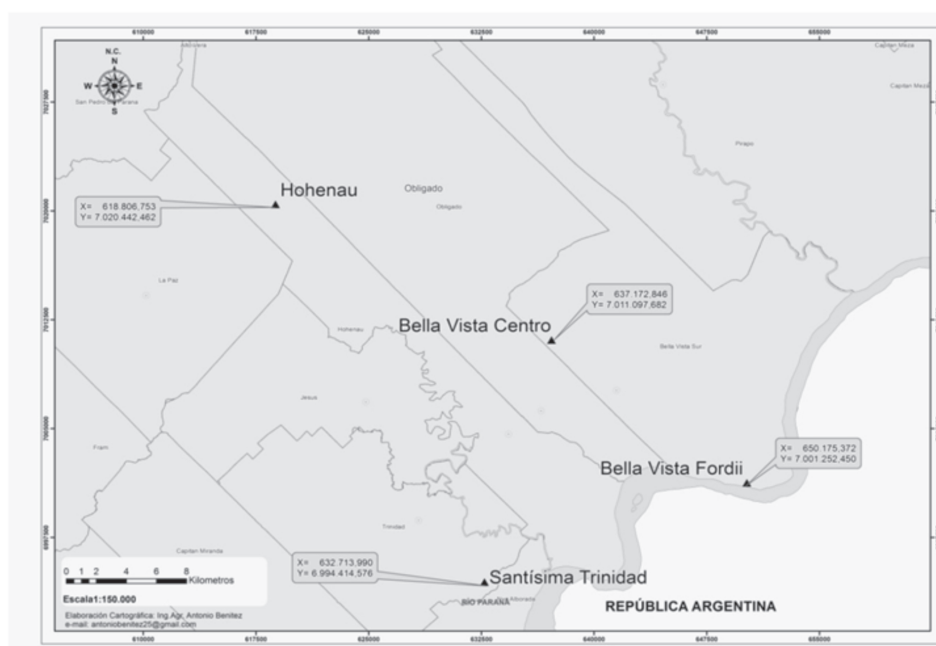
## MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó desde agosto de 2015 a febrero 2016 en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencia y Tecnología (FaCyT) de la Universidad Nacional de Itapúa (UNI), Encarnación y en el laboratorio de Fitopatología de la Facultad Ciencias Agropecuarias (FCA), Universidad Católica Nuestra Señora de la Asunción, Campus Itapúa (UCI), Hohenau.

Sitios de estudio: Las muestras se recolectaron de plantaciones de *A. aculeata* establecidas en los distritos de Hohenau (x: 618806753, y: 7020442462; 99 msnm), Bella Vista Centro (x: 637172846, y: 7011097682; 122 msnm), Bella Vista Fordii x: 650175372, y: 7001252450; 122 msnm), y de Santísima Trinidad (x: 632 713 990, y: 6994414576; 48 msnm) del departamento de Itapúa, Paraguay (Figura 1).

La plantación de Hohenau se encontraba en etapa de producción de frutos, con ocho años de haber sido implantado en suelo arcilloso, de fertilidad media; la de Bella Vista Centro se encontraba en etapa de crecimiento vegetativo, a dos años de haber sido implantada, en suelo arcilloso de fertilidad media. La población de Bella Vista Fordii, en etapa de producción plena, con seis años de haber sido implantado, en un suelo arcilloso, en la margen del Río Paraná. La plantación de Santísima Trinidad, al inicio del estado reproductivo, en su primera floración, con cuatro años de haber sido implantada, en un suelo arenoso.

La temperatura ambiente del mes de agosto de 2015, momento al cual se tomaron las muestras, osciló entre 11 °C y 33 °C.



**Figura 1.** Ubicación de las plantaciones de *Acrocomia aculeata* de las que se tomaron las muestras.



**Recolección de las muestras:** Para la identificación del agente causal de las manchas presentes en las hojas de *A. aculeata*, en cada población se identificaron individuos con hojas afectadas y se tomaron 150 folíolos que presentaban síntomas. Todos los folíolos procedentes de una hoja se colocaron en un sobre de papel que se rotuló asentando la procedencia y la fecha de recolección. Inmediatamente se llevaron a los laboratorios de Microbiología y Fitopatología mencionados. Se logró un total de 600 muestras.

**Aislamiento y purificación del hongo:** Con el fin de eliminar ácaros u otros organismos que pudieran interferir en el desarrollo de las colonias del hongo, las muestras de hojas con manchas foliares se lavaron con una solución de hipoclorito de sodio al 1,5% durante un minuto, después se les pasó un pequeño trozo de algodón embebido en alcohol al 76% y se enjuagaron con agua destilada estéril. A continuación se cortaron fragmentos de 1 a 3 cm, que incluían tanto tejido necrótico como tejido sano, se secaron los fragmentos con papel absorbente estéril, se tomaron al azar diez fragmentos por sobre y se sembraron en placas de Petri conteniendo medio de cultivo de Agar Dextrosa (AD)-Papa, disponiendo un fragmento por placa, de dimensión de 100 mm de diámetro x 20 mm de altura. La esterilización se realizó previamente en autoclave a 121 °C y 1 atm, durante 20 minutos.

Las placas con las muestras se llevaron a incubación a temperatura ambiente y fotoperiodo de 12 h, durante 5 días. Se analizaron las características macroscópicas de las colonias empleando las claves de Ellis (1971) y de Barnnet y Hunter (1995). Las colonias, cuya descripción se ajustaba a las del género *Pestalotiopsis*, se aislaron repicando de la punta de las hifas. Las colonias purificadas se mantuvieron selladas en placas Petri en heladera a una temperatura de 7°C.

**Preparación del inoculo:** Para infectar a las plantas sanas de *A. aculeata* se seleccionó al azar un aislado del cual se generaron repiques en placas Petri con AD-Papa como medio de cultivo, se incubaron a temperatura ambiente por 10 días. Se preparó una suspensión de esporas, para ello se raspó la superficie de la colonia y se la colocó en un tubo de ensayo al que se agregó agua destilada estéril, esta suspensión se filtró y se agitó energicamente. Se tomaron alícuotas de la suspensión de los hongos y se procedió al conteo en la cámara de Neubauer. Se contaron los conidios presentes en los cinco cuadros principales (A,B,C,D,E), realizando dos repeticiones (Labarca et al., 2006); y se ajustó a una solución de 30.000 conidios/mL para la inoculación de plantas sanas.

**Prueba de patogenicidad:** Para corroborar la patogenicidad del aislado seleccionado, se tomaron al azar seis plantas sanas de *A. aculeata* de un año de

edad. Las mismas se habían desarrollado en macetas de 5 litros de capacidad que contenían sustrato compuesto por una mezcla de suelo, arena lavada y materia orgánica descompuesta en proporción 3:1:1, dispuestas bajo malla media sombra al 50%. Se regó de modo abundante el día previo a la inoculación. La inoculación se realizó con una jeringa para aplicación de insulina de 0,3 mL, por ser descripto como un hongo que requiere de heridas para la penetración del patógeno (Labarca et al., 2006; Escalante et al., 2010). Se tomaron al azar tres plantas y se inyectó 0,03 mL de suspensión de conidios en las hojas de la palmera, realizando la aplicación en dos hojas. Las otras tres plantas se dejaron como testigo; para ello se aplicó agua destilada. Las aplicaciones se llevaron a cabo en horas de la tarde; inmediatamente después y para evitar la desecación, se cubrieron las plantas durante 48 h, con bolsas de polietileno transparente de 250 micrones de espesor, cuidando que no tuviesen contacto con la plantas. El progreso de la infección en las plantas inoculadas fue monitoreado cada tres días.

**Re-aislamiento del patógeno:** A los 21 días después de la inoculación se realizó el re-aislamiento del patógeno de las hojas que presentaban síntomas, para corroborar su presencia como agente causal (Postulados de Koch). Se tomó parte de las lesiones y para su posterior identificación se aislaron del modo anteriormente descripto.

**Descripción morfológica:** Para la descripción morfológica del hongo se emplearon las claves de Ellis (1971) y Barnnet y Hunter (1995). Se observó el crecimiento de las colonias, en las placas de Petri, y la estructura de los conidios para su descripción. Se tomaron al azar 50 conidios y se observaron al microscopio óptico, se empleó un microscopio marca Zeis, modelo N-120. Cada conidio se observó por separado con un aumento total de 400x. Se midió la longitud, el ancho, longitud de apéndice basal y apical y el número de apéndice apical, se empleó el software Scopephoto 3.0. Para cada variable se calculó la media, el mínimo, el máximo y el desvío estándar.

**Selección de medios de cultivo para crecimiento de colonias de *Pestalotiopsis* spp.:** Con el fin de establecer el medio de cultivo que favoreciera el desarrollo de las colonias de *Pestalotiopsis* spp. se evaluaron cinco medios que se describen a continuación.

**AD- Papa:** se pelaron 200 g de papas y se cortaron en pequeños trozos que se hirvieron en 1 L de agua destilada durante 30 minutos, luego se filtró el caldo a través de una gasa. Se añadió agua destilada de manera que el volumen total de la suspensión fuera de 1 L. Se añadieron 20 g de dextrosa y 20 g de agar en polvo y se esterilizó el medio en una autoclave a 1 atm de presión y

121°C de temperatura, durante 20 minutos (Cerra et al. 2013).

**AD-Avena:** se hirvieron 200 g de granos enteros de avena (*Avena sativa*) durante 30 minutos en 1 litro de agua. Posteriormente se filtró la solución y se adicionó agua destilada hasta completar 1 litro. Se añadieron 20 g de dextrosa y 20 g de agar en polvo y se esterilizó el medio en una autoclave a 1 atm de presión y 121°C de temperatura, durante 15 minutos.

**AD-Poroto:** se empleó el mismo procedimiento que se utilizó para la preparación del medio AD-Avena pero con granos de poroto (*Phaseolus vulgaris*).

**AD-Pulpa de Acrocomia:** se recolectaron del suelo frutos maduros de *A. aculeata*, y se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 2,5%. Se retiró la cáscara y con un bisturí se tomó la pulpa, con 200 g de la misma y siguiendo la metodología del AD-Papa, se preparó este medio de cultivo.

**AD-Almendra de Acrocomia:** de los frutos que se extrajo la pulpa se emplearon las almendras, retirando el carozo. Las almendras fueron molidas con un multiprocesador. Se tomó 200 g y se siguió el mismo procedimiento empleado para la preparación de medio de cultivo con AD-Pulpa de Acrocomia. Se sembraron en seis placas de Petri por cada medio de cultivo. Se identificó cada placa según el medio de cultivo contenido, fueron selladas y colocadas a temperatura ambiente.

**Variables evaluadas:** Diámetro de la colonia. Se midió con una regla milimetrada el diámetro de la colonia a los 3, 5 y 8 días después de su siembra (DDS) y se registraron los datos en una planilla. Se calculó el promedio de crecimiento del diámetro de cada colonia expresado en centímetro por cada fecha de evaluación.

**Análisis de datos:** Los resultados se ajustaron a una curva de regresión.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Patogenicidad del aislado y descripción de síntomas en *A. aculeata*:** El hongo aislado de las

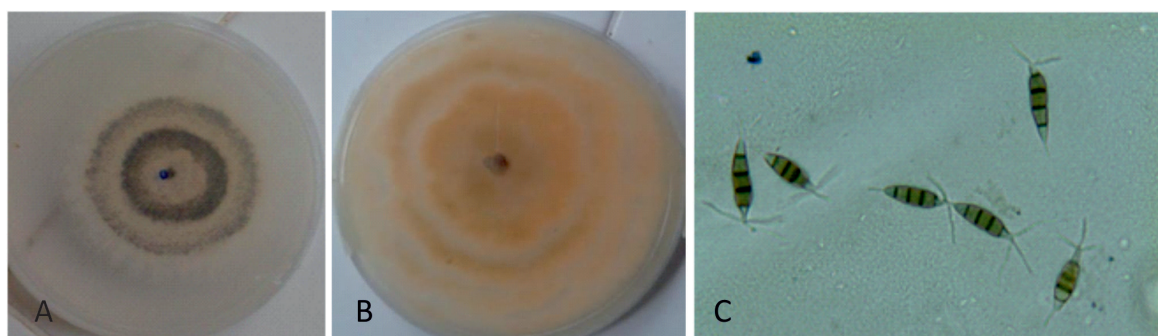
manchas foliares de las hojas de *A. aculeata* e inoculado en plantines de la misma especie, a los 16 días de la inoculación, que al observar al trasluz, se notó un gran número de manchas pequeñas casi circulares de color amarillo - oliva, rodeadas por un borde amarillo, indefinido y de aspecto aceitoso. A medida que transcurrieron los días, éstas aumentaron de tamaño y el color oliva cambió a una coloración marrón y luego a coloración grisácea; el centro de la lesión se presentó ligeramente hundido. Síntomas característicos del género *Pestalotiopsis*, similares en otras Arecáceas, fueron descritos por Labarca et al. 2006. Las lesiones se extendieron finalmente por toda la hoja.

El re aislamiento del patógeno de las plantas coincidieron con la especie fúngica aislada previamente, con lo cual se pudo confirmar que el hongo aislado es el agente causal de las manchas foliares en plantas de *A. aculeata*.

**Descripción morfológica:** Las colonias presentaron aspecto algodonoso con micelio aéreo difuso, con avance irregular hacia el borde y más denso en las partes más viejas, con anillos concéntricos más densos, presencia de pequeños puntos sobresalientes de color negro que corresponden a masas de esporas, de aspecto aceitoso (Figura 2. A); observándose la esporulación de los hongos a partir del séptimo día. En el reverso de la placa, la colonia se muestra de coloración rosácea con anillos concéntricos (Figura 2. B). Estas descripciones son similares a los reportados por Labarca et al., 2006 y Kruschewsky 2010 para especies del género *Pestalotiopsis*.

En la Tabla 1 se registra la media, el mínimo y el máximo de la longitud y ancho de los conidios y la longitud de los ápices, tanto basal como apical. A la vez, se observa el desvío estándar de la media para cada unidad medida.

En el microscopio se observaron conidios con 4 septos hialinos con apéndices apicales, en la mayoría de los casos tres y excepcionalmente dos; y un apéndice basal, todos hialinos (Figura 3).



**Figura 2.** Colonia de *Pestalotiopsis* spp. A: con cuerpos fructíferos B: reverso de la placa. C: conidios de *Pestalotiopsis*. Itapúa. 2016.

**Tabla 1.** Características biométricas de los conidios de *Pestalotiopsis* spp. aislados de *A. aculeata*. Itapúa. 2016.

	Longitud de conidios ( $\mu\text{m}$ )	Ancho de conidios ( $\mu\text{m}$ )	Longitud ápndice basal ( $\mu\text{m}$ )	Longitud apéndices apicales ( $\mu\text{m}$ )
Mínimo	24,7	6,57	3,86	9,9
Máximo	38,0	9,27	10,5	26,7
Media	29,3	7,8	6,5	18,1
Desviación estándar	2,3	0,6	1,4	4,2

Se observaron diferencias en la forma de los conidios, lo cual concuerda con lo afirmado por Karakaya (2001), quien refirió que el género *Pestalotiopsis* es complejo y difícilmente puede ser clasificado al nivel de especie teniendo en cuenta ésta característica, ya que las estructuras de fructificación, tamaño y morfología de los conidios tienden a variar dentro de la especie, inclusive por cambios ambientales.

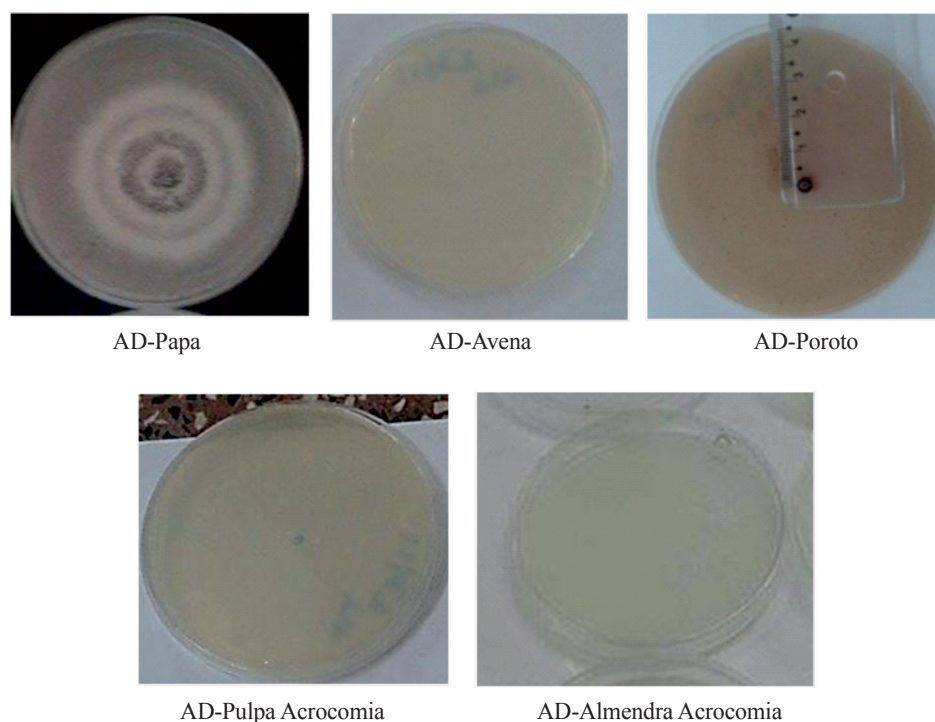
Labarca et al., (2006) registraron en *P. palmarum* en promedio, una longitud de los conidios de 19,44  $\mu\text{m}$  y 5,6  $\mu\text{m}$ , de ancho, mientras que el largo de los apéndices apicales 16,9  $\mu\text{m}$  y el del apéndice basal 4,86  $\mu\text{m}$ . Por otra parte, Kruschewsky (2010) reporta datos biométricos de diferentes especies del género *Pestalotiopsis* aislados de distintos hospederos. Por ejemplo: para *P. clavispora* indica una longitud de conidios de 28  $\mu\text{m}$ , ancho de conidios de 5 a 8  $\mu\text{m}$ , longitud del ápice basal 4-5  $\mu\text{m}$  y el apical 18,1  $\mu\text{m}$ . En *P. microspora* los conidios

presentaron una longitud de 30-32  $\mu\text{m}$ , ancho de 5 a 6,5  $\mu\text{m}$ , longitud del ápice basal 1-3  $\mu\text{m}$  y el apical 2-9  $\mu\text{m}$ ; y *P. palmarum* presentó conidios de 1- 25  $\mu\text{m}$  y 5- 8  $\mu\text{m}$  de ancho, la longitud del ápice basal de 4-7  $\mu\text{m}$  y apéndice apical de 13-27  $\mu\text{m}$ , sin tener concordancia con los datos obtenidos en ésta investigación.

Selección de medios de cultivo para crecimiento de colonias de *Pestalotiopsis* spp.

Los medios de cultivo no tradicionales evaluados no fueron propicios para el crecimiento del hongo *Pestalotiopsis* spp. aislado de hojas de *A. aculeata*, sin embargo en el medio de cultivo habitualmente empleado, el de AD-Papa las colonias presentaron crecimiento regular.

En la Figura 4 se observa que los medios de cultivo en que se adicionó tanto la avena, la pulpa y almendra de *A. aculeata* a la Dextrosa y Agar para la preparación, no se presentó desarrollo del patógeno.



**Figura 3.** Crecimiento de *Pestalotiopsis* spp. aislada de *Acrocomia aculeata* en diferentes medios de cultivo a los 8 Días Después de la Siembra (DDS). Itapúa. 2016.

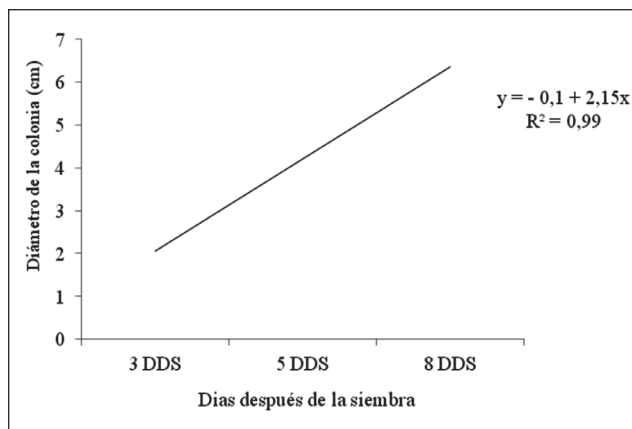


El crecimiento en diámetro de las colonias se observa en la Tabla 2, a los 3, 5 y 8 DDS. Se verifica que en el medio en que se empleó poroto se presentó desarrollo pero mucho menor en comparación al de AD-Papa y se observó una detención de su crecimiento entre los 5 y 8 DDS al medio de cultivo.

**Tabla 2.** Crecimiento de colonias de *Pestalotiopsis* spp. en diferentes medios de cultivo a los 3,5,8 DDS. Itapúa. 2016.

Medios de cultivos	Diámetro de la colonia (cm)		
	3 DDS	5 DDS	8 DDS
AD-Papa	2,1	4,1	6,4
AD-Avena	0	0	0
AD-Poroto	0,2	1,3	1,4
AD-Pulpa de Acrocomia	0	0	0
AD-Almendra de Acrocomia	0	0	0

En la Figura 5 se observa la tasa de desarrollo de las colonias sembradas en función al diámetro de las mismas, reflejan en forma comparativa que en el periodo de 3 DDS a 8 DDS para el medio de cultivo compuesto por AD-Papa, donde se presenta una ecuación de regresión lineal.

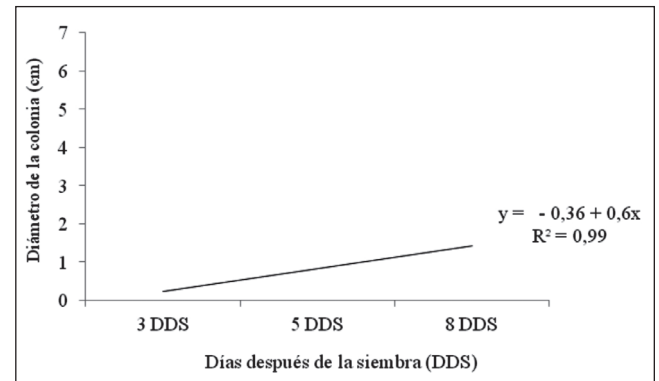


**Figura 5.** Crecimiento de colonias de *Pestalotiopsis* spp. en medio de cultivo AD-Papa a los 3, 5, 8 DDS. Itapúa. 2016.

Se observa, que de 3 DDS a 5 DDS en el AD-Papa, el crecimiento del diámetro de la colonia fue en promedio de 1 cm/día, y de 5 DDS a 8 DDS el crecimiento en promedio fue de 0,77 cm/día.

En la Figura 6 se refleja la ecuación lineal del crecimiento de las colonias de *Pestalotiopsis* en el medio de cultivo AD-Poroto, a diferentes días después de la siembra, en donde se demuestra que el crecimiento entre los 3 y 5 DDS fue de 0,55 cm/día, donde la diferencia media de crecimiento es de 81,81%, superior en el medio AD-Papa.

En tanto, en el periodo de crecimiento de las colonias a los 5 DDS y 8 DDS, en el medio de cultivo de AD-Poroto es de 0,033 cm/día, donde la diferencia media de crecimiento es de 23,24 veces mayor en el AD-Papa comparado con el AD-Poroto.



**Figura 6.** Crecimiento de colonias de *Pestalotiopsis* spp. en medio de cultivo AD-Poroto, a los 3, 5, 8 DDS. Itapúa. 2016.

Estos resultados concuerdan con los reportados por Hopkins y Mc Quilkem (2000), quienes indicaron que el mayor crecimiento de las colonias de *Pestalotiopsis* spp. fue en el medio de cultivo compuesto por AD-Papa y el menor crecimiento en el que contenía cereales.

## CONCLUSIÓN

El agente causal de las manchas foliares en las palmeras de *Acrocomia aculeata* es *Pestalotiopsis* spp. y el medio de cultivo más adecuado para favorecer el desarrollo del mismo es Agar Dextrosa-Papa.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agrios G. 2005. Plant pathology. 5 ed. Nueva York: Elsevier Academic Press. 922p.
- Araújo JCA, Gasparotto L de; Garcia MVB.1991. Epidemiología de *Pestalotiopsis* spp. em dendeneiro. Fitopatologia Brasileira. 16 (2):33.
- Brack W, Weik J. 1994. El Bosque nativo del Paraguay. Riqueza subestimada. 2nd ed. Asunción, Paraguay.
- Arauz L. 1998. Fitopatología un enfoque agroecológico. Primera Edición. Editorial de la Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica. 467 p.
- Barnett HL, Hunter B. 1972. Illustrated general of imperfect fungi. Third Edition Division of Plant Sciences West Virginia University Morgantown, West Virginia. 241p.
- Cardoso G, Barreto A, Araújo E, Almeida F, Carvalho R. 2003. Etiología e progresso da mancha de pestalotia do coqueiro (*Cocos nucifera* L.), em São Gonçalo, Paraíba. Rev. Bras. Frutic. (en línea). 25 (2): 335-336. Consulta: 10 de octubre de 2016. Disponible en: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-29452003000200039&lng=en&n](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-29452003000200039&lng=en&n)

- Cerra H; Fernández M; Horak C; Lagomarsino M; Torno G; Zarankin E. 2013. Manual de Microbiología aplicada a las Industrias Farmacéutica, Cosmética y de Productos Médicos. Asociación Argentina de Microbiología. ISBN 978-987-26716-3-1. 544p.
- Ciconini G, Favaro SP, Roscoe R.; Miranda CHB, Tapeti CF, Miyahira MAM, Bearari L., Galvani F, Borsato AV; Colnago LA, Naka MH. 2013. Biometry and oil contents of *Acrocomia aculeata* fruits from the Cerrados and Pantanal biomes in Mato Grosso do Sul, Brazil. *Industrial Crops and Products*. (45): 208-214. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S.> Consulta: 1 de julio 2016.
- Ellis M. 1971. *Dematiaceous hyphomycetes*. Editor: Commonwealth Mycological Institute. Universidad Estatal de Pensilvania.
- ENTABAN. 2009. Plano de negócio: Projeto Florestal de cultivo da macaúba na Zona da Mata Mineira. 39 p.
- Escalante M, Damas D, Márquez D, Gelvez W, Chacon H, Díaz A, Moreno B. 2010. Diagnóstico y evaluación de *Pestalotiopsis*, e insectos inductores, en plantaciones de palma aceitera al Sur de Maracaibo, Venezuela. *Bioagro* 22 (3) 211-216.
- Figueiredo J. 2016. Bioprospecção, caracterização morfológica e molecular de endófitos de *Maytenus ilicifolia*, com ênfase em *Pestalotiopsis* spp. Dissertação apresentada do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, Parasitologia e Patologia do Departamento de Patologia Básica da Universidade Federal do Paraná para obtenção do Grau de Mestre. Brasil. 134 pp. Disponible en file:///C:/Users/Daniela/Downloads/josianedisserta%C3%A7%C3%A3o.pdf
- Henderson A, Galeano G, Bernal R. 1995. *Palmas of the Americas*. Princeton: Princeton University Press, 1995. 352p.
- Hopkins KE, McQuilken MP. 2000. Characteristics of *Pestalotiopsis* associated with hardy ornamental plants in the UK. *Eur. J. Plant Pathol.* 106 : 77-85
- Karakaya A. 2001. First report of Infection of kiwifruit by *Pestalotiopsis* spp. In Turkey. *Plant Disease*. (85):1028.
- Kruschewsky M. 2010. Taxonomia e ecologia do gênero *Pestalotiopsis* no Brasil, com ênfase para a mata atlântica do Sul da Bahia. Ilhéus-Bahia. Brasil. Dissertação apresentada, para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal, à Universidade Estadual de Santa Cruz. 68pp.
- Labarca M, Sanabria N, Arcia A. 2006. Patogenicidad de *Pestalotiopsis palmarum* Cooke, sobre plantas de vivero de palma aceitera (*Elaeis guineensis* Jacq.). *Rev. Fac. Agron. (LUZ)*. 2006, 23: 417-424. Venezuela.
- Lorenzi GMAC; Negrelle RRB. 2006. *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. Ex Mart.: Aspectos ecológicos, usos e potencialidades. *Visão Acadêmica*. (7)2: 1-12.
- MAG-Dirección de Investigación Agrícola. 2008. Proyecto GCP/GLO/190/SP segundo informe nacional sobre el estado de los recursos fitogenéticos de importancia para la alimentación y la agricultura-Asunción, Paraguay. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/013/i1500e/Paraguay.pdf>
- Mcdonald M. 2008. Revisión de la Situación Actual de Mbokaja (*Acrocomia totai*) en Paraguay. Informe final. Disponible en [http://www.geam.org.py/v3/uploads/2011/11/Mbokaja\\_Informe\\_Final1.pdf](http://www.geam.org.py/v3/uploads/2011/11/Mbokaja_Informe_Final1.pdf)
- Mirisola Filho LA. 2009. Cultivo e Processamento do coco macaúba para produção de biodiesel. Viçosa: Centro de Produções Técnicas. 336 p.
- O.C.I.T. Oficina consultiva y de investigación técnica. 2012. EXPORTACIONES. 38 pp. Asunción, Paraguay.
- Oliveira JSF, Costa RC, Nascimento SMC. do, Santos T de PF dos, Carvalho E de A. 2012. Diversidade de hospedeiros de *Pestalotiopsis* sp. no estado do Pará. Congresso Brasileiro de Recursos Genéticos, 2., Belém, PA. Anais. Brasília, DF: Sociedade Brasileira de Recursos Genéticos.
- Poetsch J, Hauptenthal D, Lewandowski I, Oberländer D, Hilger T. 2012. *Acrocomia aculeata* – a sustainable oil crop. *Scientific World rural* 21.
- Sánchez A. 1990. Enfermedades de la palma de aceite en América Latina. *Revista Palmas*. 2(4). Colombia. 38 pp.
- Plath M, Moser C, Bailis R, Brandt P, Hirsch H, Klein A. M, Walmsley D, von Wehrden H. 2016. A novel bioenergy feedstock in Latin America Cultivation potential of *Acrocomia aculeata* under current and future climate conditions. *Biomass and Bioenergy*. (91): 186–195.
- Scariot AO, Lleras E, John D. 1991. Reproductive Biology of the Palm *Acrocomia aculeata* in Central Brazil. *Biotropica*. (23): 1. The Association for Tropical Biology and Conservation Stable URL: <http://www.jstor.org/stable/2388683> Accessed: 11-08-2015 17:32 UTC
- Toledo de Albuquerque S., Barreto R, De Mendonça H, Alves J. 2014. Principais fungos fitopatogênicos associados à macaúba (*Acrocomia aculeata*) no Brasil. Simpósio de Integração acadêmica. Campus Viçosa. Brasil. Disponible en: <https://www3.dti.ufv.br/sia/vicosa/2014/trabalhos/2827>. Consulta: abril 2016.