

REQUERIMIENTOS DE HUMEDAD RELATIVA Y TIEMPOS DE INCUBACIÓN PARA LA INFECCIÓN DE CONIDIOS DE *Colletotrichum gloeosporioides* EN FRUTOS DE PAPAYA¹

Alfredo Durán², Lenín Ramírez², Dennis Mora²

RESUMEN

Requerimientos de humedad relativa y tiempos de incubación para la infección de conidios de *Colletotrichum gloeosporioides* en frutos de papaya. La investigación se realizó en el Laboratorio de Fitopatología, Universidad de Costa Rica entre octubre de 1995 y marzo de 1996. En una primera etapa se utilizaron frutos de papaya criolla, procedentes de Guácimo, provincia de Limón, los cuales se lavaron y se les realizó un tratamiento de inmersión en agua caliente (49°C por 20 minutos) para eliminarle infecciones latentes. Los frutos se colocaron al azar en grupos de 20 que conformaron cada tratamiento. Se inocularon mediante aspersión con 5,5 ml de una suspensión de 10.000 esporas de *Colletotrichum gloeosporioides* por mililitro, se colocaron en cajas plásticas y se introdujeron en cámaras que tenían la temperatura de 30°C y humedad relativa en valores de 70%, 80% y 90%. Las frutas se mantuvieron en las cámaras por períodos de 5, 10, 15, 20 y 25 horas. Se evaluó la incidencia y la severidad de la antracnosis. En la segunda etapa se utilizaron frutos de la variedad hawaiana Sunrise; el procedimiento seguido para la preparación de la fruta fue idéntico al material criollo. En fruta criolla, el 100% de los frutos colocados a 80% y 90% de humedad relativa se contaminaron luego de cinco horas de permanencia en la cámara. A 70% de humedad relativa se presentó un descenso en la incidencia. El nivel de daño se incrementó con el aumento en la humedad relativa, aunque se presentaron algunos comportamientos erráticos. En la prueba con fruta hawaiana, la incidencia de la enfermedad aumentó conforme aumentó en número de horas de incubación.

ABSTRACT

Relative humidity requirements and incubation periods for the *Colletotrichum gloeosporioides* conidia infection in papaya fruit. The research was carried out at the University of Costa Rica's phytopathology laboratory between October 1995 and March 1996. In an initial phase, some creole papaya fruits from Guacimo (Limón province) were used. In order to eliminate latent infections, they were washed and immersed in hot water (49° C for 20 minutes). The fruits were then randomly placed in groups of 20, which conformed each treatment. Finally, they were inoculated by spraying with 5.5 ml of a 10.000 *Colletotrichum gloeosporioides* spores per milliliter suspension; then they were placed in plastic boxes and stored in containers with a 30°C temperature and relative humidities of 70%, 80%, and 90%. Fruits were kept in the compartments for periods of 5, 10, 15, 20 and 25 hours. Temperature and relative humidity were monitored during the experiment through the incubator's sensors and with a portable hydrothermograph. Finally, the incidence and severity of anthracnose was evaluated. During the second phase, fruits of the Hawaiian sunrise variety were used, following the same procedures applied to the native fruits. In native fruits, 100% of those placed at 80% and 90% relative humidity were contaminated after being in the compartment for five hours. The incidence decreased in the group with 70% relative humidity. The damage level increased with increases in relative humidity, although some erratic behavior was observed. In the test with Hawaiian fruit, the disease incidence increased according with incubation time. Severity showed a similar behaviour; however, there was also erratic behaviour here.



INTRODUCCIÓN

La producción de papaya fresca, sea para exportación o para mercado local, presenta al productor una serie de problemas técnicos y restricciones a su manejo

que dificultan y encarecen el cultivo. Es una fruta muy susceptible al ataque de varios hongos que la afectan en la etapa postcosecha, entre ellos el más importante en Costa Rica es *Colletotrichum gloeosporioides* causante de la antracnosis (Arauz y Mora 1983). Como es una

¹ Proyecto: Mejoramiento de la calidad post cosecha de la papaya mediante métodos alternativos de campo. Vicerrectoría de Investigación, Estación Experimental Fabio Baudrit M., Universidad de Costa Rica.

² Estación Experimental Fabio Baudrit y Laboratorio de Fitopatología, Facultad de Agronomía, Universidad de Costa Rica.

fruta de consumo fresco, debe evitarse la presencia de residuos de plaguicidas a concentraciones que puedan considerarse nocivas para la salud del consumidor, (FAO 1993). Como consecuencia de esto la Agencia de Protección del Ambiente de los Estados Unidos (EPA), ha restringido el uso de productos fungicidas en el cultivo de la papaya y los acuerdos internacionales que regulan la exportación de fruta a este país, estipulan claramente las restricciones que se tienen para la protección del fruto y establecen además, las normas de calidad fitosanitaria, (APHIS - MAG, 1993).

Los productores de papaya deben implementar medidas de combate integral de la enfermedad para disminuir el inóculo de campo de la antracnosis y manejar la enfermedad por métodos que no contemplen el uso de plaguicidas, o que los utilicen mediante procedimientos que garanticen el cumplimiento de las tolerancias de residuos en el fruto y además la menor agresión al ambiente. Uno de los procedimientos para el uso racional de fungicidas en la protección del cultivo, es la aplicación de los fungicidas cuando se tiene la certeza de la presencia del inóculo en la finca y de que se han dado las condiciones ambientales necesarias para el proceso de infección. Basándose en esta información se ha logrado implementar, en algunos cultivos, mecanismos de decisión que reducen substancialmente el número de aplicaciones por ciclo de cultivo y mantienen a la vez los niveles de calidad fitosanitaria.

Con respecto al ataque *C. gloeosporioides* en papaya Gupta; Nema, (1979) y Gupta; Pathak (1990), comprobaron en la India que el hongo *C. gloeosporioides* requiere de temperaturas entre los 25 y 30°C para completar sin limitaciones su proceso de infección y además que existe una relación directa entre la humedad relativa ambiente y la severidad de las infecciones sobre el fruto. Para las zonas papayeras de Costa Rica, el Instituto Meteorológico Nacional (1980) informa de temperaturas que oscilan entre los 25 y los 30°C para la costa Pacífica la costa Atlántica en Guápiles y Guácimo. De igual manera, se considera que los valores de humedad relativa varían con mayor frecuencia entre 60 y 100 %.

El propósito de esta investigación fue identificar, bajo condiciones de laboratorio, los rangos de temperatura y humedad relativa a los que se pueden dar infecciones por el hongo *C. gloeosporioides* en papaya.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó en dos etapas, en la primera se usó un combinado de genotipos de papaya cri-

lla costarricense y en la segunda etapa se usó una variedad de tipo hawaiano llamada Sunrise.

Para la prueba con papaya criolla se colectaron frutos en Guácimo, provincia de Limón en una finca en donde únicamente se usaba como fungicidas productos de tipo protector.

El combinado de genotipos colectado presentaba las características usuales de este tipo de población: frutos hembras y hermafroditas, de tamaños grande y mediano, colores de pulpa rojo y amarillo y de cavidad redonda o estrellada.

Los frutos se cortaron al finalizar su desarrollo y cuando apenas empezaban a mostrar síntomas del inicio del proceso de maduración, mediante la presencia de una pequeña área decolorada de no más de 2 a 3 cm de diámetro, cerca del extremo inferior de la cara externa de la fruta.

Una vez colectada la fruta se transportó en cajas de esponja y luego se lavó con agua y detergente, se secaron y al día siguiente se les aplicó un tratamiento de inmersión en agua caliente a 49°C durante 20 minutos, posteriormente se secaron con una toalla y se dejaron enfriar a temperatura ambiente para iniciar los tratamientos al día siguiente.

Para la aplicación de los tratamientos se hicieron al azar grupos de 20 frutos. Cada grupo formó un tratamiento.

Una vez constituidos los grupos, se colocó la fruta en cajas plásticas dentro de una incubadora estabilizada a la temperatura y humedad relativa requerida, con tres horas de anticipación al inicio de los tratamientos. Con esto se logró estabilizar la temperatura y la humedad relativa de la cáscara de la fruta respecto a las condiciones del ambiente.

Los tratamientos consistieron en exponer la fruta inoculada con conidios de *C. gloeosporioides*, bajo las siguientes condiciones 70, 80 y 90 % de humedad relativa por periodos de 5,10,15, 20 y 25 horas. Todos los tratamientos se realizaron a una temperatura de 30°C con luz artificial. La humedad relativa y la temperatura dentro de la incubadora fueron controladas durante el experimento mediante los sensores de la incubadora y un hidrotérmetro portátil.

Para inocular la fruta se usó por fruto 5,5 ml de una suspensión de 10.000 esporas de *C. gloeosporioides* por ml de agua estéril, obtenidos de un raspado de un cultivo puro, aislado a partir de frutos enfermos

provenientes de la zona. La inoculación se hizo mediante aspersión, posteriormente la fruta se mantuvo en ambiente confinado a la humedad relativa correspondiente al tratamiento. Cumplido el período de tiempo probado, se retiraron los frutos y se colocaron a temperatura ambiente para su maduración. Posteriormente se les evaluó la incidencia y severidad de la antracnosis mediante la metodología de (Navarro y Ramírez 1993).

Para garantizar la condición ambiental requerida para cada tratamiento, se usó una incubadora, con una temperatura de 30°C y la humedad relativa en rangos del 70 al 100 % . A fin de garantizar las condiciones requeridas para cada tratamiento las incubadoras se ajustaron e iniciaron su funcionamiento 12 horas antes de iniciar los tratamientos.

Para la segunda etapa se usó frutos de tipo hawaiano de la variedad Sunrise, cultivados sin uso de fungicidas de tipo sistémico y cosechados en una plantación exportadora ubicada en Paquera, Provincia de Puntarenas. Los frutos se colectaron en el punto de corte conocido como Grado 1, que corresponde a papayas con no más del 15% del área de la fruta, con síntomas iniciales de madurez.

Una vez transportada la fruta al laboratorio, se le proporcionó el mismo acondicionamiento y manejo usado en la etapa con papaya de tipo criollo.

Los tratamientos también fueron aplicados sobre grupos de 20 frutos seleccionados al azar y consistieron en inocular conidios de *C. gloeosporioides* sobre frutos a 25°C y en condiciones de 50, 60, y 70 % de humedad relativa por períodos de 5, 10, 15,20 y 25 horas con presencia de luz artificial.

El procedimiento de inoculación fue idéntico al usado para la prueba de fruta tipo criollo.

La condición de temperatura ambiente constante a 25°C se obtuvo mediante una incubadora y para obtener la humedad relativa requerida en cada tratamiento se utilizó la metodología de Forney y Brandl (1992), colocando los frutos dentro de cajas plásticas herméticas con recipientes de 200 ml conteniendo soluciones de glicerol con concentraciones de 63,57 y 50 % p.v. para obtener así la humedad relativa ambiente de 50, 60 y 70% respectivamente dentro de las cajas. La fruta se colocó dentro de las cajas tres horas antes de la inoculación, a fin de estabilizarlas respecto a las condiciones del ambiente a que se les sometió. Para verificar constantemente las condiciones de temperatura y humedad relativa y temperatura, se colocaron hidrotérmodógrafos portátiles.

Al cumplir el periodo de tiempo requerido por cada tratamiento, se colocó la fruta a temperatura ambiente para su maduración y se evaluó posteriormente la incidencia y la severidad de la antracnosis mediante la metodología de Navarro y Ramírez (1993).

Dado que en la prueba de papaya hawaiana se detectaron infecciones de fruta con baja severidad en períodos de cinco horas a 70% de humedad relativa y considerando que este valor de humedad relativa es el más frecuente en la zona de producción del fruto durante el transcurso del día y además que la tolerancia de área enferma para frutos de exportación es muy baja, se realizó una tercera prueba bajo estas condiciones y con un procedimiento idéntico al anterior, pero usando períodos de 1,2,3,4 y 5 horas.

RESULTADOS Y DISCUSION

Prueba con fruta tipo criollo

En la Figura 1 se observa el comportamiento de la incidencia y severidad que se presentó en los frutos bajo distintos tratamientos aplicados.

Los resultados de las evaluaciones de incidencia muestran que el 100% de los frutos se infectaron desde las cinco horas de permanencia en la cámara, tanto a 80 como a 90 % de humedad relativa, para el 70 % de humedad relativa (HR) los valores de incidencia son de 81,82 % a las cinco horas y 72,73 % a las 25 horas.

Con referencia a la severidad, los frutos incubados por cinco horas mostraron valores de área enferma de 17,64; 4,70 y 11,13 para 70,80 y 90 % de HR respectivamente. Para los valores intermedios de 10, 15 y 20 horas; los tres tratamientos presentaron comportamientos erráticos. Aunque estos datos fueron obtenidos bajo condiciones de laboratorio, pueden utilizarse para hacer alguna inferencia sobre lo que podría suceder a nivel de finca, considerando que la producción de papaya criolla en la zona de Atlántica de Costa Rica corresponde a una zona de vida con niveles de precipitación anual que van de 4.500 a 5.000 mm y temperaturas que varían entre los 25 y los 30°C (IMN, 1980) razón por la cual los períodos con humedad relativa como las usadas en el experimento son frecuentes en la zona, al menos durante la estación lluviosa. Los resultados obtenidos coinciden también con los que presenta Gupta y Nema (1979); Gupta y Pathak (1990) en cuanto al efecto de la alta temperatura y humedad relativa sobre la incidencia y severidad de la antracnosis, aunque en los estudios realizados por este autor, se presentó una relación directa entre los factores ambientales y la evaluación de la enfermedad.

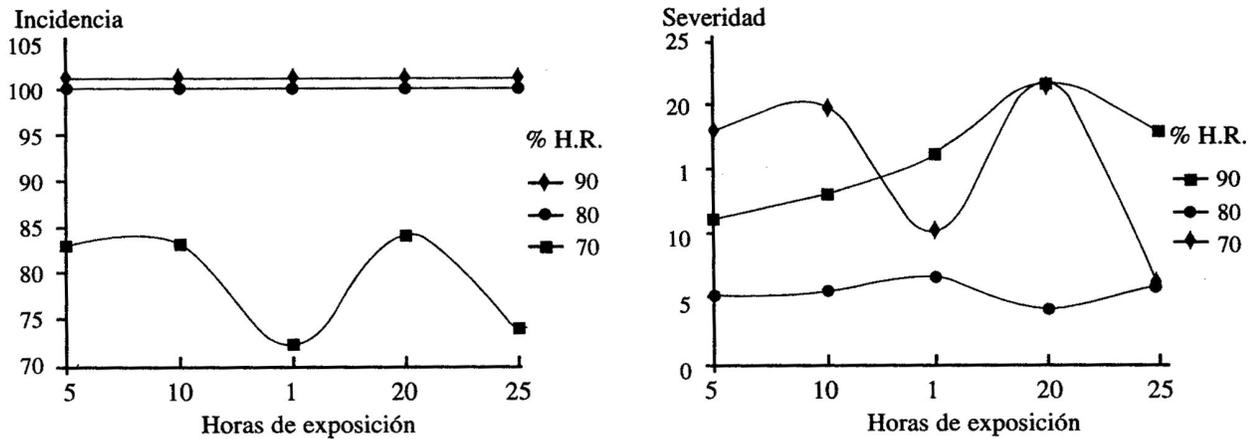


Figura 1. Evaluación de la incidencia y la severidad de la antracnosis en frutas de papaya (*Carica papaya*) producida por *C. gloeosporioides* a 30°C, a diferente humedad relativa y con diferentes tiempos de exposición, bajo condiciones de laboratorio.

Prueba con fruta hawaiana

En la Figura 2 se presenta el comportamiento de la incidencia y severidad manifestada por los frutos como resultado de los tratamientos utilizados en las pruebas.

A diferencia de las pruebas cuando se usó 30°C y 80 y 90 % de HR con papaya criolla en que la incidencia fue del 100 % en todos los tiempos y similar a cuando se usó 70 % de HR a 30°C, en esta ocasión, los valores de incidencia fueron menores, fluctuando entre 30,21 y 26,3 % a las cinco horas para 50, 60 y 70 % de HR respectivamente y 68, 80 y 72 % de frutos enfermos, para 50, 60 y 70 % de HR respectivamente, para las 25 horas de incubación.

Con referencia a la severidad a los tres valores de HR probados 50, 60 y 70 %, a las cinco horas se dieron valores de 0,18; 0,08 y 0,18 respectivamente, fluctuando en forma errática hasta valores de 1,14 a 50 % HR, 1,58 a 60 % HR y 1,78 a 70% HR a las 25 horas de incubación. Los valores de severidad encontrados fueron inferiores a los obtenidos a 70, 80 y 90 % con fruta criolla a 30°C.

Aunque estos datos fueron obtenidos bajo condiciones de laboratorio pueden utilizarse para hacer algunas inferencias sobre lo que podría suceder en la producción de papaya de exportación en Costa Rica, que está ubicada en la provincia de Guanacaste y Puntarenas, correspondientes a una zona de vida con valores de

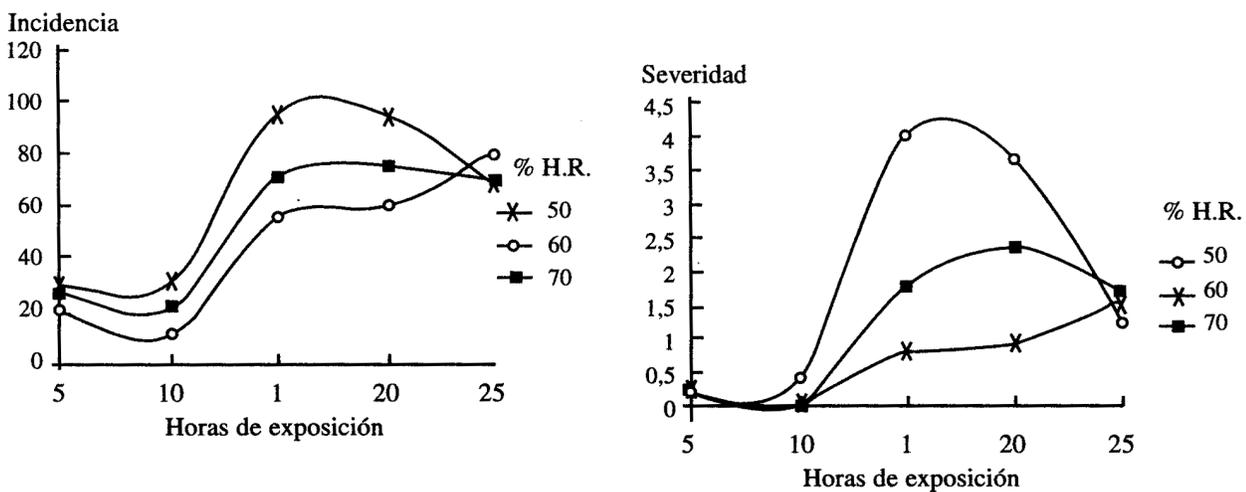


Figura 2. Evaluación de la incidencia y la severidad de la antracnosis en frutas de papaya (*Carica papaya*) producida por *C. gloeosporioides* a 25°C, a diferente humedad relativa y con diferentes tiempos de exposición, bajo condiciones de laboratorio.

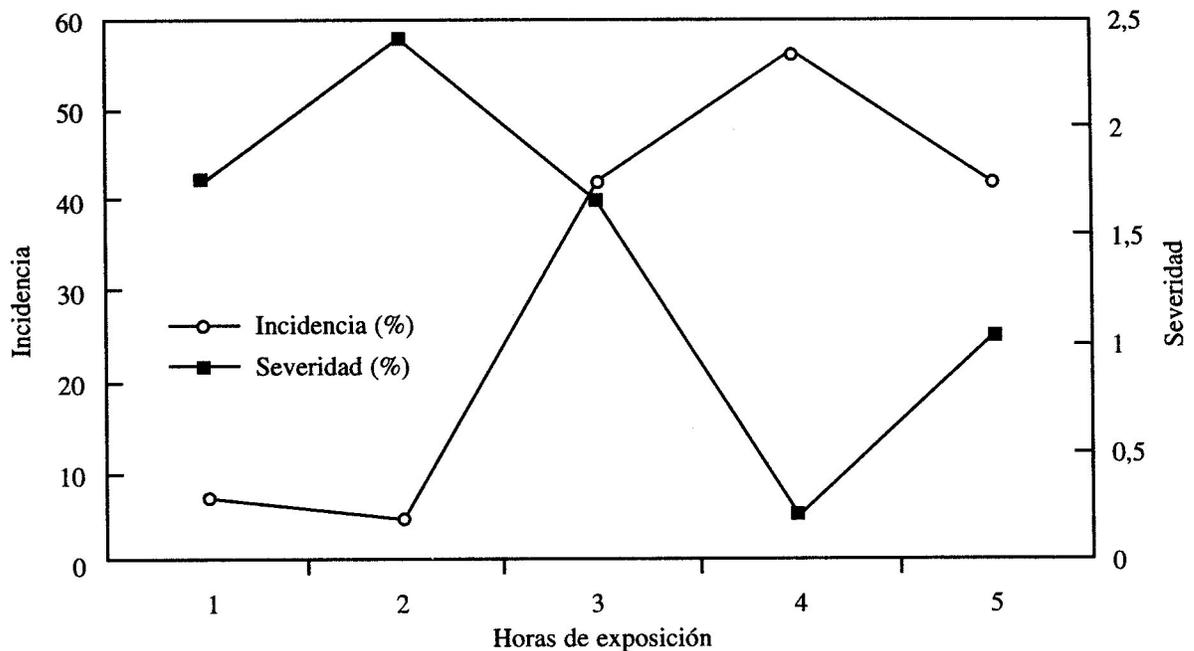


Figura 3. Evaluación de la incidencia y la severidad de la antracnosis en frutas de papaya (*Carica papaya*) producidas por *C. gloeosporioides* a 25°C, a 70% de humedad relativa, con diferentes tiempos de exposición, bajo condiciones de laboratorio.

precipitación anual que van de 1.500 a 3.000 mm y (IMN, 1980)

La Figura 3 muestra los datos obtenidos de severidad e incidencia para la prueba de periodos cortos de incubación a 70 % de HR y 25 °C de temperatura.

Aunque las condiciones de humedad relativa son muy fluctuantes en el campo, la prueba realizada con pe-riodos de una a cinco horas a 70 % de humedad relativa indica que existe una posibilidad de que aún bajo condiciones de la estación seca en la región de Guanacaste se den infecciones, siempre y cuando exista inóculo, que provoquen daños de importancia considerando las estrictas normas fitosanitarias de la fruta para exportación.

Aunque el análisis global de esta información parece indicar que será difícil guiar las aplicaciones de fungicidas protectores sólo en las épocas en que la condición ambiental es favorable para la enfermedad, es necesario investigar más a nivel de campo para considerar la influencia de la gran variabilidad y fluctuación con que se comporta la temperatura y la humedad relativa en el ambiente de una finca.

LITERATURA CITADA

- ARAUZ, L.E; MORA, D. 1983. Evaluación preliminar de los problemas postcosecha de seis frutas tropicales en Costa Rica. *Agronomía Costarricense* 7(1/2):43-53.
- FAO. Italia. 1993. Codex alimentarius, pesticide residues in foOO. Vol 2. 2 ed. Roma 745p.
- FORNEY, C. E; BRANDL, D.G. 1992. Control of humidity in small controlled environment chambers using glycerol- water solutions. *Hort-technology* 2(1) : 52 - 54.
- GUPTA, O.; NEMA, K.G. 1979. Effect of different temperature and relative humidity on the development of fruit rots of papaya caused by *Botryodiplodia theobromae* and *c.papayae*. *Indian Phytopathology* 32: 106-107.
- GUPTA, O; PATHAK Y.N. 1990. Epidemiology and management of papaya fruit rots. *Summa Phytopathologica* 16: 93 - 105.
- MINISTERIO DE AGRICULTURA Y GANADERÍA, COSTA RICA. 1993. Plan de trabajo para la preinspección costarricense de papaya (*Carica papaya*), operado bajo el acuerdo USDA - APHIS - MAG 28 p.
- MINISTERIO DE RECURSOS NATURALES ENERGÍA Y MINAS. COSTA RICA. 1980. Instituto Meteorológico Nacional. Mapa de isotermas e isoyetas de Costa Rica, color.
- NAVARRO, J.R.; RAMÍREZ, L.R. 1993. Estudio preliminar sobre metodologías alternas para la evaluación de la severidad de las enfermedades en papaya fase postcosecha. *Memorias del IX Congreso Agronómico Nacional*. p. 123.