

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA

Tingo María



FACULTAD DE AGRONOMIA

Departamento Académico de Ciencias Agrarias

"ASPECTOS BIOLÓGICOS DE PATÓGENOS QUE INFECTAN
FRUTOS EN EL CULTIVO DE CACAÓ (Theobroma cacao
L.) EN TINGO MARÍA"

T E S I S

PARA OPTAR EL TÍTULO DE

INGENIERO AGRONOMO

LIBIA SOLEDAD MORENO GRANDEZ

PROMOCION 1 9 9 0

P E R U

1 9 9 3

DEDICATORIA

A la memoria de mi padre

LUIS ARTURO y hermanos:

LUIS, JUAN, Q.E.P.D.

A mi esposo HUGO con su amor y apoyo incondicional por verme profesional y como un ejemplo para mi hija CINDY.

A mi querida madre:

MARIA DULMIRA, como muestra de mi eterna gratitud por el invaluable sacrificio en mi formación profesional.

A mis hermanos LUISA, MARTHA, TERCERO, LINCOLN, GOLDY y AMPARO, por su apoyo.

AGRADECIMIENTOS

- A la Universidad Nacional Agraria de la Selva, en especial a la Facultad de Agronomía, que contribuyeron a mi formación profesional.
- Al Ing. Agr. M. Sc. ROLANDO A. RIOS RUIZ, patrocinador del presente trabajo, por su valiosa ayuda Técnica y Científica, como por los consejos recibidos, complemento determinante para la culminación de la presente tesis.
- Al personal del Laboratorio de Fitopatología de la Universidad Nacional Agraria de la Selva de Tingo María.
- A todas aquellas personas que en forma directa o indirecta colaboraron para que el presente trabajo haya culminado con éxito.

I N D I C E

| | Págs |
|--|------|
| I. INTRODUCCION..... | 15 |
| II. ANTECEDENTES..... | 18 |
| A. Diagnósis de enfermedades: sustento técnico. | 18 |
| B. Principales enfermedades y patógenos responsables del cultivo del cacao | 20 |
| C. Estudios de identificación de <u>Phytophthora</u> <u>sp.</u> | 39 |
| D. Estudios sobre variabilidad fisiológica de virulencia y patogenicidad de <u>Phytophthora</u> <u>sp.</u> | 42 |
| III. MATERIALES Y METODOS..... | 53 |
| A. Area en estudio | 53 |
| B. Delimitación del area en estudio..... | 53 |
| C. Lugar de ejecución..... | 55 |
| D. Estudio de identificación y variabilidad de los principales patógenos, causantes de la podredumbre en frutos de cacao | 55 |
| 1. Muestreo..... | 55 |
| 2. Aislamiento..... | 56 |
| 3. Identificación..... | 58 |
| 4. Variabilidad de los patógenos..... | 58 |
| E. Estudio de variabilidad de aislamientos de <u>Phytophthora</u> | 65 |

| | Págs |
|---|------|
| 1. Orientación del estudio y obtención de las muestras..... | 65 |
| 2. Aislamiento e identificación..... | 66 |
| 3. Variabilidad de aislamientos de <u>Phytophthora</u> | 68 |
| IV. RESULTADOS..... | 74 |
| A. Estudio de identificación y variabilidad de los principales patógenos causantes de la podredumbre en frutos de cacao | 74 |
| 1. Identificación..... | 74 |
| 2. Variabilidad..... | 79 |
| B. Estudios de variabilidad de aislamientos de <u>Phytophthora</u> | 114 |
| 1. Variabilidad morfológica..... | 115 |
| 2. Variabilidad fisiológica..... | 117 |
| 3. Variabilidad de patogenicidad..... | 125 |
| V. DISCUSION | 128 |
| A. Del estudio de identificación y variabilidad de los principales patógenos causantes de la pudrición en frutos de cacao | 129 |
| 1. De la identificación | 129 |
| 2. De la variabilidad morfológica, fisiológica y patogénica..... | 131 |
| B. Del estudio de variabilidad de aislamientos | |

| | Págs |
|----------------------------------|------|
| de Phytophthora..... | 140 |
| 1. Variabilidad morfológica..... | 140 |
| 2. Variabilidad fisiológica..... | 141 |
| 3. Variabilidad patogénica..... | 142 |
| VI. CONCLUSIONES..... | 144 |
| VII. RECOMENDACIONES | 148 |
| VIII. RESUMEN | 150 |
| XI. BIBLIOGRAFIA | 153 |
| X. ANEXOS..... | 161 |

RELACION DE CUADROS

| CUADRO | Págs |
|---|------|
| 1 Patógenos seleccionados para el estudio de comparación morfológica, fisiológica y patogénica..... | 59 |
| 2 Aislamientos de <u>Phytophthora</u> seleccionados para el estudio de comparación morfológica, fisiológica y patogénica..... | 69 |
| 3 Aislamientos realizados en el laboratorio de Fitopatología de la Universidad Nacional Agraria de la Selva de muestras procedentes de las diferentes localidades del ámbito del Alto Huallaga..... | 76 |
| 4 Variabilidad morfológica de los patógenos..... | 80 |
| 5 Desarrollo micelial de los patógenos bajo diferentes condiciones de luz..... | 83 |
| 6 Producción de esporas de los patógenos bajo diferentes condiciones de luz..... | 86 |
| 7 Desarrollo micelial de los patógenos bajo diferentes niveles de temperatura..... | 87 |
| 8 Producción de esporas de los patógenos bajo diferentes niveles de temperatura..... | 89 |
| 9 Desarrollo promedio en días del período de infección de las inoculaciones en frutos destacados con los patógenos aislados..... | 91 |

| CUADRO | Págs. |
|--|-------|
| 10 Patogenicidad de <u>Phytophthora palmivora</u> inoculados en diferentes tamaños de frutos destacados de cacao con y sin herida | 92 |
| 11 Patogenicidad comparativa de los patógenos inoculados en diferentes tamaños de frutos destacados de cacao con herida | 94 |
| 12 Desarrollo promedio en porcentaje de la infección externa e interna en frutos destacados inoculados con todos los patógenos aislados.... | 95 |
| 13 Patogenicidad de <u>Phytophthora palmivora</u> inoculado en diferentes tamaños de frutos destacados de cacao con y sin herida, expresado en porcentaje de infección al período de latencia. | 97 |
| 14 Patogenicidad comparativa de los patógenos inoculados en diferentes tamaños de frutos destacados de cacao con herida, expresado en porcentaje de infección al período de latencia. | 100 |
| 15 Desarrollo promedio en días del período de infección de los patógenos inoculados en frutos no destacados de cacao de diferente tamaño con y sin herida..... | 101 |
| 16 Patogenicidad de <u>Phytophthora palmivora</u> inoculados en diferentes tamaños de frutos no destacados de cacao con y sin herida..... | 103 |

| CUADRO | Págs. |
|---|-------|
| 17 Patogenicidad comparativa de los patógenos inoculados en frutos no destacados de cacao de diferentes tamaños con herida..... | 105 |
| 18 Desarrollo promedio en porcentaje de la infección externa e interna de las inoculaciones en frutos no destacados de cacao con los patógenos aislados | 106 |
| 19 Patogenicidad de <u>Phytophthora palmivora</u> inoculados en frutos no destacados de cacao de diferentes tamaños con y sin herida, expresado en porcentajes de infección al período de latencia | 107 |
| 20 Patogenicidad comparativa de los patógenos inoculados en frutos no destacados de cacao de diferentes tamaños con herida, expresado en porcentaje de infección al período de latencia. | 109 |
| 21 Patogenicidad en tallos de cacao de 5-6 meses de edad con disco de micelio-agar de los diferentes patógenos..... | 112 |
| 22 Patogenicidad en brotes de plántulas de cacao con los diferentes patógenos en estudio | 113 |
| 23 Comparación entre características morfológicas y de crecimiento de <u>Phytophthora palmivora</u> , <u>Phytophthora capsici</u> y 5 aislamientos de <u>Phytophthora</u> de cacao. Tingo María | 116 |

| CUADRO | Págs. |
|--|-------|
| 24 Comparación entre características morfológicas del esporangio de <u>Phytophthora palmivora</u> observadas en frutos y placas | 118 |
| 25 Desarrollo micelial correspondiente a los aislamientos de <u>Phytophthora palmivora</u> y <u>Phytophthora capsici</u> | 120 |
| 26 Desarrollo micelial correspondiente a las condiciones de luz de <u>Phytophthora palmivora</u> y <u>Phytophthora capsici</u> | 121 |
| 27 Desarrollo micelial correspondiente a los aislamientos de <u>Phytophthora palmivora</u> y <u>phytophthora capsici</u> bajo diferentes niveles de temperatura..... | 124 |
| 28 Lesiones causadas por los aislamientos de <u>Phytophthora palmivora</u> y <u>Phytophthora capsici</u> bajo tres métodos de inoculaciones en frutos destacados de cacao..... | 126 |
| 29 Lesiones causadas por los aislamientos de <u>Phytophthora palmivora</u> y <u>Phytophthora capsici</u> en plántulas de cacao de 5-6 meses de edad..... | 127 |
| ANEXO | Págs. |
| 1A Resumen de los análisis de variancia de la variabilidad de patógenos..... | 162 |

| ANEXO | Págs. |
|---|-------|
| 2A Resumen del análisis de variancia correspondiente al desarrollo micelial y producción de esporas de los patógenos bajo diferentes condiciones de luz..... | 163 |
| 3A Resumen de análisis de variancia correspondiente al desarrollo micelial y producción de esporas de los patógenos bajo diferentes niveles de temperatura..... | 164 |
| 4A Resumen de los análisis de variancia de la patogenicidad de <u>Phytophthora palmivora</u> en frutos de cacao, expresado en días al período de latencia..... | 165 |
| 5A Resumen de los análisis de variancia de la patogenicidad comparativa de los patógenos en frutos de cacao expresado en días al período de latencia..... | 166 |
| 6A Resumen de los análisis de variancia de la patogenicidad de <u>Phytophthora palmivora</u> en frutos de cacao, expresado en porcentaje de daño externo..... | 167 |
| 7A Resumen de los análisis de variancia de la patogenicidad comparativa de los patógenos en frutos de cacao, expresado en porcentaje de daño externo..... | 168 |

| ANEXO | Págs. |
|--|-------|
| 8A Resumen del análisis de variancia correspondiente al desarrollo micelial de <u>Phytophthora palmivora</u> y <u>Phytophthora capsici</u> bajo diferentes condiciones de luz..... | 169 |
| 9A Resumen de análisis de variancia correspondiente al desarrollo micelial de <u>Phytophthora palmivora</u> y <u>Phytophthora capsici</u> bajo diferentes niveles de temperatura..... | 170 |
| 10A Resumen de los análisis de variancia de la patogenicidad de <u>Phytophthora palmivora</u> y <u>Phytophthora capsici</u> bajo diferentes métodos de inoculaciones en frutos de cacao..... | 171 |
| 11A Resumen de los análisis de variancia de la patogenicidad de <u>Phytophthora palmivora</u> y <u>Phytophthora capsici</u> en tallos de plántulas de cacao con 5 y 6 meses de edad..... | 172 |

RELACION DE FIGURAS

| FIGURA | Págs. |
|--|-------|
| 1 Mapa general de localización de los sectores muestreados para el estudio biológico de los patógenos en el cultivo de cacao..... | 54 |
| 2 Crecimiento de colonias de <u>Phytophthora</u> sp., <u>Crinipellis perniciosa</u> , <u>Lasiodiplodia theobromae</u> , <u>Thielaviopsis paradoxa</u> y <u>Colletotrichum gloeosporioides</u> mantenidos a 28°C | 82 |
| 3 Desarrollo micelial de los patógenos <u>Phytophthora palmivora</u> , <u>Thielaviopsis paradoxa</u> , <u>Lasiodiplodia theobromae</u> , <u>Colletotrichum gloeosporioides</u> , <u>Crinipellis perniciosa</u> bajo condiciones de luz continua..... | 84 |
| 4 Desarrollo de infección externa en porcentaje de los patógenos <u>Phytophthora palmivora</u> , <u>Lasiodiplodia theobromae</u> , <u>Thielaviopsis paradoxa</u> , <u>Colletotrichum gloeosporioides</u> en frutos destacados de cacao de diferentes tamaños | 98 |
| 5 Desarrollo de infección externa en porcentaje de los patógenos <u>Phytophthora palmivora</u> , <u>Lasiodiplodia theobromae</u> , <u>Thielaviopsis paradoxa</u> , <u>Colletotrichum gloeosporioides</u> en frutos no destacados de cacao de diferentes | |

| FIGURA | Págs. |
|---|-------|
| tamaños | 110 |
| 6 Desarrollo micelial de 5 aislamientos de <u>Phytophthora</u> del cultivo de cacao en Tingo María bajo condiciones de luz continua | 122 |
| 7 Desarrollo micelial de 5 aislamientos de <u>Phytophthora</u> del cultivo de cacao en Tingo María bajo temperaturas de 10 y 25°C | 122 |

I. INTRODUCCION

El Cacao (Theobroma cacao L.) es uno de los principales cultivos de importancia para nuestro país, pues las almendras y los derivados del mismo constituyen una fuente de divisas.

Con la expansión de la actividad cacaotera los problemas fitosanitarios también asumieron gran importancia. Las enfermedades fungosas son responsables por los mayores daños que ocasionan al cultivo del cacao en el Alto Huallaga, éstas causan infecciones sobre los frutos, tronco, hojas, plántulas en vivero, etc., entre tanto son mas perjudiciales al fruto por interferir directamente con la producción (41)

Patógenos tales como Phytophthora sp., Lasiodiplodia theobromae., Colletotrichum sp., Crinipellis perniciosa entre otras, han sido citados como causadores de pudriciones en frutos (15,21,29). A pesar de su antigüedad, ningún estudio biológico ha sido realizado en nuestra región, de allí la relativa importancia que se le da a cada uno de los patógenos según la propia apreciación o criterio del investigador y/o productor del cacao.

Hoy en día es reconocido que por lo menos 7 especies de Phytophthora pueden causar la enfermedad conocida como

"Podredumbre parda" de los frutos de cacao (12,13,36,54).

En el Perú, toda la literatura menciona a Phytophthora palmivora como responsable de la enfermedad y solo recientemente RIOS (42) identificó a las especies de P. palmivora y P. capsici como presentes en el Alto Huallaga.

Una perfecta concientización de la importancia del agente causal de una enfermedad implica, primeramente, en realizar su debida identificación, determinando diferencias morfológicas, fisiológicas o de virulencia y de patogenicidad en los diferentes órganos de la planta; de modo que permita el establecimiento de medidas racionales de control.

Dado la importancia que poseen los patógenos que causan podredumbre en los frutos de cacao en la región, como factor limitante de la producción se ha iniciado estudios de biología y de variabilidad tanto en condiciones controladas como en campo teniendo los siguientes objetivos:

1. Identificar y caracterizar a los patógenos que causan podredumbre de frutos de cacao en Tingo María.
2. Determinar la variabilidad morfológica, fisiológica y patogénica de los patógenos que producen podredumbre.

3. Determinar la variabilidad de las especies de Phytophthora asociada con el cultivo de cacao, identificadas en Tingo María.

II. ANTECEDENTES

A. DIAGNOSIS DE ENFERMEDADES - SUSTENTO TECNICO

La diagnosis de una enfermedad depende principalmente de la observación de los síntomas de la enfermedad y de la presencia de un agente patogénico sobre el tejido enfermo (14).

La diagnosis de enfermedades permite la aplicación de medidas efectivas de control y por lo tanto mejora los resultados de la práctica de manejo de un cultivo. Se debe considerar como el primer paso que hay que cumplir en un programa de manejo de enfermedades en una determinada zona o región. No puede pensarse en ejecutar un programa de manejo si es que no contamos con un buen plan permanente de diagnosis, ya que este proporcionará bases sólidas para su efectivo cumplimiento (41).

La diagnosis es un arte pero debe ser sustentado por una investigación científica, lo que incrementará la previsión, objetividad y velocidad de diagnosis y reduce la dependencia a un juzgamiento intuitivo. El procedimiento de diagnosis debe seguir los siguientes postulados de Koch (14): 1. Una macroscópica observación de los síntomas y, si estuviera presente los signos del patógeno. 2. Examen microscópico del tejido

enfermo. 3. Aislamiento y purificación del patógeno. 4. Inoculación en el hospedero para observar los síntomas de la enfermedad.

Una diversidad de factores pueden causar síntomas confusos y muchas veces similares. Así marchitez, canchales, pudrición de raíces, etc. son causados por más de un grupo de organismos o varios factores abióticos, por lo tanto la diagnosis deberá enfocarse cuidadosamente (14).

El manejo de una enfermedad va siempre acontecido por un cuidadoso reconocimiento del patógeno. Por ello para una buena diagnosis es necesario conocer: a) Crecimiento del cultivo y prácticas de su manejo, b) Reconocimiento de los problemas que afectan la producción. La diagnosis de plantas debe seguir un procedimiento lógico; este proceso es esencialmente el método científico: 1. Observar el problema, 2. Formulación de hipótesis para explicar la observación, 3. Prueba de hipótesis, y 4. Aceptación o revisión de la hipótesis (25).

El diagnóstico de enfermedades de plantas requiere la ejecución de varios pasos consecutivos, que pueden variar según las circunstancias, pero generalmente consiste en los siguientes: a. Observación de síntomas, b. Determinación de las circunstancias particulares del

caso; c. Observación de señas de patógenos; d. Correlación de lo observado con la bibliografía pertinente y e. Aislar, probar su patogenicidad e identificación del patógeno (24).

Entre los patógenos más frecuentes en los trópicos, son los hongos y bacterias. La identificación de hongos, está dada por sus características morfológicas tales como hifa vegetativa, estructura reproductivas, así como color, septación de esporas, etc.

El examen microscópico del tejido afectado puede demostrar estructuras de fructificación del hongo y por lo tanto su diagnosis. Si la fructificación no está presente, éste puede incitarse usando cámaras de incubación del tejido puro (4).

B. PRINCIPALES ENFERMEDADES Y PATOGENOS RESPONSABLES DEL CULTIVO DEL CACAO.

1. Escoba de bruja (Crinipellis perniciosa (Stahel) (Singer))

a. Importancia económica y distribución geográfica

Esta enfermedad es considerada una de las más importantes del cultivo de cacao en los países en donde existe. Después de su aparición ha causado serios

perjuicios económicos en los países productores, siendo los más afectados Surinám, Trinidad, Colombia y Venezuela, en los cuales ha ocasionado pérdidas superiores a 50% en la producción. Pérdidas del 70% de los frutos ha sido observados en áreas no controladas en Trinidad (23).

En el estado de Rondonia Brasil, ya fueron registrados en algunas fincas pérdidas de hasta el 90% de la producción en los meses de junio-julio, constituyéndose la enfermedad en el principal factor limitante para la expansión del cultivo de cacao en la región (3,45).

b. Sintomatología y Modo de acción

Los síntomas característicos de la enfermedad se manifiestan en forma de hipertrofías y otras anormalidades a nivel de tejidos meristemáticos en crecimiento, tales como los brotes vegetativos, cojines florales y frutos (3).

La infección de brotes en estado inicial de desarrollo, de cojines florales y de frutos jóvenes, lleva a la hipertrofia, reducción del tamaño de hojas, proliferación anormal de brotación axilar, crecimiento de brotes vegetativos en los cojines y distorsión de los frutos (3,9).

Los cojines florales infectados

forman un aglomerado de flores anormales, hipertrofiados, de pedicelo grande e hinchado, que solo dan origen a frutos enfermos o abortan. Los frutos que se forman mueren prematuramente o crecen anormalmente (3,6).

Frutos infectados muestran una variedad de síntomas que dependen del tipo de infección y edad del fruto en el momento de la infección. Los frutos que son infectados cuando tienen de 2-5cm. de longitud se tornan hinchados y deformados y maduran precózmemente. Frutos infectados en estados mas desarrollados (8cm), presentan cuando adultas, una mancha negra dura mas o menos circular, con el desarrollo de la infección se tornan secos y duros; en estos puntos los tejidos se encuentran internamente afectados, con las almendras dañadas y adheridas entre sí, la cáscara presenta una pudrición seca y acuosa dependiendo de la variedad y edad del fruto (3,6,23,47).

La fase más susceptible de los frutos a la infección es de 1-3 meses de edad (3).

En relación a las condiciones ambientales se ha demostrado el papel y la importancia del agua en el desarrollo de la escoba de bruja, el agua líquida es esencial para la infección, siendo necesario humedad relativa próxima al punto de saturación para lograr germinación de esporas (8).

Los mecanismos por los cuales se produce cambios en los patrones de crecimiento y la formación de estructuras anormales, en muchos casos, se desconocen, pero en numerosas acciones se ha demostrado que hay cambios en las concentraciones de las hormonas del crecimiento. Las auxinas, las citoquininas y las giberelinas, inducen el crecimiento de la planta a través de medios como estimulación de la división celular y alargamiento celular. Los síntomas de producción excesiva de brotamientos en escoba de bruja pueden ser causados por la producción de estimuladores de crecimiento o sustancias como auxina por el patógeno. Así KRUPA SSAGAR Y SEGUEIRA (28), demostraron que el hongo produce en medio de cultivo dos diferentes oxidasas de ácido indol acético y una polifenol oxidasa (Laccase), sugiriendo que la respuesta del hospedero puede ser resultado de la producción de este sistema de auxinas inactivados.

BASTOS Y ANDEBRAN (8), detectaron la presencia de giberelinas en estrato de basidiosporas y, considerándose que las esporas son parasíticas y monocarióticos como el micelio encontrado en escobas verdes, parece, entonces, ser el mecanismo de formación de escobas relacionando con la capacidad de producción de giberelinas por el hongo en los tejidos de la planta.

A decir de MANNERS (33), la escoba de

bruja del cacao puede deberse a una falta de dominación apical resultado de la síntesis activa de la AIA oxidasa por éste patógeno.

c. **Etiología, Identificación y aspectos biológicos**

Crinipellis perniciosa (Stahel)

Singer es un hongo de la clase Basidiomycetos, orden Agaricales, familia Agaricaceae. En 1,915 STALL determinó que la causa de la infección era un hongo aún no descrito, perteneciente al género Marasmius, el cual él lo denominó Marasmius perniciosa. En 1,942 SINGER realiza una revisión del género y lo reclasifica como Crinipellis perniciosa. Posteriormente, DENIS en 1,951 confirma esta clasificación (6).

Los basidiocarpos producidos por C. perniciosa presentan un pileo, variando de coloración de blanco a rojo oscuro. El diámetro del pileo varia de 2-38mm. En el interior del basidiocarpo se producen las basidiosporas hyalinas, que miden 10 - 11 x 4 - 5µ. (3,23).

Cada basidiocarpo libera en las primeras horas de la mañana debido a una caída en la temperatura y un aumento de la humedad relativa, millones de esporas que son fácilmente diseminadas por el viento (3,23). Liberados los basidiocarpos, estos son llevados

por las corrientes de aire hasta los sitios de infección (tejidos meristemáticos del cacao), iniciándose el proceso de la patogénesis (23).

La formación de las esporas es rápida, iniciándose después de una hora de la infección y completándose 4 horas después, siempre que haya saturación de humedad. Las esporas penetran a los tejidos tiernos del hospedero y forman micelio intercelular, lo cual provoca hipertrofia o hiperplasia (23).

En brotamiento y flores, los síntomas aparecen 4-6 semanas y en los frutos 8-10 semanas, después del inicio de la infección. Después de la muerte fisiológica del tejido afectado las esporas entran en un período de dormancia que varía de 4-6 meses, siendo interrumpido con la llegada de las lluvias que activan las esporas para la producción de basidiocarpos, iniciando un nuevo ciclo del patógeno. El tiempo entre la muerte de los tejidos y el inicio de la producción de basidiocarpos, o sea el período de incubación, varía de 2-16 meses, en el Ecuador el promedio es de 8 meses y en el Brasil de 6 a 7 meses (23).

Solamente después de la necrosis el hongo puede completar su ciclo de vida. Los brotes con escobas secas los frutos y las hojas muertas, cuyos tejidos fueron colonizados son capaces de producir

basidiocarpos. Estos también han sido observados en pedúnculos viejos de los cuales se han cosechado frutos infectados (23).

Una vez que la escoba comenzó a producir basidiocarpos, puede continuar produciéndolos regularmente, en condiciones de humedad óptima, por 2 años o más. Escobas extraídas de los árboles producen significativamente menos basidiocarpos que las escobas colgadas en los árboles (23).

Según varios autores, la precipitación pluviométrica es el factor más importante para inducir a las escobas secas a producir basidiocarpos. Indican además que altas precipitaciones constantes o períodos secos prolongados inhiben la formación de basidiocarpos. Lo ideal para una producción de basidiocarpos es una precipitación entre 1,500 a 2,500mm. anuales, temperaturas 15 a 29 grados centígrados y humedad relativa próxima al punto de saturación (3,23). En un estudio comparativo de crecimiento micelial "in vitro" y de patogenicidad de diferentes aislados de Crinipellis perniciosa fue realizado en Brasil, la capacidad patogénica de los aislados fue determinado en plantas del género Theobroma spp., herrania sp. y de las solanaceas tomate (Lycopersicum esculentum mill) berengena (Solanum melongena L.) y jiló (S. gilo), a través de inoculaciones

artificiales, usando bloques de agar conteniendo basidiosporos del patógeno. Observándose diferencias marcadas en el crecimiento radial de las colonias en la patogenicidad de los diferentes aislados. Los aislados de cacao fue patogénico para cacao, cacaui y herrania, en cuanto los aislados de cupuazu no fue patogénico para cacao, más fue patogénico para todos los demás Theobroma spp. y Herrania sp. asimismo los aislados de liana y jucara (S. rugosum Dun) presentaron una débil o ninguna actividad patogénica para los Theobroma spp. por ello revelaronse altamente patogénico a herrania, tomate y jiló. Por otro lado, ninguno de los aislados de Theobroma spp. fue patogénico a las solanaceas (7).

2. Podredumbre Parda de la Mazorca (Phytophthora sp.)

a. Importancia Económica y distribución geográfica

La podredumbre parda o pudrición de Phytophthora en frutos de cacao es una enfermedad común en todos los países productores de cacao, aunque la naturaleza e importancia de los destrozos que provocan, varían de un país a otro, es responsable de una pérdida de más de 30% de la cosecha (26).

En Costa Rica la pudrición de la

mazorca se manifiesta con una intensidad aproximada del 50% y mas del 50% en México, aunque de menor gravedad en el Brasil se estima que de 20 a 25% de la pudrición queda destruida. Sin embargo en Trinidad, Venezuela, Surinám, República Dominicana y en Africa, en algunas plantaciones la enfermedad afecta a casi la totalidad de la producción, con menor severidad en Costa de Marfil y en Ghana, sin que por ello dejen de ser despreciables (26).

Esta enfermedad al atacar a los frutos de toda edad, provoca su podredumbre pero también es responsable del ataque a las hojas y de la formación de canchales sobre las ramas y troncos del árbol. Esto ha motivado que desde muchos años sea objeto de estudio en sus diferentes fases, dentro de sus aspectos biológicos. Desde algunos años se reconsidera las concepciones que se admitían en lo que concierne de las poblaciones del agente causal: Phytophthora sp.

b. Sintomatología y Modo de acción

La enfermedad ataca inicialmente a los frutos en cualquier punto de su superficie y en cualquier fase de su desarrollo, pero característicamente se inicia en la punta del fruto ó en la parte terminal del pedúnculo, extendiéndose de allí al resto del fruto. El tejido infectado es de color pardo y la línea de demarcación entre el tejido sano y en enfermo es abrupta.

La infección se extiende rápidamente y puede destruir la mazorca entera en pocos días. El contenido de la mazorca puede estar destruida ya sea total o parcialmente por una podredumbre color café.

El ataque temprano generalmente inutiliza totalmente las semillas, pero si es tardía, lo hace solo parcialmente. La misma situación se manifiesta con los canchros sobre las ramas o sobre el tronco, en la inserción del fruto. Al principio, la lesión no es visible al exterior, ya que solo compromete al cambium y a los haces liberianos y leñosos; cuando la invasión alcanza la corteza y produce necrosis es cuando se manifiesta el verdadero cancro, el cual termina por destruir la rama (15,26).

La enfermedad se inicia en las mazorcas con la aparición de una mancha de color ébano que se extiende con rapidez y puede recubrir progresivamente toda la superficie de la mazorca. En tiempo húmedo la mazorca se recubren con un fieltro miceliano blanquecino, La progresión de la enfermedad hacia el interior de los tejidos del fruto es mucho más lento y si la mazorca está próximo a la madurez, puede hacerse la cosecha sin que las habas resulten dañadas. Pero si el ataque afectó a una mazorca más joven, en la que la enfermedad ha profundizado internamente hasta

alcanzar a las habas, éstas se vuelven inutilizables. El examen del fieltro miceliano que recubre la mazorca enferma revela la presencia de numerosos esporangios, que son órganos de reproducción asexual del hongo. Los esporangios liberan zoosporas ciliadas que dispersados por el agua el viento o los insectos, pueden contaminar nuevos frutos (15,26).

TARJOT citado por GREGORI (26), analizó la anatomía general de los tejidos del pericarpio de los frutos de cacao y su invasión cuando es inoculado con el patógeno a través de estudios histopatológicos. Encontró que después de 7 horas de la deposición de zoosporas aparecen los primeros síntomas. El parásito además de pasar las capas epidermales logra alcanzar la primera capa de las células pequeñas del parénquima. Las células que están en contacto con las hifas infectivos entonces cambian a una coloración marrón y el contenido celular se forma de una apariencia finamente granular. El progreso del parásito puede entonces continuar por medio de las células necróticas.

La infección de la podredumbre parda, a través de varios estudios, han determinado que se da mediante la producción de enzimas pectolíticas y celulolíticas producidas por el patógeno. De allí que el mecanismo de la resistencia a *P. palmivora* es objeto de

estudios bioquímicos que permiten poner de manifiesto el papel de algunos compuestos fenólicos producidos por los tejidos de la mazorca y que jugarían un papel inhibitor de las enzimas antes indicadas (32).

En otros estudios MEIFFREN y TANGUY (34), encontraron que la infección de los varios tipos de mazorcas por *P. palmivora* produce un aumento del contenido de polifenoles, sobre todo de flavanos y especialmente de taninos condensados en las zonas sanas que bordean el tejido necrótico. Para saber si dichas sustancias fenólicas desempeñan un papel en el momento de la penetración del patógeno y de la invasión de los tejidos, fue estudiada in vitro su acción sobre el hongo. Se revelaron fungistáticas y los autores dan la concentración mínima inhibidora para algunas de dichas sustancias.

Ya que la mayor parte de los compuestos aislados del epicarpio son fungistáticos se puede pensar que el cacao resistente a *P. palmivora* que se busca llevaría, o podría producir en los tejidos de sus frutos dosis de sustancias fenólicas capaces de inhibir el desarrollo de *P. palmivora* (34).

c. Etiología, Identificación y Aspectos Biológicos

Una especie de *Phytophthora* fue

aislado de cacao por primera vez como causante de la podredumbre parda por MASSEE en 1,899 y el hongo fue después clasificado como Phytophthora palmivora por BUTLER en 1,919.

Por cerca de 80 años P. palmivora ha sido descrito por todos los investigadores en el mundo como el agente causal de la podredumbre parda del fruto y cancro de Theobroma cacao, ha sido además reconocido como una de las especies de Phytophthora más distribuido en cuanto a su distribución geográfica y de los hospederos, además de cacao muchas otras plantas también son hospederas como jebe, cítricos, algodón, papaya, palma aceitera (54)

La importancia del conocimiento de las especies de Phytophthora responsables de la podredumbre parda en una determinada zona región o país esta relacionado a las pruebas de resistencia en el área de estudio o de interés. Este desconocimiento a conducido a pruebas confusas de resistencia en el pasado. El conocimiento de la ocurrencia de esas diferentes especies en cacao complican la situación, sin embargo nos permite que el problema se torne más realísticamente cuando el patógeno ó. los patógenos cubiertos son identificados (54).

La historia de clasificación de las

especies de Phytophthora relacionado con cacao es muy amplia y pasa por una serie de etapas: según MOWELL (1,923) citado por CAMPELO y LUZ (16), en 1,727 se notificó la ocurrencia de una epidemia de quemado de frutos en Ceilan y en 1,833 un tipo de cancro en cacao. En 1,899 MASSEE identificó, en Trinidad un agente etiológico de esas enfermedades como P. palmivora de Bary habiendo sido su patogenicidad en frutos de cacao comprobado por Hart (50). A partir de entonces tuvieron inicio las controversias sobre la identificación de las especies del género Phytophthora patogénica a los frutos de cacao.

MAUBLANC (1,909) describe una especie nueva de Phytophthora en cacao y la denomina Phytophthora faberi Maublanc (48,50). En 1,910, Según Waterhouse (50), Coleman clasificó al agente causal de pudrición parda de cacao como Phytophthora theobromae. Por otro lado BUTLER, en 1,907, describe Pythium palmivora Butler causando pudrición del "ojo" en Borassus Flabellifer la cual posteriormente (Butler, 1,919), después de nuevos estudios fue transferida para Phytophthora palmivora (Butler) Butler. Más tarde (1,925), el mismo autor compara P. palmivora y P. faberi y la considera idénticas, pasando a primar el binomio propuesto por el en virtud de ser el más antiguo (48,50).

ORELLANA citado por Campelo y . LUZ (16) al examinar aislados de Phytophthora palmivora de cacao y jebe, encontró grandes variabilidades entre los mismos cuando fueron cultivados en diferentes medios de cultivos. Las diferencias morfológicas, fisiológicas y patogénicas encontradas llevó al autor a proponer la reclasificación de los aislados de cacao y jebe descritos por Coleman (1,910) y por Thompson como P. palmivora Butl. var. Theobroma (colem) Orellana, y P. palmivora Butl. Var. Heveae (Thomps.) Orellana respectivamente. Según Waterhouse (50) ambas "taxa" ilegítimamente constituidos de acuerdo al código de Nomenclatura Botánica.

Posteriormente, tipos morfológicos de Phytophthora palmivora fueron reconocidos por varios investigadores. WATERHOUSE (50), describe dos tipos morfológicos para Phytophthora palmivora, además de la forma piper, confirmando que cada una de ellas puede presentar dos tipos comparativos A1 y A2. En éste trabajo son clasificados como Phytophthora palmivora Sensus Butler, los tipos morfológicos MF1 y MF2, formas típicas y atípicas respectivamente. Durante el Workshop Phytophthora cocoa, realizados en Inglaterra en 1,976, fueron conceptuados los tipos morfológicos MF1, MF2, MF3, y MF4 de Phytophthora palmivora . En este encuentro

establecieron criterios para identificación de estos tipos morfológicos, siendo la longitud de pedicelo del esporangio considerando un carácter taxonómico valioso (27).

En proseguimiento de la investigación con aislamientos de Phytophthora palmivora, Zentmeyer et,al. (52) examinaron 300 cultivos, originalmente identificados de Africa, América y Asia. Los estudios indicaron que existe tres (posiblemente cuatro) grupos aislados de cacao referidos como P. palmivora. En el grupo I se encontró el tipo común, aislados en cualquier área cacaotera del mundo, incluyendo tipos compatibles A1 y A2; los esporangios de esos aislamientos poseen pedicelo cortos (menor de 5µ de longitud) siendo, por tanto idénticos a MF1 de Waterhouse (50). El grupo II restringido al oeste de Africa, corresponde a MF3 tipo compatible A1; descrito en workshop Phytophthora cocoa. En éste grupo los esporangios presentan pedicelos intermediarios (5-15µ de longitud). En el grupo III, con esporangios de pedicelos largos (mayor de 15 µm). a veces hasta con 250µm.

En este grupo presenta los tipos compatibles A1 y A2 habiendo sido designado como MF4 en Workshop Phytophthora cocoa (27) y como P. capsici por Zentmeyer, et al. (53).

En el Perú RIOS (42) cita referencias de la ocurrencia de la podredumbre parda y las especies relacionadas.

De esto podemos indicar que CONSUELO BAZAN (11) en su libro de Enfermedades menciona a Phytophthora palmivora Butler como agente causal de la podredumbre de frutos en cacao indicando ser una de las enfermedades mas serias y ampliamente diseminada en todas las zonas donde se cultiva el cacao. Se encuentra relatada aquí algunas características morfológicas del tamaño de las estructuras del hongo (11).

Todos los autores de trabajos relativos a podredumbre parda del cacao en el Perú y la zona de Tingo María mencionan a Phytophthora palmivora como agente causal de esa enfermedad.

Entendiendo a las consideraciones anteriores muchas instituciones y sus investigadores en el mundo han dedicado tiempo y esfuerzo al estudio de las especies responsables de la podredumbre parda del cacao; BABACAUCH Y PARTIOT (4,5), BRASIER Y GRIFFIN (12), BRASIER et.al. (13) CAMPELO y LUZ (16), DJIEKPOR et. al. (19), MONTES-BELMONT Y DE LOS SANTOS (36), SREENIVASAN Y CHANDRA MOHANAN (46), WATERHOUSE (50), ZENTMEYER (54). A decir de ZENTMEYER (54), durante los últimos 10 años, la taxonomía del hongo ha crecido drásticamente. Es así que

hoy en día es reconocido 7 especies de Phytophthora causando la podredumbre parda. Tres (3) de esas especies como ya fue mencionado fueron reconocidos como distintos en la primera reunión del "Workshop" Phytophthora cocoa, efectuada en Inglaterra en 1,976 (54); la cuarta especie Phytophthora citrophthora, identificada en Itabuna por CAMPELO Y LUZ (16); una quinta especie P. megasperma descrita en Venezuela por de Reyes citado por ZENTMEYER (54). La sexta especie P. heveae descrita en Itabuna Brasil por LUZ, SILVA y MITCHELL (20) y una séptima especie P. nicotianae identificada en México por MONTES-BELMONT Y DE LOS SANTOS (36).

Varias características distinguen esas especies (4,12,13,16,38). Una de los criterios es la longitud del pedicelo esporangial; 3 de las especies citados anteriormente tienen esporangios desiguos, con pedicelos de variada longitud. Phytophthora palmivora (designado en la MF1 en la Workshop) tienen pedicelos cortos (1-5 micras). Phytophthora megakaria (MF3) tiene un pedicelo de longitud intermedia. Phytophthora capsici (MF4) tiene un pedicelo esporangial muy largo de 30 a 200u. Otras características que diferencian son: Tamaño y número de cromosomas, morfología de la colonia presencia o ausencia de clamidosporas, morfología del esporangio. P. palmivora tiene de 9-12 pequeños cromosomas tan igual

que P. capsici en cambio P. megakaria tiene de 5-6 cromosomas más grandes, aislamientos de P. palmivora presentan colonias estrelladas y estriados con micelio escaso y bordes definidos. Aislamientos de P. megakaria usualmente tienen una colonia bien diferente morfológicamente muy aéreo, afelpado y frecuentemente micelio con apariencia algodonoso - lanoso con predominancia de un padrón cameloide. P. capsici es mas similar a P. megakaria que a P. palmivora con colonias petaloides, micelio denso y borde no definido, P. citrophthora presentan colonias en forma de crizantemo con micelio cotonoso.

Las principales especies en cacao P. palmivora, P. capsici, y P. megakaria tienen diferencias en cuanto a la producción de clamidosporas. P. palmivora y P. megakaria normalmente forma clamidosporas en medio de cultivo, en cambio aislamiento de P. capsici no lo forma. En cuanto a los esporangios en P. palmivora y P. megakaria estos son abundantes en medio de cultivo, desiguos no proliferando internamente, miden cerca de 43.0x27.7 milimicras con una taza baja de longitud/ancho sobre agar alrededor de 1.3 - 1.4. Entre tanto P. capsici son usualmente alargados con una taza de longitud/ancho de 1.6 - 1.9, aveces hasta 2.2.

La formación del esporangio en P.

capsici es en forma de umbela entre tanto los esporangios en P. palmivora son formados sobre un simpodio P. citrophthora tienen esporangios persistentes no desiduos siendo normalmente diferente a las otras especies causando podredumbre parda de los frutos. Presentan esporangios abundantes en medio solidos midiendo en promedio 66 x 38um con una tasa de largo/ancho igual a 1.7.

P. nicotianae, presenta micelio de aspecto algodonoso, sin mucha abundancia de hifas. Esporangios esféricos ovoides. Pedicelo desiduo en algunas cepas, generalmente muy pequeño de 2 u. Crece a 35 °C.

C. ESTUDIOS DE IDENTIFICACIÓN DE Phytophthora sp.

CAMPELO y LUZ (16) en el Brasil en las regiones cacaoteras de Bahía y Espírito Santo el hongo Phytophthora palmivora (Butler) Butler a sido referido como el responsable de la pudrición parda en cacao. en un levantamiento efectuado en esas regiones durante los años de 1,978-1,980 donde analizaron 2,420 aislamientos de Phytophthora donde 1,840 fueron del estado de Bahía 580 del estado de Espírito Santo, evidenciándose la predominancia de P. capsici Leonian (anteriormente designada como P. palmivora MF4) en frutos de cacao,

cerca de un 95% de aislamientos efectuados de P. palmivora Sensu Stricto (P. palmivora MF1) ocurre cerca de 30% de aislados, habiendo sido también marcados en plántulas en viveros, causando cancro en plantas adultas posteriormente registrándose una tercera especie, Phytophthora citrophthora (Smith) Leonian, patogénica en frutos de cacao (2.0%) y también en tallos de cacao adulto. Estos resultados en forma parcial, evidencian que P. capsici es el principal agente causal de la pudrición parda de los frutos de cacao en los Estados de Bahía y Espírito Santo, Brasil (16).

DJIEKPOR et. al. (19) en Togo-continente Africano en un estudio "In vitro" de las partes aisladas de los frutos del cacao con evaluaciones de las características de la colonia, morfología de los esporangios, crecimiento sobre mazorcas y sobre medios de cultivos, esporulaciones en el campo, signo de compatibilidad y observación de los cromosomas, determinaron que 2 de las especies de Phytophthora descrita en cacao se encuentra presentes en este país. P. palmivora que se encuentra localizado en la parte Noroeste y el Sur Kloto (Kloto I) y P. megakaria en el límite, Adelé y la parte nor este del Kloto (Kloto II) (19).

BABACAUH Y PARTIOT (4) en costa de Marfil con

estudios morfológicos, fisiológicos y Bioquímicos de diferentes aislamientos de Phytophthora en frutos de cacao distinguió 2 tipos de especies: P. palmivora que además del cacao fue patogénico en el mango y P. citrophthora clasificado temporalmente en este trabajo como tal, parásito de jebe e infectivo también a cacao y mango (4)

SREENIVASAN y CHANDRA MOHANAN (46) en la india en un estudio conducido en 1,983. para identificar la especie de Phytophthora asociado con cacao en el Sur de Kanara distrito de Karnataka obteniendo aislamientos de hojas, brotes tiernos, frutos y suelo encontraron solamente una especie que es Phytophthora palmivora por la morfología del esporangio de los varios aislamientos asociados con cacao en Sur de Kanara (46).

MONTES - BELMONT Y DE LOS SANTOS (36), identificaron en México a P. citrophthora, como prevaescente, además de P. capsici, P. palmivora, y P. nicotianae.

En el Perú solo recientemente RIOS (42) identificó a P. palmivora como prevaescente y además a P. capsici como responsables de la podredumbre parda en cacao en la región del Alto Huallaga.

D. ESTUDIOS SOBRE VARIABILIDAD FISIOLÓGICA DE VIRULENCIA Y PATOGENICIDAD DE Phytophthora sp.

Las investigaciones sobre la variabilidad de cultivos de P. palmivora en todas las regiones cacaoteras del mundo tuvieron lugar desde hace muchos años. Podemos entonces indicar que muchos estudios de variabilidad fueron realizados cuando solo se creía que P. palmivora era la única especie responsable por la pudrición de Phytophthora en frutos de cacao. Así como investigaciones recientes fueron ya realizados después del conocimiento de que varias especies están asociados a la podredumbre parda del fruto de cacao. Entonces al verificarse la existencia de diferencias en la morfología, fisiología y patogenicidad entre aislamientos de Phytophthora sp. y habiendo en los últimos años comprobado la existencia de por lo menos 7 especies en frutos asociados con el complejo pudrición parda en el mundo, a seguir tratamos de revisar estudios sobre variabilidad de Phytophthora contando con la literatura disponible.

MONTES, RAM y MEDEIROS (35), en Brasil, establecieron comparativamente cinco aislamientos de Phytophthora: tres de P. palmivora y dos de P. cactorum. En cuanto a P. palmivora cada cepa tuvo un comportamiento diferente respecto a su crecimiento "in vitro" y pH y los tres mostraron velocidades de colonización en los frutos

de cacao, superiores a los observados con P. cactorum.

ROCHA Y MANCO (43), comprobaron la existencia de diferencias fisiológicas entre aislamientos de P. palmivora al probar aislados de frutos, cojín floral y hoja del cacao, observando que el aislamiento de hojas fue más virulento que los demás. Estos aislamientos cuando sometidos a diferentes temperaturas, encontraron que el aislado de hojas de cacao también fue el que más desarrollo.

ROCHA Y MACHADO (44), verificaron que la influencia de la luz asociado a temperatura y humedad relativa actúan en forma conjunta en la esporulación de P. palmivora en frutos de cacao.

CAMPELO, LUZ y RESNICK (17), determinaron la virulencia de Phytophthora citrophthora, P. palmivora, P. capsici inoculadas en frutos y tallos de plántulas de cacao con 5 meses de edad, mostrándose P. citrophthora ser más virulento que P. palmivora y P. capsici en frutos de cacao. En cambio en plántulas el más virulento fue P. palmivora seguida de P. citrophthora y P. capsici en forma descendente. Esto fue asimismo confirmado por LAWRENCE, LUZ Y RESNIK (29).

BABACAUH Y PARTIOT (4), determinó a través de su estudio sobre variabilidad morfológica, fisiológica y patogénica que las poblaciones de Phytophthora sp. en

Costa de Marfil, presentan características heterogéneas.

LUZ Y CAMPELO (31), estudiaron el efecto de la temperatura en el desarrollo y esporulación de *P. capsici*, *P. palmivora* y *P. citrophthora*. Las curvas de crecimiento para las tres especies mostraron que *P. palmivora* se desenvuelve mejor que las otras en un rango de 20-32 grados centígrados sus límites de crecimiento fueron: máximo en torno de 35 grados centígrados y mínimo entre 5-8 grados centígrados. En cuanto a su sensibilidad mostrose más sensible a temperaturas bajas (5-18 grados centígrados), *P. capsici* fue la única especie que presentó habilidad para desenvolverse a 5°C, siendo los límites de su curva de crecimiento entre un rango de 5 y 35 grados centígrados, *P. citrophthora* 5-8 grados centígrados (mínimo) y (32-35 grados centígrados) máximo. En cuanto a la esporulación, *P. capsici* produjo mucho más que las otras especies. En un rango óptimo (27 grados centígrados), dos veces más que *P. palmivora* y ocho veces más que *P. citrophthora*. Entre, un mínimo de esporangios maduros, aptos a producir zoosporas, decreció considerablemente en intervalos de 27-30 grados centígrados siendo nulo a 32 grados centígrados, *P. palmivora* presentó límites para producir zoosporas en torno de 20 grados centígrados (mínimo) y entre 32-35 grados centígrados (máximo). La producción de zoosporas

de *P. citrophthora* fue más reducido, asimismo la temperatura óptima (27 grados centígrados) de su curva de esporulación (31).

Las fases del ciclo de vida del hongo son: micelio, clamidosporas, esporangios, oosporas y zoosporas. El micelio visto al microscopio es fino hialino, de 2 a 6 micras de diámetro, crecen en abundancia en las mazorcas, hojas y ramas; las hifas invaden las células del pericarpio de los frutos afectados. Las clamidosporas, estructuras de conservación del hongo, tienen un rol muy importante en el parasitismo durante el período seco del año, cuando condiciones externas son desfavorables. La germinación de las clamidosporas tiene lugar después de la primera y segunda semana en medios de cultivos (agar), su diámetro esta entre 50-70 micras (50).

La reproducción sexual por esporangio y zoosporas, es la forma más importante de multiplicación. El esporangio aparece en las mazorcas afectadas aproximadamente a los 4 a 6 días después del desarrollo de la lesión, como una fina capa o cubierta blanquecina, los esporangios poseen esporangióforos que tienen la forma ovoide o piriforme, su color varía de hialino y amarillo claro pálido, su tamaño varía por las condiciones en que se desarrolla y por las diferentes

razas o formas del patógeno. La alta concentración de CO₂ y la alta humedad relativa (100 %) inhiben la formación de esporangios en las mazorcas afectadas, en ausencia de CO₂ la humedad relativa favorable es 80%. La luz es positiva en la producción de esporangios, la temperatura óptima para su formación esta entre 25-30 grados centígrados. El esporangio puede germinar en forma directa o indirecta; directa a través de un nuevo micelio o un esporangio secundario; indirectamente con la producción de zoosporas (50).

En presencia de agua, las zoosporas son expulsados en promedio de 15-30 por esporangio maduro; la liberación es rápida y la germinación puede ocurrir a una hora y media. La temperatura de agua en contacto ideal para la liberación de zoosporas esta entre 15 y 18 grados centígrados, entre 23-25 grados centígrados, el número de zoosporas liberadas es mucho mas pequeña y a 28 grados centígrados la liberación es nula. Después de liberados las zoosporas, el tubo germinativo aparece a 2 horas y media a temperaturas de 24-26 grados centígrados; después de 2-4 horas ocurre el máximo de germinación. El óptimo de temperatura esta entre 28-30 grados centígrados. La luz no tiene un rol importante en la germinación. Los exhudados de la mazorca tienen una influencia atractante sobre las zoosporas; esta sustancia incluye aminoácidos

(DL-ácido aspártico, L.Glutamina, DL-Serina, DL-Threonina), y azúcares (Fructuosa, glucosa, y sucrosa). Las oosporas no han sido observados en la naturaleza, solamente en medios nutritivos (50).

Las principales fuentes de inóculo primario para *Phytophthora sp.*, son muchos entre las que se tienen al suelo, la mazorcas momificadas, los cojines florales infectados, la corteza del árbol, epífitas, chupones y brotes de cacao que crecen cerca del suelo (47,50).

3. Antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz)

a. Importancia económica y distribución geográfica

Es una enfermedad igualmente muy extendida en los países productores de cacao, pero en realidad no produce pérdidas de consideración, este organismo afecta hojas, ramillas, frutos y plantones de cacao. Por lo general constituye una enfermedad de poca importancia económica (51). Aunque en frutos su importancia es secundaria, entretanto en algunas regiones de Venezuela ha sido estimada la pérdida de 50 % de "bilros" debido a su ataque (18).

b. Sintomatología

Esta enfermedad afecta a las hojas y los frutos y puede también encontrarse en ramillas con "muerte regresiva", y en estacas enfermas en las cámaras de propagación. Como podredumbre de las mazorcas es de poca importancia; sus lesiones son de color pardo, ligeramente hundidas y un poco rugosas. Bajo condiciones húmedas, sobre las manchas se forman masas rosadas de esporas del hongo. Aun cuando el crecimiento de las lesiones es lento, esta puede atravesar la pared de la mazorca y afectar las semillas, pero tales infecciones son por lo general poco comunes (20).

Los ataques de los frutos se concentra por lo general en mazorcas jóvenes de 6 a 14 semanas, en mazorcas adultas solo se dan a consecuencia de las heridas (picaduras de insectos) o de contaminación previa por C. perniciosa (47).

En ramas tiernas y hojas puede causar ataques repetidos causando defoliación de las ramas y cuando ataca el brote terminal aparecen nuevos brotes y entre nudos cortos con aspecto de una falsa "escoba de bruja". La enfermedad en plántulas causa síntomas parecidos a aquellos en ramas tiernas (48).

c. **Etiología, identificación y aspectos biológicos**

Pertenece a la Clase Deuteromycetos, Orden Melanconiales, caracterizados por presentar conidióforos dentro de acérvulos, los mismos que pueden ser de color blanco, crema, anaranjado o negro. Los cuerpos de fructificación se forman debajo de la epidermis e irrumpen a la madurez. Esta enfermedad es frecuente en el semillero y la contaminación por las esporas del hongo se hace mediante las salpicaduras del suelo en el momento de las lluvias (48). Estos síntomas siempre son asociados como Colletotrichum gloeosporioides que es el estado conidial de Glomerella cingulata (37).

4. **Carbón negro o pudrición negra de las Mazorcas (Lasiodiplodia theobromae) (Pat.) Griff. et Maube. (Botryodiplodia theobromae (Pat.)).**

a. **Importancia económica y distribución Geográfica.**

Esta enfermedad se encuentra muy extendida en toda la zona tropical, atacando muchos cultivos además del cacao. Aunque es un parásito débil su acción es importante porque, una vez que ha entrado a la mazorca causa destrucción total en corto tiempo.

b. Sintomatología

Se caracteriza por manchas negras que van recubriendo poco a poco la totalidad del fruto. la mancha se recubre de las fructificaciones del hongo que son negras, dando el aspecto de estar cubierta de polvo de carbón (47).

Algunos autores indican que este es un patógeno secundario, que ataca a los frutos luego que ha sido debilitados por otras causas tales como; cortes, picaduras de insectos, ataque de Phytophthora sp., ó C. perniciosa. Aparece asimismo colonizando mazorcas sobremaduras, que no han sido cosechadas a tiempo (15,47,51).

c. Etiología, Identificación y aspectos biológicos

Es una enfermedad que se presenta solo en las mazorcas lesionadas o aquellas que ha sufrido alguna deficiencia, por lo que tiende a encontrarse mas en la estación seca, aparece sobre todo encima de las mazorcas maduras no cosechadas que persisten en los árboles (51). El agente causal produce colonias sobre PDA de color gris a negro con abundante micelio aéreo. En ella se forman picnidia simple o compuestos frecuentemente agregados, estromáticos, ostiolados, frecuentemente con setas de alrededor de 5 mm de tamaño. Conidias inicialmente unicelulares, hialinos y cuando

maduros uniseptados frecuentemente con estrias longitudinales 20-30 x 10-15 u. (1)

5. Thielaviopsis (Thielaviopsis paradoxa) (de Seyries) Hohnel

a. Importancia económica y distribución geográfica

En el Ecuador esta enfermedad se observó por primera vez en 1,950 y posteriormente en Costa rica. Es una podredumbre del fruto causado por el hongo Thielaviopsis paradoxa, y como este organismo tiene una distribución geográfica muy extensa y un número grande de hospedantes, es probable que la enfermedad exista en otros países. El hongo es parasítico y penetra a los frutos cuando estos han sido dañados por los pájaros. Solamente las mazorcas maduras parecen ser susceptibles y evidentemente es necesaria una herida profunda como la causada por el pico de un pájaro para que haya infección. una vez hecho su ingreso a las heridas, la enfermedad es de efectos destructivos rápidos (20). En Brasil fue identificado en 1976 (40)

b. Sintomatología y etiología

Las mazorcas infectadas presentan una coloración pálida que rápidamente cubre la mazorca, quedando su interior cubierto con una podredumbre húmeda,

que presenta un abundante micelio gris y conidióforos del hongo. Bajo condiciones húmedas, puede aparecer grupos de conidióforos y de micelio blanquecino sobre la superficie de la mazorca. Algunas veces los conidióforos de la superficie exterior de la mazorca sólo tienen microconidios blanquecinos y mientras que en la superficie interior se encuentra conidióforos que solamente producen macroconidios grises.

En el campo la enfermedad puede reconocerse por su olor característico a manzana o a piña, al hacer un corte en una mazorca suficientemente infectada y también por la relativa fragilidad de la pared del fruto. Mientras que los frutos infestados por otras enfermedades continúan relativamente firmes y duros, las paredes de las mazorcas atacadas por Thielaviopsis se debilitan y al presionarlas con los dedos se desmenuzan fácilmente como cascara de huevo (20).

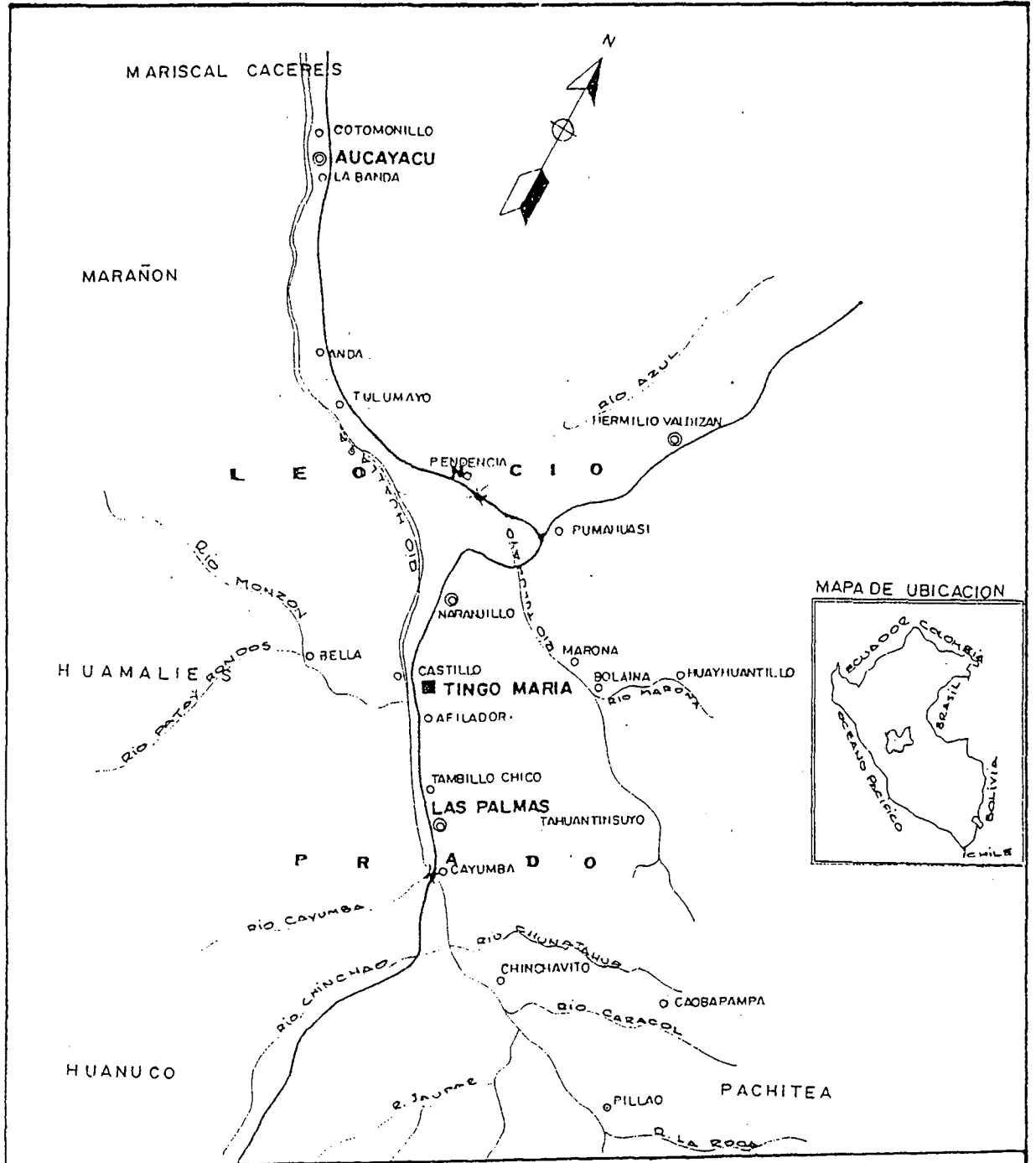
III. MATERIALES Y METODOS

A. AREA EN ESTUDIO

En la figura No.1, se observa el ámbito en estudio que corresponde desde la zona de Pillao hasta la zona de Aucayacu en la Provincia de Leoncio Prado, Departamento de Huánuco, donde se concentra la producción de cacao en la cuenca del Alto Huallaga. Las zonas muestreadas en cada sector no fueron homogéneas en su extensión y recorrido.

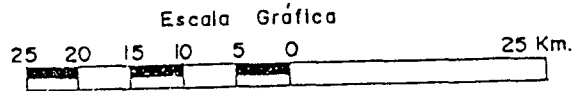
B. DELIMITACION DEL AREA EN ESTUDIO

Se localizaron las localidades productores de cacao en la zona antes mencionado y se recorrió con el auxilio de mapas facilitados por el Proyecto de Promoción Agroindustrial AD/PER/86/459/PNUD/OSP; Proyecto Especial Alto Huallaga, la Universidad Agraria de la Selva, Cooperativa Agroindustrial Naranjillo y Ministerio de Agricultura. Para ello se seleccionaron previamente los sectores con cultivos de cacao en producción, de tal manera que cada parcela muestreada sea representativa del sector y del Distrito en estudio.



L E Y E N D A

- Capital de provincia. □
- Capital de distrito. ⊙
- Sectores muestreados ○
- Carreteras ———
- Rios ~~~~~



Fuente : INSTITUTO NACIONAL DE PLANIFICACION

Figura No 1: MAPA GENERAL DE LOCALIZACION DE LOS SECTORES MUESTREADOS PARA EL ESTUDIO BIOLOGICO DE LOS PATOGENOS EN EL CULTIVO DE CACAO.

C. LUGAR DE EJECUCION

Los trabajos fueron realizados en el Laboratorio de Fitopatología, Microestación, Fondos y Jardín Botánico de la Universidad Nacional Agraria de la Selva; situado en la Provincia de Leoncio Prado, Departamento de Huánuco; a una latitud sur de 09 grados con 9' y una longitud oeste de 75 grados 57', con una altitud de 660 m.s.n.m., y temperaturas máximas de 29.4 grados centígrados, mínima de 19.2 grados centígrados y media de 23.9 grados centígrados; precipitaciones promedio anual de 3,629 mm. humedad relativa de 84%.

D. ESTUDIO DE IDENTIFICACION Y VARIABILIDAD DE LOS PRINCIPALES PATOGENOS, CAUSANTES DE LA PODREDUMBRE EN FRUTOS DE CACAO.

El material obtenido para estos trabajos de identificación consistió en frutos de plantas de diferentes estados y en diferentes estadios de desarrollo de la enfermedad. Para este estudio se siguieron los pasos de diagnosis citado por FRY (25) FRENCH Y HERBERT (24) Y TUIITE (49).

1. Muestreo

Los sectores elegidos para el muestreo de las parcelas fue por su accesibilidad y por la presencia

de técnicos de los diferentes Proyectos que promocionan el cultivo. El muestreo se realizó durante todo el tiempo que duró el estudio.

La forma de muestreo consistió en recolectar frutos enfermos de las parcelas con plantaciones de cacao en producción, recolectado las muestras, fueron llevados antes de las 24 horas al laboratorio de Fitopatología de la UNAS; para su estudio. Las muestras fueron colocadas en bolsas de papel y/o plásticas para facilitar el traslado y dar mayor seguridad de inalterabilidad de la enfermedad.

2. Aislamiento

Cada muestra era cuidadosamente observada en cuanto a la forma, tamaño, color y signos que podían encontrarse, sobre el tejido muerto; una vez observado minuciosamente al esteroscopio se hacía un raspado para observar al microscopio; de estas observaciones se decidía el camino a seguir.

Existen diversas técnicas para aislar un agente fitopatogénico o microorganismo de tejidos enfermos, pero el principio es el mismo. Con todas las técnicas que se utilizaron fue necesario observar la mayor asepsia posible para evitar contaminaciones externas y de esta manera obtener mejores resultados.

La técnica que se usó para aislamientos de hongos para las muestras de frutos fue la siguiente:

Las muestras recolectadas que presentaban síntomas necróticos y pre-necróticos fueron lavados con agua corriente y luego sumergidos en una solución de hipoclorito de sodio al 0.5 - 1% (Clorox 10-20% en 1:10) por un tiempo de 5 minutos, con el propósito de eliminar contaminantes y microorganismos superficiales. Después de enjuagar bien por dos veces con agua destilada se procedió en cámara de cultivo a eliminar la parte superficial del fruto escogiéndose las lesiones mas jóvenes. Del área descubierta, se sacó fragmentos pequeños que abarcaban mitad de tejido sano y mitad de tejido enfermo, que luego fueron transferidos a placas petri conteniendo medios nutritivos utilizados (PDA, Agar-Zanahoria, Agar - V8). Se colocaron los fragmentos equidistantes, uno del otro, para no dificultar el posterior desarrollo del patógeno en estudio.

Posteriormente todas las placas petri fueron puestas a incubación en oscuro en una cámara, con temperaturas de 26 ± 2 grados centígrados, colocándose las placas petri invertidas. A las 24, 48 y/o 72 horas se observó el desarrollo miceliar y conidial de los patógenos, procediéndose a su reaislamiento para permitir su purificación, y observar sus características

morfológicas y de crecimiento en medio de cultivo.

3. Identificación

La identificación de cada uno de los patógenos se realizó comparando sus características de crecimiento micelial y morfología conidial con las claves micológicas existentes en cada caso (2,10,12,13,37,38,42, 50)

4. Variabilidad de los patógenos

La variabilidad morfológica, fisiológica y patogénica fueron realizados con cinco aislamientos seleccionados, como se muestra en el cuadro 1.

CUADRO 1. Patógenos seleccionados para el estudio de comparación morfológica, fisiológica y patogénica.

| Código de Aislamiento | Nombre del Aislamiento |
|-----------------------|--|
| PNtm | Podredumbre negra en frutos. |
| PTm | Podredumbre por Thielaviopsis en frutos. |
| Atm | Antracnosis en frutos. |
| PPn | Podredumbre parda en frutos. |
| EBtm | Escoba de Bruja en frutos. |

a. Variabilidad morfológica de los patógenos

Con los 5 aislamientos seleccionados se estudió su variabilidad comparando su desarrollo micelial de su colonia en condiciones de laboratorio; se discriminó diferencias de acuerdo al diámetro de desarrollo de la colonia medido diariamente.

b. Variabilidad fisiológica de los patógenos

Con los 5 aislamientos seleccionados se estudió el efecto de la luz y de las temperaturas extremas en el desarrollo micelial y esporulación.

1) Efecto de la luz en el desarrollo micelial y esporulación de los patógenos.

El efecto de luz fue estudiado en base a cuatro condiciones: Luz continua, proporcionado por luz artificial constituido de 2 barras de 40 wats, colocado a 20 cm. de altura de la mesa donde estaban colocados las placas petri. Oscuridad continua, proporcionado por una estufa de incubación. Luz alternada, proporcionado por el intercambio entre 12 horas de luz artificial y 12 horas de oscuridad. Luz parcial, constituido de 5 días de oscuridad y luego 5 días de luz.

Quince mililitros de cada medio fue colocado dentro de placas petri de 9cm. de diámetro. De cada aislamiento en estado puro y de 10 días de edad se obtuvo un disco de micelio de la zona marginal de crecimiento y fue colocado en el centro de cada placa con medio de cultivo de Agar - zanahoria para el patógeno de Podredumbre parda y APD para los demás patógenos. A continuación las placas fueron colocados en cada tratamiento según lo descrito.

El diámetro del desarrollo de la colonia fue medido en la parte inferior de la placa en forma diaria por 4 días. La esporulación fue evaluado a

los 8 días para lo cual se colocó 10 ml. de agua destilada estéril en cada placa obteniendo una suspensión, realizando la lectura al microscopio con la ayuda de la cámara de contaje de Neubauer para determinar la concentración del número de propágulos por ml. de suspensión de cada aislamiento. Según metodología recomendada por French y Herbert (24).

El efecto de luz en el desarrollo micelial y de esporulación de los patógenos aislados en estudio fue determinado en base a un análisis de variancia utilizando el diseño completo randomizado con arreglo factorial de 5x4 para desarrollo micelial; y 4x4 para esporulación, ambos considerados con 2 repeticiones; cada placa fue considerado una repetición.

2) Efecto de la temperatura en el desarrollo micelial y esporulación de los patógenos aislados.

Se estudió el efecto de los siguientes niveles de temperatura: Temperaturas de 10,25 y 35 grados centígrados \pm 2 grados centígrados respectivamente, se utilizó estufas graduadas de incubación e igual metodología a lo descrito en el parámetro anterior. Las placas así preparadas fueron colocados en cada tratamiento.

Se evaluó el diámetro de la

colonia diariamente y medido en la parte inferior de la placa. La esporulación fue evaluada a los 8 días para lo cual se tomo una suspensión conidial y se realizó la lectura en el microscopio con el auxilio de la cámara de Neubauer para determinar el número de esporas de cada patógeno por ml. de suspensión.

El efecto de la temperatura extrema en el desarrollo micelial y de esporulación de los patógenos de Podredumbre parda, Podredumbre negra, Podredumbre por Thielaviopsis, Antracnosis y Escoba de bruja en estudio fue determinado en base a un análisis de variancia utilizando el diseño completamente randomizado con arreglo factorial de 5x3 para desarrollo micelial y 4x3 para esporulación, ambos con 2 repeticiones. Cada placa fue considerado una repetición.

c. Variabilidad en patogenicidad

Para el estudio de los patógenos se realizaron tres formas de patogenicidad:

1) Prueba de patogenicidad en frutos destacados.

Frutos destacados (frutos cosechados del árbol) de cacao y en diferente estadio (frutos de 3.5 a 6cm, de 8.5 a 13.5cm, de 17 a 21cm y frutos maduros) fueron inoculados con cada uno de los patógenos aislados. Cada uno de estos frutos luego de una

previa desinfección con clorox al 0.5% y enjuagados con abundante agua destilada fueron inoculados con herida y sin heridas; colocándose un disco de micelio más esporas retirados de la periferia de cultivos jóvenes en medio APD y Agar zanahoria. Asimismo cada conjunto de frutos fueron distribuidos al azar, en el interior de taper y/o cajas de tecnopor con camada de agua estéril, más sin quedar en contacto directo con éste. Frutos que sirvieron como testigo fueron acondicionados de igual manera más inoculado con medio de cultivo estéril.

Todos los frutos inoculados fueron inspeccionados diariamente evaluándose los siguientes parámetros:

- El estado de desarrollo de la lesión, cuantificándose el porcentaje de la lesión provocados en los frutos.
- El período de latencia de cada uno de los patógenos, desde el inicio de la afección externa, la permanencia en estado de mancha y el tiempo a la esporulación.

2) Prueba de patogenicidad en frutos no destacados.

Como en el caso anterior con cada uno de los patógenos se realizaron inoculaciones en frutos no destacados(frutos no cosechados del árbol) con

el método descrito anteriormente. Para el caso del patógeno de Escoba de bruja se inoculó con bloques de agar conteniendo basidiosporas del hongo. Todos los frutos después de inoculados fueron cubiertos con bolsas plásticas transparentes perforadas en las esquinas dentro de las cuales se ubicaron una mota de algodón humedecido para facilitar el proceso de infección y evitar el ataque de otros hongos. Frutos que sirvieron como testigo fueron acondicionados de igual manera, mas inculados con discos de medios de cultivo.

Todos los frutos inoculados fueron evaluados diariamente los mismos parámetros descritos anteriormente.

3) Prueba de patogenicidad en plántulas

Los patógenos además fueron inoculados en plántulas de cacao de 5 a 6 meses de edad empleándose disco de micelio mas esporas de los diferentes patógenos bajo la modalidad de hojas con heridas y sin heridas. En el caso del patógeno de Escoba de bruja se inoculó con bloques de agar conteniendo basidiosporas del hongo sobre el meristema apical de la plántula.

Luego el lugar inoculado de cada plántula fue cubierto con bolsas plásticas transparentes y perforados, dentro de las cuales se ubicó una mota de

algodón humedecido. Las plántulas así cubiertas estuvieron por un período de 72 horas, transcurridos los cuales fueron descubiertas y colocadas en condiciones de invernadero hasta el aparecimiento de los síntomas característicos.

Plantas que sirvieron como testigo fueron tratadas de igual manera más inoculados solo con disco de medio de cultivo.

Cada cinco días fueron evaluados las características sintomatológicas de cada patógeno.

E. ESTUDIO DE VARIABILIDAD DE AISLAMIENTOS DE Phytophthora

1. Orientación del estudio y obtención de la muestras

El presente estudio estuvo dirigido principalmente a aquellas infecciones primarias de la Podredumbre Parda afectando frutos, troncos, plántulas y suelo en cacao, con la finalidad de determinar las especies de Phytophthora asociado con el cultivo de cacao y determinar su variabilidad en el Alto Huallaga.

Las muestras fueron recolectadas de frutos de diferentes edades, infecciones a nivel de plántulas, de tronco y suelo en las plantaciones adultas. Las

muestras de tronco fueron recolectados las que presentaban síntomas típicos de la enfermedad y las de suelo colectados de la base del árbol a 15cm alrededor del tronco, removiendo previamente la hojarasca de la superficie del suelo.

Las muestras recogidas se guardaron en bolsas de papel y/o polietileno debidamente identificadas y cerradas para prevenir la pérdida de humedad y así trasladarlos al laboratorio. Fueron recolectados las muestras de todos los sectores o lugares visitados en el experimento 1 (Figura 1).

2. Aislamiento e Identificación

Los aislamientos fueron realizados de frutos, tronco, plantulas y suelo respectivamente. Se utilizó diferentes técnicas de aislamiento para cada caso en particular.

- Aislamiento de frutos: La técnica de aislamiento fue igual al realizado en el estudio de la Página 57.

- Aislamiento de Plántulas: La técnica consistió en seleccionar tejidos infectados tanto del ápice como de la base de la plántula; luego de ser lavados con agua destilada fueron cortados pequeños pedazos de una área que presentase la unión de la parte

enferma con la parte sana, una vez hecha la elección de estas partes, se hizo el tratamiento de desinfección superficial en una solución de hipoclorito de sodio al 2% por 2 minutos, enjuagados con agua destilada estéril y entonces sembrado en placas petri conteniendo Agar-zanahoria.

- Aislamiento de Tronco: Se realizó inoculando frutos sanos con corteza de tronco afectado por Phytophthora. Con un sacabocado se sacó asépticamente un cilindro de tejido del fruto de cacao verde, desde la cáscara hacia el centro; seguidamente se introdujo cortezas afectadas bien lavados, restituyéndose luego el trozo que se sacó y sellado con un poco de vaselina.

Los frutos así inoculados fueron incubados a 25 - 28 grados centígrados, y a la presencia de los síntomas se hizo el aislamiento luego de otra desinfección superficial del fruto, pequeños pedazos conteniendo parte sana con parte enferma fueron sacados de la parte interna del fruto y colocados en placas petri conteniendo agar - zanahoria.

- Aislamiento de suelo: Se realizó inoculando frutos sanos con suelo supuestamente infectado por Phytophthora. el procedimiento empleado es igual a lo descrito anteriormente en el aislamiento de tronco.

Posteriormente todas las placas petri

conteniendo las diversas muestras fueron incubadas en estufa de incubación y observados diariamente; el micelio desarrollado fue transferido a placas nuevas con agar-zanahoria.

De todos los frutos, plántulas, tronco y suelo que se obtuvieron aislamientos positivos de Phytophthora se hicieron repiques para su estudio siguiente. La identificación de las especies fueron realizados por comparación de claves específicas del género; caracterizando la morfología esporangial principalmente. Además se realizaron contactos con el Dr. G. Zentmeyer de Riverside, California, Estados Unidos, para confirmar las especies que se encontraron.

3. VARIABILIDAD DE AISLAMIENTOS DE Phytophthora

Estudio de comparación morfológica fisiológica y patogénica fueron realizados con los aislamientos de Phytophthora seleccionados de varios lugares, como se muestra en el cuadro 2.

CUADRO 2. Aislamientos de *Phytophthora* seleccionado para el estudio de comparación morfológica fisiológica y patogénica.

| No. | Clave | Procedencia | Origen del aislamiento |
|-----|-------|-------------|-------------------------------|
| 69 | N | Naranjillo | <u>Phytophthora</u> de fruto |
| 71 | F | Fundos UNAS | <u>Phytophthora</u> de fruto |
| 72 | TM | Tingo María | <u>Phytophthora</u> de fruto |
| 78 | Aa | Afilador | <u>Phytophthora</u> de cancro |
| 77 | VIII | J.B(UNAS) | <u>Phytophthora</u> de suelo |
| 75 | II4 | Fundos UNAS | <u>Phytophthora</u> de suelo |
| 70 | Ca | Castillo | <u>Phytophthora</u> de fruto |

a. Variabilidad morfológica

Los aislamientos Phytophthora escogidos fueron transferidos a placas de agar-zanahoria para observar el crecimiento y comparar sus características de diferenciación así como: Longitud del pedicelo esporangial, morfología de la colonia, presencia o ausencia de clamidosporas, morfología del esporangio. Tipo, forma, tamaño. Longitud y ancho del esporangio, longitud del ápice del esporangio, longitud del poro de apertura del esporangio entre otras características.

c. Variabilidad fisiológica

Con los aislamientos escogidos se estudió el efecto de la luz y de las temperaturas extremas en el desarrollo micelial.

Los parámetros y metodologías empleadas tanto para luz y temperatura fueron los mismos evaluados en las páginas 60 y 61.

b. Variabilidad de patogenicidad

Esta prueba se realizó a través de inoculaciones artificiales de laboratorio sobre tallos y frutos de cacao, obtenidos del fondos de la UNAS; para esto se recolectó plántulas con 5-6 meses de edad y frutos inmaduros. Las muestras de frutos se lavaron con agua de caño luego con agua destilada, posteriormente con agua destilada estéril, para luego dejar en reposo para que la humedad se disipe.

La patogenicidad de los aislamientos fue determinado bajo el método de inoculaciones con herida y sin herida en el caso de ser frutos , y en tallos solo con herida:

En frutos: Un cilindro del tejido sano del fruto fue sacado usando un sacabocado de 0.5mm. de diámetro y reemplazado por un disco de micelio de tamaño similar de un cultivo puro de 8 días de edad de cada uno de los aislamientos en estudio. Otro grupo de

frutos fue inoculado con disco de micelio mas colocado sobre la superficie del fruto.

Suspensión de esporas también fueron utilizados en esta prueba, el método consistió en adicionar 15ml. de agua destilada estéril a cada placa con inóculo. Seguidamente las placas se frotaron con pinzas estériles para permitir el desprendimiento de las esporas en el líquido. Una vez verificada su concentración al microscopio se pusieron en goteros especiales. Cada fruto fue inoculado colocando una gota de la suspensión en la superficie del fruto.

Al conjunto de frutos inoculados fueron acondicionados en cajas plásticas sobre alambres conteniendo 15 ml. de agua destilada para mantener la humedad saturada. Después de 5 días de incubación el área de la lesión fue medido, 5 repeticiones fueron mantenidos en cada aislamiento.

En tallos: La inoculación se realizó en tallos de plántulas crecidas en bolsas, estas fueron tratadas asépticamente y a una altura de 10cm. el tallo fue cortado levantando una "lengua" de corteza, poniendo en su interior discos de micelio del hongo. Asimismo el pedazo que se levantó se regresó a su sitio, sellando con cintas adhesivas. todas la plantas así inoculadas se trasladaron al invernadero y evaluados el síntoma;

seguidamente se midió el área a los 18 días . los testigos fueron tratados de igual manera solo inoculados con disco de medio de cultivo.

IV. RESULTADOS

A. ESTUDIO DE IDENTIFICACION Y VARIABILIDAD DE LOS PRINCIPALES PATOGENOS CAUSANTES DE LA PODREDUMBRE EN FRUTOS DE CACAO.

1. Identificación

a. Características sintomatológicas de los frutos infectados.

En el muestreo realizado en los sectores cacaoteros a lo largo de todo el estudio, fueron encontrados una diversidad de síntomas, entre tanto ellos pudieron ser agrupados en relación a cada uno de los patógenos identificados en este estudio. Las características sintomatológicas típicas y más común relacionado con cada patógeno así como otro tipo de síntoma referido se da a continuación.

Los síntomas típicos de "Escoba de bruja" se presentaron en frutos grandes con manchas negras y duras más o menos circulares; con el desarrollo de la infección éstas se tornan secas y duras. En frutos de mediano tamaño se presentan hinchados y deformados, algunas veces con una mancha negra pequeña. Otros frutos se presentaron con madurez irregular o con islas verdes.

Los síntomas típicos de "Podredumbre

parda" se presentaron en frutos grandes con una mancha más o menos circular de color pardo encontrado en cualquier punto de su superficie y cualquier fase de su desarrollo, pero más encontrado en la punta o parte terminal del fruto. Frutos medianos y/o pequeños encontrados con una infección total de color pardo característicamente de consistencia suave. Muchas veces invadido por otros hongos.

Síntomas típicos de "Podredumbre negra" se presentaron en frutos con manchas inicialmente encontrados como pardos, también con manchas muy oscuras, generalmente cubierta de las fructificaciones del hongo que son negras con apariencia de polvo de carbón. Frutos con apariencia de polvo carbón colonizando en frutos sobremaduros y actuando saprofiticamente.

Síntomas típicos de "Antracnosis" se presentaron en frutos jóvenes con manchas de color pardo o café claro, deprimido en el centro, mazorcas maduras o sobremaduras con igual síntoma. Frutos grandes generalmente encontrados con manchas circulares y deprimidos más actuando casi siempre saprofiticamente.

Síntomas típicos de podredumbre por Thielaviopsis se presentaron en frutos desarrollados mediado con lesiones irregulares de coloración marrón tornando el tejido necrosado y de consistencia suave, con

olor característico a piña podrida.

Es necesario indicar que en muchos frutos muestreados dos o más patógenos estaban incidiendo y el objetivo fue identificar tanto el patógeno primario como el secundario.

b. Aislamiento y Características Morfológicas

Con el método utilizado en el estudio, permitió identificar a los agentes causadores de las enfermedades en cacao. En la zona en estudio se obtuvieron un total de 215 aislamientos que en base a sus características sintomatológicas típicas en los frutos de cacao relacionado con cada patógeno, así como sus características morfológicas y de crecimiento se identificó el patógeno responsable (Cuadro 3).

Los aislamientos de "Escoba de Bruja" presentaron como característica un crecimiento sobre PDA uniforme y el micelio joven del hongo fue de un color blanco y lizo, bien pegado al medio y de un crecimiento lento, siendo difícil lograr su esporulación en estas condiciones. Debe citarse además que el estado perfecto del hongo fue encontrado creciendo en las partes afectadas y secas de los árboles, formando basidiocarpos a manera de sombrillas de color blanco que traídos al laboratorio y observados al esteroscopio así como las basidiosporas se identificó como Crinipellis perniciosa

CUADRO 3. Aislamientos realizados en el Laboratorio de Fitopatología de la Universidad Nacional Agraria de la Selva de muestras procedentes de la diferentes localidades del ámbito del Alto Huallaga.

| Procedencia Localidades | No de Muestras | Hospedero (<u>Theobroma cacao</u>) | Síntoma Característico | No de Aislamientos Identificados | Identificación del patógeno * | | | |
|-------------------------|----------------|--------------------------------------|------------------------|----------------------------------|-------------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| | | | | | | | Otros** | |
| Tingo María | 13 | Frutos | Podred. Parda | 24 | 13 <u>Phytophthora</u> | 6 <u>Lasiodiplodia</u> | 4 <u>Colletotrichum</u> | 1 <u>Thielaviopsis</u> |
| Marona | 2 | Frutos | " " | 2 | 2 <u>Phytophthora</u> | | | |
| Aucayacu | 5 | " | " " | 5 | 3 <u>Phytophthora</u> | 2 <u>Lasiodiplodia</u> | | |
| Cayumba | 2 | " | " " | 2 | 1 <u>Phytophthora</u> | 1 <u>Colletotrichum</u> | | |
| Pillao | 3 | " | " " | 5 | 3 <u>Phytophthora</u> | 2 <u>Colletotrichum</u> | | |
| Tulumayo | 1 | " | " " | 2 | 1 <u>Phytophthora</u> | 1 <u>Crinipellis</u> | | |
| Pendencia | 3 | " | " " | 4 | 3 <u>Crinipellis</u> | 1 <u>Lasiodiplodia</u> | | |
| Tingo María | 6 | Frutos | Antracnosis | 6 | 4 <u>Colletotrichum</u> | 2 <u>Phytophthora</u> | | |
| Tulumayo | 2 | " | " " | 4 | 2 <u>Colletotrichum</u> | 1 <u>Phytophthora</u> | 1 <u>Lasiodiplodia</u> | |
| Pendencia | 2 | " | " " | 2 | 2 <u>Colletotrichum</u> | | | |
| Marona | 4 | " | " " | 4 | 3 <u>Colletotrichum</u> | 1 <u>Gloeosporium</u> | | |
| Aucayacu | 5 | " | " " | 8 | 3 <u>Crinipellis</u> | 2 <u>Colletotrichum</u> | 2 <u>Lasiodiplodia</u> | 1 <u>Phytophthora</u> |
| Tingo María | 18 | Frutos | Escoba de- | 18 | 17 <u>Crinipellis</u> | 1 <u>Fusarium</u> | | |
| Tulumayo | 17 | " | Bruja | 24 | 17 <u>Crinipellis</u> | 5 <u>Lasiodiplodia</u> | 2 <u>Gloeosporium</u> | |
| Pendencia | 2 | " | " " | 3 | 1 <u>Crinipellis</u> | 1 <u>Lasiodiplodia</u> | 1 <u>Colletotrichum</u> | |
| Aucayacu | 16 | " | " " | 23 | 16 <u>Crinipellis</u> | 2 <u>Lasiodiplodia</u> | 5 <u>Colletotrichum</u> | |
| Marona | 15 | " | " " | 25 | 20 <u>Crinipellis</u> | 3 <u>Colletotrichum</u> | 2 <u>Lasiodiplodia</u> | |
| Cayumba | 10 | " | " " | 13 | 10 <u>Crinipellis</u> | 3 <u>Colletotrichum</u> | | |
| Tingo María | 2 | Frutos | Podredumbre- | 2 | 2 <u>Lasiodiplodia</u> | | | |
| Aucayacu | 2 | " | Negra | 2 | 2 <u>Lasiodiplodia</u> | | | |
| Tingo María | 12 | Frutos | Síntomas- | 13 | 8 <u>Phytophthora</u> | 4 <u>Crinipellis</u> | 3 <u>Lasiodiplodia</u> | 3 <u>Colletotrichum</u> |
| Tulumayo | 3 | " | Complejos | 3 | 2 <u>Gloeosporium</u> | 1 <u>Colletotrichum</u> | | |
| Aucayacu | 4 | " | " " | 6 | 3 <u>Crinipellis</u> | 2 <u>Lasiodiplodia</u> | 1 <u>Colletotrichum</u> | |
| Tingo María | 4 | Suelo | " " | 4 | 3 <u>Phytophthora</u> | 1 <u>Phytium</u> | | |
| Tulumayo | 1 | " | " " | 1 | 1 <u>Fusarium</u> | | | |
| Tingo María | 2 | Tronco | Chancro | 2 | 1 <u>Phytophthora</u> | 1 <u>Fusarium</u> | | |
| Tulumayo | 2 | " | " " | 2 | 2 <u>Phytophthora</u> | | | |
| Tingo María | 6 | Plántula | Chupadera | 6 | 3 <u>Phytophthora</u> | 2 <u>Phytium</u> | 1 <u>Colletotrichum</u> | |

* Patógenos: Phytophthora sp., Lasiodiplodia theobromae, Colletotrichum gloeosporioides, Thielaviopsis paradoxa, Crinipellis pernicioso.

** Otros hongos encontrados en los frutos: Verticillium sp., Fusarium sp., Cylindrocladium sp., Stilbum sp., Ascomicetos no identificado, etc.

(Stahel) Singer (9).

Los aislamientos del hongo de la "Podredumbre Parda" presentaron como característica de crecimiento sobre agar - zanahoria liso y estrellado con micelio de color blanco a naranja y de crecimiento rápido. Presentando como estructura de reproducción en medio de cultivo micelio cenocítico, esporangios y zoosporas. La fructificación del patógeno como característica microscópica fue encontrado creciendo en las partes afectadas de los frutos siempre formando micelio de color blanquecino con abundante producción de esporangios. Los esporangios fueron hialinos, ovoides a piriformes, éstas características observadas y con la literatura correspondiente fueron identificadas como Phytophthora palmivora (Butler) Butler y P. capsici Leonian (12,13,16,27,30,38,50).

Los aislamientos del hongo de la "Podredumbre Negra" presentan como característica un crecimiento sobre PDA uniforme y el micelio del hongo fue de un crecimiento esponjoso de color gris, esto paulatinamente se va oscureciendo hasta alcanzar un color pardo negrusco al envejecer. Asimismo es ésta etapa donde se forman las pycnidias simples de color negro en toda la superficie de la colonia. La fructificación del patógeno como característica microscópica fue encontrado creciendo

en frutos (sobremaduros, caídos o infectados por otros patógenos) formando siempre las pycnidias de color negro con abundante producción de conidias. Las conidias unicelulares fueron hialinas, granuladas, sub-ovoides a elipsoide u oblongas cuando inmaduras y septadas y oscuras cuando maduras. De acuerdo a las características observadas y con la literatura existente el patógeno responsable fue identificado como Lasiodiplodia theobromae (Pat) Griff. et Maube. (= Botryodiplodia theobromae (Pat) (2,10,27,30).

Los aislamientos del hongo de "Antracnosis" presentaron como característica un crecimiento sobre PDA uniforme y el micelio joven del hongo fue de un color blanquecino, pasando por las tonalidades de blanquecino verdoso, blanquecino rosado y blanquecino negrusco; esto paulatinamente se va oscureciendo hasta alcanzar un color café oscuro al envejecer. Entre tanto es ésta etapa donde se forman acervulos de color rosado iniciándose en la periferia de la colonia. La fructificación del patógeno como característica microscópica fue encontrada creciendo en las partes afectadas del frutos; siempre formando los acervulos de color rosado con abundante producción de conidias. Las conidias fueron hialinas, unicelulares, oblongas a alargadas; éstas características observadas y

la literatura correspondiente se identificó al patógeno como Colletotrichum gloeosporioides (Penzing) Sacc. (10,20,30,37,47).

En relación a los aislamientos de la podredumbre por Thielaviopsis presentaron como característica un crecimiento sobre PDA uniforme y el micelio liso de color gris, vista al microscopio presenta abundante producción de conidios. La fructificación (conidióforos) del patógenos se encontró creciendo en el fruto infectado acompañado de un micelio blanquecino. El patógeno fue identificado como Thielaviopsis paradoxa (de Seyries) Hohnel (10,20,30,40,51).

2. VARIABILIDAD

a. Variabilidad morfológica de los patógenos

La variabilidad medida en base a su crecimiento micelial de la colonia es observada en el cuadro 4. Realizada el análisis de variancia entre diferentes aislamientos de los patógenos (Anexo 1A), mostró diferencia significativa entre aislamientos de Phytophthora; si bien los diferentes aislamientos de P. palmivora son iguales entre si, entretanto estos son superiores al de P. capsici. Los aislamientos de L. theobroma, T. paradoxa, C. gloeosporioides y C. pernicioso no difirieron significativamente (Cuadro 4).

CUADRO 4. Variabilidad morfológica de los patógenos.

| <u>Phytophthora sp (P)</u> | <u>Lasiodiopodia (L)</u> | | <u>Thielaviopsis (T)</u> | | <u>Colletotrichum (C)</u> | | <u>Crinipellis (C)</u> | | |
|------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|---------|
| | <u>theobromae</u> | | <u>paradoxa</u> | | <u>gloeosporioides</u> | | <u>perniciosa</u> | | |
| Código Desarrollo micelial (cm) | Código Desarrollo micelial (cm) | Código Desarrollo micelial (cm) | Código Desarrollo micelial (cm) | Código Desarrollo micelial (cm) | Código Desarrollo micelial (cm) | Código Desarrollo micelial (cm) | Código Desarrollo micelial (cm) | Código Desarrollo micelial (cm) | |
| PF1 | 6.500 a | LT2 | 7.275 a | TM | 7.850 a | CA4 | 8.150 a | Ctm | 6.800 a |
| PNa2 | 6.425 a | Ltm | 7.200 a | Ttm | 7.825 a | Ctm | 8.050 a | CN | 6.800 a |
| Ptm1 | 6.412 a | LA1 | 7.050 a | | | CF | 8.000 a | CA | 6.550 a |
| Ptm | 6.412 a | LB1 | 6.775 a | | | | | | |
| PCa2 | 6.362 a | | | | | | | | |
| PCa2 | 5.230 b | | | | | | | | |
| C.V. (%) | 4.05 | | 3.26 | | 0.7 | | 1.24 | | 1.36 |

Promedios con la misma letra no difieren entre si (P=0.05).

F= Fundos, Na= Naranjillo, tm= Tingo Maria, Ca= Castillo, T=Tulumayo, A=Afilador, B= Bella, M=Morada.

Sin embargo cuando comparado entre ellos (Figura 2), L. theobromae y T. paradoxa tienen un crecimiento rápido, Phytophthora sp. y C. gloeosporioides un crecimiento intermedio y C. perniciosa su crecimiento es lento.

b. Variabilidad fisiológica

1) Efecto de la luz en el desarrollo micelial y esporulación de los diferentes patógenos.

Realizado el análisis de variancia correspondiente al efecto de luz en el desarrollo micelial de los cinco patógenos aislados en estudio, mostraron diferencia significativa para los tipos de aislamientos, el efecto luz y la interacción aislamiento por luz (Anexo 2A). Los patógenos, tienen efectos diferentes según los tipos de Luz (Cuadro 5) siendo T. paradoxa, L. theobromae y P. palmivora con luz continua estadísticamente superior en desarrollo micelial al patógeno C. gloeosporioides y este a C. perniciosa.

Graficando el desarrollo micelial en relación al tiempo solamente del comportamiento de luz continua para los diferentes aislamientos estudiados muestra que los patógenos T. paradoxa y L. theobromae tienen un desarrollo superior. P. palmivora y C. gloeosporioides se desarrollan en forma intermedia y C. perniciosa crece muy lentamente (Figura 3).

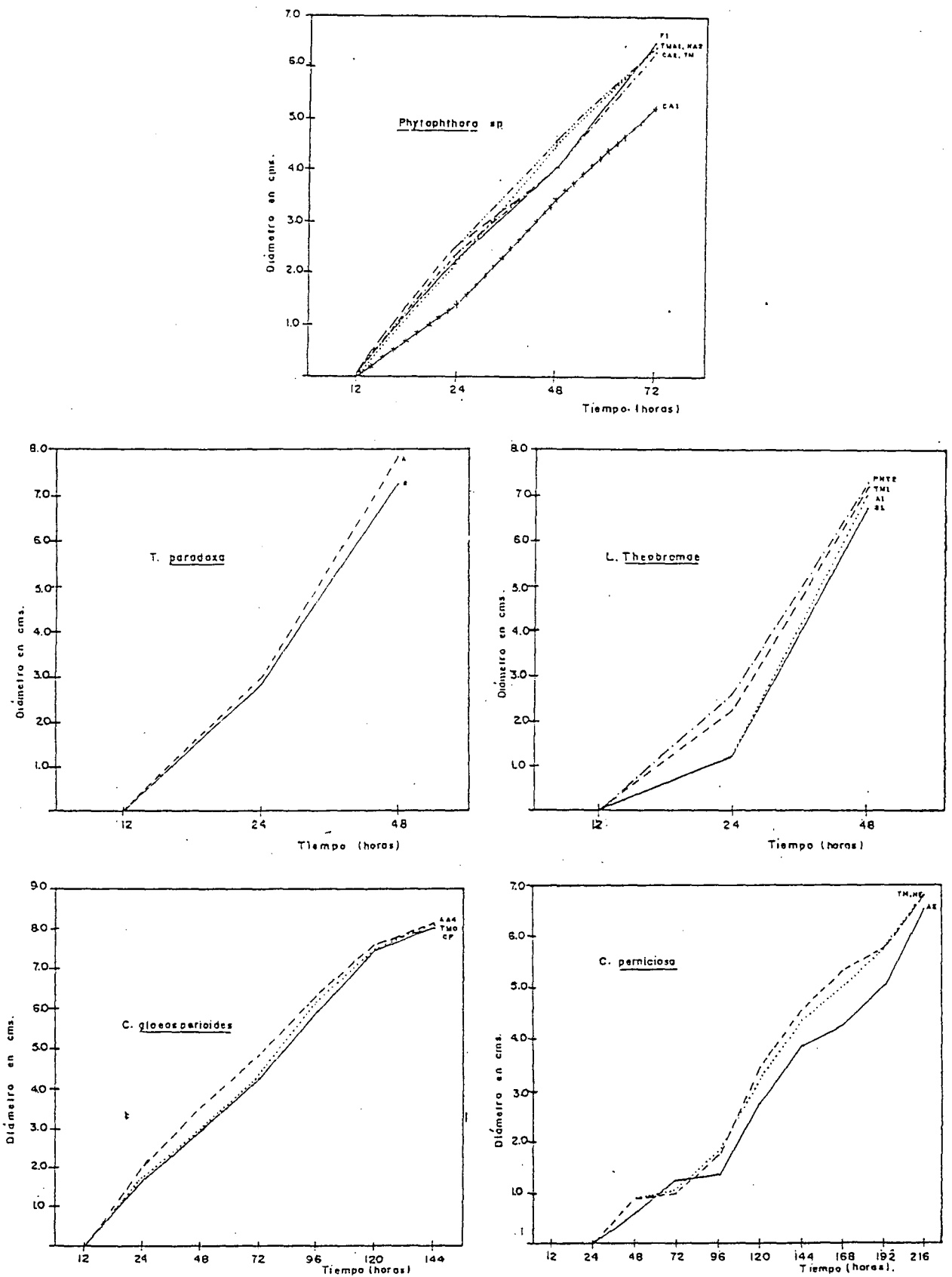


FIGURA 2. Crecimiento de colonias de Phytophthora sp., Crinipellis perniciosa, Lasiodiplodia theobromae, Thielaviopsis paradoxa y Colletotrichum gloeosporioides mantenidos a 28°C.

CUADRO 5. Desarrollo micelial de los patógenos bajo diferentes condiciones de luz.

| Patógenos + | Condiciones de luz | Desarrollo micelia(cm).* | |
|-----------------------|--------------------|--------------------------|-----|
| <u>Thielaviopsis</u> | Luz continua | 9.00 | a |
| <u>Lasiodiplodia</u> | Luz continua | 8.95 | a |
| <u>Thielaviopsis</u> | Oscuridad continua | 8.75 | a |
| <u>Lasiodiplodia</u> | Luz alternada | 8.62 | a |
| <u>Thielaviopsis</u> | Luz alternada | 8.30 | ab |
| <u>Thielaviopsis</u> | Luz parcial | 8.17 | ab |
| <u>Lasiodiplodia</u> | Luz parcial | 7.27 | bc |
| <u>Phytophthora</u> | Luz continua | 7.00 | cd |
| <u>Lasiodiplodia</u> | Oscuridad continua | 6.40 | cde |
| <u>Phytophthora</u> | Luz alternada | 6.10 | de |
| <u>Phytophthora</u> | Luz parcial | 5.82 | e |
| <u>Phytophthora</u> | Oscuridad continua | 5.67 | e |
| <u>Colletotrichum</u> | Luz continua | 3.32 | f |
| <u>Colletotrichum</u> | Oscuridad continua | 3.02 | f |
| <u>Colletotrichum</u> | Luz parcial | 2.87 | f |
| <u>Colletotrichum</u> | Luz alternada | 2.80 | f |
| <u>Crinipellis</u> | Luz alternada | 0.85 | g |
| <u>Crinipellis</u> | Oscuridad continua | 0.82 | g |
| <u>Crinipellis</u> | Luz parcial | 0.67 | g |
| <u>Crinipellis</u> | Luz continua | 0.60 | g |
| C.V. (%) : | | 8.3 | |

* Promedios con la misma letra no difieren significativamente entre sí (Duncan P= 0.05).

+ Patógenos: Thielaviopsis paradoxa, Lasiodiplodia theobromae, Phytophthora palmivora, Colletotrichum gloeosporioides, Crinipellis pernicioso.

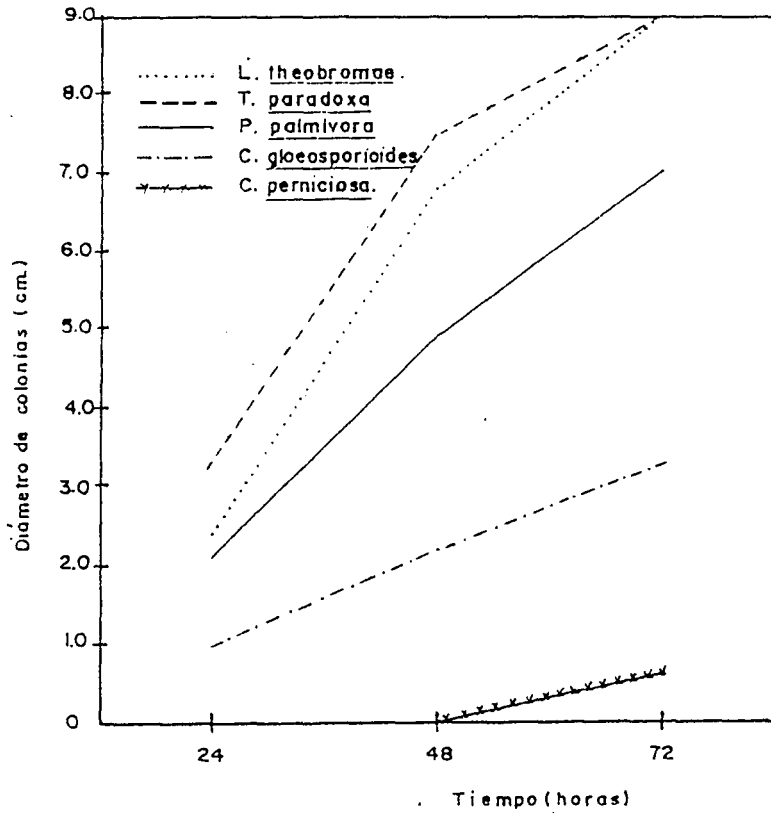


FIGURA 3. Desarrollo micelial de los patógenos Phytophthora palmivora, Thielaviopsis paradoxa, Lasiodiplodia theobromae, Colletotrichum gloeosporioides, Crinipellis perniciosa bajo condiciones de luz continua.

El análisis de variancia para el efecto de luz en la producción de esporas mostró alta significación estadística entre patógeno, factor luz e interacción patógeno por luz (Anexo 2A). Los diferentes patógenos tienen efectos diferentes según los efectos de luz difiriendo significativamente entre ellos, siendo T. paradoxa y luz continua superior en producción de esporas a los demás patógenos y condiciones de luz (Cuadro 6).

2) Efecto de la temperatura en el desarrollo micelial y esporulación de los diferentes patógenos.

Realizado el análisis de variancia correspondiente al efecto de la temperatura en el desarrollo micelial de los cinco aislamientos en estudios mostraron diferencia significativa entre patógeno, para el factor temperatura y la interacción patógeno por temperatura (Anexo 3A). Los diferentes patógenos tienen efectos distintos a los niveles de temperatura, siendo todos los patógenos con la temperatura de 25 grados centígrados estadísticamente superior en desarrollo micelial a los demás (Cuadro 7).

CUADRO 6. Producción de esporas de los patógenos bajo diferentes condiciones de luz.

| Patógenos* | Condiciones de luz | Producción de esporas (por/cc). | | |
|-----------------------|--------------------|---------------------------------|----------------|----|
| | | Original | Transformado** | |
| <u>Thielaviopsis</u> | Luz continua | 6'360,500 | 798,375 | a |
| <u>Thielaviopsis</u> | Luz parcial | 3'937,500 | 627,600 | b |
| <u>Thielaviopsis</u> | Oscu°. continua | 3'850,000 | 619,725 | b |
| <u>Colletotrichum</u> | Luz continua | 2'862,500 | 536,175 | c |
| <u>Colletotrichum</u> | Luz parcial | 1'862,500 | 432,575 | d |
| <u>Thielaviopsis</u> | Luz alternada | 1'175,000 | 344,100 | e |
| <u>Phytophthora</u> | Luz continua | 900,000 | 300,500 | ef |
| <u>Colletotrichum</u> | Oscu°. continua | 812,500 | 287,175 | ef |
| <u>Lasiodiplodia</u> | Luz alternada | 750,000 | 274,750 | ef |
| <u>Lasiodiplodia</u> | Luz continua | 687,500 | 264,450 | f |
| <u>Phytophthora</u> | Luz alternada | 562,500 | 240,750 | f |
| <u>Phytophthora</u> | Luz parcial | 512,500 | 228,250 | g |
| <u>Colletotrichum</u> | Luz alternada | 275,000 | 169,325 | gh |
| <u>Lasiodiplodia</u> | Luz parcial | 212,500 | 149,925 | hi |
| <u>Phytophthora</u> | Oscu°. continua | 100,000 | 103,000 | i |
| <u>Lasiodiplodia</u> | Oscu°. continua | 0 | 35,350 | ij |
| C.V.(%) | | | 8.49 | |

* Patógenos: Thielaviopsis paradoxa, Colletotrichum gloeosporioides, Phytophthora palmivora, Lasiodiplodia theobromae.

° Oscu. = Oscuridad.

** Los datos fueron transformados a $\sqrt{x + 0.5}$ y los promedios seguidos de la misma letra no difieren significativamente entre sí (DUNCAN P=0.05).

CUADRO 7 Desarrollo micelial de los patógenos bajo diferentes niveles de temperaturas.

| Patógenos* | Niveles de Temperatura | Desarrollo micelial (cm)** | |
|-----------------------|------------------------|----------------------------|--------------|
| | | Original | Transformado |
| <u>Thielaviopsis</u> | 25 grados C | 8.350 | 2.970a |
| <u>Lasiodiplodia</u> | 25 grados C | 7.100 | 2.755 b |
| <u>Phytophthora</u> | 25 grados C | 5.500 | 2.450 c |
| <u>Colletotrichum</u> | 25 grados C | 3.025 | 1.875 d |
| <u>Lasiodiplodia</u> | 35 grados C | 2.050 | 1.600 e |
| <u>Crinipellis</u> | 25 grados C | 1.075 | 1.240 f |
| <u>Colletotrichum</u> | 35 grados C | 0.65 | 1.003 f |
| <u>Lasiodiplodia</u> | 10 grados C | 0.0 | 0.700 g |
| <u>Thielaviopsis</u> | 10 grados C | 0.0 | 0.700 g |
| <u>Thielaviopsis</u> | 35 grados C | 0.0 | 0.700 g |
| <u>Colletotrichum</u> | 10 grados C | 0.0 | 0.700 g |
| <u>Phytophthora</u> | 10 grados C | 0.0 | 0.700 g |
| <u>Phytophthora</u> | 35 grados C | 0.0 | 0.700 g |
| <u>Crinipellis</u> | 10 grados C | 0.0 | 0.700 g |
| <u>Crinipellis</u> | 35 grados C | 0.0 | 0.700 g |
| C.V. (%) | | | 5.52 |

* Patógenos: Lasiodiplodia theobromae, colletotrichum gloeosporioides, Thielaviopsis paradoxa, Phytophthora palmivora, Crinipellis perniciosa.

** Los datos fueron transformados a $\sqrt{x + 0.5}$ y los promedios seguidos de la misma letra no difieren entre sí (DUNCAN P=0.05).

Realizado el análisis de variancia correspondiente al efecto de la temperatura en la producción de esporas de cuatro de los cinco patógenos mostraron diferencias significativas (Anexo 3A). Los diferentes patógenos tienen efectos distintos a los niveles de temperatura en la producción de esporas siendo T. Paradoxa con la temperatura de 25 grados centígrados significativamente superior a los demás (Cuadro 8).

c. Variabilidad en patogenicidad

Los resultados de las pruebas de patogenicidad con los cinco aislamientos seleccionados e identificados se da a continuación:

1) Prueba de patogenicidad en frutos destacados

El desarrollo promedio en días del período de infección de las inoculaciones con los patógenos seleccionados se muestran en el cuadro 9.

Los resultados nos indican que P. palmivora causa infección aun sin herida produciendo la sintomatología típica de la enfermedad denominada como "podredumbre parda del cacao", en cambio L. theobromae, T. paradoxa y C. gloeosporioides infectan al cacao solo a través de heridas. El período de latencia medido en días desde la inoculación hasta el inicio de esporulación es variable según el patógeno en estudio. Así por ejemplo

CUADRO 8. Producción de esporas de los patógenos bajo diferentes niveles de temperatura.

| PATOGENOS * | NIVELES DE TEMPERATURA | PRODUCCION DE ESPORAS (por/cc)** | | |
|-----------------------|------------------------|----------------------------------|---------------|---|
| | | Originales | Transformados | |
| <u>Thielaviopsis</u> | 25 grados C | 3'425,000 | 415,100 | a |
| <u>Phytophthora</u> | 25 grados C | 1'900,000 | 310,100 | b |
| <u>Lasiodiplodia</u> | 25 grados C | 1'500,000 | 274,750 | c |
| <u>Colletotrichum</u> | 25 grados C | 1'275,000 | 254,900 | c |
| <u>Colletotrichum</u> | 35 grados C | 100,000 | 79,050 | d |
| <u>Lasiodiplodia</u> | 10 grados C | 0 | 35,350 | e |
| <u>Lasiodiplodia</u> | 35 grados C | 0 | 35,350 | e |
| <u>Thielaviopsis</u> | 10 grados C | 0 | 35,350 | e |
| <u>Thielaviopsis</u> | 35 grados C | 0 | 35,350 | e |
| <u>Colletotrichum</u> | 10 grados C | 0 | 35,350 | e |
| <u>Phytophthora</u> | 10 grados C | 0 | 35,350 | e |
| <u>Phytophthora</u> | 35 grados C | 0 | 35,350 | e |
| C.V. (%) | | | 10.02 | |

* Patógenos: L. theobromae, C. gloeosporioides, T. paradoxa, P. palmivora.

** Los datos fueron transformados en $\sqrt{X+0.5}$ y los promedios seguidos de la misma letra no difieren significativamente entre sí (Duncan P=0.05).

para P. palmivora el período varia entre 5.5 a 6.5 días cuando inoculados con herida, existiendo diferencia significativa entre ellos (Anexo 4A). Esto define una superioridad en velocidad de desarrollo cuando inoculados con herida (Cuadro 10) Cuando inoculados sin herida mayor velocidad se presenta en los tamaños 1 y 3, hasta igualar estadísticamente a la inoculación con herida (Cuadro 10). En todo esto, el período de latencia es muy corto permitiéndole al patógeno repetir su ciclo de vida rápidamente y causar una epidemia en poco tiempo, siempre y cuando las condiciones de ambiente le sean favorables. L. theobromae presenta un período de latencia entre 12.5 a 14 días mas largo, en cambio T. paradoxa ésta fue de 5 a 7.5 días. C. gloeosporioides presenta un rango de 4 a 16 días.

Con respecto al tamaño del fruto en relación a la infección medido por su período de latencia (cuadro 9), se observa que para P. palmivora inoculado con herida ésta fue igual (4 días), en cambio inoculado sin herida presentó período mayor cuanto mas grande el fruto. Para L. theobromae no hubo grandes diferencias, tampoco existió entre el tamaño mediano, grande y maduro de T. paradoxa, no infectando en tamaño pequeño; entre tanto C. gloeosporioides presenta menor período de latencia cuanto más pequeño el fruto.

CUADRO 9. Desarrollo promedio en días del período de infección de las inoculaciones en frutos destacados con los patógenos aislados.

| CARACTERÍSTICAS BIOLOGICAS | P A T O G E N O S I N O C U L A D O S * | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-------------------------------|---|-------|-------|-------|------------------------|-------|-------|-------|------------------------|-------|-------|-------|-------------------------|-------|-------|-------|---|---|-----|---|-----|---|-----|---|-----|---|-----|---|------|---|------|---|---|
| | <u>Phytophthora</u> * | | | | <u>Lasiodiplodia</u> * | | | | <u>Thielaviopsis</u> * | | | | <u>Colletotrichum</u> * | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | 1** | 2 | 3 | 4 | 1 | 2 | 3 | 4 | 1 | 2 | 3 | 4 | 1 | 2 | 3 | 4 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | +ch sh | ch sh | ch sh | ch sh | ch sh | ch sh | ch sh | ch sh | ch sh | ch sh | ch sh | ch sh | ch sh | ch sh | ch sh | ch sh | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Inicio de lesión | 2.0 | 4.0 | 2.0 | 3.0 | 2.0 | 4.0 | 2.0 | 4.0 | 3.0 | - | 4.0 | - | 6.0 | - | 7.0 | - | - | - | 5.0 | - | 4.0 | - | 3.0 | - | 2.0 | - | 4.0 | - | 4.0 | - | 9.0 | - | |
| Desarrollo de lesión | 3.0 | 5.0 | 3.0 | 4.0 | 3.0 | 5.0 | 3.0 | 6.0 | 4.0 | - | 6.0 | - | 7.0 | - | 10.0 | - | - | - | 6.0 | - | 5.0 | - | 4.0 | - | 3.0 | - | 5.0 | - | 5.0 | - | 14.0 | - | |
| Inicio esporulación | 4.0 | 5.5 | 4.0 | 6.5 | 4.0 | 6.0 | 4.0 | 6.5 | 14.0 | - | 13.0 | - | 12.5 | - | 12.5 | - | - | - | 7.5 | - | 6.5 | - | 5.0 | - | 4.0 | - | 6.0 | - | 6.5 | - | 16.0 | - | |
| Espor. abundante | 5.0 | 7.0 | 6.0 | 9.0 | 6.0 | 8.0 | 6.0 | 10.0 | - | - | 15.0 | - | 14.0 | - | 15.0 | - | - | - | 9.0 | - | 8.0 | - | 8.0 | - | 8.0 | - | 8.0 | - | 12.0 | - | - | - | - |
| Periodo de latencia | 4.0 | 5.5 | 4.0 | 6.5 | 4.0 | 6.0 | 4.0 | 6.5 | 14.0 | - | 13.0 | - | 12.5 | - | 12.5 | - | - | - | 7.5 | - | 6.5 | - | 5.0 | - | 4.0 | - | 6.0 | - | 6.5 | - | 16.0 | - | |

* Patógenos: Phytophthora palmivora, Lasiodiplodia theobromae, Thielaviopsis paradoxa, Colletotrichum gloeosporioides

** Tamaño de frutos: 1(pequeño), 2(mediano), 3(grande), 4(maduro).

+ Inoculaciones: ch= con herida, sh= sin herida.

CUADRO 10 Patogenicidad de *Phytophthora palmivora* inoculados en diferentes tamaños de frutos destacados de cacao con y sin herida.

| Para Tamaños (A) | | | Para Inoculaciones (B) | | | Para Interacción Tamaño-Inoculaciones (C) | | | |
|-------------------|----------------------------|-----------|------------------------|----------------------------|-----------|---|---------------|----------------------------|-----------|
| Tamaño de Frutos* | Periodo de latencia (días) | | Inoculaciones | Periodo de latencia (días) | | Tamaño de Frutos* | Inoculaciones | Periodo de Latencia (días) | |
| | Orig. | Transf.** | | Orig. | Transf.** | | | Orig. | Transf.** |
| 2(mediano) | 5.00 | 4.77 a | Sin herida | 6.00 | 2.57 a | 2(mediano) | Sin herida | 6.00 | 2.56 a |
| 4(maduro) | 5.25 | 4.77 a | Con herida | 4.00 | 2.12 b | 4(maduro) | Sin herida | 6.50 | 2.64 ab |
| 3(grande) | 5.00 | 4.67 a | | | | 3(grande) | Sin herida | 6.00 | 2.55 abc |
| 1(pequeño) | 4.75 | 4.57 a | | | | 1(pequeño) | Sin herida | 5.50 | 2.45 abc |
| | | | | | | 1(pequeño) | Con herida | 4.00 | 2.12 c |
| | | | | | | 2(mediano) | Con herida | 4.00 | 2.12 c |
| | | | | | | 3(grande) | Con herida | 4.00 | 2.12 c |
| | | | | | | 4(maduro) | Con herida | 4.00 | 2.12 c |
| C.V. (%) | 7.94 | | | 7.94 | | | | 7.94 | |

* Tamaño: 1(3.5-6.0cm.), 2(8.5-13.5cm.), 3(17-21cm.), 4(maduro)

** Los datos fueron transformados a $\sqrt{X+0.5}$ y los promedios seguidos por la misma letra no difieren entre sí (Duncan P=0.05).

En L. theobromae si bien el período de incubación (tiempo desde la inoculación hasta el apareamiento de síntomas) es corto casi igual que los demás patógenos. Entre tanto su período de latencia (tiempo desde la inoculación hasta la esporulación) es más largo que los demás (Cuadro 9).

Realizado el análisis de variancia se encontró diferencia significativa para el patógeno, tamaño y la interacción en patógeno por tamaño (Anexo 5A). Estos análisis determinaron una mayor velocidad de desarrollo de la infección de P. palmivora y T. paradoxa, siendo menor de L. theobromae e intermedia de C. gloeosporioides (Cuadro 11). Del mismo modo el tamaño 1 (pequeño) es en el que mayor velocidad de desarrollo presentan (Cuadro 11). Cuando analizamos la interacción P. palmivora en los tamaños 1,2,3,4 y C. gloeosporioides en el tamaño 1 resultan ser los más violentos en su desarrollo (Cuadro 11).

En cuanto al porcentaje de infección externa e interna se encontraron diferente reacción (Cuadro 12).

CUADRO 11 Patogenicidad comparativa de los patógenos inoculados en diferentes tamaños de frutos destacados de cacao con herida.

| Para Patógenos (A) | | | Para Tamaños (B) | | | Para Interacción Patógeno-Tamaño | | | |
|-----------------------|----------------------------|-----------|-------------------|----------------------------|-----------|----------------------------------|-------------------|----------------------------|-----------|
| Patógenos* | Periodo de Latencia (días) | | Tamaño de Frutos† | Periodo de Latencia (días) | | Patógenos* | Tamaño de Frutos† | Periodo de Latencia (días) | |
| | Orig. | Transf.** | | Orig. | Transf.** | | | Orig. | Transf.** |
| <u>Lasiodiplodia</u> | 13.00 | 3.67 a | 4(maduro) | 9.37 | 3.03 a | <u>Colletotrichum</u> | 4(maduro) | 16.0 | 4.06 a |
| <u>Colletotrichum</u> | 8.12 | 2.84 b | 2(mediano) | 7.62 | 2.79 b | <u>Lasiodiplodia</u> | 1(pequeño) | 14.0 | 3.80 b |
| <u>Thielaviopsis</u> | 4.75 | 2.13 c | 3(grande) | 7.37 | 2.75 bc | <u>Lasiodiplodia</u> | 2(mediano) | 13.0 | 3.67 b |
| <u>Phytophthora</u> | 4.00 | 2.12 c | 1(pequeño) | 5.50 | 2.18 d | <u>Lasiodiplodia</u> | 3(grande) | 12.5 | 3.61 b |
| | | | | | | <u>Lasiodiplodia</u> | 4(maduro) | 12.5 | 3.61 b |
| | | | | | | <u>Thielaviopsis</u> | 2(mediano) | 7.5 | 2.83 c |
| | | | | | | <u>Thielaviopsis</u> | 3(grande) | 6.5 | 2.65 cd |
| | | | | | | <u>Colletotrichum</u> | 3(grande) | 6.5 | 2.65 cd |
| | | | | | | <u>Colletotrichum</u> | 2(mediano) | 6.0 | 2.55 de |
| | | | | | | <u>Thielaviopsis</u> | 4(maduro) | 5.0 | 2.35 ef |
| | | | | | | <u>Phytophthora</u> | 1(pequeño) | 4.0 | 2.12 g |
| | | | | | | <u>Phytophthora</u> | 2(mediano) | 4.0 | 2.12 g |
| | | | | | | <u>Phytophthora</u> | 3(grande) | 4.0 | 2.12 g |
| | | | | | | <u>Phytophthora</u> | 4(maduro) | 4.0 | 2.12 g |
| | | | | | | <u>Colletotrichum</u> | 1(pequeño) | 4.0 | 2.12 g |
| | | | | | | <u>Thielaviopsis</u> | 1(pequeño) | 0.0 | 0.71 g |
| C.V. (%) | 2.99 | | | 2.99 | | | | 2.99 | |

* Patógenos: Lasiodiplodia theobromae, Colletotrichum gloeosporioides, Thielaviopsis paradoxa, Phytophthora palmivora
 ** Los datos fueron transformados a $\sqrt{x+0.5}$ y los promedios seguidos de la misma letra no difieren entre sí (Duncan P=0.05).
 † Tamaño: 1(3.5-6.0cm.), 2(8.5-13.5cm.), 3(17-21cm.), 4(maduro).

CUADRO 12 Desarrollo promedio en porcentaje de la infección externa e interna en frutos destacados inoculados con todos los patógenos aislados.

| CARACTERISTICAS BIOLOGICAS | P A T O G E N O I N O C U L A D O | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-------------------------------|-----------------------------------|-------|----------------|-------|-------|--------|-----------------|------|-------|-------|-----------------|-------|----|-------|------------------|-------|------|------|------|------|
| | 1** | | Phytophthora * | | | | Lasiodiplodia * | | | | Thielaviopsis * | | | | Colletotrichum * | | | | | |
| | ch++ | sh | ch | sh | ch | sh | ch | sh | ch | sh | ch | sh | ch | sh | ch | sh | ch | sh | ch | sh |
| Inicio lesión | 44.0 | 10.0 | 8.0 | 3.5 | 2.0 | 3.5 | 1.0 | 2.5 | 3.0 | 1.0 | 10.0 | 6.0 | 0 | 17.5 | 20.0 | 14.0 | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 1.0 |
| Desarrollo lesión | 77.5 | 70.0 | 17.0 | 7.5 | 5.0 | 8.0 | 2.0 | 4.5 | 15.0 | 5.5 | 45.0 | 20.0 | 0 | 47.5 | 55.0 | 32.5 | 17.5 | 4.0 | 3.0 | 2.0 |
| Inicio esporulación | 90.0 | 87.5 | 50.0 | 30.0 | 7.0 | 17.5 | 5.0 | 20.0 | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 82.5 | 0 | 77.5 | 77.5 | 60.0 | 22.5 | 5.5 | 5.0 | 12.0 |
| Espor. abundante | 100.0 | 100.0 | 70.0 | 80.0 | 17.5 | 30.0 | 20.0 | 32.5 | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 0 | 90.0 | 97.5 | 75.0 | 100 | 15.0 | - | - |
| Período latente | 90.0 | 87.5 | 50.0 | 30.0 | 7.0 | 17.5 | 5.0 | 20.0 | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 82.5 | 0 | 77.5 | 77.5 | 60.0 | 22.5 | 5.5 | 5.0 | 12.0 |
| Necrosis Interna | 100.0 | 82.5 | 87.5 | 82.5 | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 85.0 | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 0 | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 90.0 | 60.0 | 55.0 | 80.0 |
| Daño de almendras | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 100.0+ | 0.0 | 0.0 | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 0.0 | 0 | 100.0 | 100.0+ | 0.0 | 100 | 100 | 60.0 | 0.0 |

* Patógenos: Phytophthora palmivora, Lasiodiplodia theobromae, Thielaviopsis paradoxa, Colletotrichum gloeosporioides.

** Tamaño de fruto: 1 (pequeño), 2 (mediano), 3 (grande), 4 (maduro).

++ inoculación : ch = con herida, sh = sin herida.

+ algunos frutos con algunas semillas.

P. palmivora fue diferente entre inoculación, con herida y sin herida; mientras que en el tamaño 1, existe facilidad de inicio de lesión cuando hay herida (44%), poniendo alguna resistencia cuando no hay herida (10%) entre tanto una vez penetrado el desarrollo de la lesión se igualan (70 y 77.5% respectivamente), difiriendo significativamente con los demás tamaños (Cuadro 13); en cambio, para los tamaños 2,3 y 4, existe una mayor velocidad de desarrollo de lesión y completar el ciclo de vida con un menor porcentajes de área lesionada favoreciendo este proceso.

L. theobromae presenta inicialmente poco desarrollo externo, sugiriendo entonces que presenta un desarrollo interno, por dentro, siendo mas notorio en el tamaño 2 y 4, que demora en aparecer externamente la lesión (5%) (Figura 4); y es característica determinante en este patógeno que esporula cuando el fruto se ha infectado externamente en todo los tamaños. *T. paradoxa* no infectó al tamaño 1, haciéndolos en los tamaños 2, 3 y 4 con un desarrollo externo violento, cubriendo el fruto rápidamente. *C. gloeosporioides* infectó más rápidamente el tamaño 1 hasta alcanzar el 100%, entretanto en los tamaños 2, 3 y 4 la infección externa además de lenta fue insignificante (5.0 a 5.5%) (cuadro 12, Figura 4).

CUADRO 13 Patogenicidad de Phytophthora palmivora inoculado en diferentes tamaños de frutos destacados de cacao con y sin herida, expresado en porcentaje de infección al período de latencia.

| Tamaño de Frutos* | Para Tamaño (A) | | Para Inoculaciones (B) | | Para Interacción Tamaño-Inoculaciones (C) | | Infección (%) | Transf.** | |
|-------------------|-----------------|---------------|------------------------|---------------|---|-------------|---------------|-----------|-------------|
| | Orig. | Infección (%) | Inoculación | Infección (%) | Tamaño de Frutos* | Inoculación | | | |
| 1(pequeño) | 88.75 | 70.4725 a | Sin herida | 38.75 | 38.3788 a | 1(pequeño) | Con herida | 90.00 | 71.5600 a |
| 2(mediano) | 40.00 | 38.9475 b | Con herida | 38.00 | 36.1550 a | 1(pequeño) | Sin herida | 87.50 | 69.3850 ab |
| 3(grande) | 12.25 | 19.9075 c | | | | 2(mediano) | Con herida | 50.00 | 45.0000 c |
| 4(maduro) | 12.50 | 19.7400 c | | | | 2(mediano) | Sin herida | 30.00 | 32.8950 d |
| | | | | | | 4(maduro) | Sin herida | 20.00 | 26.5600 de |
| | | | | | | 3(grande) | Sin herida | 17.50 | 24.6750 def |
| | | | | | | 3(grande) | Con herida | 7.00 | 15.1400 g |
| | | | | | | 4(maduro) | Con herida | 5.00 | 12.9200 g |
| C.V. (%) | | 9.33 | | | 9.33 | | | | 9.33 |

* Tamaño: 1(3.5-6cm), 2(8.5-13.5cm), 3(17-21cm), y 4(maduro)

** Los datos fueron transformados en $\text{arc. sen } \sqrt{x}$ y los promedios seguidos de la misma letra no difieren entre sí (Duncan P=0.05)

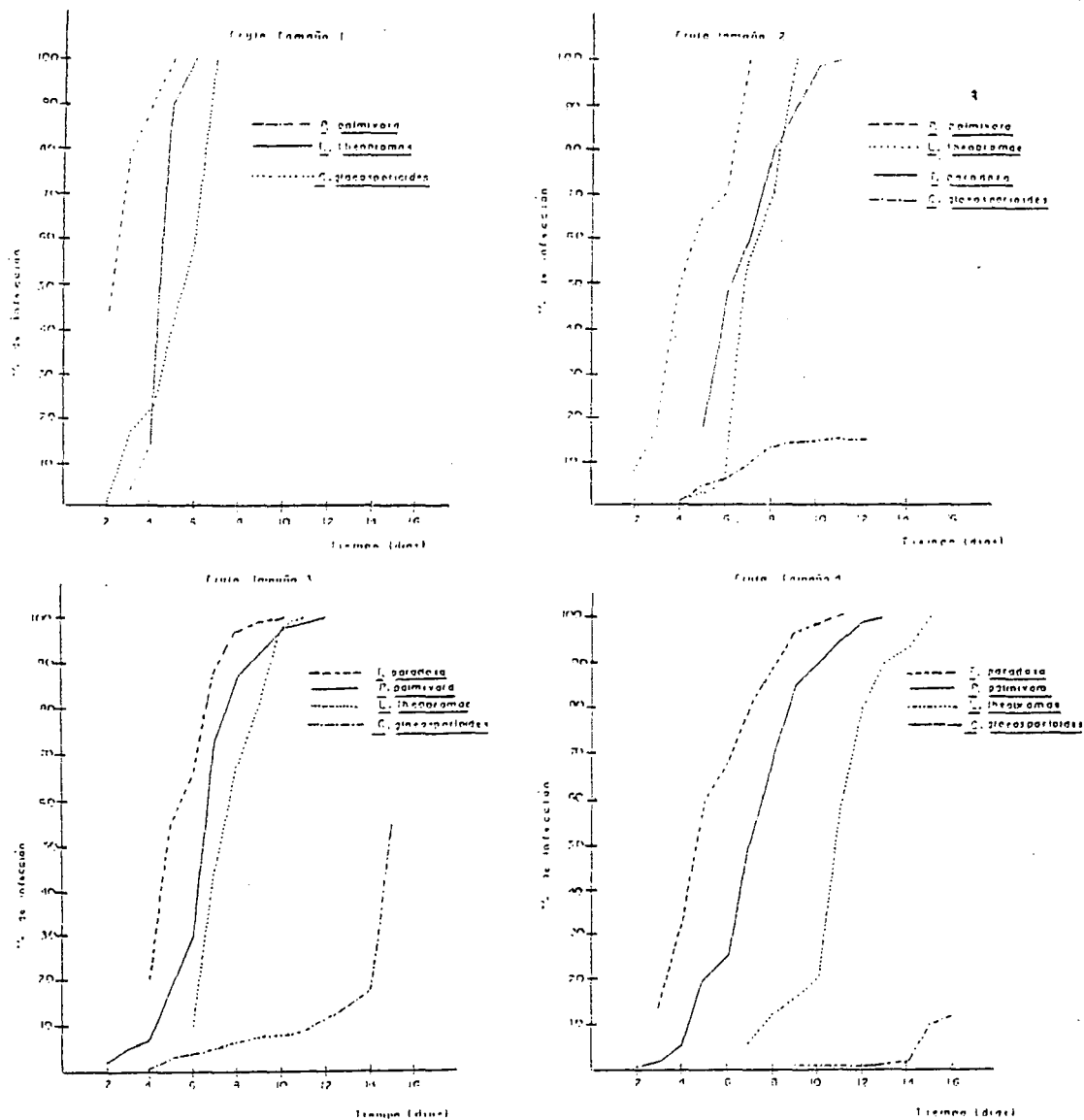


FIGURA 4. Desarrollo de infección externa en porcentaje de los patógenos *Phytophthora palmivora*, *Lasiodiplodia theobromae*, *Thielaviopsis paradoxa*, *Colletotrichum gloeosporioides* en frutos destacados de cacao de diferentes tamaños.

Analizado el porcentaje externo en el momento de inicio de esporulación L. theobromae fue superior estadísticamente a los demás, esto significa que cuando el fruto está casi totalmente infectado recién esporula, a diferencia de T. paradoxa y P. palmivora que con menos del 50% de lesión externa ya esporula (Cuadro 14) constituyéndose fuente de inóculo y el incremento de inóculo mas rápidamente.

Relacionando el daño de necrosis interna, éstos están en torno del 80 a 100%; que corresponde a un daño aparente de almendras de 100% (totalmente) para los tamaños 1,2 y 3 con los patógenos P. palmivora, L. theobromae, T. paradoxa, entretanto para C. gloeosporioides daños de 100% solo son producidos en el tamaño 1 y 2. Para el tamaño 4 (maduro) aunque la necrosis interna es severa, entretanto las almendras son recuperables (Cuadro 12).

2) Prueba de patogenicidad en frutos no destacados.

Fue observada infección en condiciones naturales de campo (Frutos no destacados) para P. palmivora, L. theobromae y T. paradoxa a diferencia de C. gloeosporioides en la que se observó síntoma sólo en el tamaño pequeño (Cuadro 15). Asimismo C. perniciososa produjo los síntomas típicos de la

CUADRO 14 Patogenicidad comparativa de los patógenos inoculados en diferentes tamaños de frutos destacados de cacao con herida, expresado en porcentaje de infección al período de latencia.

| Para Patógenos (A) | | | Para tamaño (B) | | | Para Interacción Patógeno-Tamaño | | | |
|-----------------------|---------------|----------|--------------------|---------------|------------|----------------------------------|--------------------|---------------|-----------|
| Patógenos* | Infección (%) | | Tamaño de Fruto ** | Infección (%) | | Patógenos* | Tamaño de Frutos** | Infección (%) | |
| | Orig. | Transf.+ | | Orig. | Transf.+ | | | Orig. | Transf.+ |
| <u>Lasiodiplodia</u> | 95.625 | 83.945 a | 2(mediano) | 58.250 | 53.120 a | <u>Lasiodiplodia</u> | 1(pequeño) | 100.0 | 90.000 a |
| <u>Thielaviopsis</u> | 41.250 | 44.323 b | 1(pequeño) | 53.125 | 47.371 ab | <u>Lasiodiplodia</u> | 2(mediano) | 100.0 | 90.000 a |
| <u>Phytophthora</u> | 38.000 | 36.155 c | 3(grande) | 47.375 | 45.015 abc | <u>Lasiodiplodia</u> | 3(grande) | 100.0 | 90.000 a |
| <u>Colletotrichum</u> | 11.250 | 18.525 d | 4(maduro) | 39.875 | 37.442 d | <u>Phytophthora</u> | 1(pequeño) | 90.0 | 71.560 b |
| | | | | | | <u>Lasiodiplodia</u> | 4(maduro) | 82.5 | 65.780 bc |
| | | | | | | <u>Thielaviopsis</u> | 2(mediano) | 77.5 | 63.930 bc |
| | | | | | | <u>Thielaviopsis</u> | 3(grande) | 77.5 | 62.000 bc |
| | | | | | | <u>Thielaviopsis</u> | 4(maduro) | 60.0 | 50.800 cd |
| | | | | | | <u>Phytophthora</u> | 2(mediano) | 50.0 | 45.000 d |
| | | | | | | <u>Colletotrichum</u> | 1(pequeño) | 22.5 | 27.360 e |
| | | | | | | <u>Colletotrichum</u> | 4(maduro) | 12.0 | 20.270 e |
| | | | | | | <u>Phytophthora</u> | 3(grande) | 7.0 | 15.140 e |
| | | | | | | <u>Colletotrichum</u> | 2(mediano) | 5.5 | 13.560 e |
| | | | | | | <u>Colletotrichum</u> | 3(grande) | 5.0 | 12.920 e |
| | | | | | | <u>Phytophthora</u> | 4(maduro) | 5.0 | 12.920 e |
| | | | | | | <u>Thielaviopsis</u> | 1(pequeño) | 0 | 0.570 f |
| C.V. (%) | 13.87 | | | 13.87 | | | | 13.87 | |

* Patógenos: Lasiodiplodia theobromae, Thielaviopsis paradoxa, Phytophthora palmivora, Colletotrichum gloeosporioides.

** Tamaños: 1(3.5-6cm.), 2(8.5-13.5cm.), 3(17-21cm), 4(maduro)

+ Los datos fueron transformados en $\text{arc. sen. } \sqrt{x}$ y los promedios seguidos de la misma letra no difieren entre sí (Duncan P=0.05).

CUADRO 15 Desarrollo promedio en días del período de infección de los patógenos inoculados en frutos no destacados de cacao de diferente tamaño con y sin herida.

| CARACTERÍSTICAS BIOLOGICAS | P A T O G E N O S I N O C U L A D O S * | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-------------------------------|---|-----|-----|-----|-------------------------|-----|-----|-----|-------------------------|----|------|----|--------------------------|----|------|----|-----------------------|----|-----|----|-----|----|-----|---|-----|---|---|---|---|---|---|---|------|---|------|---|---|---|
| | <u>Phytophthora</u> ** | | | | <u>Lasiodiplodia</u> ** | | | | <u>Thielaviopsis</u> ** | | | | <u>Colletotrichum</u> ** | | | | <u>Crinipellis</u> ** | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | *** 1 | | 2 | | 3 | | 4 | | 1 | | 2 | | 3 | | 4 | | 1 | | 2 | | 3 | | 4 | | | | | | | | | | | | | | | |
| +ch | sh | ch | sh | ch | sh | ch | sh | ch | sh | ch | sh | ch | sh | ch | sh | ch | sh | ch | sh | ch | sh | ch | sh | | | | | | | | | | | | | | | |
| Inicio de lesión | 2.0 | 3.0 | 2.5 | 4.0 | 2.0 | 3.5 | 3.0 | 3.0 | - | - | 9.0 | - | 5.5 | - | 5.0 | - | - | - | 5.0 | - | 4.0 | - | 5.0 | - | 3.5 | - | - | - | - | - | - | - | 63.0 | - | 70.0 | - | - | - |
| Desarrollo lesión | 3.0 | 4.0 | 3.5 | 5.0 | 3.0 | 4.5 | 4.0 | 6.0 | - | - | 10.0 | - | 6.5 | - | 6.0 | - | - | - | 6.0 | - | 5.0 | - | 6.0 | - | 4.5 | - | - | - | - | - | - | - | 91.0 | - | 98.0 | - | - | - |
| Inicio Espor.* | 4.0 | 5.0 | 4.5 | 6.5 | 4.0 | 5.5 | 5.0 | 6.5 | - | - | 12.0 | - | 11.5 | - | 12.5 | - | - | - | 7.0 | - | 6.0 | - | 7.0 | - | 5.5 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | |
| Espor.* abundante | 5.0 | 6.0 | 5.5 | 7.0 | 5.0 | 7.0 | 6.0 | 8.0 | - | - | 15.0 | - | 14.5 | - | 14.0 | - | - | - | 8.0 | - | 9.0 | - | 8.0 | - | 9.0 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Periodo latencia | 4.0 | 5.0 | 4.5 | 6.5 | 4.0 | 5.5 | 5.0 | 6.5 | - | - | 12.0 | - | 11.5 | - | 12.5 | - | - | - | 7.0 | - | 6.0 | - | 7.0 | - | 5.5 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |

* Espor.=Esporulación

** Patógenos: Phytophthora palmivora, Lasiodiplodia theobromae, Thielaviopsis paradoxa, Colletotrichum gloeosporioides, Crinipellis perniciosa.

*** Tamaño de frutos: 1(pequeño), 2(mediano), 3(grande), 4(maduro).

+ Inoculaciones: ch= con herida, sh= sin herida.

enfermedad denominada como Escoba de bruja, solamente cuando se inóculo en frutos pequeños y medianos sin herida. En frutos pequeños los primeros síntomas se observaron a los 63 días después de las inoculaciones consistente en unos puntos necróticos. Veintiocho días más tarde (91 días) mostraronse deformados, de color amarillo verdoso y totalmente duras. Frutos medianos presentaron inicialmente los mismos síntomas que el caso anterior más a la evaluación final (98 días) éstas se tornaron con una madurez prematura, poco desarrolladas y con partes de las habas aprovechables.

Infecciones por P. palmivora se presentan con ambas metodologías de inoculación (con y sin herida), alcanzando diferencia significativa (Anexo 4A), cuando medido en base al período latente (Cuadro 16) facilitando la herida la penetración. Aunque en todos los tamaños de frutos se obtienen períodos de latencia cortos, los menores se obtienen en los tamaños 1 y 3 (Cuadro 16).

CUADRO 16 Patogenicidad de *Phytophthora palmivora* inoculados en diferentes tamaños de frutos no destacados de cacao con y sin herida.

| Para Tamaños (A) | | | Para Inoculaciones (B) | | | Para Interacción Tamaño-Inoculaciones (C) | | | |
|-------------------|----------------------------|-----------|------------------------|----------------------------|-----------|---|---------------|----------------------------|-----------|
| Tamaño de Frutos* | Periodo de Latencia (días) | | Inoculaciones | Periodo de Latencia (días) | | Tamaño de Frutos* | Inoculaciones | Periodo de Latencia (días) | |
| | Orig. | Transf.** | | Orig. | Transf.** | | | Orig. | Transf.** |
| 4(maduro) | 5.75 | 2.49 a | Con herida | 4.370 | 2.51 a | 2(mediano) | Sin herida | 6.50 | 2.63 a |
| 2(mediano) | 5.50 | 2.43 a | Sin herida | 5.875 | 2.43 a | 4(maduro) | Sin herida | 6.50 | 2.63 a |
| 3(grande) | 4.75 | 2.28 a | | | | 3(grande) | Sin herida | 5.50 | 2.44 ab |
| 1(pequeño) | 4.50 | 2.22 a | | | | 4(maduro) | Con herida | 5.00 | 2.38 ab |
| | | | | | | 1(pequeño) | Sin herida | 5.00 | 2.34 ab |
| | | | | | | 2(mediano) | Con herida | 4.50 | 2.23 ab |
| | | | | | | 1(pequeño) | Con herida | 4.00 | 2.12 b |
| | | | | | | 3(Grande) | Con herida | 4.00 | 2.12 b |
| C.V. (%) | | 7.74 | | | 7.74 | | | | 7.74 |

* Tamaños: 1(3.5-6cm.), 2(8.5-13.5cm.), 3(17-21cm.), 4(maduro).

** Los datos fueron transformados en $\sqrt{x+0.5}$ y los promedios seguidos de la misma letra no difieren entre sí (Duncan P=0.05).

Cuando inoculados L. theobromae y T. paradoxa a frutos pequeños (tamaño 1) no se obtuvo infección, lo mismo a los frutos mediano, grande y maduro cuando inoculado con C. gloeosporioides. P. palmivora, T. paradoxa y C. gloeosporioides en los frutos infectados presentaron período de latencia similares (4 a 7 días), en cambio L. theobromae presenta más largo (12 días), aunque sin alcanzar diferencia significativa entre ellas (Cuadro 17). Sobresaliendo en importancia las infecciones ocurridas por P. palmivora.

La infección expresada en porcentaje de necrosis externa nos muestra que inoculaciones de P. palmivora en el tamaño 1 presenta un desarrollo externo violento alcanzando a cubrir el fruto rápidamente (Cuadro 18), difiriendo significativamente con los del tamaño 2,3 y 4 (Cuadro 19); en cambio inoculaciones de C. gloeosporioides inoculado en el tamaño 1 su desarrollo externo es lento (Cuadro 18).

Por otro lado inoculaciones de P. palmivora en los tamaños 2,3 y 4 presentan un desarrollo paulatino alcanzando hasta la esporulación necrosis externa del fruto relativamente pequeños (entre 9-27.5%), en cambio inoculaciones con L. theobromae y T. paradoxa alcanzan la fructificación cuando el cubrimiento del fruto está arriba del 50% (entre el 80-

CUADRO 17 Patogenicidad comparativa de los patógenos inoculados en frutos no destacados de cacao de diferentes tamaños con herida.

| Patógenos* | Para Patógenos (A) | | Para Tamaño de Frutos (B) | | Para la Interacción Patógeno-Tamaño (C) | | | | |
|-----------------------|----------------------------|-----------|-----------------------------|----------------------------|---|-----------------------|----------------------------|-----------|---------|
| | Periodo de latencia (días) | | Tamaño de Frutos | Periodo de latencia (días) | | Tamaño de Frutos | Periodo de latencia (días) | | |
| | Orig. | Transf.** | | Orig. | Transf.** | | Orig. | Transf.** | |
| <u>Lasiodiplodia</u> | 9.000 | 2.82 a | 4 (maduro) | 6.125 | 2.34 a | <u>Lasiodiplodia</u> | 4 (maduro) | 12.50 | 3.60 a |
| <u>Thielaviopsis</u> | 5.000 | 2.17 ab | 2 (mediano) | 5.875 | 2.29 ab | <u>Lasiodiplodia</u> | 2 (mediano) | 12.00 | 3.53 a |
| <u>Phytophthora</u> | 4.375 | 1.95 bc | 3 (grande) | 5.375 | 1.95 abc | <u>Lasiodiplodia</u> | 3 (grande) | 11.50 | 3.46 a |
| <u>Colletotrichum</u> | 1.375 | 1.13 d | 1 (pequeño) | 2.375 | 1.49 c | <u>Thielaviopsis</u> | 2 (mediano) | 7.00 | 2.73 a |
| | | | | | | <u>Thielaviopsis</u> | 4 (maduro) | 7.00 | 2.73 a |
| | | | | | | <u>Thielaviopsis</u> | 3 (grande) | 6.00 | 2.54 a |
| | | | | | | <u>Colletotrichum</u> | 1 (pequeño) | 5.50 | 2.44 a |
| | | | | | | <u>Phytophthora</u> | 4 (maduro) | 5.00 | 2.34 a |
| | | | | | | <u>Phytophthora</u> | 2 (mediano) | 4.50 | 2.23 ab |
| | | | | | | <u>Phytophthora</u> | 1 (pequeño) | 4.00 | 2.12 ab |
| | | | | | | <u>Phytophthora</u> | 3 (grande) | 4.00 | 2.12 ab |
| | | | | | | <u>Lasiodiplodia</u> | 1 (pequeño) | 0 | 0.70 b |
| | | | | | | <u>Thielaviopsis</u> | 1 (pequeño) | 0 | 0.70 b |
| | | | | | | <u>Colletotrichum</u> | 2 (mediano) | 0 | 0.70 b |
| | | | | | | <u>Colletotrichum</u> | 3 (grande) | 0 | 0.70 b |
| | | | | | | <u>Colletotrichum</u> | 4 (maduro) | 0 | 0.70 b |
| C.V. (%): | 31.81 | | 1.81 | | 31.81 | | | | |

* Patógenos: Lasiodiplodia theobromae, Thielaviopsis paradoxa, Phytophthora palmivora y Colletotrichum gloeosporioides.

** Los datos fueron transformados a $\sqrt{X + 0.5}$. y los promedios seguidos de la misma letra no difieren entre sí (Duncan P=0.05).

CUADRO 18 Desarrollo promedio en porcentaje de la infección externa e interna de las inoculaciones en frutos no destacados de cacao con los patógenos aislados.

| CARACTERISTICAS BIOLOGICAS | P A T O G E N O I N O C U L A D O | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-------------------------------|-----------------------------------|-------|-------|-------|----------------|-------|-------|------|-----------------|-------|-------|-------|-----------------|-------|--------|-------|------------------|----|------|----|
| | 1** | | 2 | | Phytophthora * | | | | Lasiodiplodia * | | | | Thielaviopsis * | | | | Colletotrichum * | | | |
| | ch*** | sh | ch | sh | ch | sh | ch | sh | ch | sh | ch | sh | ch | sh | ch | sh | ch | sh | ch | sh |
| inicio de lesión | 7.5 | 7.5 | 3.0 | 2.0 | 1.2 | 2.0 | 3.0 | 3.0 | 0 | 10.0 | 15.0 | 2.0 | 0 | 4.0 | 6.0 | 8.0 | 1.0 | 0 | 0.0 | 0 |
| Desarrollo lesión | 40.0 | 52.5 | 7.5 | 3.0 | 3.5 | 4.0 | 5.0 | 8.0 | 0 | 30.0 | 25.0 | 5.0 | 0 | 42.5 | 27.5 | 20.0 | 5.0 | 0 | 0.0 | 0 |
| Inicio Espor. | 95.0 | 100.0 | 27.5 | 11.5 | 10.0 | 9.0 | 10.0 | 17.5 | 0 | 80.0 | 82.5 | 80.0 | 0 | 72.5 | 42.5 | 45.0 | 20.0 | 0 | 0.0 | 0 |
| Espor. abundante | 100.0 | 100.0 | 42.5 | 45.0 | 19.0 | 25.0 | 16.0 | 20.0 | 0 | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 0 | 92.5 | 90.0 | 65.0 | 85.0 | 0 | 0.0 | 0 |
| Periodo latente | 95.0 | 100.0 | 27.5 | 11.5 | 10.0 | 9.0 | 10.0 | 17.5 | 0 | 80.0 | 82.5 | 80.0 | 0 | 72.5 | 42.5 | 45.0 | 20.0 | 0 | 0.0 | 0 |
| Necrosis Interna | 100.0 | 90.0 | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 85.0 | 0 | 100.0 | 85.0 | 80.0 | 0 | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 80.0 | 0 | 70.0 | 0 |
| Daño de almendras | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 85.0 | 0.0 | 0.0 | 0 | 100.0 | 50.0 | 0.0 | 0 | 100.0 | 100.0+ | 0.0 | 100.0 | 0 | 1.0 | 0 |

* Patógenos: Phytophthora palmivora, Lasiodiplodia theobromae, Thielaviopsis paradoxa, Colletotrichum gloeosporioides.

** Tamaño de fruto: 1 (pequeño), 2 (mediano), 3 (grande), 4 (maduro).

*** inoculación : ch = con herida, sh = sin herida.

+ algunos frutos con algunas semillas.

CUADRO 19 Patogenicidad de *Phytophthora palmivora* inoculados en frutos no destacados de cacao de diferentes tamaños con y sin herida, expresado en porcentaje de infección al período de latencia.

| Para tamaño (A) | | | Para inoculaciones (B) | | | Para interacción tamaño-inoculaciones (C) | | | |
|---------------------|---------------|----------|------------------------|---------------|----------|---|---------------|---------------|-----------|
| Tamaño de Frutos ** | Infección (%) | | Inoculaciones | Infección (%) | | Tamaño de Frutos ** | Inoculaciones | Infección (%) | |
| | Orig. | Transf.* | | Orig. | Transf.* | | | Orig. | Transf.* |
| 1 (pequeño) | 97.50 | 85.39 a | Con herida | 35.625 | 37.32 a | 1 (pequeño) | Sin herida | 100.0 | 90.000 a |
| 2 (mediano) | 19.50 | 25.60 b | Sin herida | 34.500 | 37.14 a | 1 (pequeño) | Con herida | 95.0 | 80.780 ab |
| 4 (maduro) | 13.75 | 19.96 b | | | | 2 (mediano) | Con herida | 27.5 | 31.601 c |
| 3 (grande) | 9.50 | 17.93 b | | | | 4 (maduro) | Sin herida | 17.5 | 21.495 cd |
| | | | | | | 2 (mediano) | Sin herida | 11.5 | 19.610 cd |
| | | | | | | 3 (grande) | Con herida | 10.0 | 18.440 cd |
| | | | | | | 4 (maduro) | Con herida | 10.0 | 18.440 cd |
| | | | | | | 3 (grande) | Sin herida | 9.0 | 17.435 d |
| C.V. (%) | 14.97 | | | 14.97 | | | | 14.97 | |

* Los datos fueron transformados en $\text{arc. sen. } \sqrt{\%}$ y los promedios seguidos de la misma letra no difieren entre sí (Duncan P=0.05).

** Tamaños: 1(3.5-6cm.), 2(8.5-13.5cm), 3(17-21cm.), 4(maduro).

82.5% y 43.0-72.5% para L. theobromae y T. paradoxa respectivamente) existiendo diferencia significativamente entre ellos (Cuadro 20).

Frutos inoculados con L. theobromae y T. paradoxa producen infección del 100% de la muestra en los tamaños 3 y 4 sugiriéndonos mayor predisposición de éstos tamaños de frutos a éstos patógenos (Cuadro 18).

Analizando la infección de los patógenos en cuanto a necrosis interna y el daño a las almendras se observó que P. palmivora causa un 100% de daño en los tamaños 1,2,3 a excepción de algunos de los tamaños 3 que cuando inoculados con herida alcanzan a tan solo 85% de daño de almendras; en el tamaño 4 (maduro) si bien llega a causar necrosis interna casi total (85%) entretanto las almendras son aun recuperables (Cuadro 18). L. theobromae cuando infecta frutos del tamaño 2, lo daña completamente, y al tamaño 3 los hace tan solo en un 50%, siendo aun aprovechables los del tamaño 4. T. paradoxa cuando infecta a los tamaños 2 y 3 los daña completamente pudiendo recuperarse en el tamaño 4. C. gloeosporioides cuando infecta en el tamaño 1, daña completamente el fruto; en campo en el tamaño 3, aun cuando no apareció necrosis externa, entretanto al final del ensayo se obtuvo un 70% de necrosis interna pero sin

CUADRO 20 Patogenicidad comparativa de los patógenos inoculados en frutos no destacados de cacao de diferentes tamaños con herida, expresado en porcentaje de infección al período de latencia.

| Para Patógenos (A) | | Para Tamaños (B) | | Para Interacción Patógeno- Tamaño | | | |
|-----------------------|-----------------------------------|--------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|--------------------|-----------------------------------|----------|
| Patógenos* | Infección (%) Orig. Transf.*** | Tamaño de Fruto | Infección (%) Orig. Transf.*** | Patógenos | Tamaño de Fruto | Infección (%) Orig. Transf.*** | |
| <u>Lasiodiplodia</u> | 61.87 49.20 a | 2 (mediano) | 29.37 39.16 a | <u>Phytophthora</u> | 1 (pequeño) | 95.0 | 80.77 a |
| <u>Phytophthora</u> | 35.62 37.31 b | 4 (maduro) | 45.00 32.15 ab | <u>lasiodiplodia</u> | 4 (maduro) | 85.0 | 67.48 ab |
| <u>Thielaviopsis</u> | 40.00 36.09 bc | 3 (grande) | 33.75 31.24 ab | <u>Lasiodiplodia</u> | 3 (grande) | 82.5 | 65.33 ab |
| <u>Colletotrichum</u> | 5.62 7.49 d | 1 (pequeño) | 35.05 27.55 b | <u>Lasiodiplodia</u> | 2 (mediano) | 80.0 | 63.44 b |
| | | | | <u>Thielaviopsis</u> | 2 (mediano) | 72.5 | 61.04 b |
| | | | | <u>Thielaviopsis</u> | 4 (maduro) | 45.0 | 42.13 c |
| | | | | <u>Thielaviopsis</u> | 3 (grande) | 42.5 | 40.64 c |
| | | | | <u>Phytophthora</u> | 2 (mediano) | 27.5 | 31.60 cd |
| | | | | <u>Colletotrichum</u> | 1 (pequeño) | 22.5 | 28.28 cd |
| | | | | <u>Phytophthora</u> | 3 (grande) | 10.0 | 18.44 d |
| | | | | <u>Phytophthora</u> | 4 (maduro) | 10.0 | 18.44 d |
| | | | | <u>Lasiodiplodia</u> | 1 (pequeño) | 0 | 0.57 e |
| | | | | <u>Thielaviopsis</u> | 1 (pequeño) | 0 | 0.57 e |
| | | | | <u>Colletotrichum</u> | 2 (mediano) | 0 | 0.57 e |
| | | | | <u>Colletotrichum</u> | 3 (grande) | 0 | 0.57 e |
| | | | | <u>Colletotrichum</u> | 4 (maduro) | 0 | 0.57 e |
| C.V. (%) | 21.38 | | 21.38 | | | | 21.38 |

* Patógenos: Lasiodiplodia theobromae, Phytophthora palmivora, Thielaviopsis paradoxa, Colletotrichum gloeosporioides.

** Tamaño : 1 (3.5-6 cm), 2(8.5-13.5 cm), 3(17-21 cm) y 4(maduro).

*** Los datos fueron transformados en $\text{arc. sen. } \sqrt{X}$ y los promedios seguidos de la misma letra no difieren entre sí (Duncan 0.05).

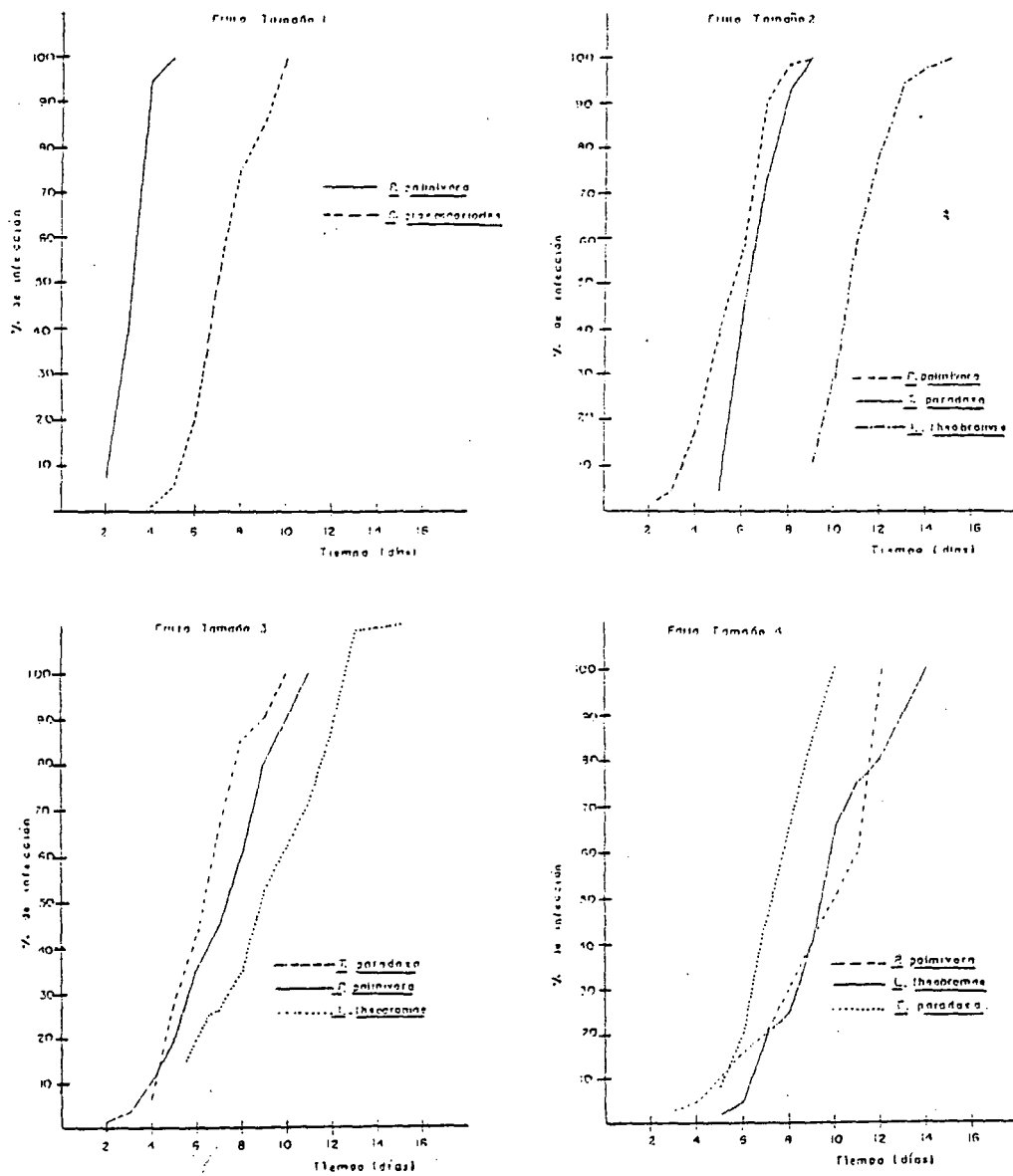


FIGURA 5. Desarrollo de infección externa en porcentaje de los patógenos Phytophthora palmivora, Lasiodiplodia theobromae, Thielaviopsis paradoxa, Colletotrichum gloeosporioides en frutos no destacados de cacao de diferentes tamaños.

causar daño a las almendras.

3) Prueba de patogenicidad en plántulas.

Los resultados de las pruebas de patogenicidad en plántulas tanto a nivel de tallos y brotes se da a continuación:

- A nivel de tallos: Dos de los cuatro patógenos seleccionados fueron patogénicos en tallos de 5-6 meses de edad que se usaron para la prueba. P. palmivora y L. theobromae fue patogénico, mostrando síntoma de necrosis en el leño del tallo. La infección bien definida pudo observarse a los 20 días después de las inoculaciones. Estas se presentaron solo en los puntos inoculados de forma sub-esférica, desarrollando la lesión hasta el cilindro vascular (Cuadro 21).

- A nivel de brotes: De los cinco aislamientos seleccionados P. palmivora y C. perniciosa produjeron los síntomas típicos de cada enfermedad, confirmándose de ésta manera su carácter fitopatogénico (Cuadro 22). Los primeros síntomas de Podredumbre parda (PP) pudo observarse entre los 2-3 días de las inoculaciones, tanto en los brotes inoculados con herida como sin herida. Las lesiones fueron mas o menos circulares y de coloración parda cubriendo parte de la hoja inoculadas. Asimismo escoba de bruja mostró los síntomas a los 30 días, siendo bien definida a los 44.

CUADRO 21. Patogenicidad en tallos de cacao de 5-6 meses de edad con discos de micelio-agar de los diferentes patógenos.

| Patógeno | Infección 20 días después de la inoculación | | | |
|---------------------------------------|---|--------|----------------|--------|
| | Primera Prueba | | Segunda Prueba | |
| | Abajo | Arriba | Abajo | Arriba |
| <u>Phytophthora palmivora</u> | + | + | + | + |
| <u>Lasiodiplodia theobromae</u> | + | + | + | + |
| <u>Thielaviopsis paradoxa</u> | - | - | - | - |
| <u>Colletotrichum gloeosporioides</u> | - | (+) | - | - |

* + Presencia y - ausencia de infección

(+) Algunos síntomas

CUADRO 22. Patogenicidad en Brotes de plántulas de cacao con los diferentes patógenos en estudio.

| Plántulas Inoculadas | Patógenos y síntomas presentados | | | | | | | | |
|--------------------------------------|----------------------------------|-----|----|---|----|---|----|---|----|
| | Pp* | | Lt | | Tp | | Cg | | Cp |
| | h | b** | h | b | h | b | h | b | b |
| Brotes Iniciales (estadios F1-F2) | ++ | + | - | - | - | - | - | - | + |
| Brotes intermedios (Estadios I1) | ++ | + | - | - | - | - | - | - | + |
| Brotes terminales (Estadio I2) | ++ | + | - | - | - | - | - | - | + |

* Pp=Phytophthora palmivora; Lt=Lasiodiplodia theobromae, Tp=Thielaviopsis paradoxa, Cg=Colletotrichum gloeosporioides, Cp=Crinipellis perniciosa.

** h= hoja b= brote.

** - ausencia de síntoma, + hipertrofia, ++ manchas.

días después de la inoculación, consistente éstas en unas deformaciones o hinchamientos de los brotes terminales seguida por una formación de escobas terminales. Si bien en condiciones del trabajo no infectó Antracnosis, entretanto algunas plantas sometidas a stres de agua y luego inoculados posteriormente ocurrió infección en brotes. En condiciones naturales este síntoma se vió también.

B. ESTUDIO DE VARIABILIDAD DE AISLAMIENTOS DE Phytophthora

Los daños en frutos producto de la infección de los diferentes patógenos que afectan al cacao, fueron estudiados en éste trabajo. Del total de aislamientos obtenidos y señalados en el Cuadro 3, cuarenta y tres aislamientos pertenecieron al hongo Phytophthora, de los cuales se escogieron nueve de ellas para el estudio de variabilidad.

Los síntomas típicos de Phytophthora en tronco se presentan con lesiones hundidas de forma ovalada y coloración negro rojisa en los bordes; generalmente exudando líquido rojizo oscuro por las cuarteaduras de la corteza. En plántulas de vivero se presentan con estrangulamiento a nivel del cuello y marchites posterior; en el suelo se presentan generalmente

circulando plantas con infección típica en los frutos. Estos fueron los síntomas encontrados en forma repetitiva; así como otros síntomas pueden estar presentes también.

1. Variabilidad morfológica

Según las claves y los parámetros evaluados con los cinco aislamientos seleccionados uno de ellos tuvo un comportamiento morfológico y de crecimiento diferente a los demás (Cuadro 23).

De los aislamientos de Phytophthora analizados presentaron como característica micelial diferenciados lo siguiente:

Especie 1. Crecimiento de las colonias se presentan estrelladas con micelio escaso y bien pegado al medio; tiene bordes definidos. El micelio visto al microscopio es hialino creciendo abundantemente en las mazorcas. Los esporangios son de forma variada, preferentemente ovoide ó elipsoidal, de color hialino a amarillo claro, el tamaño también variable papilados con pedicelo corto como característica principal, que comparando las características morfológicas y de crecimiento con la literatura correspondiente fue identificada como Phytophthora palmivora (Butler) Butler (Cuadro 23).

CUADRO 23 Comparación entre características morfológicas y de crecimiento de Phytophthora palmivora, Phytophthora capsici y 5 aislamientos de Phytophthora de cacao.Tingo María.

| AISLAMIENTO | | | | CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS | | | | | | | Especie |
|---------------------------|-----------------|---------------------|-----------|------------------------------|-------------------------------------|------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------|--------------------------|--------------------|
| No | Fuente | Forma de la Colonia | Micelio | Bordes | Esporangio Forma | Long. del Pedicelo (u) | Long. del Esporangio (u) | Ancho del Esporangio (u) | Tasa L/A (u) | Apice del Esporangio (u) | |
| 69 | Fruto | Estrellado | Escaso | Definidos | Ovoide | R* 2.46-3.69 | 40.59-54.12 | 19.68-30.75 | 1.72-2.18 | 2.46-4.92 | <u>P.palmivora</u> |
| | | | | | Elipsoidal | P** 2.63 | 49.37 | 24.48 | 1.80 | 3.12 | |
| 70 | Fruto | Petaloides | Esponjoso | No Definido | Variado | R 63.96-71.34 | 34.44-49.20 | 27.06-29.52 | 1.65-1.81 | 2.46-4.92 | <u>P.capsici</u> |
| | | | | | | P 67.20 | 42.6 | 28.0 | 1.7 | 3.44 | |
| 78 | Tronco | Estrellado | Escaso | Definidos | Ovoide | R 1.97-2.46 | 36.90-51.66 | 19.68-29.52 | 1.50-1.90 | 2.46-3.69 | <u>P.palmivora</u> |
| | | | | | Elipsoidal | P 2.41 | 43.54 | 24.35 | 1.75 | 2.83 | |
| 71 | Fruto | Estrellado | Escaso | Definido | Ovoide | R 1.23-2.46 | 34.44-49.20 | 19.68-29.52 | 1.55-1.83 | 1.23-3.69 | <u>P.palmivora</u> |
| | | | | | Elipsoidal | P 2.09 | 40.47 | 23.62 | 1.68 | 2.04 | |
| 77 | Suelo | Estrellado | Escaso | Definidos | Ovoide | R 1.23-4.92 | 44.28-54.12 | 24.60-29.52 | 1.55-1.80 | 2.46-4.92 | <u>P.palmivora</u> |
| | | | | | Elipsoidal | P 3.25 | 48.83 | 28.04 | 1.70 | 3.69 | |
| <u>P.palmivora</u> (+) | Frutos Otros | Estrellado | Escaso | Definidos | Ovoide y Elipsoidal | 1 - 5 | 43.0 | 27.7 | 1.69 | 4.70 | |
| <u>P.capsici</u> (+) | Frutos | Petaloides | Denso | No | +Esferica Ovoide y Elipsoidal | 30-200 | 37.0 | 22.7 | 1.70 | 4.60 | |

(+) Características definidas por WATERHOUSE (44), BRASIER (11), BRASIER y GRIFFIN (12), CAMPELO Y LUZ (15) y ZENTMYER (48).

* Rango (R) de medición de 25 esporangios por aislamiento

** Promedio (P) de medición de 25 esporangios por aislamiento

Especie 2. Crecimiento de las colonias se presentan petaloides con micelio denso y aéreo de aspecto algodonoso con bordes no definidos. El esporangio visto al microscopio no presenta grandes variaciones con respecto a la especie 1, a excepción de presentar un pedicelo largo como característica diferente de aquella, que al comparar dichas características morfológicas y de crecimiento con la literatura correspondiente fue identificada como Phytophthora capsici (Cuadro 23).

Cuando observado una característica morfológica del esporangio obtenidas de inoculaciones realizadas en fruto y placa estas mostraron diferencias (Cuadro 24). La longitud del esporangio son superiores cuando se producen en los frutos que en las placas petri cultivados, mismo que pertenezcan a una misma especie.

2. Variabilidad fisiológica

a. Efecto de luz en el desarrollo micelial de Phytophthora sp.

Realizado el análisis de variancia correspondiente al efecto de luz en el desarrollo micelial de cinco aislamientos de Phytophthora de fruto, tronco y suelo, mostraron diferencia significativa para los tipos de aislamiento y factor luz (Anexo 8A). Los aislamientos que pertenecen a P. palmivora no difieren

CUADRO 24 Comparación entre características morfológicas del esporangio de *Phytophthora palmivora* observada en frutos y placas.

| AISLAMIENTO No | Fuente | CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS | | | | | | | | | | |
|-------------------|--------|------------------------------|-----------|--------------------------|-------------|--------------------------|-------------|--------------|-----------|--------------------------|-------|------|
| | | Long. del Pedicelo (u) | | Long. del Esporangio (u) | | Ancho del Esporangio (u) | | Tasa L/A (u) | | Apice del Esporangio (u) | | |
| | | Placa | Fruto | Placa | Fruto | Placa | Fruto | Placa | Fruto | Placa | Fruto | |
| 72 | Fruto | R* | 2.46-2.95 | 2.46-4.92 | 40.59-54.12 | 40.59-59.06 | 22.14-29.52 | 24.6-28.29 | 1.50-2.11 | 1.61-2.18 | | |
| | | P** | 2.51 | 3.28 | 44.53 | 50.49 | 24.11 | 26.49 | 1.85 | 1.90 | 2.71 | 3.69 |
| 78 | Tronco | R | 1.97-2.46 | 2.46-3.69 | 36.90-51.66 | 39.36-71.34 | 19.68-29.52 | 24.6-31.98 | 1.50-1.90 | 1.56-2.23 | | |
| | | P | 2.41 | 2.95 | 43.54 | 48.54 | 24.35 | 26.65 | 1.75 | 1.81 | 2.83 | 3.44 |
| 77 | Suelo | R | 1.97-2.95 | 2.46-3.69 | 34.44-46.74 | 49.20-71.34 | 22.14-27.06 | 22.1-27.06 | 1.55-1.80 | 1.80-2.90 | | |
| | | P | 2.46 | 2.68 | 40.96 | 53.34 | 23.99 | 25.38 | 1.70 | 2.10 | 2.56 | 3.13 |
| 75 | Suelo | R | | 2.46-4.92 | 34.44-51.66 | 39.36-63.96 | 20.91-24.6 | 22.1-31.98 | 1.55-2.22 | 1.61-2.00 | | |
| | | P | 2.46 | 2.97 | 42.19 | 47.87 | 22.70 | 26.75 | 1.85 | 1.78 | 2.76 | 2.62 |
| 69 | Fruto | R | 2.46-3.69 | 2.46-3.69 | 40.59-54.12 | 41.82-61.50 | 19.68-30.75 | 24.6-29.52 | 1.72-2.18 | 1.58-2.13 | | |
| | | P | 2.63 | 2.91 | 46.37 | 52.44 | 24.48 | 28.07 | 1.90 | 1.86 | 3.12 | 3.20 |
| 71 | Fruto | R | 1.23-2.46 | 2.46-3.69 | 34.44-45.20 | 39.36-54.12 | 19.68-29.52 | 19.6-24.60 | 1.55-1.83 | 1.61-2.20 | | |
| | | P | 2.09 | 2.95 | 40.47 | 47.23 | 23.62 | 24.11 | 1.68 | 1.97 | 2.04 | 3.12 |

* Rango (R) de medición de 25 esporangios por aislamiento.

** Promedio (P) de medición de 25 esporangios por aislamiento.

entre ellos pero si muestran superioridad frente al aislamiento de P. capsici (Cuadro 25). Las diferentes condiciones de luz muestran diferente comportamiento en los diferentes tipos de aislamientos, superando luz continua significativamente a luz parcial, entre tanto luz continua, luz alternada y oscuridad continua no existe diferencia significativa en el desarrollo micelial (Cuadro 26).

Graficando el desarrollo micelial en relación al tiempo para los diferentes aislamientos estudiados (Figura 6) muestran que los aislamientos N, VIII, Aa y F1 perteneciente a P. palmivora son diferentes a Ca que es P. capsici, confirmándose que existe entre ellos variabilidad donde P. palmivora supera a P. capsici.

CUADRO 25. Desarrollo micelial correspondiente a los aislamientos de Phytophthora palmivora y P. capsici .

| No. | Aislamientos | | Desarrollo micelial | |
|----------|--------------|--------------------|---------------------|---|
| | Fuente | Patógeno | (cm) | |
| 69 | Fruto | <u>P.palmivora</u> | 8.5875 | a |
| 77 | Suelo | <u>P.palmivora</u> | 8.4375 | a |
| 78 | Tronco | <u>P.palmivora</u> | 8.3500 | a |
| 71 | Fruto | <u>P.palmivora</u> | 8.2875 | a |
| 70 | Fruto | <u>P.capsici</u> | 7.3625 | b |
| C.V. (%) | | | 8.96 | |

* Promedios seguidas con la misma letra no difiere significativamente entre sí (DUNCAN P=0.05).

CUADRO 26. Desarrollo micelial correspondiente a las condiciones de luz de Phytophthora palmivora y Phytophthora capsici.

| Condiciones de luz | Desarrollo micelial (cm)* | |
|--------------------|---------------------------|---|
| Luz continua | 8.56 | a |
| Luz alternada | 8.48 | a |
| Oscuridad continua | 8.27 | a |
| Luz parcial | 7.51 | b |
| C.V. (%) | 8.96 | |

* Promedios seguidos con la misma letra no difiere significativamente entre sí (DUNCAN P=0.05).

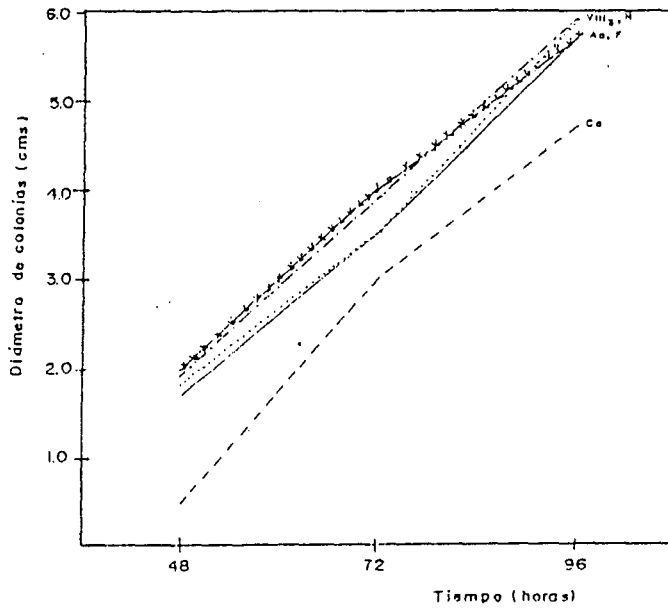


FIGURA 6. Desarrollo micelial de 5 aislamientos de Phytophthora del cultivo de cacao en Tingo María bajo condiciones de luz continua.

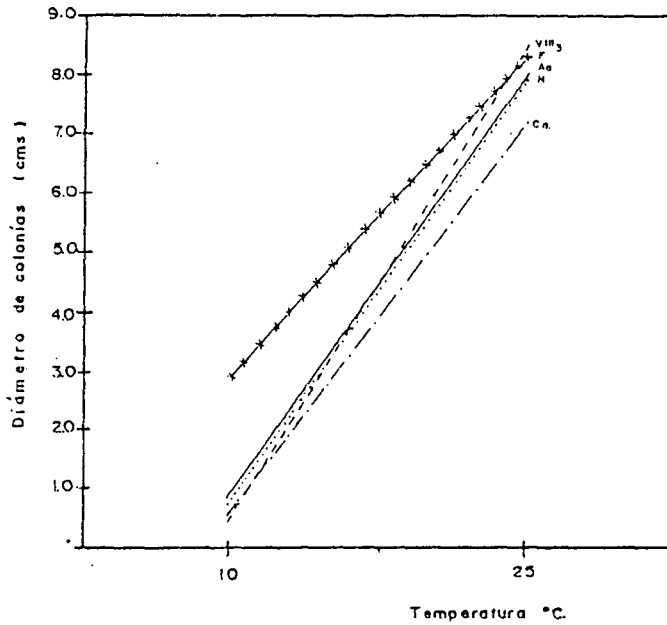


FIGURA 7. Desarrollo micelial de 5 aislamientos de Phytophthora del cultivo de cacao en Tingo María bajo temperaturas de 10 y 25°C.

b. Efecto de la temperatura en el desarrollo micelial de Phytophthora sp.

Realizado el análisis de variancia correspondiente al efecto de la temperatura en el desarrollo micelial de los cinco aislamientos de Phytophthora en estudio mostraron diferencia significativa para los tipos de aislamiento, niveles temperatura y la interacción aislamiento por temperatura (Anexo 9A). Los diferentes tipos de aislamientos sobre diferentes niveles de temperatura es variable, siendo que la combinación de cada aislamiento con la temperatura de 25 grados centígrados supera estadísticamente a las demás combinaciones (Cuadro 27).

La figura 7 muestra que los aislamientos en estudio tienen un comportamiento diferente en cuanto al desarrollo de la colonia. A los 25 grados centígrados los aislamientos de P. palmivora supera a P. capsici. mientras que a 10 grados centígrados todos los aislamientos tuvieron algún crecimiento, soportando esta temperatura extrema baja, entretanto no lo hacen a 35 grados centígrados.

CUADRO 27. Desarrollo micelial Phytophthora palmivora y Phytophthora capsici bajo diferentes niveles de temperaturas.

| No. | Aislamientos Fuente | Patógeno | Niveles de Temperatura | Desarrollo Micelial (Cm).* | | |
|----------|---------------------|---------------------|------------------------|----------------------------|---------|----|
| | | | | Orig. | Transf. | |
| 77 | Suelo | <u>P. palmivora</u> | 25 grados C | 8.45 | 2.99 | a |
| 71 | Fruto | <u>P. palmivora</u> | 25 grados C | 8.25 | 2.96 | a |
| 78 | Tronco | <u>P. palmivora</u> | 25 grados C | 8.00 | 2.92 | a |
| 69 | Fruto | <u>P. palmivora</u> | 25 grados C | 7.90 | 2.90 | a |
| 70 | Fruto | <u>P. capsici</u> | 25 grados C | 7.20 | 2.78 | a |
| 71 | Fruto | <u>P. palmivora</u> | 10 grados C | 2.85 | 1.83 | b |
| 78 | Tronco | <u>P. palmivora</u> | 10 grados C | 0.80 | 1.14 | c |
| 69 | Fruto | <u>P. palmivora</u> | 10 grados C | 0.70 | 1.10 | c |
| 70 | Fruto | <u>P. capsici.</u> | 10 grados C | 0.45 | 0.94 | cd |
| 77 | Suelo | <u>P. palmivora</u> | 10 grados C | 0.40 | 0.92 | cd |
| 77 | suelo | <u>P. palmivora</u> | 35 grados C | 0 | 0.70 | d |
| 69 | Fruto | <u>P. palmivora</u> | 35 grados C | 0 | 0.70 | d |
| 78 | Tronco | <u>P. palmivora</u> | 35 grados C | 0 | 0.70 | d |
| 71 | Fruto | <u>P. palmivora</u> | 35 grados C | 0 | 0.70 | d |
| 70 | Fruto | <u>P. capsici</u> | 35 grados C | 0 | 0.70 | d |
| C.V. (%) | | | | 8.017 | | |

* Promedios seguidos con la misma letra no difiere significativamente entre sí (DUNCAN, P=0.05)

3. Variabilidad de patogenicidad

a. Patogenicidad en frutos

Realizado el análisis de variancia para la patogenicidad en frutos de siete aislamientos bajo 3 modalidades de inoculación mostraron diferencia significativa entre ellos (Anexo 10A), siendo que los aislamientos de *P. palmivora* tuvieron diámetro de lesión similares, más superior estadísticamente al del aislamiento de *P. capsici* (Cuadro 28).

b. Patogenicidad en plántulas

Para las inoculaciones realizados en plántulas el análisis de variancia mostró diferencia significativa en plántulas de 5-6 meses (Anexo 11A). Los diferentes aislamientos tienen comportamientos diferentes según su patogenicidad, difiriendo significativamente entre ellos, en términos generales los aislamientos que pertenecen a *P. palmivora* supera significativamente al aislamiento de *P. capsici* en relación al área de lesión en los frutos (Cuadro 29).

CUADRO 28. Lesiones causadas por los aislamientos de Phytophthora palmivora y Phytophthora capsici bajo tres métodos de inoculaciones en frutos destacados de cacao.

| | | | DIAMETRO DE LESION (cm)* | | | | | |
|--------------|--------|--------------------|--------------------------|---|-----------|---|-----------|-----|
| Aislamientos | | | Frutos CH | | Frutos SH | | Frutos SH | |
| | | | + | | + | | + | |
| No. | Fuente | Patógeno | micelio** | | micelio | | Esporas | |
| 75 | suelo | <u>P.palmivora</u> | 9.30 | a | 6.47 | a | 9.58 | a |
| 71 | Fruto | <u>P.palmivora</u> | 8.88 | a | 6.35 | a | 6.63 | c |
| 78 | Tronco | <u>P.palmivora</u> | 8.85 | a | 7.53 | a | 7.08 | bc |
| 72 | Fruto | <u>P.palmivora</u> | 8.48 | a | 7.93 | a | 8.40 | abc |
| 69 | Fruto | <u>P.palmivora</u> | 8.33 | a | 8.38 | a | 7.45 | abc |
| 77 | Suelo | <u>P.palmivora</u> | 8.25 | a | 8.55 | a | 9.20 | ab |
| 70 | Fruto | <u>P.capsici</u> | 6.02 | b | 3.08 | b | 3.70 | d |
| C.V. (%) | | | 8.85 | | 15.88 | | 11.50 | |

* En cada columna los promedios seguidos por la misma letra no difieren entre sí (DUNCAN P=0.05)

** CH=con herida, SH=Sin herida

CUADRO 29. Lesiones causadas por los aislamientos de Phytophthora palmivora y Phytophthora capsici en plántulas de cacao de 5-6 meses de edad.

| Aislamiento | | | Area de Lesión (Cm ²)* | | | |
|-------------|--------|---------------------|------------------------------------|----|----------------|----|
| No. | Fuente | Patógeno | Primera prueba | | Segunda prueba | |
| 78 | Tronco | <u>P. palmivora</u> | 5.51 | a | 6.25 | b |
| 69 | Fruto | <u>P. palmivora</u> | 5.10 | a | 6.40 | a |
| 77 | Suelo | <u>P. palmivora</u> | 4.05 | ab | 5.34 | bc |
| 71 | Fruto | <u>P. palmivora</u> | 2.79 | bc | 4.70 | cd |
| 70 | Fruto | <u>P. capsici</u> | 2.36 | c | 3.95 | d |
| C.V. (%) | | | 27.00 | | 20.40 | |

* En cada columna, los promedios seguidos por la misma letra no difieren entre sí (DUNCAN P=0.05).

V. DISCUSION.

En los lugares de cultivo del cacao es práctica común, cuando no existen estudios básicos locales, tanto por técnicos como por agricultores consultar la literatura extranjera y ubicar los problemas fitosanitarios de ese cultivo y con ello recomendar medidas de control. Estas medidas entonces no están basados en un conocimiento local y por lo tanto en la mayoría de los casos las recomendaciones son exagerados no eficientes y casi siempre antieconómicas. Esto sin duda se corrigen cuando son realizados estudios básicos que definan primero las enfermedades prevaescentes, segundo la priorización de las enfermedades de mayor importancia, tercero sus condiciones que la favorecen para producir un mayor daño y por último definir las prácticas que al mismo tiempo de desfavorecer las condiciones permitan controlar las enfermedades.

El caso del cultivo de cacao en el Perú y particularmente en el Alto Huallaga no es diferente de lo dicho anteriormente; y los resultados del estudio biológico aquí alcanzado y analizados en éste capítulo de discusión, creemos que va ha permitir además de priorizar el problema principal orientar las medidas de control de

Este importante factor limitante del cultivo de cacao en

el Perú.

A. DEL ESTUDIO DE IDENTIFICACION Y VARIABILIDAD DE LOS PRINCIPALES PATOGENOS CAUSANTES DE LA PUDRICION EN FRUTOS DE CACAO.

1. De la Identificación

Las características sintomatológicas producidas en los frutos, el aislamiento y de sus características morfológicas fue posible en el área de muestreo estudiado, identificar a Crinipellis perniciosa (Stahel) Singer; Phytophthora palmivora (Butler) Butler y Phytophthora capsici Leonian; Lasiodiplodia theobromae (Pat)Griff. et Maube (= Botriodiplodia theobromae (Pat)); Colletotrichum gloeosporioides (Penzing) Sacc.; y Thielaviopsis paradoxa (de Seyries) Hohnel; responsables de las enfermedades de escoba de bruja; podredumbre parda, podredumbre negra, antacnosis y podredumbre por thielaviopsis, respectivamente, como causante de pudriciones en los frutos del cultivo de cacao.

La mayor cantidad de frutos infectados y por lo tanto aislamientos obtenidos correspondió a C. perniciosa y en segundo a Phytophthora sp. (cuadro 3) constituyéndose en los principales patógenos de daño que infectan frutos en el cultivo de cacao en la zona, lo que coincide lo encontrado por RIOS (41). Los demás patógenos

si bien son encontrados en gran cantidad pero casi siempre infectando en forma secundaria y en la mayoría saprofíticamente, tal como fue referido por otros autores para el país (11,41,42,) y otros países (4,7,15,18,30,48, 51). De los aislamientos de Phytophthora fueron encontrados que casi todos ellos pertenecieron a la especie de P. palmivora a excepción de uno como P. capsici encontrado en el sector de Castillo, indicándonos que estas 2 especies son responsables por la "Podredumbre parda" en la región de Tingo María. Esto confirma lo determinado por RIOS (42), quien realizó un Levantamiento poblacional de las especies de Phytophthora en la Región del Alto Huallaga. Estudios de identificación de más de una especie de Phytophthora infectando cacao ya fueron realizados en los diferentes países, así, P. megakaria y P. palmivora en Costa de Marfil (4), P. megakaria, P. palmivora y P. capsici en Nigeria (13), P. capsici, P. palmivora, P. citrophthora y P. heveae en Brasil (16,20); P. palmivora y P. megakaria en Togo (19), P. citrophthora, P. palmivora, P. capsici y P. nicotianae en Mexico (36), P. palmivora en la India (46).

2. De la Variabilidad Morfológica, Fisiológica y Patogénica.

Por sus características de variabilidad morfológica, fisiológica y de patogenicidad los patógenos causadores de pudrición en frutos son diferentes (Cuadros 4,5,6,7,8,9,12,15,18 y Figura 3,4,5).

Cuando comparado los aislamientos de un mismo patógeno no se encontró diferencias significativas entre ellos, a excepción de Phytophthora que los de la especie P. palmivora fue superior en crecimiento micelial a la especie P. capsici (Cuadro 4). Entretanto cuando comparado entre todos los aislamientos L. theobromae, T. paradoxa y Phytophthora sp. tienen un crecimiento rápido, C. gloeosporioides un crecimiento intermedio, C. perniciosa su crecimiento es lento (Figura 2).

En la variabilidad fisiológica, el efecto de luz tiene efecto diferenciado, siendo luz continua significativamente superior en crecimiento micelial y esporulación a luz alterna, luz parcial y oscuridad continua (Cuadro 5, 6), indicándonos que en condiciones de luz los patógenos se desarrollan más favorablemente; este efecto coincide con otras observaciones, así por ejemplo CAMPELO Y LUZ (17), y LUZ Y CAMPELO (30) determinaron para P. palmivora, P. capsici y P. citrophthora tienen una mayor prevalencia de crecimientos

micelial y de esporulación en luz continua; del mismo modo encontraron BABACAUH Y PARTIOT (4).

Con las relativas diferencias la prevalencia del crecimiento varía más de acuerdo al patógeno que la condición de luz, siendo que *L. theobromae* y *T. paradoxa* superan en crecimiento a *Phytophthora sp.* y éste a *C. gloeosporioides* y éste a *C. perniciosa* (Cuadro 5, Figura 3).

Aunque cuando comparado los diferentes patógenos en cuanto al efecto de la luz en la esporulación existe diferencia significativa entre ellas, superando *T. paradoxa* a los demás (Cuadro 6), debe tomarse este dato simplemente como referencial, mientras otros estudios sean realizados, ya que no todos los patógenos aquí comparados producen su esporulación en forma libre y que más bien estos se diferencian de acuerdo al tipo taxonómico del patógeno, y que por lo tanto y bajo el método de cuantificar esporulación aquí utilizado, no siempre es posible cuantificar el verdadero inóculo, así por ejemplo que para *P. palmivora* fue contado los esporangios teniendo conocimiento tal que otras fuentes también son infectivos como los zoosporangios y que no fueron contados siendo un parámetro de comparación usada por otros autores (17,29,31), del mismo modo *L. theobromae* que forma sus

esporas dentro de picnidios, no siempre, bajo la fricción sometida en las placas, es posible conseguir liberar la totalidad de esporas y por lo tanto dificultan su evaluación de su concentración final.

De los datos así obtenidos y teniendo en cuenta que las esporas constituyen la principal parte de infección de los patógenos, puede decirse teóricamente que aquel que produzca mas esporas es el que tiene mayor potencial de inóculo y mayor capacidad de infección, sin embargo por las consideraciones antes descrita esto no es así y los resultados no necesariamente significan aquello. Otros estudios serán necesarios para definir lo dicho.

En cuanto al efecto de la temperatura sobre el desarrollo micelial y de esporulación de los diferentes patógenos se encontró diferencias significativa, siendo la temperatura de 25 grados centígrados significativamente superior a 35 y 10 grados centígrados (Cuadro 7,8) .

Aunque ningún patógeno creció a la temperatura extrema baja de 10 grados centígrados, entretanto solamente *L. theobromae* y *C. gloeosporioides* presentan algún crecimiento a 35 grados centígrados, sugiriéndonos que estos patógenos tienen capacidad de soportar temperaturas altas. A la temperatura de 25, fue

grados centígrados la prevalencia del crecimiento varía de acuerdo al patógeno (Cuadro 7), muy similar a lo encontrado para el efecto de luz. Si bien en este caso T. paradoxa superó a los demás en cuanto a esporulación (Cuadro 8) entretanto este dato debe tomarse en reserva de acuerdo a las consideraciones relatadas para el efecto de luz.

En cuanto a la variabilidad en patogenicidad en frutos destacados y no destacados realizado, los resultados nos demostraron que P. palmivora causa infección aún sin herida, en cambio L. theobromae, T. paradoxa y C. gloeosporioides infectan al cacao a través de heridas. El período de latencia medido en días desde la inoculación hasta el inicio de esporulación es variable según el patógeno en estudio. Así P. palmivora este período varía entre 4-5 días cuando inoculado con herida y entre 5.5-6.5 días cuando lo es sin herida (Cuadro 9,10,15, y 16) mostrando una superioridad en velocidad de desarrollo cuando inoculado con herida, facilitando la penetración del patógeno. Aunque en todos los tamaños de frutos se obtienen período de latencia cortos, los menores períodos se obtienen en los tamaños 1 y 3 (Cuadro 10, 16). Esto nos determina los estados más susceptibles para prueba de resistencia (tamaño 1 y 3) determinándose el tamaño 3 por

la facilidad de la lectura de los diferentes parámetros a ser evaluados. Con todo el período de latencia por P. palmivora es muy corto permitiéndole al patógeno repetir su ciclo de vida rápidamente y causar una epidemia en poco tiempo, siempre y cuando las condiciones de ambiente le sean favorables.

Cuando los patógenos fueron inoculados en los diferentes tamaños de frutos destacados todos causan infección a excepción del T. paradoxa en el tamaño 1 (3.5-6 cm) que no infectó y C. gloeosporioides lo hizo con mucha dificultad en los tamaños 2 (8.5-13.5 cm), 3 (17-21 cm) y 4 (maduro). Ya en frutos no destacados L. theobromae y T. paradoxa no infectaron a frutos pequeños (tamaño 1) y C. gloeosporioides no infectó a frutos medianos (tamaño 2), grande (tamaño 3) y maduro (tamaño 4). Mientras que en frutos destacados T. paradoxa, L. theobromae y C. gloeosporioides presentó período de latencia entre 5 a 7.5 días, 12,5 y 19 días y entre 4 a 16 días respectivamente. En frutos infectados no destacados P. palmivora, T. paradoxa y C. gloeosporioides presentaron período de latencia similares (4 a 7 días), en cambio L. theobromae presenta más largo (12 días) (Cuadro 9,15), por lo que los primeros tienen una mayor velocidad de desarrollo de la infección, asimismo los frutos pequeños (tamaño 1) son los que mayor velocidad de desarrollo

desarrollo presentan (Cuadro 11 ,17), y por lo tanto de mayor susceptibilidad en campo.

La infección expresada en porcentaje de necrosis externa definió que P. palmivora en el tamaño 1 (pequeño) presenta un desarrollo externo violento alcanzando a cubrir el fruto rápidamente (Cuadro 12,18), aunque se observó que existe facilidad de inicio de lesión cuando hay herida, poniendo alguna resistencia cuando no hay herida entretanto una vez penetrado el desarrollo de la lesión se igualan. Esta característica que está ligada a la etapa de penetración del patógeno puede ser utilizado en prueba de resistencia con diferente material genético (17,29,42). Para el tamaño 1 (pequeño) la infección ocurrida con C. gloeosporioides en frutos no destacados el desarrollo externo es lento (Cuadro 18). Inoculaciones con P. palmivora en los tamaños 2,3 y 4 alcanzan hasta la esporulación necrosis externa del fruto relativamente pequeños (entre 9-27.5%) lo que permite completar el ciclo de vida en corto tiempo constituyéndose en fuente de inóculo más rápidamente. en cambio; inoculaciones con L. theobromae y T. paradoxa alcanzan la fructificación cuando el cubrimiento del fruto está arriba del 50% (Cuadros 12,14,18,20), siendo más notorio en L. theobromae que además de presentar inicialmente poco desarrollo externo, sugiriendo entonces

que presenta un desarrollo interno por dentro, más visible en los tamaños 2 y 4 (Figura 4,5), también alcanza la esporulación cuando el fruto está casi totalmente infectada, por su característica morfológica de esporulación.

Frutos destacados y no destacados inoculados con *L. theobromae* y *T. paradoxa* que solo causan infección con herida producen infección del 100% de la muestra de frutos utilizados en el estadio de los tamaños 3 y 4 sugiriéndonos mayor predisposición de estos tamaños de frutos a estos patógenos (Cuadro 12,18). Así, con éste conocimiento, en un programa de manejo de las enfermedades en cacao, debería evitarse por cualquier forma causar heridas en los frutos grandes y/o maduros y evitar de ésta forma infecciones de estos patógenos.

Realizado un análisis global de la infección con prevalencia en los resultados obtenidos en frutos no destacados podemos indicar que si bien se observó infección de *C. gloeosporioides* en el tamaño 1, entretanto esta fue muy lenta y en menos de 25% de las muestras utilizado en el estudio, sugiriendo que además de la herida, requiere de otras condiciones para ocurrir infecciones, en cambio *P. palmivora* produce infección violentamente en el tamaño 1 y en todas las condiciones.

Lo mismo puede decirse de *L. theobromae* y *T. paradoxa* que

solo causa infección con herida a diferencia de P. palmivora que lo hace aún sin herida habiéndose obtenido además que L. theobromae infectando frutos del tamaño 2 lo hace en tan solo 30% de la muestra utilizada siendo severo solo en los tamaños 3 y 4. Por estas consideraciones y las observaciones en campo principalmente sobresale en importancia las infecciones que ocurren por P. palmivora en el cultivo de cacao y hacia ella deberá ser orientada el control de la enfermedad en un programa de manejo del cultivo.

Relacionando el daño de necrosis interna, los patógenos produjeron un daño interno del 80 a 100%, correspondiendo un daño de almendras de 100 % (totalmente) para los tamaños 1,2 y 3 con los patógenos de P. palmivora, L. theobromae y T. paradoxa y tamaño 1 por C. gloeosporioides; a excepción de algunos de los tamaños 3 (grandes) que alcanzan a tan solo 85% del daño de almendras; sugiriéndonos que las infecciones dependen del tamaño del fruto que está relacionado con la edad, y son mas severas cuanto más pequeños están los frutos (3,15,27,26). En el tamaño 4 (maduro) si bien llega a causar necrosis interna casi total (85%) entretanto las almendras son teóricamente aún recuperables, entretanto en condiciones prácticas esta se pierde también, debido a que el agricultor tiene por costumbre, al ver un fruto

necrótico, no lo cosecha ni lo aprovecha, dejándolo en el árbol, con ello entonces en caso de desconocimiento y mal manejo de la plantación (cosechas tardías) pueden perderse también los frutos que son infectados aún en los estados de maduración. De allí que cosechas oportunas podrían evitar que frutos que han alcanzado su madurez se pierdan a causa de estos patógenos.

En frutos no destacados C. perniciosa causó infección en frutos pequeños (tamaño 1) y mediano (tamaño 2), no haciéndolo en frutos grandes y maduros, indicándonos su prevalencia de infección en estadios tiernos del fruto, que es donde se debe orientar el control de la enfermedad (3,4,9,23).

De las pruebas de patogenicidad en plántulas P. palmivora y L. theobromae fueron patogénicos a nivel de tallos, causando lesión. P. palmivora infectó además brotes tiernos y hojas, infectando rápidamente observándose los síntomas entre los 2-3 días después de las inoculaciones. Este patógeno por infectar en los diferentes órganos de la planta se constituye en uno de los principales. C. perniciosa mostró síntomas de deformaciones e hipertrofia terminal cuando inoculado a los brotes. Si bien en condiciones del trabajo no infectó C. gloeosporioides, entretanto algunas plantas sometidos a stress de agua y luego inoculado

posteriormente ocurrió infección en brotes; en condiciones naturales este síntoma también fueron observados.

B. DEL ESTUDIO DE VARIABILIDAD DE AISLAMIENTOS DE Phytophthora.

De los aislamientos de fruto, tronco y suelo obtenidos en el estudio se identificó a las especies de P. palmivora y P. capsici causadores de la "Podredumbre parda" en la región de Tingo María. De estas se seleccionaron 8 perteneciente a P. palmivora aislados de los diferentes órganos de la planta de cacao y 1 perteneciente a P. capsici aislado de fruto de cacao.

1. Variabilidad Morfológica.

Los aislamientos de P. palmivora probados en estudio fueron similares entre ellos, en cambio estos difirieron con P. capsici en sus características morfológicas. Así P. palmivora, presenta un crecimiento de colonia en forma estrellada, bien pegado al medio con bordes definidos, los esporangios son de forma preferentemente ovoide o elipsoidal, con papilas pronunciada y pedicelo corto como característica principal midiendo de 2.09 a 3.25 (Cuadro 23). P. capsici presenta en cambio un crecimiento de colonia de

forma petaloide con micelio denso y aéreo de aspecto algodonoso con bordes no definidos y de crecimiento ligeramente inferior al de P. palmivora, el esporangio similar más presenta un pedicelo largo como característica diferente de aquella (Cuadro 23). Estas características han sido definidas por muchos autores (5,12,13,16,19,36,45,54).

Como el esporangio es aun una característica importante de identificación de las especies entretanto esta puede tener una variabilidad principalmente en tamaño, de allí que mediciones del esporangio de diferentes aislamientos de P. palmivora fueron realizados de las obtenidas sobre frutos inoculados y de placas petri; los resultados mostraron que la longitud del esporangio es superior cuando se produce en los frutos que en la placa (Cuadro 24). En P. palmivora esta es una característica que ya fue reportada en otros países (5,6,19).

2. Variabilidad fisiológica.

Los aislamientos de Phytophthora cuando sometidos a diferentes condiciones de luz estos mostraron diferencia en cuanto a su desarrollo micelial, siendo más favorable la luz continua, luz alternada y oscuridad continua que la luz parcial (Cuadro 26); del mismo modo

medido en base a este parámetro los aislamientos que pertenecieron a *P. palmivora* son superiores estadísticamente al aislamiento de *P. capsici*, confirmándose que existe entre ellos variabilidad.

Sometidos al efecto de la temperatura, presentan un mayor crecimiento micelial a 25 grados centígrados (Cuadro 27), en esta temperatura los aislamientos de *P. palmivora* superaron a *P. capsici*. Mientras que a 10 grados centígrados todos los aislamientos tuvieron algún crecimiento soportando ésta temperatura extrema baja, entretanto no lo hacen a 35 grados centígrados (Figura 7). Efectos de luz y temperatura son parámetros que ayudan a identificar la prevalencia de la especie de *Phytophthora* en una determinada zona (5,31), estudios a este respecto son necesarios.

3. Variabilidad patogénica.

Frutos de cacao sometidos a pruebas de patogenicidad bajo 3 modalidades de inoculación mostraron que los aislamientos de *P. palmivora* tuvieron un diámetro de lesión similares más superiores estadísticamente al del aislamiento de *P. capsici* (Cuadro 28). Las inoculaciones realizadas con disco de micelio - agar en frutos sin herida proporcionaron resultados consistentes,

por lo tanto por su eficiencia y facilidad de realización puede ser utilizado en pruebas de resistencia a este patógeno, como lo vienen haciendo en varios países (6,17,29).

Del mismo modo en términos generales los aislamientos de *P. palmivora* inoculados en tallos de plántulas fueron significativamente superior al aislamiento del *P. capsici* en relación al área de lesión (Cuadro 29) mostrándonos también aquí la existencia de variabilidad entre estas 2 especies, Campelo, Luz y Resnik (17), Lawrence, Luz y Resnik (30), Zentmeyer (54), entre otros también encontraron diferencias.

VI. CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos, bajo las condiciones en las que se realizó el experimento, se puede concluir lo siguiente:

1. Los patógenos: Crinipellis perniciososa (Stahel) Singer, Phytophthora palmivora (Butler) Butler, Phytophthora capsici Leonian, Lasiodiplodia theobromae (Pat.) Griff. et maube (= Botriodiplodia theobromae) (Pat.); Thielaviopsis paradoxa (de Seyries) Hohnel y Colletotrichum gloeosporioides (Penzig) sacc. fueron aislados e identificados por sus características sintomatológicas, morfológicas, fisiológicas y de patogenicidad como los agentes causadores de podredumbre en el fruto de cacao.
2. Los patógenos C. perniciososa y Phytophthora sp. fueron más prevaescentemente encontrado como patógeno primario de daño.
3. Entre los aislamientos de un mismo patógeno no se encontró diferencias en cuanto a su crecimiento micelial a excepción de Phytophthora donde P. palmivora fue superior en crecimiento a P. capsici. Entre los patógenos L. theobromae, T. paradoxa y Phytophthora sp. tienen un crecimiento rápido; C. gloeosporioides un crecimiento intermedio y C.

perniciosa su crecimiento es lento.

4. Para los patógenos estudiados la luz y la temperatura presentan un efecto diferenciado siendo que a luz continua y a temperatura de 25 grados centígrados su crecimiento micelial y esporulación son superiores. Con las relativas diferencias la prevalencia de crecimiento en estas condiciones varía más de acuerdo al patógeno antes referido. Solamente L. theobromae y C. gloeosporioides presentaron algún crecimiento micelial a 35 grados centígrados, soportando por tanto temperaturas muy altos.
5. El patógeno Phytophthora sp. causa infección con y sin herida, en cambio L. theobromae, T. paradoxa y C. gloeosporioides infectan al fruto de cacao sólo a través de heridas.
6. En pruebas de patogenicidad P. palmivora muestra superioridad en velocidad de desarrollo de lesión cuando inoculado con herida; facilitando la penetración del patógeno. El período de latencia fue de 4 a 5 días cuando inoculado con herida y entre 5.5 a 6.5 días cuando inoculado sin herida.
7. En pruebas de patogenicidad en frutos destacados, pequeño (3.5-6 cm), mediano(8.5-13.5cm), grande (17-21 cm) y maduro inoculados con herida P. palmivora y

- L. theobromae infectaron en todos ellos alcanzando un período de latencia de entre 5.5 a 6.5 días y 12.5 a 14 días, respectivamente. T. paradoxa no infectó en el tamaño pequeño y si los hizo en los restantes con un período de latencia de 5 a 7.5 días. C. gloeosporioides infectó al tamaño pequeño donde alcanzó 4 días de período de latencia en cambio en los tamaños mediano, grande y maduro lo hizo con mucha dificultad alcanzando hasta 16 días de período de latencia.
8. En prueba de patogenicidad en frutos no destacados P. palmivora infectó a todos los frutos, L. theobromae y T. paradoxa no infectaron a frutos pequeños y C. gloeosporioides no infectó frutos medianos, grande y maduro. Mientras que P. palmivora, T. paradoxa y C. gloeosporioides en los frutos que infectaron presentaron período de latencia similares (4 a 7 días) en cambio L. theobromae presentó más largo (12 días).
9. El patógeno P. palmivora además fue patogénico en tallos, hojas y brotes. L. theobromae lo hizo en tallos.
10. En frutos no destacados C. perniciososa causó infección solo en frutos pequeños y medianos, indicándonos su prevalencia de infección en estadios

tiernos de frutos. Este patógeno además causó infección en brotes.

11. Porcentajes de necrosis interna de entre el 80 a 100%, correspondiendo a un daño de almendras de 100% (totalmente) se produjeron en los tamaños pequeño, mediano y grande con los patógenos de P. palmivora, L. theobromae y T. paradoxa y tamaño pequeño por C. gloeosporioides. Se determinó que las infecciones son más severas cuanto más pequeño son los frutos.
12. De los aislamientos de frutos, tronco y suelo obtenidos en éste estudio se identificó a las especies de Phytophthora palmivora y Phytophthora capsici como causadores de la "Podredumbre parda" en la región de Tingo María.
13. Los aislamientos de P. palmivora tuvieron características morfológicas, fisiológicas y de patogenicidad en frutos y tallos similares más superiores estadísticamente al del aislamiento de P. capsici; presentando el primero una relativa mayor virulencia.

VII. RECOMENDACIONES

De acuerdo a la metodología empleada y los resultados obtenidos es posible recomendar lo siguiente:

1. Los problemas priorizados en la región lo constituyen Crinipellis perniciosa (Stahel) Singer y Phytophthora sp. presentando éstos severidad en patogenicidad, por tanto un programa de manejo de enfermedades en el cultivo de cacao; deberá prioritariamente estar orientado a controlarlos.
2. Con la metodología aquí utilizada permitió diferenciar que el tamaño 3 ó grande de fruto presentó una susceptibilidad aparente de respuesta a las inoculaciones de Phytophthora, por lo tanto es posible de ser utilizado en pruebas de resistencia de cualquier material genético a este patógeno.
3. Según el período de latencia medido en base al tiempo que transcurre entre la inoculación y la esporulación; P. palmivora, T. paradoxa y C. gloeosporioides cuando presentan herida e infectan en campo tienen mayor velocidad de desarrollo que L. theobromae. Del mismo modo frutos pequeños y grandes son más susceptibles al daño fitopatogénico, por lo tanto estos estadíos debe ser preferentemente de cuidado en el control de estas enfermedades

principalmente protegiendo en estadíos tiernos y evitando de causar heridas en estados mayores, asociado con un programa rígido de cosechas.

4. Continuar estudios con otros aspectos de la biología y estudios de epidemiología de los principales patógenos como la prevalencia e importancia de las diferentes fuentes de inóculo, su sobrevivencia entre otros.
5. Habiéndose identificado a P. palmivora y P. capsici como responsables de la podredumbre parda en frutos de cacao y existiendo variabilidad de reacción entre ellos, es recomendable someter a pruebas de resistencia a estas 2 especies de todo material genético.

VIII. RESUMEN

El presente trabajo titulado: Aspectos biológicos de los patógenos que infectan frutos en el cultivo de cacao se realizó con la finalidad de identificar, caracterizar a dichos patógenos, asimismo; determinar su variabilidad morfológica, fisiológica y patogénica, determinar la variabilidad de las especies de Phytophthora asociado con el cultivo de cacao, identificadas en Tingo María.

El estudio se realizó en 2 fases: de campo en plantaciones de cacao seleccionados y en laboratorio e invernadero de la Universidad Nacional Agraria de la Selva; situado en la provincia de Leoncio Prado, Departamento de Huánuco, (09°09' S, 75°57' W, 660 m.s.n.m., temperaturas máximas 29.4 °C, mínima 19.2 °C, media 23.9 °C, precipitaciones promedio anual de 3,629mm y humedad relativa de 84%.

De los registros y observaciones efectuadas se ha llegado a establecer que Crinipellis perniciosa, Phytophthora palmivora, Phytophthora capsici, Lasiodiplodia theobromae, Thielaviopsis paradoxa y Colletotrichum gloeosporioides son los agentes causadores de podredumbre en frutos de cacao. C. perniciosa y Phytophthora palmivora fueron mas prevaescentes encontrados como patógenos primarios de daño.

Entre los aislamientos de un mismo patógeno no se encontró diferencia en cuanto a su crecimiento micelial a excepción de Phytophthora donde P. palmivora fue superior a P. capsici. Entre los patógenos L. theobromae, T. paradoxa y Phytophthora sp. tiene un crecimiento intermedio y C. perniciososa su crecimiento es lento. A luz continua y T° de 25 °C el crecimiento micelial y esporulación son superiores, solamente L. theobromae y C. gloeosporioides presentaron algún crecimiento micelial a 35 °C soportando temperaturas altas.

En pruebas de patogenicidad en frutos destacados de diferentes tamaños inoculados con herida, P. palmivora, L. theobromae, C. gloeosporioides infectaron todos ellos alcanzando un período de latencia entre 5.5 a 6.5 días para P. palmivora, 12.5 a 14 días L. theobromae, 4 a 16 días C. gloeosporioides. T. paradoxa no infectó el tamaño pequeño y si lo hizo en los restantes con período de latencia de 5 a 7 días. Asimismo en frutos no destacados P. palmivora infectó a todos los tamaños de frutos, L. theobromae y T. paradoxa a frutos mediano, grande y maduro y C. gloeosporioides solo infectó frutos pequeños. P. palmivora, T. paradoxa y C. gloeosporioides en los frutos que infectaron presentaron período de latencia similares (4 a 7 días) en cambio L. theobromae presentó mas largo (12 días). El patógeno P. palmivora además

infectó tallos, hojas y brotes, L. theobromae lo hizo en tallos y C. perniciosa infectó frutos no destacados sin herida y brotes.

Se identificó dos especies de Phytophthora: P. palmivora y P. capsici. P. palmivora fue más prevalescente siendo sus características morfológicas y de patogenicidad en frutos y tallos superiores a P. capsici, presentando el primero una relativa mayor virulencia.

IX. BIBLIOGRAFIA

01. ALVAREZ-GARCIA. 1971. Botryodiplodia theobromae. CMI. Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria. No 519.
02. ANDEBRAHAN, T. Y RUDGARD L. 1983. Epidemiology and control of witches broom disease (Crinipellis perniciosa (Stahel) Singer) of cacao Theobroma cacao. XVI Congreso Brasileiro de Fitopatología. Belen. 1-35p.
03. ANDEBRAHAN, T., ALMEIDA, L. C. y FONSECA, S. E. 1983. Doencas do cacaeiro. CEPLAC/DEPEA/COPEs. Divisao de Fitopatología. Belem. 91p.
04. BABACAUH, K. y PARTIOT, M. 1976. El Phytophthora sp., parásito del cacao en Costa de Marfil. Estudio preliminar de su variabilidad morfológica, fisiológica y patogénica. Café Cacao Thé 20(2):117-128.
05. BABACAUCH, K. D. 1983. Structure des populations de Phytophthora spp. parasites de cacaoyer (Theobroma cacao L.) et autres cultures perennes, en cote d'Ivoire. Café cacao the 27(1): 41-56.
06. BASTOS, C. N. y SILVIA, H. M. 1980. Doencas do cacahueiro na Amazonia Brasileira.

CEPLAC/DEPEA/COPES. Belem. 42p.

07. BASTOS, C. N., ANDEBRAHAN, T. ALMEIDA, L. C. 1988. Comparación morfológica y patológica de Crinipellis perniciosa, Fitopatología Brasileira (13) 202-206.
08. BASTOS, C. V. Y ANDEBRHANT, T. 1981. Presença de giberelina em basidiosporos de Crinipellis perniciosa. Fitopatologia Brasileira (6) 417-423.
09. BAKER, R. E. and HOLLYDAY, P. 1957. Witches broom disease of Cacao (Marasmius perniciosus Stahel). Commonwealth Mycological Institute. Phytophathology paper. No 2 London. 42p.
10. BARNETT, H. L. and HUNTER, B. 1972. Illustrated genera of imperfect fungi. Burgess Publishing Company. Thierd edition. California 241p.
11. BAZAN DE SEGURA, C. 1965. Enfermedades de cultivos tropicales y subtropicales. Editorial Jurídica, S. A. Lima (Perú). 439p.
12. BRASIER, C. M. GRIFFIN, M. J. 1979. Taxonomy of Phytophthora palmivora on Cocoa. Transactions of the British Mycological Society 72:111-143.
13. BRASIER, C. M. GRIFFIN, M. J. y MADDISON, A. C. 1981. The Cocoa Black Pod Phytophthoras In Epidemiology of Phytophthora on cocoa in Nigeria

Ed. GREGORY, P. H., MADDISON, A. C.
Phytopathological paper No 25. Pp 18-30.

14. BRATHWAITE, CH. W. P. 1981. An introduction to the diagnosis of plant disease. San José, Costa Rica. IICA. No 47. 49p.
15. BRAUDEAU, J. 1970. El cacao. Editorial Blume. Barcelona 283p.
16. CAMPELO, A. M. y LUZ, E. D. M. 1981. Etiología da Podridao Pardo do cacaeiro no estado da Bahia e Espirito Santo, Brasil. Fitopatología Brasileira 6:313-321.
17. CAMPELO, A. N. LUZ, E. D. e RESNIK, F. C. 1982. Podridao parda do cacaeiro no Estado da Bahia, Brasil. 1. Virulencia das especies de Phytophthora. Revista theobroma 12(1):1-6.
18. CAPRILES DE REYES, L. 1978. Enfermedades del cacao en Venezuela. Caracas. Fondo Nacional del cacao. 79p.
19. DJIEKPOR, E. K., PARTIOT, M y LUCAS P, 1982. Podredumbre parda de las mazorcas de cacao causado por Phytophthora sp en Togo; determinación de las especies responsables. Café, cacao, thé. 26(2);97-108p.
20. EDNA LUZ, SILVA, y MITCHEL. 1989. Phytophthora heveae another species causing black pod disease

- of cocoa in Bahía. XXII Congreso Brasileiro de Fitopatología (Resumen 57).
21. ENRIQUEZ GUSTAVO. 1985. Curso sobre el cultivo del cacao. Centro Agronómico de Investigación y Enseñanza. Turrialba Costa Rica. 153-167p.
 22. EVANS, H. C.; EDWARDS, D. y RODRIGUEZ M. 1977. Research on cacao disease in Ecuador. Past and present. Pans 23:68-80.
 23. EVANS, H. C. 1981. Witches broom disease. A case study. Cocoa Growers Bulletin 32:5-19.
 24. FRENCH, W. E. y T. HEBERT. 1982. Métodos de Investigación Fitopatológica. Costa Rica. IICA. 290p.
 25. FRY, W. E. 1982. Principales of plant disease mangement. Academic Press. London. 378p.
 26. GREGORY, P. H. 1974. Phytophthora disease of cocoa. London. Longman. 300p.
 27. GRIFFIN, M. J. 1977. Cocoa Phytophthora workshop, Rothamsted Experimental Station, England. 24-26 Mayo 1976. PANS 23:107-110.
 28. KRUPA SAGAR, V. y SEQUEIRA, L. 1969. Auxin distruction by Marasmius perniciosus. Ann.J.Bot. 56(4):390-397.
 29. LAWRENCE, J. S, LUZ. E. D. and RESNIK. F. C. 1982. The relative virulence of Phytophthora palmivora

- and P. capsici in cocoa in Brasil. Revista theobroma 12(3): 189-198.
30. LAWRENCE, J. S., CAMPELO. A. M. E FIGUEIREDO J. M. 1990. Enfermidades do cacaueiro I. Doencas fungicas que ocurren nos frutos. Agrotropica 2(3): 121-136.
31. LUZ, E. D. y CAMPELO, A. M. F. 1983. Temperatura, factor preponderante no equilibrio populacional das especies de Phytophthora que causan podridao parda na Bahía, Brasil. Revista Theobroma 13(4): 361-375.
32. MAIA ROCHA (H), JIMENEZ SAENZ (E). 1966. Importancia de las sustancias polifenóles en el mecanismo fisiológico de la resistencia de cacao (Theobroma cacao L.) a Phytophthora palmivora Butt. Turrialba, 16(4), 319.
33. MANNERS, J. G. 1986. Introducción a la Fitopatología. Editorial Limusa. México. 295 pg.
34. MEIFREN (M.), TANGUY (J.). 1967. Consideraciones sobre el papel de los compuestos fenólicos durante la infección de las mazorcas de Theobroma cacao L. por Phytophthora palmivora Bult. Café, cacao, Thé (París,) Vol. XI, n°4:337-342p.
35. MONTES, R., RAN, A. y MEDEIROS. A. 1977.

- Comportamiento fisiológico de aislamientos de Phytophthora palmivora (Butl) Butl. proveniente de frutos de cacao, y P. cactorum (Lebert y Cohn) Schoeter obtenido en suelos y raíces de plantas de cacao. Revista Theobroma 7:133-144.
36. MONTES BELMONT, R. Y DE LOS SANTOS L. 1989. Especies de Phytophthora aisladas de cacao en México y su distribución geográfica. Turrialba Vol.39 4:473-476p.
37. MORDUE, J. E. M. 1989. Glomerella cingulata. (CMI) Commonwealth Micological Institute (England). Descriptions of patogenic fungi and bacteria. No 315.
38. NEWHOOK, F. J.; WATERHOUSE, G. M.; STAMPS, O. J. 1978. Tabular key to the species of Phytophthora De Bary. Commonwealth Mycological Institute. No 143. 22p.
39. PUNITHALINGAM, E. et al. 1973. Descr. Pathog. Fung. Bact. C.M.I. 394pg.
40. RAM, A. y MEDEIROS, A. G. 1977. Nova Podridao do fruto de cacau pelo fungo Thielaviopsis sp. CEPEC. Informe Técnico 1976. Bahia. Brasil.
41. RIOS, R. R. 1989. Informe Técnico de consultoría en fitopatología. Proyecto AD/PER/86/459. OSP/PNUD- Promoción Agro-industrial y Desarrollo

Rural en la Región de Tingo María. Perú.

42. RIOS, R. R. 1990. Levantamiento Poblacional y Virulencia de las especies de Phytophthora causando Podredumbre Parda en Cacao en la Región del Alto Huallaga. Informe de Investigación Terminada. Facultad de Agronomía. Tingo María. 82p.
43. ROCHA, H. y MANCO, E. 1967. Diferencias fisiológicas entre cepas de Phytophthora palmivora aisladas de fruto, cojin floral y hojas de cacao, Revista Turrialba 17:350-351.
44. ROCHA Y MACHADO. 1973. Influencia da luz, temperatura e umidade relativa na esporulacao do Phytophthora palmivora (Butl) Butl. em frutos de cacau. Revista Theobroma 3(1):22-25.
45. RUDGARG, S. A. 1986. Witches broom disease of cocoa in Rondonia, Brasil; Pod Losses. Tropical pest Management 32(1): 24 - 26.
46. SCRENIVASAN, T. M. and. CHANDRA MOHANAM. 1984. Phytophthora associated with cocoa (Theobroma cacao L.) in south Kanara District, Karnataka, India. Tropical Agriculture 61(3):186-187.
47. SUAREZ, C. C. 1987. Manual del cultivo de cacao. Estación Experimental Tropical Pichilingue. Programa Nacional de cacao. Ecuador. 70-84pp.

48. THOROLD, C. A. 1975. Disease of cocoa. Oxford. Clarendon Press 423p.
49. TUIITE, J. 1969. Plant pathology methods. Minnesota. Burgers, Minneapolis. 150p.
50. WATERHOUSE, G. M. 1974. Phytophthora palmivora and some related species. In GREGORY, P.H. Phytophthora disease of cacao. London. 51-70pp.
51. WOOD, G. A. 1975. Cocoa. 3era edition. Academia Press. London. 130-138pp.
52. ZENTMYER, G. A. KAOSIRI, T. IDOSU, G. 1977. Taxonomia variants in the Phytophthora palmivora complex. Transactions of the British Mycological Society 69:329-332.
53. ZENTMYER, G. A. KAOSIRI, T. IDOSU, G. y KELLAM, M. K. 1979. Morphological forms of Phytophthora palmivora In. Conferencia Internacional de Investigación en Cacao. 7a Donala, Camaroes, Resumenes 1979.
54. ZENTMYER, G. A. 1985. Taxonomic relationships and distribution of species of Phytophthora causing black pod of cacao. Internacional Cocoa Research Conference, 10a. kualala. 36:1-5p.

X. ANEXOS

ANEXO 1A. Resumen de los Análisis de Variancia de la variabilidad de Patógenos.

| FUENTE DE VARIACION | CUADRADOS MEDIOS | | | | | | | | | |
|---------------------|---------------------------------------|----------|--------------------------|-------------|--------------------------|-----------|---------------------------|------------|------------------------|-----------|
| | Crecimiento Micelial de Colonias (cm) | | | | | | | | | |
| | G.L <u>Phytophthora</u> | | G.L <u>Thielaviopsis</u> | | G.L <u>Lasiodiplodia</u> | | G.L <u>Colletotrichum</u> | | G.L <u>Crinipellis</u> | |
| Aislamiento | 5 | 0.944 ** | 1 | 0.00065 N.S | 3 | 0.097 N.S | 2 | 0.0115 N.S | 2 | 0.042 N.S |
| Error | 18 | 0.063 | 2 | 0.053 | 4 | 0.053 | 3 | 0.01 | 3 | 0.008 |
| Total | 23 | | 3 | | 7 | | 5 | | 5 | |
| C.V. (%) | | 4.05 | | 0.7 | | 3.26 | | 1.24 | | 1.36 |

** Altamente significativo al nivel de 5% de probabilidad para la prueba de F.

N.S.= No significativo.

ANEXO 2A Resumen del análisis de variancia correspondiente al desarrollo micelial y producción de esporas de los patógenos bajo diferentes condiciones de luz.

| FUENTES DE VARIACION | CUADRADOS MEDIOS | | | |
|----------------------|------------------|--------------------------|-----|-----------------------------------|
| | G.L | Desarrollo Micelial (cm) | G.L | Producción de Esporas 1/ (por/cc) |
| Patógenos | 4 | 87.41 ** | 3 | 113.72 ** |
| Condiciones de luz | 3 | 1.54 ** | 3 | 33.71 ** |
| Interacción | 12 | 0.61 * | 9 | 10.31 ** |
| Error | 20 | 0.10 | 16 | 0.33 |
| Total | 39 | | 31 | |
| C.V. (%) | | 8.3 | | 8.49 |

1/ Para el Análisis de Variancia los Datos fueron previamente transformados en $V X+0.5$.

* Significativo al nivel de 5% de Probabilidad por la Prueba de F.

** Altamente significativo

ANEXO 3A Resumen de Análisis de Variancia correspondiente al desarrollo micelial y producción de esporas de los patógenos bajo diferentes niveles de temperaturas.

| FUENTE DE VARIACION | CUADRADO MEDIOS 1/ | | | |
|---------------------|--------------------|--------------------------|-----|--------------------------------|
| | G.L | Desarrollo Micelial (cm) | G.L | Producción de Esporas (por/cc) |
| Patógenos | 4 | 0.587** | 3 | 1.03 ** |
| Temperatura | 2 | 7.265** | 2 | 79.54 ** |
| Interacción | 8 | 0.361** | 6 | 1.71 ** |
| Error | 15 | 0.005 | 12 | 0.07 |
| Total | 29 | | 23 | |
| C.V. (%) | | 5.52 | | 10.02 |

1/ Para el Análisis de Variancia los Datos fueron previamente transformados en $\sqrt{X + 0.5}$

** Significativo al nivel de 5% de probabilidad por la Prueba de F.

ANEXO 4A Resumen de los Análisis de Variancia de la patogenicidad de Phytophthora palmivora en frutos de cacao, expresado en días al período de latencia.

| FUENTE DE VARIACION | G.L | CUADRADOS MEDIOS + | |
|---------------------|-----|-----------------------------|----------------------|
| | | Período de latencia en días | |
| | | Frutos destacados | Frutos no destacados |
| Tamaño | 3 | 0.0083 N.S | 0.0632 N.S |
| Inoculación | 1 | 0.8055 ** | 0.3721 * |
| Interacción | 3 | 0.0082 N.S | 0.0071 N.S |
| Error | 8 | 0.0346 | 0.0333 |
| Total | 15 | | |
| C.V. (%) | | 7.94 | 7.74 |

+ Para el Análisis de Variancia los datos fueron transformados en $\sqrt{X+0.5}$.

** Altamente significativo al nivel de 5% de probabilidad para la prueba de F.

N.S= No significativo.

ANEXO 5A Resumen de los Análisis de Variancia de la patogenicidad comparativa de los patógenos en frutos de cacao, expresado en días al período de latencia.

| FUENTE DE VARIACION | G.L | CUADRADOS MEDIOS + | |
|---------------------|-----|-----------------------------|----------------------|
| | | Período de Latencia en días | |
| | | Frutos destacados | Frutos no destacados |
| Patógenos | 3 | 4.3156 ** | 3.8811 ** |
| Tamaños | 3 | 1.0273 ** | 1.2412 N.S |
| Interacción | 9 | 0.7628 ** | 2.2873 * |
| Error | 16 | 0.0064 | 0.4133 |
| Total | 31 | | |
| C.V. (%) | | 2.99 | 31.81 |

+ Para el Análisis de Variancia los datos fueron transformados en $\sqrt{X+0.5}$.

** Altamente significativo al nivel de 5% de probabilidad para la prueba de F.

N.S= No significativo

ANEXO 6A Resumen de los Análisis de Variancia de la patogenicidad de Phytophthora palmivora en frutos de cacao, expresado en porcentaje de daño externo.

| FUENTE DE VARIACION | G.L | CUADRADOS MEDIOS * | |
|---------------------|-----|----------------------------|----------------------|
| | | Porcentaje de daño externo | |
| | | Frutos destacados | Frutos no destacados |
| Tamaño | 3 | 2285.30 ** | 4166.21 ** |
| Inoculación | 1 | 19.78 N.S | 0.13 N.S |
| Interacción | 3 | 136.14 ** | 79.70 N.S |
| Error | 8 | 12.10 | 31.09 |
| Total | 15 | | |
| C.V. (%) | | 9.33 | 14.97 |

* Para el Análisis de Variancia los datos fueron transformados en $\text{arc. sen } \sqrt{\%}$

** Altamente significativo al nivel de 5% de probabilidad para la prueba de F.

N.S= No significativo

ANEXO 7A Resumen de los Análisis de Variancia de la patogenicidad comparativa de los patógenos en frutos de cacao, expresado en porcentaje de daño externo.

| FUENTE DE VARIACION | G.L | CUADRADOS MEDIOS + | |
|---------------------|-----|----------------------------|----------------------|
| | | Porcentaje de daño externo | |
| | | Frutos destacados | Frutos no destacados |
| Patógenos | 3 | 6117.749 ** | 2507.329 ** |
| Tamaños | 3 | 337.332 * | 188.280 * |
| Interacción | 9 | 1119.405 ** | 1784.654 ** |
| Error | 16 | 40.258 | 48.384 |
| Total | 31 | | |
| C.V. (%) | | 13.87 | 21.38 |

+ Para el Análisis de Variancia los datos fueron transformados en $\text{arc. sen } \sqrt{\%}$

* Significativo para el nivel de 5% de probabilidad para la prueba de F.

** Altamente significativo.

ANEXO 8A Resumen del Análisis de Variancia correspondiente desarrollo micelial de Phytophthora palmivora y Phytophthora capsici. bajo diferentes condiciones de luz.

| FUENTE DE VARIACION | G.L | CUADRADOS MEDIOS Desarrollo Micelial (cm) |
|---------------------|-----|--|
| Tratamiento | 4 | 1.876 * |
| Condiciones de luz | 3 | 2.296 * |
| Interacción | 12 | 0.556 N.S |
| Error Exp. | 20 | 0.541 |
| Total | 39 | |
| C.V. (%) | | 8.96 |

* Significativo al nivel de 5% de probabilidad para la prueba de F.

N.S. No significativo

ANEXO 9A Resumen de Análisis de Variancia correspondiente al desarrollo micelial de Phytophthora palmivora y Phytophthora capsici, bajo diferentes niveles de temperatura.

| FUENTE DE VARIACION | G.L | CUADRADOS MEDIOS + Desarrollo micelial (cm) |
|------------------------|-----|--|
| Tratamiento | 4 | 0.0574 * |
| Niveles de Temperatura | 2 | 13.4695 ** |
| Interacción | 8 | 0.1173 ** |
| Error Exp. | 15 | 0.0164 |
| Total | 29 | |
| C.V. (%) | | 8.017 |

+ Para el Análisis de Variancia los datos fueron transformados en $\sqrt{X + 0.5}$

* Significativo al nivel de 5% de probabilidad para la prueba de F.

** Altamente significativo.

ANEXO 10A. Resumen de los Análisis de Variancia de la patogenicidad de Phytophthora palmivora y Phytophthora capsici bajo diferentes métodos de inoculaciones en frutos de cacao.

| FUENTE DE VARIACION | G.L | CUADRADOS MEDIOS | | | |
|---------------------|-----|---------------------------|---------------------------|--------------------------------|------|
| | | Diámetro de Lesión (cm) | | | |
| | | CH+Disco de Micelio | SH+Disco de Micelio | SH+Suspensión de Esporas | |
| Tratamientos | 6 | 2.280 * | 7.151 * | 7.787 ** | |
| Error Exp. | 7 | 0.540 | 1.200 | 0.731 | |
| Total | 13 | | | | |
| | | C.V.(%) | 8.85 | 15.88 | 11.5 |

* Significativo para el nivel de 5% de probabilidad para la prueba de F.

** Altamente significativo

CH= con herida, SH= sin herida

ANEXO 11A Resumen de los Análisis de Variancia de la patogenicidad de Phytophthora palmivora y Phytophthora capsici en tallos de plántulas de cacao con 5 y 6 meses de edad.

| FUENTE DE VARIACION | G.L | CUADRADOS MEDIOS | |
|---------------------|-----|-------------------------------|-------------------|
| | | Area de lesión (cm.cuadrados) | |
| | | Tallos de 5 meses | Tallos de 6 meses |
| Tratamientos | 4 | 12.0279 ** | 24.7325 ** |
| Error Exp. | 18 | 1.0368 | 0.8729 |
| Total | 22 | | |
| C.V. (%) | | 27.0 | 20.40 |

** Altamente significativo al nivel de 5% de probabilidad para la Prueba de F.