



Correo: bac@corpoica.org.co
Teléfono: (57 1) 4 227300 ext. 1257 o 1274
Skype: biblioteca.agropecuaria

DISTRIBUCIÓN GRATUITA
PROHIBIDA SU VENTA

www.corpoica.org.co

ISBN: 978-958-740-197-4



9 789587 401974



Identificación y manejo de la pudrición parda de la mazorca (*Phytophthora* sp.) en cacao

Identificación y manejo de la pudrición parda de la mazorca (*Phytophthora* sp.) en cacao



Identificación y manejo de la pudrición parda de la mazorca (*Phytophthora* sp.) en cacao

Eleonora Rodríguez Polanco
MSc DSc, Fitopatología, Corpoica
CI Nataima. Espinal, Tolima
lrodriguezp@corpoica.org.co

Anyela Gicela Vera Rodríguez
Bióloga

Bogotá, Colombia 2015

Rodríguez Polanco, Eleonora y Vera R, Anyela Gicela./ Identificación y manejo de la pudrición parda de la mazorca (*Phytophthora* sp.) en cacao.

Bogotá (Colombia): Corpoica, 2015. 60 p.

Palabras clave: producción de cacao, moniliasis en cacao, resistencia genética, clonación de genes, *Phytophthora*, Colombia



Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria - Corpoica -
Línea de atención al cliente: 018000121515
atencionalcliente@corpoica.org.co

www.corpoica.org.co

ISBN: 978-958-740-197-4
Primera edición: Septiembre 2015
Tiraje: 2.500
Editora: Liliana Gaona García

Impreso por Carvajal Soluciones de Comunicación S.A.S.
Impreso en Colombia
Printed in Colombia

DISEÑO&DIAGRAMACIÓN

Oficina Asesora de Comunicaciones, Identidad y Relaciones Corporativas // Corpoica

Contenido

Presentación	9
Introducción	11
Identificación y manejo de la pudrición parda de la mazorca (<i>Phytophthora</i> sp.) en cacao	13
Introducción	13
Taxonomía	14
Etiología	15
Síntomas y signos	17
Necrosis en plántulas y hojas	20
Ciclo de vida	20
Condiciones favorables	22
Epidemiología	23
Métodos de manejo	24
Resultados de la investigación en pudrición parda de la mazorca (<i>Phytophthora</i> sp.) en cacao en Colombia	30
Introducción	30
Avances en la investigación del grado de resistencia genética a <i>Phytophthora</i> sp. en clones de cacao	31
Determinación del ciclo de vida del patógeno	35
Avances en la investigación en variabilidad genética y fisiológica de la población de <i>Phytophthora</i> sp., de cacao en Colombia	36
Bibliografía	47
Glosario	53

Lista de figuras

Figura 1	Estructuras de reproducción asexual de <i>Phytophthora</i> sp. a. Esporangio; b. Liberación de las zoosporas por el esporangio; c. Detalle de las zoosporas, presencia de los dos flagelos	16
Figura 2	Estructuras de supervivencia de <i>Phytophthora</i> sp. a. Clamidospora, reproducción asexual; b. Oospora, reproducción sexual	17
Figura 3	Pudrición parda de la mazorca en frutos de cacao causada por <i>Phytophthora</i> sp. a. Primeros síntomas; b. Necrosis de tejido externo y esporulación (producción de esporangios); c. Necrosis de tejido interno proporcional a la necrosis externa; d. Necrosis total del fruto	18
Figura 4	Síntomas de cáncer en tronco de cacao causados por <i>Phytophthora</i> sp. a. Lesión cancerosa en la corteza; b. Daño en los tejidos internos del tronco, c. Lesión cancerosa en el pedúnculo y fruto; d. Daño en los tejidos internos de la corteza en el punto de unión con el pedúnculo	19
Figura 5	Síntomas de necrosis en hojas de plántulas de cacao causada por <i>Phytophthora</i> sp. a. Lesión necrótica (tizón); b. Necrosis generalizada de hojas y tallo (muerte de plántula)	20
Figura 6	Ciclo de vida de <i>Phytophthora</i> sp. en <i>Theobroma cacao</i> L.	22
Figura 7	Tamaño de la lesión desarrollada en mazorcas de cacao desprendidas del clon IMC 67 a los seis días después de la inoculación con <i>Phytophthora</i> sp. Testigo (A); réplicas inoculadas (B)	34
Figura 8	Desarrollo de síntomas de <i>Phytophthora</i> sp. en fruto de cacao del clon ICS 95. a. Puntos necróticos; b. Mancha; c. Presencia de micelio; d. Esporulación-esporangios y zoosporas	35
Figura 9	Metodología empleada en la medición periódica del crecimiento radial de la colonia	38

Figura 10	Formato de crecimiento de colonia de <i>Phytophthora</i> sp. en medio agar-jugo V8. a. Estrellada; b. Crisantemo; c. Estolonífero; d. Concéntrica; e. Sin forma	38
Figura 11	Morfología característica de los esporangios de <i>P. palmivora</i> . a. Obpiriforme; b. Ovoide; c. Globoso	41
Figura 12	Tamaño de la lesión en mazorcas desprendidas de cinco clones de cacao diez días después de la inoculación con aislamientos de <i>Phytophthora</i> sp. (Hurv 19 y Anya 228)	44

Lista de tablas

Tabla 1	Tabla de clasificación de resistencia genética a <i>Phytophthora</i> sp. en cacao	32
Tabla 2	Evaluación del tamaño de la lesión, incidencia y calificación del grado de resistencia genética en mazorcas de cacao inoculadas artificialmente con <i>Phytophthora</i> sp. Semestre B de 2012	33
Tabla 3	Promedio de días en el desarrollo de síntomas y signos en mazorcas de cacao inoculadas artificialmente con <i>Phytophthora</i> sp. en campo	36
Tabla 4	Promedio del crecimiento radial de la colonia (cm) de cinco aislamientos de <i>Phytophthora</i> sp. por departamento	39
Tabla 5	Mediciones biométricas de esporangio de estructuras asexuales y sexuales de 25 aislamientos de <i>Phytophthora</i> sp. procedentes de cinco departamentos de Colombia	41
Tabla 6	Nivel de virulencia de cinco aislamientos de <i>Phytophthora</i> sp. inoculados en mazorcas desprendidas de cinco clones de cacao. Centro de Investigación Nataima, semestre B de 2013	43
Tabla 7	Calificación del grado de resistencia genética en mazorcas de cacao inoculadas artificialmente con <i>Phytophthora</i> sp. diez días después de la inoculación. Centro de Investigación Nataima, semestre B de 2013	45

Presentación

La producción de cacao en Colombia tiene una enorme posibilidad por la existencia de cerca de 666.406 hectáreas aptas para su siembra, que se conectan con la industria transformadora, la cual posee una capacidad instalada para el procesamiento de más de 100.000 t/año, y por el potencial exportador del grano debido a su demanda en el mercado mundial; ventajas comparativas que convierten la producción de cacao en una alternativa agrícola con alta perspectiva en el contexto agroindustrial y con mercados seguros nacionales e internacionales.

Las enfermedades son el factor biótico de mayor impacto en la producción de cacao en Latinoamérica y el mundo. En Colombia, el ataque de la monilia [*Moniliophthora roreri* (Cif.) H.C. Evans, Stalpers, Samson & Benny] ocasiona pérdidas superiores al 40 %. Le sigue la pudrición parda de la mazorca, causada por organismos del género *Phytophthora*, que se clasificaban como hongos, pero actualmente se agrupan dentro del reino Protista. La pudrición parda puede atacar diferentes partes de la planta de cacao, pero, al igual que la moniliasis, su mayor daño se debe al ataque en frutos, que son el órgano de interés comercial y económico por contener las semillas con las que se fabrican el chocolate y sus derivados.

Dada la importancia económica y social que representa en la actualidad el control de la pudrición parda del cacao, por el incremento en las pérdidas en grano y en árboles, Corpoica recopila la información existente de esta enfermedad, en aspectos relacionados con la biología, etiología, sintomatología, epidemiología, métodos de control, e incluye algunos resultados preliminares de investigación sobre la variabilidad genética del patógeno y la resistencia



genética en clones de cacao. En consideración a lo expuesto, se pone a disposición del gremio cacaotero la publicación *Identificación y manejo de la pudrición parda de la mazorca* (*Phytophthora sp.*), como una herramienta de consulta y difusión que permita el entendimiento de la dinámica y manejo de esta enfermedad y así contribuir al mejoramiento del nivel tecnológico del cultivo en Colombia.

Lorenzo Peláez Suárez
Director CI Nataima, Corpoica

Introducción

En Colombia, durante el año 2010, los bajos rendimientos del cultivo de cacao no permitieron satisfacer el consumo nacional de 52.000 toneladas, lo que generó un déficit en producción del 22,95 %. La baja rentabilidad del cultivo en el país obedece, inicialmente, a la existencia de plantaciones muy antiguas, con escaso manejo y con materiales híbridos que originan una gran cantidad de árboles improductivos o de muy baja producción. En segundo lugar, los rendimientos se ven severamente afectados por la presencia de enfermedades como moniliasis o monilia [*Moniliophthora roreri* (Cif.) H.C. Evans, Stalpers, Samson & Benny], pudrición parda de la mazorca [*Phytophthora palmivora* (Butl.) Butl y/o *P. capsisci* Leonian], escoba de bruja [*Moniliophthora* (= *Crinipellis*) perniciosa (Stabel) Aime y Phillips-Mora], llaga macana (*Ceratocystis fimbriata*) y llaga estrellada (*Rosellinia pepo*).

La enfermedad fungosa conocida como monilia es el factor sanitario más limitante para la producción de cacao en el país; se estima que Colombia pierde por este concepto más del 40 % de su cosecha anual, equivalente, en términos de grano comercial, a 28.000 toneladas métricas sobre una producción total de 42.000 toneladas en promedio en los últimos años. Le sigue en importancia la pudrición parda de la mazorca, enfermedad que causa las mayores pérdidas en producción en todas las áreas cacaoteras del mundo, causada por oomycetos del complejo *Phytophthora*. Aunque el patógeno puede atacar plántulas y diferentes partes del árbol de cacao, como cojines florales, chupones, brotes, hojas, ramas, tronco y raíces, el principal daño lo sufren las mazorcas donde se encuentran las semillas, que son el órgano de interés económico y comercial, ya que son la materia prima para la producción de alimentos, medicamentos, cosméticos, farmacéuticos y jabones, entre otros.

Aunque la pudrición parda usualmente no causa daños importantes en la producción, cuando la moniliasis está presente, podría incrementar su



ataque en plantaciones de cacao establecidas en pisos térmicos altos donde las condiciones de baja temperatura disminuyen el ataque de monilia, lo que facilita una mayor disponibilidad de frutos para ser afectados por *Phytophthora* sp.

Con el objeto de entregar de manera clara, concisa e ilustrada la información existente en el mundo en temas relacionados con la biología, etiología, sintomatología, epidemiología y métodos de control de la mancha parda de la mazorca, Corpoica pone a disposición de técnicos, investigadores y el gremio cacaotero este documento como herramienta de consulta y difusión del tema sanitario mencionado, en procura de contribuir al incremento de la rentabilidad del cultivo.

Identificación y manejo de la pudrición parda de la mazorca (*Phytophthora* sp.) en cacao

Introducción

La mazorca parda del cacao, enfermedad causada por el patógeno *Phytophthora* sp., es el factor más limitante en el cultivo de cacao en el mundo, debido a las considerables pérdidas que origina en el rendimiento del grano en las regiones de África occidental y central, que son responsables de aproximadamente el 70% de la producción mundial de cacao. Este impacto negativo en las principales regiones productoras del mundo origina pérdidas mundiales cercanas al 30% y muerte de un 10% de los árboles, mermas que se pueden incrementar en presencia de factores como la alta humedad en el suelo y en el ambiente (Gregory y Maddison 1981; Erwin y Ribeiro 1996; Drenth y Guest 2004).

El agente causal más cosmopolita de la mazorca parda es *Phytophthora palmivora*, debido a su distribución mundial, aunque muchas son las especies del patógeno identificadas que causan la enfermedad en diferentes regiones productoras en el mundo. Es así como *P. megakarya* es considerada la especie más destructiva y está limitada al continente africano; *P. capsici* y *P. citrophthora* están presentes en América Central y Suramérica. No obstante, *P. capsici* también ha sido encontrada en Camerún (África) (Zentmyer et al. 1981); *P. citrophthora* (Smith y Smith) Leonian existe en Brasil (Kellam y Zentmyer 1981); *P. hevea* Tompson en Malasia (Turner 1968, citado por Oliveira y Luz 2005) y México (Lozano-Trevino y Romero-Cova 1974); *P. megasperma* Drechsler en Venezuela y Cuba (Capriles de Reyes et al. 1972) y *P. arecae* en Asia (India y Sri Lanka) (Stamps 1998).



En Colombia no se ha identificado claramente la especie o especies asociadas con la enfermedad. A la fecha, se desconocen aspectos relacionados con la diversidad genética, biología, fisiología, así como con la epidemiología, que permitan en un futuro contar con el conocimiento necesario para generar diferentes estrategias de control que puedan ser incorporadas dentro de un programa de manejo integrado de la enfermedad, a fin de incrementar la eficiencia del control y la rentabilidad del cultivo de cacao en el país.

Taxonomía

Las especies de *Phytophthora* causantes de la mazorca parda en cacao se encuentran agrupadas así: reino: Chromista (=Stramenopila); división: Oomycota (mohos acuáticos); subdivisión: Mastigomicotina; clase: Phycomycetes; subclase: Oomycetes; orden: Peronosporales; familia: Pythiaceae; género: *Phytophthora*.

Los oomycetes son un grupo de organismos miceliales pertenecientes al reino Chromista (Tyler 2001; Van West et al. 2003; Blair et al. 2008), que representan una línea evolutiva única y distante de los hongos verdaderos. El carácter unificador del reino Chromista es el flagelo anterior de tipo oropel, el cual porta dos filas de vellosidades tubulares tripartitas y que está presente en el aparato flagelar heteroconto de las zoosporas (figura 1c) (Dick 2001; Moore 2002).



Etiología

El género *Phytophthora* (del griego *phyton*: planta; *phthora*: destructor) fue creado por de Bary en 1876 con *P. infestans* de Bary como especie tipo. Existen cerca de 80 especies dentro del género *Phytophthora* que producen enfermedades con diversidad de síntomas en diferentes especies de plantas.

Sucesivos estudios de Turner (1960), Zentmyer y Mitchell (1971), Zentmyer (1975), Waterhouse (1974), Griffin (1977) y Kellan y Zentmyer (1986) pusieron en evidencia la existencia de tipos morfológicos dentro del complejo *Phytophthora* presentes en el cultivo de cacao. Posteriormente, Brasier y Griffin (1979), basados en las diferencias existentes en cuanto a morfología de las colonias y de los esporangios, largo y caducidad de los pedicelos, así como en el número y tamaño de los cromosomas, realizaron la reclasificación de especies así:

MF1 fue reconocida como *P. palmivora* “sensu strictu” (Butler) Butler

MF3 fue descrita como una nueva especie *Phytophthora megakarya*

MF4 constituyó la nueva especie *Phytophthora capsici* (Leonian)

MF-2 no fue considerada una designación válida. (Reyes 2000, 155-156)

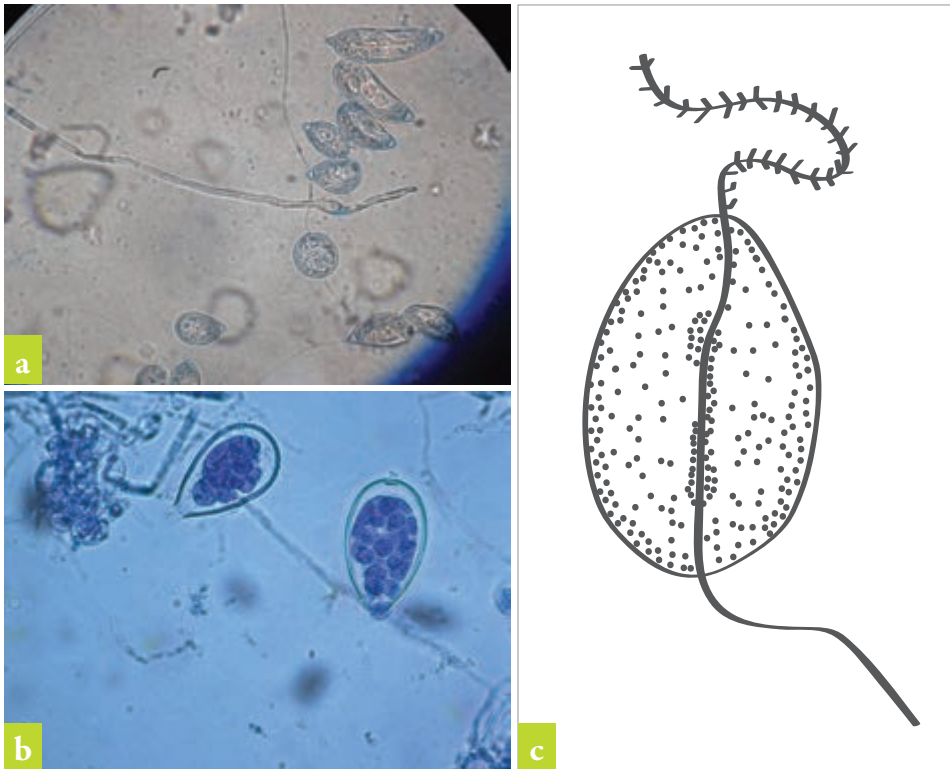
Las características que diferencian el género *Phytophthora*, perteneciente al reino Chromista, de los hongos verdaderos (reino: Fungi), se basan en la morfología de las crestas mitocondriales (tubulares, semejantes a las de las plantas); la bioquímica de las paredes celulares, que se compone de β -1,3 y β -1,6 glucanos y no de quitina (el polímero de N-acetil glucosamina, que se encuentra en las paredes de los hongos verdaderos); la síntesis de lisina por la vía del ácido diaminopimélico (misma vía de las plantas); el ergosterol no es un esteroles importante en la membrana plasmática de los oomycetos; presencia de flagelos en las zoosporas y gametos masculinos; las septas (paredes celulares) en las hifas son raras, lo que resulta en una condición multinucleada (llamada cenocítica) y los núcleos de las células vegetativas son típicamente diploides (Massola y Krugner 2011).

Como se puede ver, los oomycetos presentan varias características bioquímicas y ultraestructurales que los asemejan a las plantas y algas. Estas características, amparadas también con un abordaje filogenético basado en las regiones



conservadas de su genoma, soportan la clasificación de los oomycetos en el reino Chromista junto con algunas algas. Los análisis de las secuencias moleculares de la subunidad 18S del rDNA (ribosomal) han confirmado que los oomycetos están estrechamente relacionados con las Crhysophytas, Diatomeas y algas cafés, pero se separaron relativamente temprano de las formas pigmentadas (Raven et al. 1999).

La mayoría de las especies de oomycetos se reproducen sexual y asexualmente: la reproducción asexual es por germinación directa del esporangio, por medio de zoosporas móviles, cuyos flagelos son característicos y distintivos de las especies, o por germinación de las clamidosporas (figuras 1a, b, c). La reproducción sexual es oogámica. El gameto femenino (oogonio) es relativamente grande, en forma de huevo no flagelado y es fecundado por el gameto masculino (anteridio) que es notablemente más pequeño y flagelado, formando una espora sexual (oospora) (figura 2a).

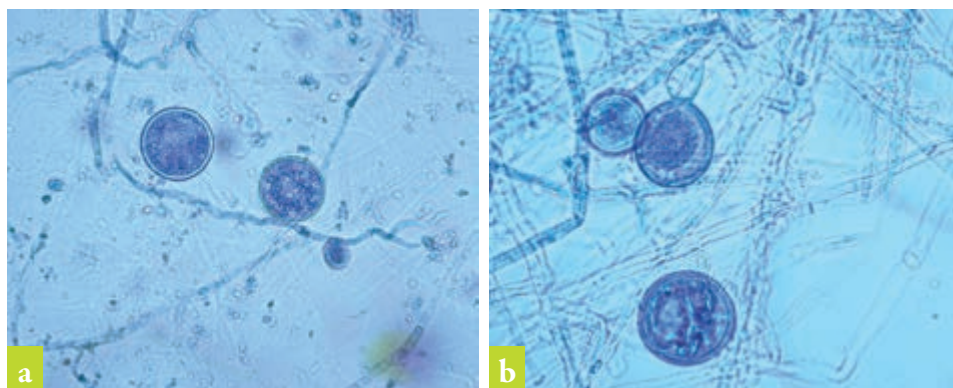


Fotos: Eleonora Rodríguez P.

Figura 1. Estructuras de reproducción asexual de *Phytophthora* sp. a. Esporangio; b. Liberación de las zoosporas por el esporangio; c. Detalle de las zoosporas, presencia de los dos flagelos.

Fuente: figura 1c basada en <http://www.q-bank.eu/Fungi/BioloMICS.aspx>

Phytophthora produce dos tipos de esporas diseñadas para sobrevivir a largo plazo: las clamidosporas y las oosporas; la diferencia principal entre los dos tipos es el origen asexual de las clamidosporas (esporas clonales), mientras que las oosporas resultan de la recombinación sexual (figuras 2a y b).



Fotos: Elconora Rodríguez P.

Figura 2. Estructuras de supervivencia de *Phytophthora* sp. a. Clamidospora, reproducción asexual; b. Oospora, reproducción sexual.

Síntomas y signos

Pudrición en mazorcas

La infección por *Phytophthora* puede ocurrir en cualquier parte del fruto y en cualquier etapa de su desarrollo, pero, por lo general, se observa en los extremos de la mazorca, área donde se acumula más agua, y en frutos maduros, que son los más susceptibles.

Los primeros síntomas de la enfermedad se desarrollan bajo condiciones de alta humedad y se manifiestan aproximadamente a las 30 horas después de ocurrida la infección, como pequeñas manchas en la superficie de los frutos de apariencia acuosa (figura 3a). Las lesiones necróticas de color café (pardo) se desarrollan rápidamente y en condiciones de alta humedad entre 3 y 5 días después la aparición de los primeros síntomas. Sobre la superficie de la lesión se puede observar la presencia de un crecimiento pulverulento poco denso formado por el micelio y los esporangios del hongo (figura 3b). La lesión avanza en su interior a la misma velocidad que progresa la lesión externa (figura 3c). La lesión crece rápidamente y llega a cubrir la totalidad de la



superficie del fruto y los tejidos internos, incluyendo los granos, en un periodo aproximado de 10 a 14 días (figura 3d). El borde de la lesión avanza aproximadamente 12 mm por día y se caracteriza por tener límites bien definidos. En frutos de más de tres meses, las infecciones generalmente inician en la punta o en el pedúnculo de la mazorca; y al ser infectada, también se asocia con un fuerte olor a pescado (Vos et al. 2003; Drenth y Guest 2004).

Las mazorcas enfermas permanecen en el árbol y continúan produciendo inóculo, por un periodo de más o menos tres años, hasta su completa momificación (pérdida de agua en los tejidos). En condiciones de alta humedad, un fruto enfermo puede llegar a producir hasta cuatro millones de esporangios.



Fotos: Elconora Rodríguez P.

Figura 3. Pudrición parda de la mazorca en frutos de cacao causada por *Phytophthora* sp. a. Primeros síntomas; b. Necrosis de tejido externo y esporulación (producción de esporangios); c. Necrosis de tejido interno proporcional a la necrosis externa; d. Necrosis total del fruto.

Fuente: Erwin y Ribeiro (1996) y Vos et al. (2003)

Cánceres en tejido leñoso y cojín floral

La infección por *Phytophthora* también aparece en otros órganos de la planta, como tallos, ramas y chupones, donde forma lesiones cancerosas, que se constituyen en fuente de inóculo (Gregory y Maddison 1981; Guest et al. 1994). *Phytophthora* ataca igualmente cojines florales y destruye completamente las flores.

Las lesiones cancerosas aparecen como manchas necróticas de color marrón en la corteza del tallo principal, ramas secundarias y pedúnculo del fruto; estas lesiones tienen como característica la exudación de una goma rojiza (figura 4a y c). Al raspar la superficie de la corteza afectada, el tejido expuesto se torna acuoso y pegajoso y se observa en la corteza interna una lesión rojiza que no penetra profundamente. La lesión no se extiende más allá del tejido del cámbium (figura 4b y d). La necrosis del tallo puede avanzar hasta rodear totalmente el tronco principal y causar la muerte súbita del árbol (Erwin y Ribeiro 1996).



Fotos: Elconora Rodríguez P. y Fabio Aranzazu

Figura 4. Síntomas de cáncer en tronco de cacao causados por *Phytophthora* sp. a. Lesión cancerosa en la corteza; b. Daño en los tejidos internos del tronco; c. Lesión cancerosa en el pedúnculo y fruto; d. Daño en los tejidos internos de la corteza en el punto de unión con el pedúnculo.



Necrosis en plántulas y hojas

En condiciones favorables de humedad, el hongo también ataca plántulas y causa necrosis de la hoja (tizón), daño al sistema radical y al tallo principal; de esta manera, provoca la muerte de plántulas (figura 5a y b). La infección en hojas maduras se caracteriza por necrosis irregular del tejido foliar, pero no es considerada importante en la diseminación y supervivencia del patógeno.



Fotos: Elkonora Rodríguez P.

Figura 5. Síntomas de necrosis en hojas de plántulas de cacao causada por *Phytophthora* sp. a. Lesión necrótica (tizón); b. Necrosis generalizada de hojas y tallo (muerte de plántula).

Ciclo de vida

Phytophthora palmivora y *P. megakarya* tienen dos tipos de reproducción asexual y sexual, que producen cuatro tipos de esporas diferentes que pueden causar infección directa o indirectamente: esporangios, zoosporas, clamidosporas (producidos durante la reproducción asexual) y oosporas (producidas durante la reproducción sexual) (figura 6).

El tipo de reproducción asexual es predominante y se inicia con la producción de esporangios sobre el tejido infectado (frutas infectadas, hojas, tallos o raíces).

Los esporangios son capaces de germinar directamente sobre la superficie de la planta o en el suelo. Este tipo de germinación ocurre en presencia de temperaturas cercanas o superiores a los 25 °C. La baja temperatura (15 a 20 °C) favorece la ruptura del esporangio, liberación y germinación de las zoosporas, lo cual incrementa el nivel de inóculo, ya que cada esporangio tiene de 20 a 30 zoosporas que constituyen un mayor número de unidades infectivas o propágulos, mientras que la germinación directa del esporangio constituye un solo propágulo del patógeno (Dennis y Konam 1994; Erwin y Ribeiro 1996). Por tanto, las unidades infectivas más importantes para la diseminación de este chromista son las zoosporas. Estas tienen dos funciones dentro del ciclo de la enfermedad: diseminación del patógeno a nuevos hospederos y reconocimiento de señales en el sitio de infección (Walker y Van West 2007); son atraídas por señales de la planta hacia los potenciales sitios de infección y, en un tiempo aproximado de 20 a 30 minutos, encuentran su hospedero y se enquistan. A pocos minutos de entrar en contacto con el huésped potencial, un material mucilaginoso que facilita la adhesión del quiste es secretado sobre su superficie e inmediatamente forma una pared celular. Se ha demostrado que la penetración de *P. palmivora* ocurre principalmente a través de los estomas (Iwano et al. 1997). La germinación ocurre rápidamente después del enquistamiento y los tubos germinativos penetran la epidermis de los tejidos; esto ocurre en un periodo aproximado de 48 horas (figura 5) (Attard et al. 2008). La colonización del tejido del hospedante progresa y, en tejidos susceptibles, la esporulación ocurre dentro de tres a cinco días en condiciones de ambiente favorable.

Durante la reproducción sexual se forman las oosporas por acoplamiento de dos tipos de estructuras especializadas, llamadas anteridio (estructura reproductiva masculina) y oogonio (estructura reproductiva femenina), de compatibilidad complementaria (A1 y A2). Sin embargo, las oosporas son raramente observadas en la naturaleza, debido a que los dos tipos de apareamiento (A1 y A2) pocas veces se encuentran juntos (Guest 2007). Las oosporas germinan desarrollando micelio o produciendo esporangios; su germinación está influenciada por la edad, nutrición, temperatura y luz. El *Phytophthora* es un parásito facultativo y requiere de estructuras de supervivencia como clamidosporas y oosporas que le permitan sobrevivir en ausencia de hospederos (Widmer 2010).



Condiciones favorables

La enfermedad se encuentra adaptada a las regiones húmedas y la intensidad del daño se incrementa en la época de lluvias (Weststeijon 1965). La presencia de pudrición parda de las mazorcas se encuentra correlacionada con una alta humedad relativa y baja temperatura (Orellana 1956; Enríquez 1985). Estudios sobre el desarrollo de la enfermedad en diferentes condiciones ambientales indican que la incidencia y la severidad de la misma se ven favorecidas por humedad relativa superior a 95 % y temperaturas entre 18 y 20 °C (Tollenaar 1958; Braudeau 1970; Enríquez 1985).

La precipitación es uno de los factores más importantes para la ocurrencia de brotes repentinos de la enfermedad, que inician entre cuatro a cinco días después de una fuerte lluvia, ya que la presencia de agua libre favorece la esporulación, liberación y, sobre todo, la diseminación de los zoosporos, principales propágulos infecciosos que, por ser móviles en agua, son diseminados fácilmente por el salpique de la lluvia y así infectan los frutos y el tallo de la misma planta o plantas vecinas (Hunter y Kunnimoto 1974; Luz et al. 2001).

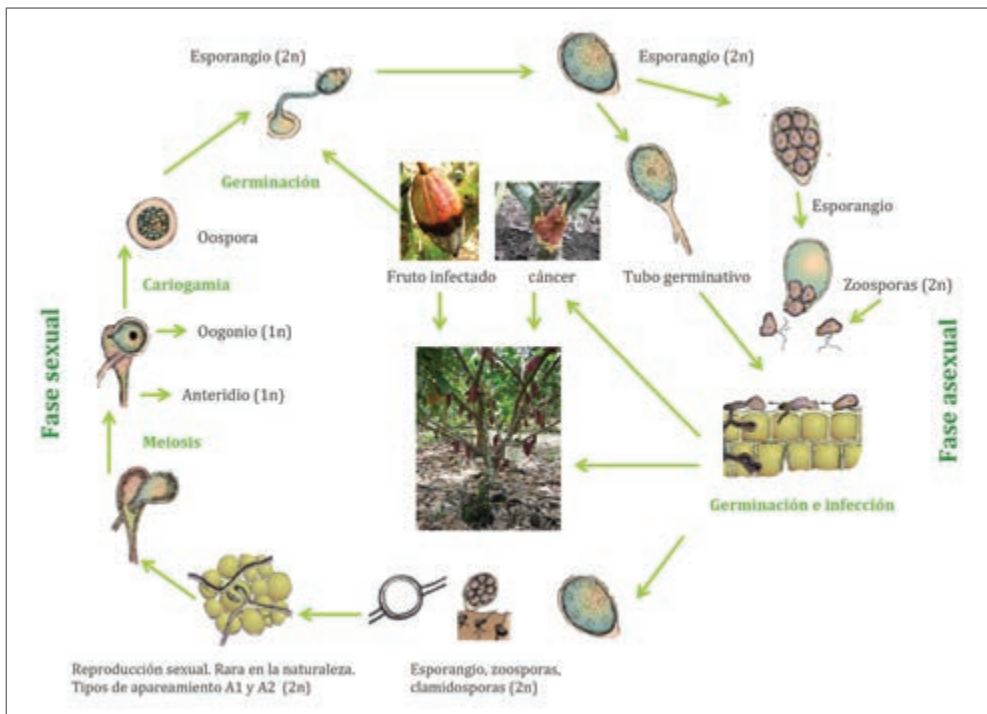


Figura 6. Ciclo de vida de *Phytophthora* sp. en *Theobroma cacao* L.

Fuente: Adaptado de Agrios 2001

Epidemiología

Las especies del género *Phytophthora* presentan dos tipos de reproducción: asexual (con la formación de clamidosporas y esporangios, que contienen las zoosporas) y sexual (mediante la formación de oosporas).

Los esporangios, que son las estructuras reproductivas asexuales del hongo, requieren de agua para su germinación y pueden presentar dos modos de germinación dependientes de las condiciones de temperatura. La temperatura más elevada favorece la germinación directa del esporangio en la cual el tubo germinativo se origina, principalmente, a partir de la papila del esporangio; este, a su vez, puede dar lugar rápidamente al micelio o producir un nuevo esporangio. La baja temperatura favorece la ruptura del esporangio, liberación y germinación de los zoosporos, lo que incrementa el nivel de inóculo, ya que cada esporangio tiene de 20 a 30 zoosporas que constituyen un mayor número de unidades infectivas o propágulos, mientras que la germinación directa del esporangio constituye un solo propágulo del hongo (Dennis y Konam 1994; Erwin y Ribeiro 1996). Por tanto, los zoosporos son los propágulos infectivos más importantes para la diseminación del hongo, aunque no se descarta la posibilidad de propagación por medio de clamidosporas e hifas. Las zoosporas de *P. palmivora* y *P. megakarya* tienen la capacidad de sobrevivir en el suelo o en las raíces por un periodo de hasta cuatro meses, mientras que las clamidosporas sobreviven hasta por 6 años y las oosporas por 13 (Drenth y Guest 2004).

La humedad es uno de los factores que contribuyen al desarrollo del hongo; es el principal agente de diseminación. El inóculo llega de tejidos infectados o del suelo a los tejidos sanos a través de la lluvia o el salpique. Además de vectores como roedores y hormigas, el hombre es un dispersor rápido, principalmente cuando se utilizan herramientas de poda y cosecha contaminadas que pasan de árboles enfermos a sanos (Drenth y Guest 2004; Nyassé et al. 2007).

Las principales fuentes de inóculo son la corteza de mazorcas cosechadas y los frutos enfermos, las mazorcas momificadas, el suelo infestado, los cojines florales, la corteza del tronco y los frutos de cacao infectados que crecen cerca del suelo (Enríquez y Salazar 1987).



La concentración de carbohidratos solubles en el fruto se ha encontrado asociada con la susceptibilidad del material a la enfermedad; es así como clones altamente susceptibles presentan concentraciones mayores que los clones resistentes. Aunque si bien esta concentración es mayor en un clon susceptible, su valor decrece más rápidamente que en un clon resistente en frutos infectados con *Phytophthora megakarya*; esto sugiere una utilización del hongo durante su crecimiento (Omokolo et al. 1996).

El contenido de aminoácidos también fue relacionado con la resistencia a *P. megakarya*; se han observado valores constitutivos más altos en el material con mayor nivel de resistencia, así como un incremento mayor en los mismos en el material resistente cuando se compara con el material susceptible durante el proceso infeccioso. El aumento que se estableció podría estar relacionado con el incremento en la síntesis de moléculas relacionadas con la resistencia, como fenoles y proteínas ricas en hidroxiprolina (Esquerré-Tucaye y Lamport 1979).

Métodos de manejo

Existen cuatro métodos básicos para controlar el patógeno causante de la pudrición parda: control cultural, químico y biológico y uso de materiales resistentes. Una estrategia de manejo integrado para el control de *Phytophthora* empleando estos cuatro métodos se debe enfocar en eliminar las fuentes de inóculo primario, la prevención en el movimiento de inóculo del suelo hasta el dosel y la reducción de la producción de inóculo secundario.

Prácticas culturales empleadas en el control de monilia, como la recolección de mazorcas enfermas y poda del árbol, han permitido indirectamente el control de la pudrición negra (Rondón y Gómez 1993).



Control cultural

Consiste en modificar el ambiente para hacerlo desfavorable al establecimiento del patógeno. El empleo de diferentes prácticas culturales permite la disminución del inóculo y de la humedad relativa en la plantación; reduce, por ende, la incidencia y severidad del patógeno (Dennis y Khoman 1994; Guest 2007). Entre las prácticas culturales recomendadas ampliamente para el control de *Phytophthora* están:

1. La recolección frecuente de la totalidad de mazorcas enfermas, así como su cubrimiento con hojarasca una vez son arrojadas al suelo. La recolección debe hacerse con frecuencia semanal y contribuye con la disminución del inóculo y de insectos vectores.
2. Cosecha frecuente de mazorcas maduras, de preferencia semanalmente o en un periodo no mayor de quince días.
3. En el tronco, se puede hacer una cirugía con el fin de raspar la porción enferma, hasta dejar el tejido sano, donde se aplica una pasta cicatrizante con 10 gramos de Ridomil® en un litro de agua en el área lesionada, repitiendo a los 15 días, o con Metalaxil® al 0,25 %.
4. Desinfección de herramientas de cosecha y poda.
5. La utilización de microorganismos descomponedores o sustancias desecantes en las pilas de residuos de cosecha permite la rápida descomposición del material enfermo; disminuyen así las fuentes de inóculo y la población de insectos vectores que allí se desarrollan.
6. Prácticas de manejo de la sombra y tamaño de la copa en la plantación de cacao, así como en los maderables asociados, que permiten la entrada de luz y el flujo de aire a través de los árboles. Estas incluyen distancia de siembra adecuada, podas de formación y mantenimiento y control de arvenses. Se ha encontrado que la aplicación de estas medidas puede incrementar la floración y favorecer el desarrollo de frutos.
7. Control de hormigas que contribuyen en la diseminación del inóculo en el dosel.
8. Mantenimiento o instalación del sistema de drenaje, en caso de que las condiciones del suelo lo requieran.
9. Hacer el plateo al árbol retirándole la hojarasca y las malezas.
10. En viveros, manejar la humedad y la sombra; garantizar una buena sanidad del sustrato.



La aplicación conjunta de las prácticas culturales ha sido eficiente en Ghana para el control de *P. palmivora*, único agente causal de la mazorca parda en ese país, pero han sido ineficientes en Camerún, donde están presentes las especies *P. palmivora* y *P. megakaria*, debido a la mayor agresividad de esta última; en este país, la aplicación conjunta de fungicidas y prácticas culturales de saneamiento proporcionó un control útil de ambas especies del patógeno. *P. megakaria* ha mostrado ser más virulenta que *P. palmivora*, por eso es importante evitar la entrada de esta especie a regiones productoras donde no se ha reportado, como es el caso de Colombia (Lanaud et al. 2003).

Control químico

Es una técnica muy utilizada por los productores de cacao, debido a su rápida y efectiva acción; comúnmente se usan los fungicidas a base de cobre. Sin embargo, los efectos de su empleo en la inducción de resistencia en el patógeno, la alta presión de la enfermedad durante la estación húmeda, los altos costos de producción y los elevados riesgos de contaminación ambiental le restan eficiencia y rentabilidad a su empleo; por tanto, resulta más efectivo su uso cuando se combina con prácticas culturales (Vos et al. 2003; Adejumo 2005).

Aunque el saneamiento en plantaciones y el empleo de fungicidas a base de cobre han sido eficaces en la reducción del nivel de infección por *Phytophthora* (Oliveira y Luz 2005), el alto costo de los fungicidas los hace poco accesibles a los pequeños agricultores, que son los que producen más del 50 % del cacao mundial. La aspersión de fungicidas protectores a base de cobre en mezcla con el fungicida sistémico Metalaxil[®], en intervalos de tres a cuatro semanas, es la práctica más recomendada, pero su empleo por los productores depende directamente de la producción y del precio del grano, lo que disminuye la rentabilidad de su uso (Guest et al. 1994).

Las lesiones o cáncer del tronco pueden ser tratados con Metalaxil[®] al 0,25 %; en este caso, el fungicida se aplica con brocha o hisopo sobre el área afectada, previo raspado superficial del sitio necrosado (Rondón y Gómez 1993). Se ha encontrado también que el empleo de inyecciones anuales al tronco con una sal inorgánica de fosfonato de potasio es eficiente en la reducción de cánceres ocasionados por *P. palmivora* en zonas muy húmedas de Papúa Nueva Guinea (Guest et al. 1994) y en Ghana contra *P. palmivora* y *P. megakarya* (Opoku et al. 2007).

Debido a la fisiología de los oomycetes, la mayoría de los fungicidas no tienen efecto sobre ellos, como es el caso de los fungicidas que interrumpen la biosíntesis del ergosterol, ya que los oomycetes no sintetizan esteroides, los adquieren de sus hospedantes. Además, este grupo de microorganismos presentan una extraordinaria flexibilidad genética que les permite adaptarse rápidamente y desarrollar resistencia a fungicidas y superar los mecanismos de resistencia genética en plantas (Tyler 2001). La resistencia a químicos como el Metalaxyl®, un fungicida sistémico que interfiere con la incorporación de uridina en la síntesis de RNA (Davidse et al. 1983), se ha desarrollado en varias especies de oomycetes, por lo que su uso requiere de un manejo adecuado para preservar la utilidad del fungicida (Tyler 2001).

Control biológico

Muchos experimentos sobre control biológico (CB) en *Phytophthora* sp. en cacao se han desarrollado en laboratorio, cultivo in vitro o mazorcas sanas, identificando microorganismos con potencialidad como controladores de *Phytophthora* sp. La evaluación en campo de los posibles biocontroladores se ha enfocado en una estrategia de aplicación inundativa, es decir, aplicaciones frecuentes en dosis elevadas del antagonista, estrategia que pudo haber generado resultados poco alentadores en la eficiencia del empleo del CB, debido a que no se considera la adaptación, establecimiento, reproducción y supervivencia en el campo de los antagonistas, situación que los pone en desventaja frente a *Phytophthora* sp., patógeno con características biológicas exitosas como ciclo de vida corto y complejo, capacidad reproductiva extraordinaria y estrategia de movilidad por se presente en las zoosporas.

El empleo de una estrategia de CB basada en la búsqueda e introducción de microorganismos antagonistas endófitos ofrece ventajas de adaptación y persistencia, características que les permiten desempeñar un papel importante dentro de un programa de manejo integrado para esta enfermedad. Algunos agentes endófitos de control biológico incluyen *Trichoderma* spp., *Penicillium funiculosum*, *Gliocladium* spp. y *Chaetomium globosum*, en los cuales se ha observado un efecto en la supresión del crecimiento del hongo (Drenth y Guest 2004). Recientemente, Krauss y Soberanis (2001) reportan que *Phytophthora palmivora* es altamente sensible a la acción de organismos biocontroladores; se logra un buen control con el empleo de una mezcla de organismos entre los que se encuentra *Trichoderma* sp.



Materiales resistentes

La selección de materiales resistentes es a largo plazo y resultó ser el método más económico y eficaz para el control de las especies de *Phytophthora* sp. (Surujdeo-Maharaj et al. 2001). Sin embargo, la incorporación de genes de resistencia a cultivares con características agronómicas y de calidad ha sido un proceso lento debido a la condición perenne de la planta de cacao.

Los genotipos amelonado tipo bajo y alto amazonas parecen ser menos susceptibles al hongo que los materiales trinitario y son empleados en los programas de mejoramiento actuales. Métodos de detección temprana en segmentos de hoja y mazorca desprendida, que han correlacionado bien con observaciones de incidencia de la enfermedad en el campo, son hoy utilizados para evaluar progenies segregantes, con el objeto de detectar y desechar materiales altamente susceptibles (Iwaro et al. 1997; Iwaro et al. 2005). Se sabe en la actualidad que la resistencia a *Phytophthora* es aditiva y poligénica (Despreaux et al. 1989; Flament et al. 2001) y parece ser no específica por lo menos para las especies *P. palmivora* y *P. megakarya* (Nyassé et al. 2007). Asimismo se estima que el 90% de los cultivares son susceptibles a esta enfermedad (Iwaro et al. 1997).

Colecta y evaluación de materiales por resistencia a este patógeno se han realizado a través del tiempo. Pound, en 1943, colectó árboles de cacao procedentes del alto Amazonas de Perú, donde identificó a Scavina 1 y Scavina 12 como plantas con esta característica. Así mismo, el cultivar Scavina 6 ha sido considerado como el más resistente, incluso más que las variedades Catongo e ICS1 (Iwaro et al. 1997; Tahi et al. 2000). Los materiales Pound-7, CC-42, EET-59 y UF-613 también han sido identificados como resistentes (Arciniegas 2005).

El empleo de herramientas moleculares como los QTLs (locus de un carácter cuantitativo) ha permitido la detección de genes o regiones del genoma ligados con la resistencia a *Phytophthora*, aunque hasta ahora ninguno de estos marcadores ha estado asociado constantemente con la resistencia (Figueira 2004). Sin embargo, con mayor desarrollo y precisión de estas herramientas moleculares se harán más eficientes los procesos de mejoramiento genético en cultivos perennes como el cacao.

Los procesos de mejoramiento genético han trabajado con una base estrecha y la búsqueda de resistencia genética en nuevos materiales seleccionados en regiones con alta presión de la enfermedad se plantea como una nueva estrategia para generar nuevas fuentes de resistencia que podría ampliar la base genética de resistencia al hongo actualmente usada en los programas de mejoramiento.





Resultados de la investigación en pudrición parda de la mazorca en cacao (*Phytophthora* sp.) en Colombia

Introducción

La investigación en pudrición parda de la mazorca en el país data de la década de los setenta, cuando se realizaron los primeros avances tendientes a identificar la presencia del patógeno, los síntomas que origina y el empleo de prácticas culturales para su manejo. Pero, debido a las elevadas pérdidas causadas por la moniliasis y la epidemia inicial causada por escoba de bruja en los años ochenta, la investigación en mazorca negra tuvo menor relevancia. Por esta razón, en el país aún se desconocen aspectos relacionados con su etiología, biología, epidemiología, así como métodos de manejo eficaces y rentables para el control de esta enfermedad.

El fomento cacaotero iniciado a partir del año 2000 llevó al incremento de nuevas áreas de siembra en altitudes superiores a los 800 msnm donde prevalecen las temperaturas bajas que favorecen el ataque de la pudrición parda, lo que desplazó las pérdidas ocasionadas por monilia y convirtió a *Phytophthora* sp. en la principal limitante fitosanitaria para la producción de cacao en estas zonas. Esta situación, unida al incremento en el uso del material CCN51 en el establecimiento de nuevas plantaciones, incrementa las pérdidas en producción por ser el CCN 51 un material de comprobada alta susceptibilidad a este patógeno.

Ante el incremento actual en las pérdidas ocasionadas por este patógeno en la producción del grano, muerte de árboles en el campo y plántulas en vivero, Corpoica retomó la investigación en el año 2012 e inició los primeros estudios sobre la diversidad genética y fisiológica del patógeno, así como también la cuantificación de la resistencia genética presente en algunos materiales de cacao.

Este capítulo tiene por objeto presentar los resultados más relevantes obtenidos en la investigación en mazorca parda del cacao durante el desarrollo de los proyectos de investigación Clones de Cacao Resistentes a Escoba de Bruja, *Phytophthora* y *Ceratocystis* en Etapa de Vivero y Establecimiento de Colecciones, Caracterización Morfológica y Fisiológica de Aislamientos de *Phytophthora* sp. en Regiones Cacaoteras, productos de investigación que están enmarcados en la agenda quinquenal de investigación visualizada a largo plazo y que permiten el entendimiento y conocimiento del patosistema *Phytophthora* sp.-cacao, para el ajuste y diseño futuro de un esquema de manejo integrado de la pudrición parda de la mazorca en cacao.

Avances en la investigación del grado de resistencia genética a *Phytophthora* sp. en clones de cacao

La selección de materiales resistentes es, a largo plazo, el método de control que ha resultado más económico y eficaz para el control de *P. palmivora* (Surujdeo-Maharaj et al. 2001). Sin embargo, la incorporación de genes de resistencia a cultivares con características agronómicas y de calidad ha sido un proceso lento debido a la condición perenne de la planta de cacao.

La cuantificación de resistencia genética de clones de cacao a *Phytophthora* sp. se realizó en los centros de investigación Nataima y La Suiza ubicados en Espinal (Tolima) y Rionegro (Santander). Los estudios iniciaron en 2012 y continúan en la actualidad.

El grado de resistencia genética a *Phytophthora* sp. en clones de cacao fue determinado por inoculación artificial en mazorca sana desprendida en 10 clones de cacao (Phillips-Mora y Galindo, 1989; Arciniegas, 2005). Los clones evaluados fueron: ICS 1, ICS 39, ICS 60, ICS 95, TSH 565, TSH 812, EET 8, IMC 67 y CAP 34; el clon TSH 565 fue utilizado como testigo resistente (R) y el clon CCN 51 como testigo susceptible (S). Diez frutos de aproximadamente 4,5 meses de edad de cada uno de los clones fueron inoculados con una suspensión de $1,5 \times 10^5$ zoosporas mL^{-1} , impregnada en dos discos de papel filtro de 0,5 cm de diámetro y colocados en puntos equidistantes en la zona ecuatorial de la mazorca. Frutos inoculados con agua destilada estéril correspondieron al tratamiento testigo absoluto. Un aislamiento



del *Phytophthora* sp. procedente de Algeciras (Huila) se empleó en el ensayo realizado en Nataima y un aislamiento colectado en el CI La Suiza fue empleado en el ensayo realizado en este centro de investigación.

Los frutos fueron incubados en cámara húmeda. Pasados seis días se evaluó la incidencia (presencia o ausencia de lesión) y la severidad por medición del diámetro promedio de la lesión en los dos sentidos perpendiculares de la mazorca; con el promedio del diámetro de la lesión se realizó la evaluación de la resistencia en cada clon. La calificación por resistencia genética se hizo de acuerdo con la tabla 1 (Phillips-Mora y Galindo, 1989; Arciniegas, 2005). La lectura del décimo día no se realizó debido a la unión de las dos lesiones, lo que impidió su medición.

Los experimentos fueron conducidos en diseños completamente al azar con diez repeticiones por tratamiento. Los datos se analizaron empleando análisis de varianza (Anova). Las diferencias entre tratamientos fueron establecidas con la prueba de Tukey ($p \leq 0,05$). Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el *software* InfoStat (2009).

Los resultados del experimento de inoculación artificial en mazorcas desprendidas de cacao indicaron diferencias significativas ($p \leq 0,05$) en el grado de resistencia presente en los clones evaluados (tabla 2) de acuerdo con la tabla de clasificación de resistencia utilizada (tabla 1).

Tabla 1. Tabla de clasificación de resistencia genética a *Phytophthora* sp. en cacao

Reacción	Diámetro de la lesión (cm)	
	6 días	10 días
Resistente (R)	0-2	0-3
Moderadamente resistente (MR)	2,1-4	3,1-6
Moderadamente susceptible (MS)	4,1-6	6,1-9
Susceptible (S)	> 6	> 12

Fuente: Phillips-Mora y Galindo (1989); Arciniegas (2005)



Tabla 2. Evaluación del tamaño de la lesión, incidencia y calificación del grado de resistencia genética en mazorcas de cacao inoculadas artificialmente con *Phytophthora* sp. Semestre B de 2012

Clon	CI Nataima			CI La Suiza		
	Tamaño lesión (cm)	Incidencia (%)	Calificación resistencia	Tamaño lesión (cm)	Incidencia (%)	Calificación resistencia
CAP 34	9,63 A	100	S	10,64 A	100	S
CCN 51	9,41 A	100	S	9,66 AB	80	S
ICS 39	8,24 B	100	S			
ICS 60	8,1 B	100	S	7,44 ABC	100	S
ICS 95	8,02 B	100	S	9,11AB	100	S
EET 8	7,31 B	100	S	7,5 ABC	100	S
ICS 1	7,01 B	100	S	6,51BC	100	S
ICS 40			S	7,44 ABC	80	S
TSH 812	6,51 C	100	S	7,190ABC	100	S
IMC 67	5,7 C	100	MS	5,21 C	100	MS
TSH 565	2,49 D	100	MR	1,28 D	100	MR

Notas: Letras diferentes dentro de la misma columna indican diferencias significativas Tukey ($p \leq 0,05$).



El experimento de inoculación artificial realizado en el CI Nataima exhibió diferencias en el diámetro promedio de la lesión en los clones estudiados; el genotipo IMC 67 calificó como moderadamente susceptible (MS), TSH 565 como moderadamente resistente (MR) y los genotipos CAP 34, CCN 51, ICS 39, ICS 60, ICS 95, EET 8, ICS 1 y TSH 812 como susceptibles (S) (tabla 2, figura 7). Los resultados obtenidos en el CI La Suiza indicaron diferencias estadísticas significativa ($p \leq 0,05$) en el tamaño de la lesión en los clones evaluados (tabla 2). El genotipo IMC 67 fue calificado como moderadamente susceptible (MS) y TSH 565 como moderadamente resistente (MR) y clones ICS 1, ICS 40, ICS 60, ICS 95, CCN 51, TSH 812, EET 8 y CAP 34 como susceptibles (S) (tabla 2, figura 7).



Fotos: Elconora Rodríguez P.

Figura 7. Tamaño de la lesión desarrollada en mazorcas de cacao desprendidas del clon IMC 67 a los seis días después de la inoculación con *Phytophthora* sp. Testigo (A); réplicas inoculadas (B).

Resultados similares fueron encontrados por Phillips-Mora y Galindo (1989), quienes establecieron el alto nivel de susceptibilidad a *Phytophthora* sp. presente en el clon CCN 51. Esta característica de alta susceptibilidad es ampliamente observada en las plantaciones de cacao establecidas con este material en diferentes regiones del país. Se encontró además que los materiales TSH 565, IMC 67 y TSH 812 exhibieron los valores más bajos de tamaño de la lesión, que corresponden a un mayor grado de resistencia genética a la pudrición parda.

Investigaciones previas de cuantificación de resistencia genética a *Phytophthora* en cacao indicaron que los genotipos amelonado tipo bajo y alto amazonas son menos susceptibles a *Phytophthora palmivora* (*P. palmivora*) que los materiales trinitarios (Surujdeo-Maharaj et al. 2001). El clon IMC 67 es un material

bajo amazonas y los materiales TSH provienen del cruce de Scavina 6 X IMC 67. El material Scavina 6 es un amelonado alto amazonas y ha sido considerado como el cultivar más resistente, incluso más que las variedades Catongo e ICS1 (Iwaro et al. 1997; Tahi et al. 2000). Este estudio observó también que el clon ICS 1 fue el material trinitario que presentó menor daño (tamaño de lesión) por *Phytophthora* sp., lo que está en concordancia con lo establecido anteriormente por Iwaro et al. (1997) y Tahi et al. (2000).

Determinación del ciclo de vida del patógeno

Un experimento en campo se realizó en el lote La Isla del CI La Suiza con el propósito de determinar el ciclo de vida de *Phytophthora* sp. en cacao. Se aislaron con bolsa plástica pepinos de aproximadamente mes y medio de edad de los clones ICS 39, ICS 40, ICS 60 e ICS 95 hasta que alcanzaron una edad aproximada de 5 meses. Posteriormente, 10 de estos frutos de cada uno de los clones evaluados se inocularon con una suspensión de $1,5 \times 10^5$ zoosporas mL^{-1} , impregnada en un disco de papel filtro de 0,5 cm de diámetro colocado en la zona ecuatorial del fruto. El testigo absoluto consistió en inoculación de agua destilada estéril. Se realizaron observaciones cada 24 horas después de la inoculación y se registró el tiempo de aparición de los síntomas, los cuales se categorizaron, de acuerdo con su desarrollo, como puntos necróticos (primeros síntomas), mancha evidente (± 3 cm de diámetro), presencia de micelio y esporulación (figura 8).



Fotos: Elconora Rodríguez P.

Figura 8. Desarrollo de síntomas de *Phytophthora* sp. en fruto de cacao del clon ICS 95. a. Puntos necróticos; b. Mancha; c. Presencia de micelio; d. Esporulación-esporangios y zoosporas.



Los resultados indicaron que, en promedio, todos los clones presentaron los primeros síntomas (puntos necróticos) en la zona de inoculación a los 2,7 días después de la inoculación (DDI); la mancha necrótica apareció a los 5,2 DDI e incrementó su tamaño conforme avanzaba el proceso de infección de tejido de la corteza hasta la aparición del micelio a los 7,1 DDI y, finalmente, la formación de esporangios a los 8,8 DDI. En el clon ICS 95, el ciclo de vida del patógeno fue más rápido, con un promedio de 8 días hasta la esporulación; caso contrario se observó en el clon ICS 39 donde el patógeno requirió 9,6 días para la formación de estructuras reproductivas (esporangios) (tabla 3). En los cuatro materiales de cacao evaluados la incidencia de *Phytophthora* sp. fue de 100% 6 DDI.

Tabla 3. Promedio de días en el desarrollo de síntomas y signos en mazorcas de cacao inoculadas artificialmente con *Phytophthora* sp. en campo

Clon	Primeros síntomas (puntos necróticos)	Mancha evidente ± 3 cm	Aparición de micelio	Esporulación
ICS 39	3,6	6,2	8	9,6
ICS 40	1,9	4,9	6,9	9,1
ICS 60	2,6	5,1	7,1	8,7
ICS 95	2,6	4,7	6,2	8,0
Media	2,7	5,2	7,1	8,8

Avances en la investigación en variabilidad genética y fisiológica de la población de *Phytophthora* sp., de cacao en Colombia

Esta investigación es la primera que se realiza en el país con el objeto de abordar la diversidad de la población de *Phytophthora* sp., asociado a la mazorca parda del cacao y que tiene por objeto identificar las especies presentes y su grado de virulencia, resultado que servirá como herramienta base para el diseño y desarrollo de estrategias de control del patógeno más eficaces y rentables.



Muestreo, aislamiento, colección y conservación de aislamientos de *Phytophthora* sp.

Un muestreo secuencial objetivo con el propósito de coleccionar mazorcas con síntomas de *Phytophthora* sp. se realizó en cultivos comerciales de cacao en los departamentos de Cesar (Pueblo Bello y Valledupar), Magdalena (Aracataca, Ciénaga, Fundación y Santa Marta), Nariño (Tumaco), Tolima (Villarrica, Rioblanco, Chaparral y Ataco), Huila (Algeciras, Rivera, El Agrado, Garzón y Tello), Santander (San Vicente de Chucurí, El Carmen de Chucurí, Rionegro, El Playón y Lebrija), Arauca (Tame, Arauquita y Saravena), Antioquia (Yalí, Remedios, Vegachí, Maceo, Caracolí y San Roque) y Caldas (Victoria y Marquetalia). Se coleccionaron dos mazorcas por finca muestreada.

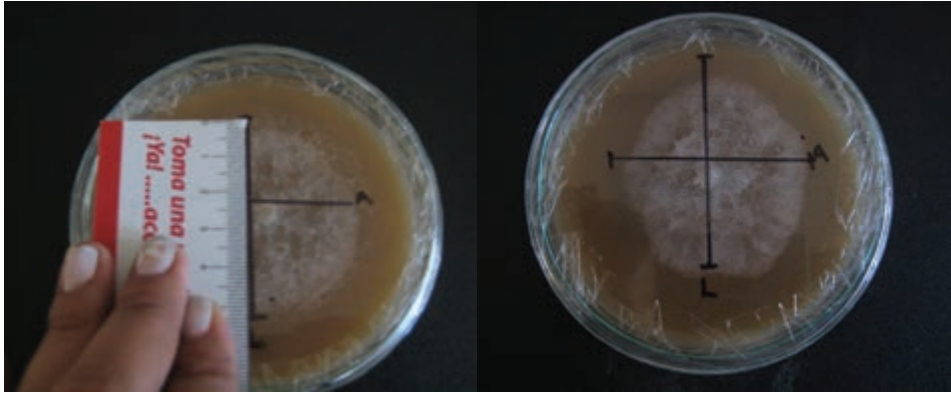
El patógeno fue aislado en medio PDA+ antibióticos y fungicidas (Dolan y Coffey 1986; Jeffers y Martin 1986). Los aislamientos puros del patógeno se conservaron en tubos Eppendorf con agua destilada estéril donde se depositaron segmentos de medio V8 crecidos con *Phytophthora* sp. y se mantuvieron en refrigeración a 10 °C. Repiques periódicos cada 4 meses se realizaron para mantener su viabilidad. Se estableció y conservó una colección de 100 aislamientos del patógeno. Se generó una base de datos en Excel que consigna la información de la procedencia de los aislamientos.

Caracterización morfológica de aislamientos de *Phytophthora* sp.

La caracterización por morfología macroscópica y microscópica se realizó en cinco aislamientos puros seleccionados al azar por departamento (Antioquia, Arauca, Huila, Santander, Tolima). Diez repeticiones por aislamiento se emplearon en la caracterización macroscópica. Tres repeticiones por aislamiento con 10 estructuras del microorganismo para cada una se utilizaron en la evaluación microscópica. Los aislamientos empleados en las evaluaciones de caracterización microscópica y macroscópica crecieron en medio agar-V8-CaCo₃ (1,8, 2,0 y 0,3 g).

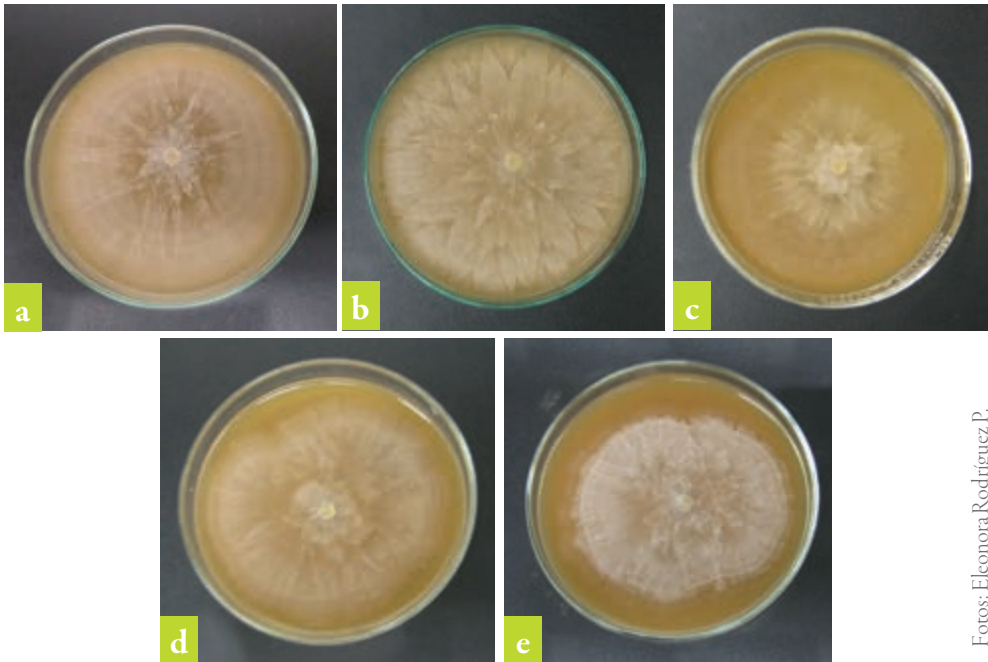


Las variables macroscópicas evaluadas fueron: crecimiento radial de la colonia, en centímetros, de acuerdo con la metodología de Brasier y Griffin (1979, figura 9); patrón de crecimiento de la colonia, se evaluó el desarrollo aéreo del micelio, color, borde y formato de crecimiento (Erwin y Ribeiro 1996; Cerqueira et al. 1999) (figura 10).



Fotos: Elconora Rodríguez P.

Figura 9. Metodología empleada en la medición periódica del crecimiento radial de la colonia.



Fotos: Elconora Rodríguez P.

Figura 10. Formato de crecimiento de colonia de *Phytophthora* sp. en medio agar-jugo V8. a. Estrellada; b. Crisantemo; c. Estolonífero; d. Concéntrica; e. Sin forma.

Fuente: Adaptado de Erwin y Ribeiro (1996)

Los resultados de evaluación del crecimiento de la colonia indicaron, de forma general, que los aislamientos procedentes de Antioquia presentaron un crecimiento más lento que los de Tolima, que exhibieron un crecimiento más rápido y alcanzaron un diámetro promedio de 3,8 cm y 5,4 cm, respectivamente, para la última medición realizada a las 120 horas después de sembrado el patógeno (tabla 4).

Tabla 4. Promedio del crecimiento radial de la colonia (cm) de cinco aislamientos de *Phytophthora* sp. por departamento

Departamento	Media	Grupo
Antioquia	3,84	A
Huila	3,97	A
Santander	4,95	B
Arauca	5,27	B
Tolima	5,44	C

Nota: letras diferentes dentro de la misma columna indican diferencias significativas Tukey ($p \leq 0,05$)

Con relación al patrón de crecimiento de la colonia en medio agar-V8-CaCo₃ se observó que los 25 aislamientos desarrollaron colonias de color blanco, la mayoría presentaron un crecimiento poco algodonoso, el cual podía ser afelpado o no, con escaso y abundante micelio aéreo y bordes bien definidos que podían ser ondulados o aracnoides. Las colonias presentaron cinco patrones de crecimiento: estrellado, crisantemo, estolonífero, concéntrico y sin patrón (figura 10). En algunos casos, las colonia de patrón de crecimiento estrellada presentaba a su alrededor un anillo, con mayor concentración de hifas en la mitad del diámetro de la colonia, patrón de crecimiento propio de *Phytophthora palmivora* (figura 10a).



La evaluación biométrica o microscópica de los aislamientos se realizó por identificación y medición microscópica de estructuras asexuales (clamidosporas y esporangios) en colonias con 15 días de crecimiento en medio agar-V8-CaCo₃. Montajes en láminas de estructuras teñidas con azul de lactofenol se emplearon para la determinación del tamaño del esporangio, pedicelo y clamidospora. Las mediciones microscópicas de las estructuras asexuales se realizaron con un microscopio binocular Primo Star marca Carl Zeiss, con el objetivo de 40x y el *software* de fotografía Zen lite 2011.

Complementariamente, se hizo la observación y categorización de características como presencia o ausencia de clamidosporas, posición de las clamidosporas (terminales o intercalares), forma del esporangio, desprendimiento del esporangio (mayor o menor facilidad de este para desprenderse del esporangioforo; esta característica permite clasificarlos en caedizos —si se desprenden fácilmente— y no caedizos —si se desprenden difícilmente—, tamaño del pedicelo, relación del largo:ancho del esporangio (L:A), formato del esporangio: papilado, semipapilado o no papilado (Erwin y Ribeiro 1996) .

Las características macroscópicas y microscópicas observadas en este estudio se categorizaron de acuerdo con la clave taxonómica de Erwin y Ribeiro (1996), lo que permitió la identificación de la especie de *Phytophthora* sp. asociada al cacao (*Theobroma cacao* L.) en Colombia.

En la tabla 5 se presentan los datos consolidados de las dimensiones de los esporangios de los 25 aislamientos de *Phytophthora* sp. seleccionados para este estudio. De acuerdo con estas mediciones, la prueba de desprendimiento y la presencia, ubicación y tamaño de clamidosporas, así como las características macroscópicas observadas, todos los aislamientos se clasificaron como *P. palmivora* (figura 11).



Tabla 5. Mediciones biométricas de esporangio de estructuras asexuales y sexuales de 25 aislamientos de *Phytophthora* sp. procedentes de cinco departamentos de Colombia

Especie	Largo del esporangio (μm)	Ancho del esporangio (μm)	Relación L:A (μm)	Largo del pedicelo (μm)	Diámetro clamidosporas (μm)	Diámetro oosporas (μm)
<i>P. palmivora</i>	25,8-53,9	16,3-29,6	1,6-1,7	1,8-3,4	21,5-33,4	-

Los aislamientos identificados como *P. palmivora* presentaron características como esporangios ovoides, elipsoides, obovoides, globosos piriformes y obpiriformes, todos con base redondeada, con una relación largo: ancho entre 1,6 y 1,7, desprendimiento del esporangioforo, con un pedicelo corto no superior a 3,4 μm, todos papilados. Hubo producción de clamidosporas abundantes y la mayoría terminales; también, un diámetro de clamidosporas que varió de 21,5 a 33,4 μm. Estas descripciones concuerdan con las reportadas por Erwin y Ribeiro (1996), Cerqueira et al. (1999), Newhook et al. (1978) y Brasier y Griffin (1979) para agrupar esta especie.

En general, las medidas promedio de las estructuras caracterizadas (esporangios, pedicelos, clamidosporas y oosporas) se encuentran dentro de los niveles de variación establecidos para la especie *P. palmivora*.



Fotos: Elconora Rodríguez P.

Figura 11. Morfología característica de los esporangios de *P. palmivora*. a. Obpiriforme; b. Ovoide; c. Globoso.

Fuente: Adaptado de Erwin y Ribeiro (1996)



Caracterización fisiológica por virulencia de aislamientos de *Phytophthora* sp.

La variabilidad en la virulencia de los aislamientos *Phytophthora* sp. fue determinada por inoculación artificial en mazorca desprendida de cacao (Phillips-Mora y Galindo, 1989; Arciniegas, 2005). Cinco aislamientos *Phytophthora* sp., uno por departamento, se emplearon en este estudio. Los aislamientos utilizados correspondieron a Tovro 1 (Tolima), Hurv 19 (Huila), Sario 189 (Santander), Arar 153 (Arauca) y Anya 228 (Antioquia).

Los aislamientos se inocularon en mazorcas sanas de aproximadamente 4,5 meses de edad de los clones CCN 51, IMC 67, TS 565, EET 8, ICS 95 y PA 46; el clon IMC 67 fue utilizado como testigo resistente (R) y el clon CCN 51 como testigo susceptible (S). Diez frutos de cada uno de los clones utilizados se inocularon con una suspensión de $1,5 \times 10^5$ zoosporas mL^{-1} , impregnada en un disco de papel filtro de 0,5 cm de diámetro colocado en la zona ecuatorial del fruto (Phillips-Mora y Galindo, 1989). Frutos inoculados con agua destilada estéril correspondieron al tratamiento testigo absoluto.

Los frutos se incubaron en cámara húmeda. Seis y diez días después de la inoculación (DDI) se evaluó la incidencia (presencia o ausencia de lesión) y la severidad medida como el diámetro promedio de la lesión medido en los dos sentidos perpendiculares de la mazorca. Con el promedio de la media del diámetro de la lesión se realizó la categorización de la resistencia presente en cada clon, de acuerdo con la calificación por resistencia genética (tabla 1) (Phillips-Mora y Galindo, 1989; Arciniegas, 2005).

La virulencia de los aislamientos se midió de forma indirecta de acuerdo con la incidencia observada en los seis clones evaluados, así como con el diámetro de la lesión causada en los mismos, donde los aislamientos más virulentos son los que tienen mayor capacidad de causar y desarrollar lesiones de mayor tamaño en diferentes clones. El experimento fue conducido en un diseño completamente al azar (DCA) con diez repeticiones por tratamiento. Los datos fueron analizados empleando análisis de varianza (Anova). Las diferencias entre tratamientos fueron establecidas con la prueba de Tukey ($p \leq 0,05$). Los análisis estadísticos fueron realizados utilizando el *software* InfoStat (2009).

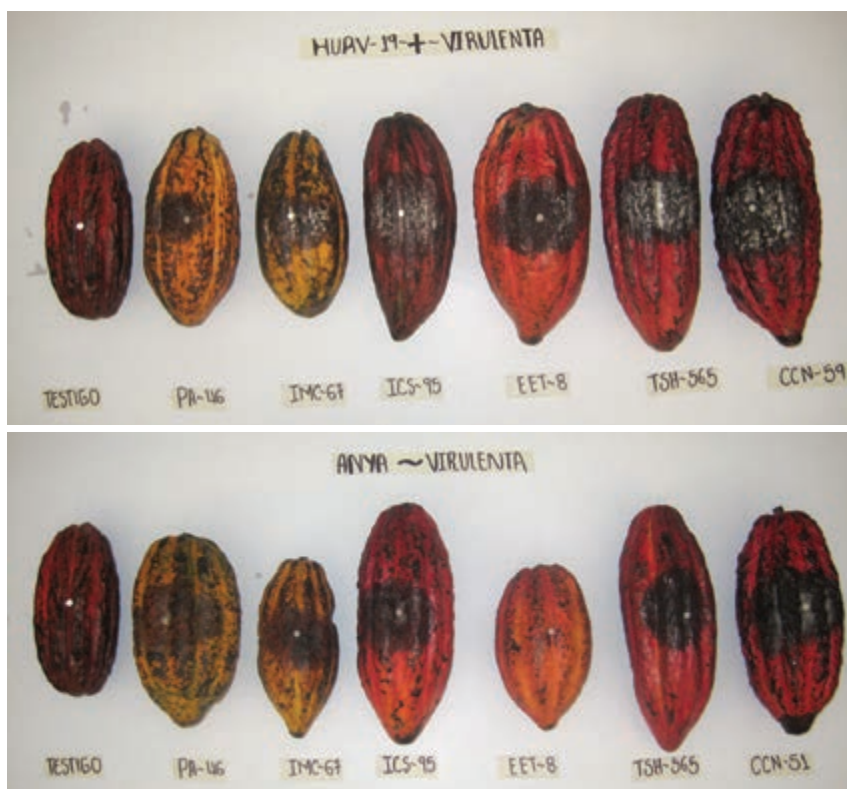
Nuestros resultados indicaron diferencias significativas entre aislamientos y clones evaluados con relación al tamaño de la lesión (tablas 6 y 7). El aislamiento Hurv 19 fue el más virulento con un valor de área de lesión de 13,79 cm y el aislamiento Anya 228 como menos virulento con un tamaño de lesión de 7,45 cm, cuando fueron inoculados en los cinco clones evaluados (tabla 6, figura 12).

Tabla 6. Nivel de virulencia de cinco aislamientos de *Phytophthora* sp. inoculados en mazorcas desprendidas de cinco clones de cacao. Centro de Investigación Nataima, semestre B de 2013

Departamento	Tamaño lesión (cm)	Grupo
Antioquia (Anya 228)	7,45	A
Santander (Sario 189)	10,84	B
Arauca (Arar 153)	12,11	B
Tolima (Tovro 1)	12,6	C
Huila (Hurv 19)	13,79	C

Nota: letras diferentes dentro de la misma columna indican diferencias significativas Tukey ($p \leq 0,05$).





Fotos: Elconora Rodríguez P.

Figura 12. Tamaño de la lesión en mazorcas desprendidas de cinco clones de cacao diez días después de la inoculación con aislamientos de *Phytophthora* sp. (Hurv 19 y Anya 228).

Los clones IMC 67 y PA 46 presentaron los valores más bajos y estadísticamente iguales de tamaño de lesión con valores de 8,48 y 8,84 cm, respectivamente, lo que indica los niveles mayores de resistencia genética en estos materiales. Este resultado concuerda con los obtenidos por Phillips-Mora y Galindo (1989) y Arciniegas (2005) en ensayos de evaluación de resistencia a *Phytophthora* sp. en campo en Costa Rica; estos dos materiales presentaron el nivel más alto de resistencia. El clon CCN 51 presentó tamaño de lesión mayor con 15,44 cm, que indica su alta susceptibilidad a la enfermedad. La categorización de estos resultados de acuerdo con la escala de evaluación de resistencia a *Phytophthora* en cacao (Phillips-Mora y Galindo, 1989; Arciniegas, 2005) clasifica a los clones IMC 67 y PA 46 como moderadamente susceptibles (MS) y a los clones EET 8, TSH 565, ICS 95 y CCN 51 como susceptibles (S) (tabla 7, figura 12).

Tabla 7. Calificación del grado de resistencia genética en mazorcas de cacao inoculadas artificialmente con *Phytophthora* sp. diez días después de la inoculación. Centro de Investigación Nataima, semestre B de 2013

Clon	Tamaño lesión (cm)	Calificación por resistencia
PA 46	8,48 A	MS
IMC 67	8,84 A	MS
EET 8	10,59 A	S
TSH 565	12,26 B	S
ICS 95	12,53 B	S
CCN 51	15,44 C	S

Nota: letras diferentes dentro de la misma columna indican diferencias significativas Tukey ($p \leq 0,05$).





Bibliografía

- Adejumo TO. 2005. Crop protection strategies for major diseases of cocoa, coffee and cashew in Nigeria. *Afr J Biotechnol.* 4(2):143-150.
- Agrios GN. 2001. *Fitopatología*. 2.ª ed. México: Uteha.
- Arciniegas AM. 2005. Caracterización de árboles superiores de cacao (*Theobroma cacao* L.) seleccionados por el programa de mejoramiento genético del Catie [tesis de maestría]. [Turrialba]: Catie.
- Attard A, Gourgues M, Galiana E, Panabières F, Ponchet M, Keller H. 2008. Strategies of attack and defense in plant-oomycete interactions, accentuated for *Phytophthora* parasitica Dastur (syn. *P. nicotianae* Breda da Haan). *J Plant Physiol.* 165(1):83-94.
- Blair JE, Coffey MD, Park SY, Geiser DM, Kang S. 2008. A multi-locus phylogeny for *Phytophthora* utilizing markers derived from complete genome sequences. *Fungal Genet Biol.* 45(3):266-277.
- Brasier CM, Griffin MJ. 1979. The taxonomy of *Phytophthora palmivora* on cocoa. *T Brit Mycol Soc.* 72(1):111-143.
- Braudeau J. 1970. *El cacao*. Barcelona: Blume. Técnicas y producciones tropicales; p. 86-90.
- Capriles de Reyes L, Reyes EH, Escobar F. 1972. Etiología de una nueva enfermedad del fruto de cacao en Venezuela. En: *Cocoa Research Institute. IV International Cocoa Research Conference*. St. Augustine: Government of Trinidad & Tobago. pp. 485-486.
- Cerqueira AO, Luz EDMN, Rocha CS. 1999. Caracterização morfológica e biométrica de alguns isolados de *Phytophthora* spp. da micoteca do Centro de Pesquisas do Cacau. *Fitopatol Bras.* 24:114-119.
- Davidse LC, Hofman AE, Velthuis GC. 1983. Specific interference of metalaxyl with endogenous RNA polymerase activity in isolated nuclei from *Phytophthora megasperma* f. sp. *medicaginis*. *Exp Mycol.* 7(4):344-361.
- Dennis JJ, Konam JK. 1994. *Phytophthora palmivora*: Cultural control methods and their relationship to disease epidemiology on cocoa in PNG. Ponencia presentada en: *Proceedings of the 11th International Cocoa Research Conference*; Yamusukro, Costa de Marfil.



- Despreaux D, Clement D, Partiot M. 1989. La pourriture brune des cabosses du cacao au Cameroun: mise en évidence d'un caractère de résistance au champ. *Agronomie*. 9:683-691.
- Dick MW. 2001. *Straminipilous Fungi: systematics of the Peronosporomycetes including accounts of the marine straminipilous protists, the plasmodiophorids and similar organisms*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers.
- Dolan TE, Coffey MD. 1986. Laboratory screening techniques for assessing resistance of four avocado rootstocks to *Phytophthora cinnamomi*. *Plant Dis*. 70:115-118.
- Drenth A, Guest DI. 2004. Diversity and management of *Phytophthora* in Southeast Asia Canberra: Australian Centre for International Agricultural Research. *Phytophthora in the tropics*; p. 30-41.
- Enríquez GA. 1985. Curso sobre el cultivo del cacao. Turrialba: Centro Agroquímico Tropical de Investigaciones y Enseñanza. Capítulo 3, Ecología; p. 45-49.
- Enríquez GA, Salazar LG. 1987. Cocoa varietal resistance to *Phytophthora palmivora* and its inheritance at Turrialba, Costa Rica. Turrialba: Cati.
- Erwin DC, Ribeiro OK. 1996. *Phytophthora diseases worldwide*. St. Paul: The American Phytopathological Society.
- Esquerré-Tucaye MT, Lampert DT. 1979. Cell-surfaces in plant microorganism interactions. A structural investigation of cellwall hydroxyproline-rich glycoproteins which accumulate in fungus infected plants. *Plant Physiol*. 64(2):314-319.
- Evans HC, Holmes KA, Reid AP. 2003. Phylogeny of the frosty pod rot pathogen of cocoa. *Plant Pathology*. 52:476-485.
- Figueira A. 2004. New methodologies for cocoa breeding. En: Flood J, Murphy R, editores. *Cocoa Futures*. Cali: CABI-Federacafé, USDA. pp. 79-85.
- Flament MH, Kebe I, Clément D, Pieretti I, Rustericci AM, N'Goran JA, Cilas C, Despreaux D, Lanaud C. 2001. Genetic mapping of resistance to *Phytophthora palmivora* in cocoa. *Genome*. 44:79-85.
- Gregory PH, Maddison AC. 1981. *Epidemiology of Phytophthora on Cocoa in Nigeria*. Londres: Commonwealth Mycological Institute.

- Guest D. 2007. Black pod: diverse pathogens with a global impact on cocoa yield. *Phytopathology*. 97(12):1650-1653.
- Guest DI, Anderson RD, Foard HJ, Phillips D, Worboys S, Middleton RM. 1994. Long-term control of *Phytophthora* diseases of cocoa using trunk-injected phosphonate. *Plant Pathol*. 43(3):479-492.
- Hunter JE, Kunimoto RK. 1974. Dispersal of *Phytophthora palmivora* sporangia by wind-blown rain. *Phytopathology*. 64(2):202-206.
- Iwaro AD, Sreenivasan TN, Umaharan P. 1997. Foliar resistance to *Phytophthora palmivora* as an indicator of pod resistance in *Theobroma cacao*. *Plant Dis*. 81(6):619-624.
- Iwaro AD, Thévenin JM, Butler DR, Eskes AB. 2005. Usefulness of the detached pod test for the assessment of cocoa pod resistance to *Phytophthora* pod rot. *Eur J Plant Pathol*. 113(2):173-182.
- Jeffers SN, Martin SB. 1986. Comparison of two media selective for *Phytophthora* and *Pythium* species. *Plant Dis*. 70:1038-1043.
- Kellam MK, Zentmyer GA. 1981. Isolation of *Phytophthora citrophthora* from cocoa in Brazil. *Phytopathology*. 71:230.
- Krauss U, Soberanis W. 2001. Biocontrol of cocoa pod diseases with mycoparasite mixtures. *Biol Control*. 22(2):149-158.
- Lanaud C, Risterucci AM, Pieretti I, N’Goran J, Fargeas D. 2003. Characterization and genetic mapping of resistance and defence gene analogs in cocoa (*Theobroma cacao* L.). *Mol Breeding*. 13(3):211-227.
- Lozano-Trevino ZE, Romero-Cova S. 1974. Estudio taxonómico de aislamiento de *Phytophthora*, patógenos de cacao. *Agrociencia*. 56:175-182.
- Luz ED, Santos AF, Matsuoka K, Bezerra JL. 2001. Doenças causadas por *Phytophthora* no Brasil. Campinas: Livraria e Editora Rural.
- Massola NS, Krugner TL. 2011. Fungos fitopatogênicos. En: Bergamin A, Kimati H, Amorim L, editores. Manual de fitopatologia: princípios e conceitos. 4.a ed. São Paulo: Agronômica Ceres; pp. 149-206.
- Mitchell DJ, Zentmyer GA. 1971. Effects of oxygen and carbon dioxide tensions on sporangium and oospore formation by *Phytophthora* spp. *Phytopathology*. 61(7):807-812.



- Moore RT. 2002. The Straminipila. Mycol Res. 106(10):1247-1248.
- Newhook FJ, Waterhouse GM, Stamps DJ. 1978. Tabular key to the species of *Phytophthora* de Bary. Micological Paper 143. Londres: Commonwealth Mycological Institute.
- Nyassé S, Efombagn MIB, Kébé BI, Tahi M, Despreaux D, Cilas C. 2007. Integrated management of *Phytophthora* diseases on cocoa (*Theobroma cacao* L): Impact of plant breeding on pod rot incidence. Crop Prot. 26(1):40-45.
- Oliveira ML, Luz EDMN. 2005. Identificação e manejo das principais doenças do cacauero no Brasil. Ilhéus: Ceplac, Cepec, Sefit.
- Omokolo Ndoumou D, Tsala Ndzomo G, Djocgoue PF. 1996. Changes in carbohydrate, amino acid and phenol contents in cocoa pods from three clones after infection with *Phytophthora megakarya* Bra. and Grif. Ann Bot. 77(2):153-158.
- Opoku IY, Akrofi AY, Appiah AA. 2007. Assessment of sanitation and fungicide application directed at cocoa tree trunks for the control of *Phytophthora* black pod infections in pods growing in the canopy. Eur J Plant Pathol. 117(2):167-175.
- Orellana RG. 1956. Estado de las investigaciones sobre la enfermedad del cacao. Ponencia presentada en: VI Conferencia Interamericana de Cacao; Salvador de Bahía, Brasil.
- Phillips-Mora W, Galindo JJ. 1989. Métodos de inoculación y evaluación de la resistencia a *Phytophthora palmivora* en frutos de cacao (*Theobroma cacao*). Turrialba. 39(4):488-496.
- Raven PH, Evert RF, Eichhom S. 1999. Biology of plants. 6.^a ed. New York: WH Freeman and Company.
- Reyes H, Capriles L. El cacao en Venezuela. Moderna tecnología para su cultivo. Caracas: El Rey.
- Rondón JG, Gómez R. 1993. Manejo productivo de plantaciones de cacao. Boletín de Sanidad 3. Bogotá: ICA.
- Stamps J. 1998. *Phytophthora palmivora*. CMI Descr Pathog Fungi Bact. (831).
- Stamps DJ, Waterhouse GM, Newhook FJ, Hall GS. 1990. Revised tabular key to the species of *Phytophthora*. Mycol Pap. 162:1-28.

- Surujdeo-Maharaj S, Umaharan P, Iwaro AD. 2001. A study of genotype-isolate interaction in cacao (*Theobroma cacao* L.): Resistance of cacao genotypes to isolates of *Phytophthora palmivora*. *Euphytica*. 118(3):295-303.
- Tahi GM, Kébe I, Eskes AB, Ouattara S, Sangare A, Mondeil F. 2000. Rapid screening of cacao genotypes for field resistance to *Phytophthora palmivora* using leaves, twigs and roots. *Eur J Plant Pathol*. 106(1):87-94.
- Tollenaar D. 1958. *Phytophthora palmivora* of cocoa and its control. *Neth J. Agr Sci*. 6(1):24-38.
- Tyler B. 2001. Genetics and genomics of the oomycete-host interface. *Trends Genet*. 17(11):611-614.
- Uchida JY, Aragaki M. 1985. Occurrence of chlamydospores in *Phytophthora capsici*. *Mycologia*. 77(5):832-835.
- Vos JGM, Ritchie BJ, Flood J. 2003. Discovery learning about cocoa: an inspiration guide for training facilitators. CABI Bioscience. Egham: CABI Bioscience; [consultado 2013 ene]. http://worldcocoafoundation.org/wp-content/files_mf/vos200321.pdf.
- Walker CA, Van West P. 2007. Zoospore development in the oomycetes. *Fungal Biol Rev*. 21(1):10-18.
- Van West P, Appiah AA, Gow NAR. 2003. Advances in research on oomycete root pathogens. *Physiol Mol Plant Pathol*. 62(2):99-113.
- Weststeijon G. 1965. La susceptibilidad de *Theobroma cacao* L. a la pudrición de la mazorca por *Phytophthora*. Instituto de Investigaciones del Cacao en Nigeria. II Sesión del Grupo Técnico de Trabajo de la FAO sobre Producción y Protección del Cacao. Roma: FAO.
- Widmer T. 2010. *Phytophthora kernoviae* oospore maturity, germination and infection. *Fungal Biol*. 114(8):661-668.
- Zentmyer GA, Kaosiri T, Idosu GO, Kellam MK. 1981. Morphological forms of *Phytophthora palmivora*. Ponencia presentada en: VII Conference Internationale sur la Recherche Cacaoyere; Douala, Camerun.



Glosario

Adaptación: cambio no hereditario en un organismo con la finalidad de aumentar su adaptabilidad; proceso por el cual los individuos, poblaciones o especies cambian de forma o función para sobrevivir en determinadas condiciones de ambiente.

Agente causal: agente de origen biótico o abiótico que ocasiona la enfermedad.

Aislamiento: una sola espora o cultivos y subcultivos derivados de esta; poblaciones o grupo de estas separadas de otras poblaciones de la misma especie.

Anamorfo: estadio reproductivo asexual (morfo). Cuando un hongo solamente produce múltiples anamorfos morfológicamente distintivos, se denominan sinanamorfos.

Ciclo biológico: ver *ciclo de vida*.

Ciclo de vida: estado o estados sucesivos en el crecimiento y desarrollo de un organismo que ocurre entre la aparición y reaparición del mismo estado de un organismo.

Clamidospora: tipo de espora de paredes gruesas de varias clases de los hongos. Es una etapa del ciclo vital del organismo que sobrevive en condiciones desfavorables, como estaciones secas o cálidas. Las clamidosporas son generalmente de color oscuro, esféricas y con una superficie lisa (sin adornos). Son multicelulares, con las células conectadas entre ellas por poros interiores. Las clamidosporas son el resultado de la reproducción asexual (mediante los conidios llamados clamidoconidios) o por reproducción sexual (raramente). La teliospora es una clase especial de clamidospora de los hongos urediniomycetes.

Clon: progenie genéticamente uniforme derivada de un único individuo o de un conjunto de células genéticamente idénticas, producidas por propagación vegetativa o asexual. Población de individuos obtenidos por propagación vegetativa a partir de un único individuo.



Coevolución: término de la biología por el que se designa al fenómeno de adaptación evolutiva mutua producida entre dos o varias especies de seres vivos como resultado de su influencia recíproca por relaciones como la simbiosis, el parasitismo, la competencia, la polinización, el mimetismo o las interacciones entre presa y depredador.

Dicariótica: célula de complemento cromosómico $n+n$.

Dicotiledónea: clase de plantas fanerógamas angiospermas, cuyos embriones de las semillas presentan dos cotiledones u hojas iniciales, opuestos por lo común.

Diploide: individuo cuyo núcleo de las células contiene $2n$ cromosomas. Número doble de cromosomas de una especie.

Espora: unidad reproductiva de hongos unicelulares o pluricelulares de origen sexual o no sexual, altamente especializada, capaz de resistir a las condiciones adversas y de germinar en medio favorable; garantiza, así mismo, la propagación de los hongos por procesos asexuales y sexuales.

Esporogénesis: comprende todas las etapas de desarrollo de una espora. Producción de esporas.

Esporulación: proceso de producción de esporas.

Estadio asexual: cuando un hongo solamente produce múltiples anamorfos (estructuras asexuales) morfológicamente distintivos, se denominan sinanamorfos.

Estadio sexual: teleomorfo que típicamente desarrolla un cuerpo de fructificación.

Exocarpo: parte más externa del fruto o pericarpo.

Filogenético: clasificación de los organismos de acuerdo con su secuencia evolutiva; refleja las relaciones genéticas.

Genotipo: composición genética total de una célula o de un organismo; composición particular de alelos encontrados en el individuo.

Germinación: proceso por el cual un propágulo, por ejemplo espora, esclerodio u otra estructura reproductiva, bajo condiciones ambientales específicas, aumenta su actividad metabólica que da como resultado la producción de nuevas estructuras como la emisión del tubo germinativo que infecta y crece en el interior de la planta hospedera.

Germoplasma: conjunto de genes representados por todos los alelos existentes en una determinada especie. Variabilidad genética disponible en una especie.

Haploide: célula u organismo que contiene un solo juego o la mitad del número normal de cromosomas.

Hemibiotrófico: organismo que vive parte de su vida como parásito de otro organismo y otra parte como saprofito.

Híbrido: organismo vivo procedente del cruce de dos organismos de razas, especies o subespecies distintas o de cualidades diferentes.

Hifa: estructura fúngica, filamentosa, cilíndrica, unicelular o multicelular, simple o ramificada, septada o no, que constituye el micelio del hongo. Es la unidad estructural de los hongos y de cada filamento tubular que forma el micelio.

Hospedero: planta que es invadida por un parásito o patógeno, de la cual el parásito obtiene nutrientes.

Incidencia: proporción de la enfermedad o entidades enfermas de una unidad de muestreo.



Infección: fase del ciclo de las relaciones patógeno-hospedero, la cual inicia con la deposición y germinación del propágulo en la superficie del hospedero (fase de prepenetración) y termina con el inicio de las relaciones parasitarias.

Inhibición: prevención del crecimiento o multiplicación de microorganismos. Bloqueo de un proceso enzimático, fisiológico o metabólico por un inhibidor. Tendencia de la primera especie para resistir la invasión de especies posteriores.

Inoculación: transferencia del patógeno al hospedero.

Marcadores moleculares: segmento de ADN con una ubicación física identificable (*locus*) en un cromosoma y cuya herencia genética se puede rastrear. Un marcador puede ser un gen o alguna sección del ADN sin función conocida. Dado que los segmentos del ADN que se encuentran contiguos en un cromosoma tienden a heredarse juntos, los marcadores se utilizan a menudo como formas indirectas de rastrear el patrón hereditario de un gen que todavía no ha sido identificado, pero cuya ubicación aproximada se conoce. Los marcadores se usan para el mapeo genético como el primer paso para encontrar la posición e identidad de un gen.

Marchitez: pérdida de rigidez y caída de las partes de la planta, generalmente causada por insuficiencia de agua.

Medio de cultivo: sustrato de composición química equilibrada que se emplea en el laboratorio para aislar y cultivar microorganismos.

Mesocarpio: capa intermedia del pericarpio, esto es, parte del fruto situada entre endocarpio y epicarpio.

Micelio: conjunto entrelazado de hifas que constituyen la estructura vegetativa de los hongos.

Microorganismo: organismo de dimensiones microscópicas, como protozoarios, hongos, bacterias, virus u otras entidades bióticas, capaces de replicarse o reproducirse.

Monocariótico: individuo que tiene, genéticamente, núcleos haploides idénticos.

Mutación: aparición abrupta de una nueva característica en un individuo, resultado de la variación en la estructura de un gen o cromosoma, la cual es permanente y hereditaria.

Necrosis: fenómeno de muerte, usualmente de células en un área localizada.

Necrotrófico: hongo u oomicete que mata al tejido del hospedero en la misma medida en que avanza a través de sus tejidos.

Patogenicidad: habilidad de un organismo de causar enfermedad.

Patógeno: organismo o virus capaz de causar enfermedad en un hospedero específico o en una gama de hospederos; agente causal de enfermedad en planta.

Propágulo: parte de un organismo, como una espora o una bacteria, que se puede diseminar y reproducir al organismo.

Saprofítica: planta o microorganismo que se alimenta de materias orgánicas en descomposición.

Síntoma: reacción interna y externa o alteración de las plantas como resultado de una enfermedad.

Teleomorfo: estado sexual o estado perfecto de crecimiento de un hongo.

Tubo germinativo: estado temprano del crecimiento del micelio producido a partir de una espora fúngica germinada.

Impresión y encuadernación:
Carvajal Soluciones de Comunicación S.A.S.



www.carvajalsolucionesdecomunicacion.com

Terminó de imprimirse
Septiembre de 2015, Bogotá, DC, Colombia

