



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
CARRERA DE INGENIERÍA HORTICULTURA Y
FRUTICULTURA

TEMA DE TESIS

**“IDENTIFICACIÓN ESPECIFICA DEL AGENTE CAUSAL
DE LA MAZORCA NEGRA (*Phytophthora spp.*) EN
CACAO EN LA ZONA CENTRAL DEL LITORAL”**

**PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:
INGENIERA EN HORTICULTURA Y FRUTICULTURA**

Autora:

Gabriela Margarita Carranza Menéndez

Directora de tesis:

PhD. Carmita Suarez Capello

QUEVEDO – ECUADOR

2015

DECLARACION DE AUTORIA Y CESION DE DERECHO

Yo, **Gabriela Margarita Carranza Menéndez**, declaro que el trabajo aquí descrito es de mi autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

La Universidad Técnica Estatal de Quevedo, puede ser uso de los derechos correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y por la normatividad institucional vigente.

GABRIELA MARGARITA CARRANZA MENÉNDEZ

CERTIFICACION DEL DIRECTOR DE TESIS

Ph.D. Carmita Suarez Capello, director de tesis, certifico: que la estudiante, egresada: Gabriela Margarita Carranza Menéndez, realizó el trabajo de tesis de grado titulado: **“IDENTIFICACIÓN ESPECIFICA DEL AGENTE CAUSAL DE LA MAZORCA NEGRA (*Phytophthora spp.*) EN CACAO EN LA ZONA CENTRAL DEL LITORAL”**, bajo mi dirección, habiendo cumplido con la disposición reglamentaria establecida para el efecto.

Ph.D. CARMITA SUAREZ CAPELLO
DIRECTORA DE TESIS



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS CARRERA DE
INGENIERÍA HORTICULTURA Y FRUTICULTURA

Presentado al Consejo Directivo de la Facultad de Ciencias Agrarias como requisito previo para obtención del título de:

INGENIERA EN HORTICULTURA Y FRUTICULTURA

APROBADO:

Ing. Alfonso Vasco Medina
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL DE TESIS

Ing. Cesar Varas Maenza
MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE TESIS

Ing. Freddy Amores Puyutaxi
MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE TESIS

QUEVEDO – LOS RIOS – ECUADOR

2015

Agradecimiento

Dejo constancia de mis más sinceros agradecimientos a:

- A Dios por darme vida y salud para seguir adelante
- Mis padres y hermanos quienes me han apoyado en cada momento para poder lograr la culminación de mi carrera
- Dra. Carmita Suarez Capello Ph.D, Directora de tesis quien me oriento mucho y me dio la oportunidad de realizar esta investigación facilitando materiales y laboratorio para culminar el trabajo
- Ing. Denny Carriel por instruirme a lo largo del trabajo de campo de mi investigación
- Ing. Malena Martínez, Docente e investigadora de la Facultad de Ciencias Ambientales
- A los señores José Vargas y Eduardo Solís de laboratorio de microbiología quienes me facilitaron materiales necesarios para la culminación de esta investigación.
- Mi compañero Leonardo Muñoz por ayudarme a coleccionar las muestras
- Al Ing. Agr. M. Sc. Segundo Alfonso Vasco Medina, Docente y Presidente del Tribunal de Tesis.
- Al Ing. Agr. M. Sc. Cesar Cristóbal Varas Maenza, Docente y Miembro del Tribunal de Tesis.
- Al Ing. Agr. M. Sc. Freddy Amores Puyutaxi, Docente y Miembro del Tribunal de Tesis.

CARRANZA G.

Dedicatoria

A Dios por guiar mi camino y escuchar mis oraciones

Mi padre por su apoyo y cariño

Mi madre por su amor, comprensión en los momentos más difíciles de la vida por ser mi mejor amiga, mi aliada.

Mis amados hermanos, por la linda familia que somos

Mi hijo el que me llena de felicidad, y me inspira a luchar por la vida por ser mejor cada día.

CARRANZA G.

ÍNDICE GENERAL

CONTENIDO

	Páginas
Portada	I
Declaración de autoría y cesión de derechos	II
Certificación del director de tesis.....	III
Tribunal de tesis.....	IV
Agradecimiento.....	V
Dedicatoria.....	VI
Índice.....	VII
Índice de cuadros.....	X
Índice de figuras.....	XI
Índice de anexos.....	XII
Resumen ejecutivo.....	XIII
Abstract.....	XIV
CAPÍTULO I MARCO CONTEXTUAL DE LA INVESTIGACIÓN.....	1
1.1 Introducción	2
1.2 Objetivos	3
1.2.1 General	3
1.2.2 Específicos.....	3
1.3 Hipótesis	3
CAPÍTULO II MARCO TEÓRICO.....	4
2.1 Fundamentación Teórica	5
2.1.1 Zona Cacaotera	5
2.1.2 Enfermedades en el Cultivo de Cacao.....	5
2.1.3 Enfermedad "Mazorca Negra".....	6
2.1.3.1 Distribución de <i>Phytophthora</i> en las Regiones del Mundo.....	6
2.1.3.2 Sintomatología de <i>Phytophthora spp.</i> Agente Causal de la Mazorca Negra	7
2.1.3.3 Origen de <i>Phytophthora spp.</i>	8

2.1.3.4	Clasificación Taxonómica de <i>Phytophthora</i>	8
2.1.3.5	Ciclo de Vida del Genero <i>Phytophthora</i>	9
2.1.4	Características Morfológicas.....	10
2.1.4.1	Esporangios	11
2.1.4.2	Clamidospora	14
2.1.4.3	Temperatura de Crecimiento	15
2.1.4.4	Características Miceliales	15
2.1.5	Reproducción.....	16
2.1.5.1	Oogonio Órgano Sexual Femenino.....	16
2.1.5.2	Anteridio Órgano Sexual Masculino.....	16
2.1.5.3	Oosporas	16
2.1.6	Morfología de las Colonias <i>In Vitro</i>	17
CAPITULO III METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.....		23
3.1	Materiales y Métodos.....	24
3.1.1	Localización y Características climáticas.....	24
3.1.2	Materiales y Equipos.....	25
3.1.3	Factor en Estudio.....	26
3.1.3.1	Colección de Muestras de Mazorcas de Cacao Infectados con <i>Phytophthora spp</i>	26
3.1.4	Aislamiento del Microorganismo	29
3.1.5	Variables para la Caracterización Morfológicas y Morfometricas.....	29
3.1.5.1	Caracterización Morfológica de Colonia de <i>Phytophthora spp</i>	29
3.1.5.2	Aspecto de la Colonia	30
3.1.5.3	Medición Morfometricas	30
CAPITULO IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN		31
4.1	Resultados	32
4.1.1	Características Morfológicas.....	32
4.1.1.1	Caracterización Morfológica de Colonias <i>Phytophthora spp</i>	32
4.1.1.2	Morfología del Esporangio	33
4.2	Características Morfometricas	36
4.2.1	Relación Largo/Ancho de los Esporangio	36

4.2.2	Longitud de Pedicelo.....	37
4.2.3	Clamidospora.....	39
4.3	Discusión	43
CAPITULO V CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES		46
5.1	Conclusiones	47
5.2	Recomendaciones	48
CAPÍTULO VI BIBLIOGRAFIA		49
6.1	Literatura Citada.....	50
CAPÍTULO VII ANEXOS		55
7.1	Anexos	56

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Páginas
1	Características del esporangio, pedicelo y Clamidospora de diversas especies de <i>Phytophthora spp</i> en cacao, según diversos autores (UTEQ, 2015)	19
2	Comparación de esporangios característica de las formas morfológicas de <i>Phytophthora palmivora</i> de algunas especies descrito por varios autores.....	20
3	Resumen de las características importantes para diagnóstico de <i>Phytophthora palmivora</i> , <i>P. megakarya</i> y MF4 (<i>P. capsici sensu</i> Tsao, 1991) de cacao.....	22
4	Condiciones climáticas de los lugares donde se colectaron tejidos enfermos de mazorcas de cacao con <i>Phytophthora spp</i>	24
5	Ubicación y otras características de las fincas donde se recolectaron las mazorcas enfermas con <i>Phytophthora spp</i>	29
6	Características morfológicas de los aislamientos de <i>Phytophthora spp</i>	34
7	Relación Largo-Ancho de los esporangios de <i>Phytophthora spp</i> aislados de las diferentes localidades de la zona central del litoral.....	36
8	Longitud del pedicelo de los esporangios de los diferentes aislamientos estudiados.....	38
9	Medidas del diámetro de la Clamidospora.....	39

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Páginas
1	Ciclo vital de <i>Phytophthora spp.</i>	10
2	Formas de papilas en los esporangios de <i>Phytophthora spp.</i> A) No papilado, (b) semipapilado y (c) papilado	12
3	Diversas formas de esporangios producidos por diferentes especies de <i>Phytophthora</i>	13
4	Tipos de pedicelo en esporangios de <i>Phytophthora spp.</i> , pedicelo largo (A); pedicelo corto (B); pedicelo mediano	14
5	Morfología de Clamidospora de <i>Phytophthora spp.</i> Y formas de germinación	15
6	Tipificación del aspecto del crecimiento radial de las cepas de <i>Phytophthora</i> sobre en medio de cultivo Agar-V8.....	32
7	Formas predominantes de los Esporangios (40x) de <i>Phytophthora</i> presentes en las diferentes cepas estudiadas. UTEQ. Quevedo, 2014.....	33
8	Tipos de papila de los esporangios (40x) de las cepas estudiadas, UTEQ. Quevedo, 2014	34
9	Dimensiones de longitud del pedicelo de los esporangios de las cepas estudiadas, UTEQ. Quevedo, 2014	39
10	Clamidospora de los aislamientos de <i>Phytophthora</i> (40x), de las cepas estudiadas, UTEQ. Quevedo, 2014	40
11	Dendrograma basado en las distancias Euclidea y método Ward para 30 aislamientos de <i>Phytophthora</i> colectados en la zona central del litoral	42

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo		Página
7.1	Localización de las fincas donde se colectaron las muestras todas las colecciones se realizó en época lluviosa.....	56
7.2	Identificación de aislamiento de <i>Phytophthora</i> procedentes de frutos de cacao de 30 lugares, sitio de origen y tipo de cacao frente de cada aislamiento.....	57
7.3	Mazorcas de cacao con síntomas de <i>Phytophthora</i> , que empiezan con manchas de color café que aparecer en uno de los extremos del fruto.....	58
7.4	Colonias de <i>Phytophthora</i> en medios de cultivo PDA Y Jugo V8.....	58
7.5	Medición de estructura y observaciones de esporangios.....	59
7.6	Medición y observaciones de Clamidospora.....	61

Resumen

El presente trabajo se realizó en el laboratorio de Microbiología de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, La investigación tiene como objetivo Determinar la especie o especies de *Phytophthora* asociadas a la mazorca negra, presentes en la zona central cacaotera en Ecuador.

La colección de mazorcas con la enfermedad *Phytophthora spp.* se realizó en las diferentes fincas de la zona central del litoral, para el aislamiento del microorganismo, las mazorcas, se lavaron con abundante agua posteriormente, para extraer pequeños fragmentos del tejido enfermo y se colocaron en cajas de Petri conteniendo medio de cultivo a base de Papa-Dextrosa-Agar (PDA) y agar V8, estas cajas se mantuvieron en incubación hasta la aparición del organismo en el medio de cultivo; a las 48 horas se seleccionaron las colonias sin contaminación y se dejaron en incubación por 7 días en oscuridad y se mantuvieron en incubadora a 26°C.

Con la ayuda de un calibrador Vernier, se realizaron dos medidas perpendiculares de la colonia cada 24 horas hasta obtener un cubrimiento total del plato. Además se evaluó el aspecto de la colonia, De estas cajas también se hicieron montajes permanentes con lactofenol + trypan blue, y se realizó la medición microscópica de los esporangios (μm) su presencia o ausencia, la longitud del pedicelo, el tipo de papila, clamidospora.

Los resultados adquiridos en esta investigación soporta la hipótesis de que si existe más de una especie de *Phytophthora* asociada a la enfermedad de la Mazorca Negra.

Abstract

This work was done in the laboratory of Microbiology at the State Technical University of Quevedo; the research aims to determine the species or species of *Phytophthora* associated with black, cob present in the central cocoa in Ecuador.

The collection of ears with the disease *Phytophthora* spp. It was held in different farms in the central area of the coast, for isolation of the organism, ears, washed with water and then dried them later to extract small pieces of diseased tissue and placed in Petri dishes containing culture medium based on Potato Dextrose-Agar (PDA) and V8 agar, these boxes were kept in incubation until the appearance of the organism in the culture medium; 48 hours uncontaminated colonies were selected and allowed to incubate for 7 days in darkness and kept in an incubator at 26 ° C.

With the aid of a Vernier calliper, two perpendicular measurements of the colony every 24 hours until full coverage of the plate is performed. Besides the appearance of the colony, these boxes are evaluated permanent mounts were also made with lactophenol + trypan blue, and the microscopic measurement of sporangia (um) its presence or absence, the length of the stalk, the type of disc was made, chlamydospore. The results obtained in this research support the hypothesis that if there is more than one species of *Phytophthora* associated with black pod disease.

CAPÍTULO I
MARCO CONTEXTUAL DE LA INVESTIGACIÓN

1.1 INTRODUCCION

En el país la Moniliasis (*Monilophthora roreri*) y la escoba de bruja (*Moniliophthora perniciosa*) han sido siempre las enfermedades que han requerido atención por causar entre 40 y 80% de pérdidas directas del cultivo. Sin embargo, en los últimos 10 años las enfermedades la Mazorca Negra y el Chancro del tallo causadas por *Phytophthora spp.* han provocado pérdidas de frutos cada vez más importantes y quizás más grave aun matando plantas.

Phytophthora es un organismo omnifago relacionado con las algas que contienen clorofila perteneciendo al reino Stramenopila, la mazorca negra se conoce como una enfermedad de aparición cíclica. Esto sugiere una estrecha relación con los factores tiempo y microclima, que asumen un papel importante en la aparición de brotes de la enfermedad; se reconoce por ejemplo que hay una correlación negativa entre la temperatura y la incidencia de la enfermedad; y a su vez, hay una correlación entre las bajas temperaturas 20°C menos y humedad relativa del aire por encima de 85 % con aparición de mazorca negra. Sin embargo, en los últimos años este patrón parece estar combinado posiblemente ligado al aumento de siembra material clonal más susceptible

Aunque existen referencias de que *P. Palmivora* es la especie que se encuentra asociada a la Mazorca Negra y Chancro del tallo en Ecuador, no hay un estudio especial que haya identificado la especie asociada a la zona cacaotera, sino de manera tangencial.

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo General

Determinar la especie o especies de *Phytophthora* asociadas a la mazorca negra, presentes en la zona central cacaotera en Ecuador.

1.2.2 Objetivos Específicos

- Establecer si hay más de una especie de *Phytophthora* asociada a la mazorca negra de cacao.

- Relacionar la presencia de este organismo con las condiciones edafoclimáticas prevalentes en el área cacaotera de la zona central del litoral.

1.3 Hipótesis

Existe más de una especie de *Phytophthora* asociada a la enfermedad de la Mazorca Negra.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 Fundamentación Teórica

2.1.1 Zona Cacaotera

En el Ecuador se han determinado tres zonas para el cultivo de cacao que de acuerdo con las condiciones agroclimáticas y geográficas se dividen en norte, centro y sur. Ubicándose en la zona norte las provincias Esmeraldas, Manabí, las estribaciones occidentales de la cordillera de los andes, las provincias de Pichincha y Cotopaxi. La zona centro comprende la parte norte de la cuenca del río Guayas y la provincia de Los Ríos. La zona sur comprende la parte sur de la provincia del Guayas y El Oro, además de las zonas mencionadas, existen plantaciones de cacao en las estribaciones de la Cordillera Occidental de las provincias de Bolívar, Chimborazo, Cañar, Azuay y en toda la región amazónica, mientras que en el Oriente destaca la subregión Nororiente (Sucumbíos, Napo y Orellana) (INEC, 2011).

2.1.2 Enfermedades en el Cultivo de Cacao

Las enfermedades impactan negativamente la producción mundial de cacao, causando pérdidas considerables que pueden llegar a ser 30% o más del potencial productivo (Suarez & Aranzuzu, 2010).

En Ecuador, según el III Censo Nacional Agropecuario, uno de los mayores problemas al que se enfrenta el productor cacaotero son las enfermedades las cuales pueden ocasionar hasta un 80% de pérdidas, en la producción de una huerta independientemente de los tipos de cacao. Estas pérdidas están causadas principalmente (40 a 60 % en promedio) por el complejo de las Moniliophthoras (*M. Perniciosa* y *M. Roreri*), con el Mal de Machete (*Ceratocystis fimbriata*) y la Mazorca negra (*Phytophthora* spp) y otras dando una pérdida marginal inferior al 10% (Mora, 2008).

Sin embargo el aumento de área de la variedad CCN51, con alta susceptibilidad y posiblemente alteraciones climáticas en la zona cacaotera va aumentando la presencia de *Phytophthora* en las huertas*.

2.1.3 Enfermedad “Mazorca Negra”

Esta es la enfermedad más importante del cacao en todas las áreas cacaoteras del mundo; causada por un pseudohongo del complejo *Phytophthora*, puede atacar plántulas y diferentes partes del árbol de cacao, como cojines florales, chupones, brotes, hojas, ramas, tronco y raíces, el principal daño en las mazorcas, se estima que las pérdidas causadas por este organismo a nivel mundial son del 10 al 30 por ciento. Es considerada la enfermedad más importante en un 80 por ciento de los países productores de cacao (Porrás & Sanchez, 1991).

2.1.3.1 Distribución de *Phytophthora* en las Regiones del Mundo

El género *Phytophthora* se encuentra distribuido en todo el mundo predominando diferentes especies de acuerdo con la zona geográfica y el hospedero. En cacao se han reportado siete especies patógenas; *P. palmivora*, *P. megakarya*, *P. capsici*, *P. citrophthora*, *P. nicotianae* var. *P. parasitica*, *P. megasperma* y *P. Arecae*. La especie con mayor incidencia y más ampliamente diseminada en el mundo es *P. Palmivora* responsable de 20% a 30% de pérdidas anuales de la producción mundial de grano y aproximadamente 10% de muerte de árboles. *P. heavae* probablemente está presente en América del Sur y Malasia. *P. megakarya* está presente solamente en África del Oeste (ICA, 2012).

* Carmita Suarez, Comunicación personal

Además se han reportado infecciones en cacao por *P. nicotianae* en México. Otra especie del mismo género es *P. parasítica*, que incide tanto en el continente Africano como en Latinoamérica. Además, en Latinoamérica existen otras especies de *Phytophthora* que causan la enfermedad de la mazorca negra, tales como *P. citrophthora* y *P. capsici* además de otras especies sin identificar. Actualmente, la mazorca negra es considerada como la enfermedad más común e incidente en el mundo (ICA, 2012).

2.1.3.2 Sintomatología de la Mazorca Negra en Cacao, causada por *Phytophthora spp*

La mazorca negra, causada por especies de *Phytophthora*, se inicia sobre la superficie de la mazorca con una mancha descolorida, sobre la que posteriormente se desarrolla una lesión chocolate o negra con límites bien definidos. Unas 30 horas después de ocurrida la infección se manifiestan manchas de apariencia acuosa, que luego se torna de color café, las cuales avanzan rápidamente hasta cubrir la totalidad de la mazorca (Suarez & Aranzuzu, 2010).

El borde de la lesión progresa unos 12 mm en 24 horas, la infección puede ocurrir en cualquier parte del fruto, pero habitualmente empieza en los extremos de la mazorca, en el cual se acumula agua y en dos semanas, ésta se empieza a diseminar hasta cubrir toda la superficie de la mazorca. Sobre mazorcas mayores a tres meses de edad, las infecciones inician principalmente en la punta o al final del pedúnculo que une a la mazorca. Los granos o almendras de las mazorcas enfermas permanecen sin daño por varios días, después de iniciar la infección en la cáscara. Esto significa que la cosecha frecuente puede prevenir muchas pérdidas de la producción (McMahon & Purwantara, 2004).

Las infecciones de la mazorca están prácticamente relacionadas con el daño por heridas de la superficie de la mazorca; en este caso, casi con seguridad se produce la pudrición total del endocarpio, mesocarpio y semillas. Los frutos

próximos a la maduración fisiológica, con semillas no muy grandes y sin contacto cercano con la cáscara no presentan infección de semillas y pueden ser cosechados. El microorganismo emerge sobre la superficie de la mazorca como una pelusa blanquecina, sobre esta se concentran los esporangios, finalmente la mazorca ennegrece, y puede ser colonizada por hongos secundarios (McMahon & Purwantara, 2004).

2.1.3.3 Origen de *Phytophthora spp*

La enfermedad llamada mazorca o pudrición negra fue notificada desde 1727 en la isla Trinidad, en la actualidad se localiza en todas las regiones del mundo que cultivan cacao, estudios moleculares manifiestan que el origen de este Pseudogongo *Phytophthora spp.* se localiza en África (Porrás & Sanchez, 1991).

2.1.3.4 Clasificación Taxonómica de *Phytophthora*

El agente causal de la enfermedad es un organismo Stramenopila del género *Phytophthora* (del griego phytón, "planta" y phthorá, "destrucción", destructor de plantas) (Luz, 2008).

El agente causal de la enfermedad fue identificado en 1876 por Heinrich Antón De Bary como un "hongo inferior" en el reino fungí. Sin embargo, con la aparición y uso de técnicas microscópicas y bioquímicas actuales, se estableció que este grupo de microorganismos no están relacionados a los hongos verdaderos, y están relacionados con las algas los hongos verdaderos poseen hifas septadas, los Oomycetes las hifas son cenocíticas y tienen rutas metabólicas únicas que se diferencian de los hongos superiores (Griffith, 1992).

Actualmente la clasificación del patógeno Luz (2008) es la siguiente:

Reino: Stramenopila

Phylum: Oomycota

Clase: Oomycetes

Orden: Pythiales

Familia: Pythiaceae

Género: Phytophthora

Especies: *citrophthora*, *palmivora*, *capsici*, *parasítica*, *megasperma*, *nicotina*.

2.1.3.5 Ciclo de Vida de Especies del Genero *Phytophthora*

Una diferencia bien caracterizada entre “*Phytophthora spp.* y los hongos es la motilidad”, la cual tiene un rol de mucha importancia dentro de los patrones de dispersión. El ciclo de vida de *Phytophthora spp.* presenta dos tipos de reproducción asexual y sexual, que dependen de las condiciones ambientales predominando el “estado asexual, el cual inicia cuando la estructura vegetativa o esporangio germina en condiciones óptimas de humedad y temperatura de 15 a 38°C liberando las zoosporas estas son estructuras o esporas móviles, de vida corta y poseen dos flagelos”, “uno anterior y otro posterior. El anterior es el responsable de mover la zoospora a través del agua hasta 1,5 cm, mientras que el flagelo posterior actúa como una hélice que le da la dirección a la célula” (Suarez & Aranzazu, 2010).

Suarez y Aranzazu (2010), establecieron que, dentro del ciclo de vida del patógeno (**Figura 1**), las zoosporas cumplen dos papeles fundamentales:

- 1) “Transmisión del patógeno de un hospedero a otro”
- 2) “Dar la orientación del patógeno hacia el sitio de infección (hospedero)”

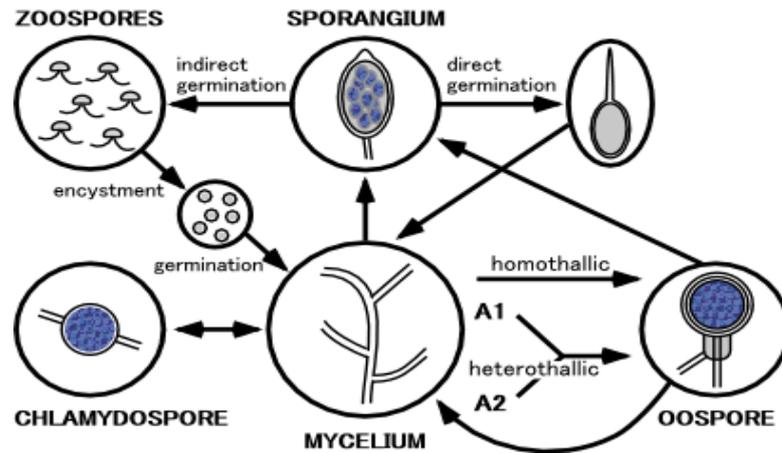


Figura 1 Ciclo vital de *Phytophthora* spp, (Suarez & Aranzuzu, 2010)

2.1.4 Características Morfológicas

La característica morfológica por la que la mayoría de especies de *Phytophthora* son clásicamente identificadas incluye, lo siguiente (Erwin & Ribeiro, 1996).

- Morfología del esporangio; forma, tamaño, relación longitud - ancho
- Papilación del esporangio
- Presencia o ausencia de caducidad (desprendimiento del esporangio en la madurez, longitud del pedicelo del esporangios (corto, intermedio o largo).
- Proliferación de esporangio (producción de nuevos esporangios dentro de un esporangio que ha germinado directamente).
- Presencia o ausencia de Clamidospora
- Ramificación de las esporangióforo en la que se asumen los esporangios
- Presencia o ausencia de hinchazones en las hifas (globosas a protuberancias irregulares en micelio por el septo
- Temperatura máximo para el crecimiento.

2.1.4.1 Esporangios

Esporangio es el organismo de reproducción más rápido, algunas especies producen esporangios en medios de agar natural, pero otros requieren posterior incubación en soluciones acuosas, esporangio proviene de la palabra (Griego *Spora* semilla; *ageion* barco). Son esporas asexuales que se producen en tallos llamados esporangiosporos que se diferencian poco o nada de las hifas vegetativas. En algunas especies, un esporangiosporo nuevo emerge externamente desde la base del anterior esporangio (simpodial) y produce un esporangio nuevo (simpodio simple) (Erwin & Ribeiro, 1996).

Cuando el esporangiosporo se ramifica se llama un simpodio compuesto, que es típico de *P. infestans*; *P. infestans* característicamente produce hinchazones en el esporangiosporo sobre el lugar desde el que se han desprendido los esporangios. *P. capsici* aislados de cacao, antiguamente llamado *P. palmivora* MF4, esporangios forma en un patrón de umbela (paraguas inversa). En algunas especies, la especie esporangiosporo reanuda el crecimiento a través de la base de evacuación esporangios; pueden proliferar dentro de las paredes vacía (proliferación interna) o el esporangiosporo puede crecer a través del poro de la salida del esporangio anterior y forma el esporangio siguiente la cierta distancia de la última (proliferación extendida) (Erwin & Ribeiro, 1996).

El engrosamiento apical en el esporangio se llama papila los esporangios se clasifican sobre la base del engrosamiento apical como papilados (engrosamiento visible) semipapilados o no papilados (engrosamiento discreto) (Watherhouse et al, 1983)(Erwin & Ribeiro, 1996).

El término “papila” se deriva de la palabra latina “pezón” se refiere a la clavija o el engrosamiento en el extremo apical del esporangio que termina en un poro que permite la salida de zoosporas (**Figura 2**).

Especies que son definitivamente papiladas incluyen *P. cactorum*, *P. parasitica* y *P. palmivora*. Entre aquellos con esporangios semipapilados están *P.*

infestans, *P. Primulae*, y *P. hibernalis*. Las especies con esporangios nopapilados incluyen *P. cinnanomi*, *P. cambivora*, *P. drechsleri* y *P. medicanis*. La diferenciación de esporangios nopapilado y semipapilados es la más difícil de interpretar, la tinción con azul de lactofenol (0,01%) en los esporangios diferenciará el engrosamiento apical del protoplasma (Watherhouse, 1963).

La secuencia básica de acontecimientos que conducen a la formación de zoosporas dentro del esporangio y disolución del tapón apical antes de la emisión de zoosporas es la misma para todas las especies independientemente de sus características de papilado, semipapilados, no papilado (Waterhouse et al 1983) (Erwin & Ribeiro, 1996).

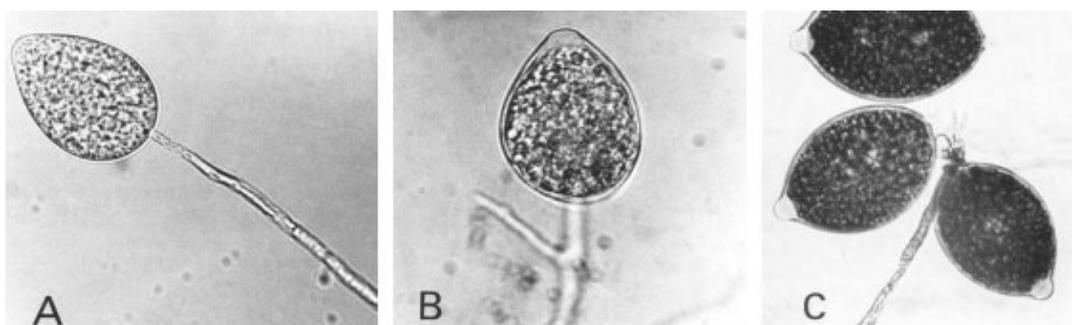


Figura 2 Formas de papilas en los esporangios de *Phytophthora* spp. A) No papilado, (b) Semipapilado y (c) papilado(Erwin & Ribeiro, 1996)

El esporangio es una estructura, por lo general en forma de saco, donde todo su plasma se convierte en número indefinido de esporas asexuales endógenas (zoosporas). Son principalmente terminales, pero a veces se presenta interino o de lado (como en *P. lateralis*), especialmente en las especies de esporangios con papilas. Aquellos esporangio no papilados, apenas se forman en medio sólido, mientras que los papilados se producen en abundancia en varios medios (ejemplos: *P. palmivora* y *P. cactorum*).

En cuanto a su forma, los esporangios (**Figura 3**) puede ser elipsoides, alargados de casi fusiforme, ovoide, obpiriforme, ovoides-obpiriforme, Limoniforme casi esférica y esférica de vez en cuando; la forma y dimensiones

de los esporangios son características importantes para la clasificación morfológica de las especies del género *Phytophthora* (Luz, 2008).

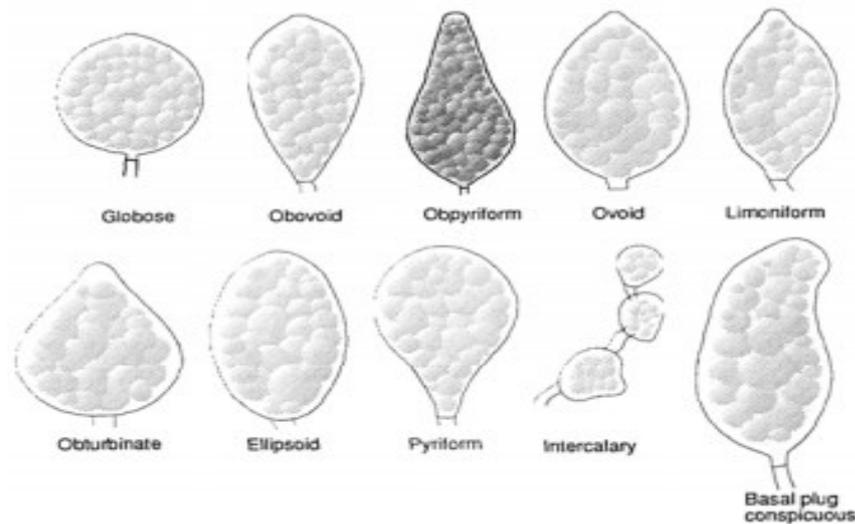


Figura 3 Diversas formas de esporangios producidos por diferentes especies de *Phytophthora* (Erwin & Ribeiro, 1996)

Según la longitud del esporangio es posible tener especies morfológicamente separadas en grupos (aunque muchos de ellos tienen esporangios aproximadamente del mismo tamaño); grupo de esporangios pequeños (rara vez más de 45 μm) – *P. heveae*, *P. Iranica*, *P. botryosa*, *P. katsure* y otros, y otro grupo con esporangios grande (a menudo más de 75 μm de longitud) que incluye: - *P. capsici*, *P. citrophthora*, *P. mexicana*, *P. porri*, *P. Primulae*, *P. Cyperi*, *P. fragariae*, *P. cambivora*, y *P. cinnanomi*, en algunas especies como *P. citrophthora*, y *P. Primulae*, es común la presencia de la forma distorsionada de esporangios, (Luz, 2008).

La longitud del pedicelo y la caducidad de los esporangios (**Figura 4**) son también características importantes, únicos de ciertas especies; ninguna de las especies nopapilada es caduca. Su longitud es decisiva en la separación de algunas especies y un carácter genético mantiene en el género *Phytophthora*. Puede ser considerado pequeño cuando mide menos de 5 μm , medianos 5^a 20 μm , y grandes, por encima de 20 μm , micra. *Phytophthora* (Watherhouse, 1983) (Erwin & Ribeiro, 1996).

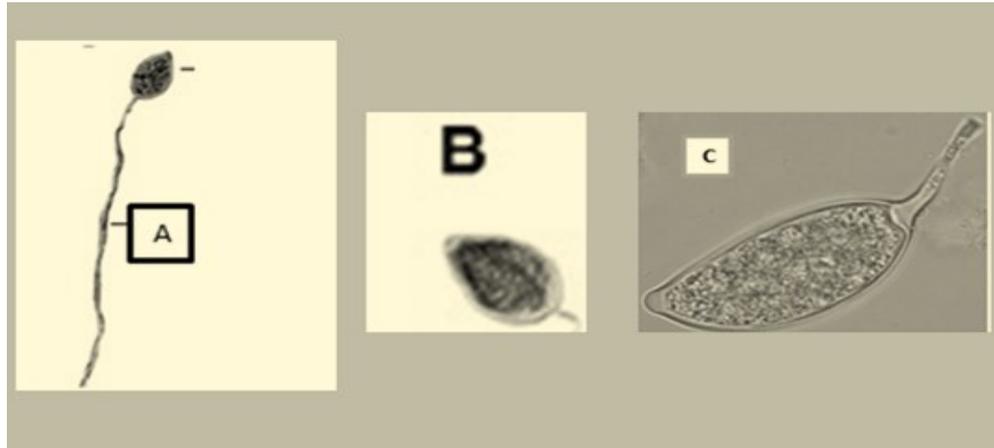


Figura 4 Tipos de pedicelo en esporangios de *Phytophthora spp*, pedicelo largo (A); pedicelo corto (B); pedicelo mediano (Erwin & Ribeiro, 1996)

2.1.4.2 Clamidospora

Estructuras de resistencia: Las clamidosporas son de paredes gruesas que cumplen función de esporas de resistencia. Las clamidosporas pueden ser intercalada (formada entre hifas) o terminal (en los extremos de hifas). Se diferencian de las hifas por tener paredes gruesas y están delimitados por el micelio.

La morfología de clamidosporas (**Figura 5**) no difiere en gran medida entre las especies y por lo tanto estas esporas son de uso limitado en la identificación de especie. Sin embargo, la presencia (por ejemplo, *P. palmivora*) o ausencia (*P. heveae*) la clamidosporas puede ayudar a la identificación de especies, las clamidosporas son generalmente producidas fácilmente en agar o en cultivo de agua (Rivero, 2007).

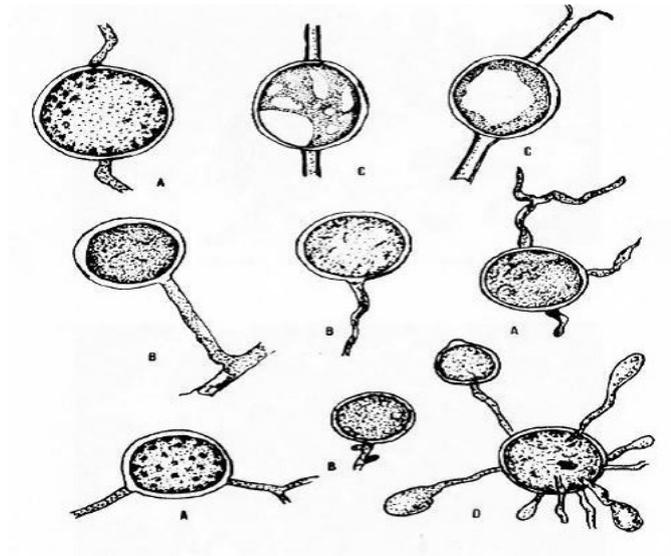


Figura 5 Morfología de Clamidospora de *Phytophthora* spp. y formas de germinación (Echemendia, 2010)

2.1.4.3 Temperatura de Crecimiento

El organismo se ve beneficiado en ambientes húmedos y fríos, la esporulación es óptima de 12 a 18 °C en ambientes de agua saturada, y la producción de zoosporas se beneficia por abajo de los 15 °C, de temperatura pero no sobrevive bajo condiciones de baja humedad, el micelio tiene su máximo crecimiento entre los 24 a 27 °C y se ve afectado sobre los 33 °C y debajo de los 10 °C (Luz, 2010).

2.1.4.4 Características Miceliales

La estructura del micelio de todas las especies de *Phytophthora* es cenocítico,“ puede emerger tabiques en hifas viejas o poco activas producto de cambios en la concentración del citoplasma, está constituido por hifas poco ramificadas, con ramificaciones en ángulos entre 65° y 70°” Erwin & Riveiro (1996). Según algunos autores lo detallan como micelio verrucoso o toruloso debido a su representación irregular que presentan las hifas (Echemendia, 2010)

2.1.5 Reproducción

Echemendia (2010) sostiene que el género *Phytophthora* representan dos características de reproducción, asexual que es la formación de clamidospora y esporangio que contienen las zoosporas y sexual mediante la formación de oosporas. No todas las especies constituyen órganos sexuales se requiere de medio de cultivos especiales para su formación por el cual, los órganos sexuales son de gran valor en la clasificación taxonómica de las especies de *Phytophthora*.

2.1.5.1 Oogonio Órgano Sexual Femenino

La forma del oogonio es esférica, prácticamente se localiza en el ápice de una hifa puede aparecer intercalado y separado del resto de la hifa por un grueso tabique. En cultivos jóvenes es transparente pero posteriormente con el envejecimiento, se vuelve amarillo o ligeramente marrón en la mayoría de las especies puede presentar delgadas protuberancias (Echemendia, 2010).

2.1.5.2 Anteridio u Órgano Sexual Masculino

El anteridio presenta una forma variable “suele ser esférico, ovalado en forma de clavo o cilíndrico observándose habitualmente solitario, hialino y con una pared externa delgada” respecto al oogonio puede ser anfígino o paragino, o siendo ambas a la vez, teniendo en cuenta esta disposición para la clasificación taxonómica de las especies de *Phytophthora* (Echemendia, 2010).

2.1.5.3 Oosporas

Grente (1961), indica que las oosporas se presentan individualmente, ocupando toda la cavidad del oogonio son de forma esférica, lisa o moderadamente verrugosa, presentando una coloración hialina, ligeramente amarillosa, en los medios de cultivos la formación de las oosporas se ve

influenciada considerablemente por los medios de cultivos naturales, a base de maíz, avena y zanahoria, siendo estos más propicios para su reproducción.

Echemendía (2010) destaca que existen ciertas sustancias que influyen a la formación de oósporos, entre los que se encuentran los extractos de plantas, algunas vitaminas, cierto esteroles, uno de los factores que también favorecen a la formación de la oosporas es la tensión de oxígeno y CO₂, la presencia de luz, la temperatura óptima de 20 a 22 °C.

Los cultivos asociados de diferentes especies y razas que favorecen la producción de oosporas de las especies heterotálicas (especies auto estériles) dentro de la gama de especies heterotálicas se encuentran: *P. cinnamomi* *P. palmivora* *P. citrophthora* *P. parasitica* *P. arecae* *P. cambivora* *P. capsici* *P. colocasiae* *P. cryptogea* *P. drechsleri* *P. infestan* *P. meadii* *P. mexicana* (Echemendia, 2010).

“La formación de la oosporas es el resultado de la fertilización de una oosfera uninucleada, la cual tiene lugar de diferentes formas según la posición del anteridio” después de la formación la oospora entra en período de reposo el cual discrepa en dos fases; latencia constitutiva y latencia exógena, finalizado este período las oosporas da lugar a un tubo germinativo, que inicia en la formación de un esporangio, o con la formación del talo micelial es substancial indicar, los procesos de reproducción, bien sea sexual o asexual, tiene un papel fundamental en el ciclo de vida del pseudohongo (Echemendia, 2010).

2.1.6 Morfología de las Colonias *In Vitro*

La identificación taxonómica a nivel de especies de hongos patógenos generalmente se basa en los caracteres morfológicos; en este sentido, la forma de la colonia (tipo de colonia) depende de la extensión de las ramificaciones de las hifas, así como de la frecuencia de sus ángulos y se sugiere que el tipo cultural es variable. No obstante se destaca que ciertos tipos culturales son típicos como es el caso de *P. citricola*

que crece en forma de crisantemo, *P. palmivora* en forma estrellada y *P. cinnamomi* en forma petaloide. En algunos casos el micelio crece sin un patrón definido y existen combinaciones de los mismos (Machado, 2008)

En muchos géneros, incluyendo *Phytophthora*, los caracteres morfológicos son difíciles de observaren las poblaciones naturales y, a menudo se ven afectados por el medio ambiente. Muchos de éstos también son comunes entre las diferentes especies y se someten a cambios de acuerdo al medio de cultivo, la edad de las colonias, condiciones de incubación, entre otros factores, que pueden causar problemas para la identificación y clasificación de los aislamientos (Luz, 2010).

En los Cuadros 1, 2 y 3 se presentan las características de las principales especies de *Phytophthora* encontradas en América tropical, según varios autores.

Cuadro 1 Características del esporangio, pedicelo y Clamidospora de algunas especies de *Phytophthora*, en cacao según diversos autores. (UTEQ, 2015)

Especie	Largo (µm)	Ancho (µm)	Relación L/A (µm)	Forma	Papilados (P) Semipapilados (SP) Papila	Pedicelo	Clamidospora	Referencia
P. palmivora	39,4 x 51,9µm	23,8 x 28,5µm	1,7 a 1,8 µm	Elipsoide, ovoide	NP ò SP	2,1-4,0µm	24,1 ± 0,6µm a 30,5 ± 0,6µm	(Luz, 2010)
P. capsici	51,0 ± 1,2 x 31,7 ± 0,7	46,9 ± 1,1x 30,0 ± 0,7	1,6 µm	Predominantemente ovoide	P ò SP		21,7 ± 0,8µm a 24,3 ± 0,6µm	
P. palmivora y P. megakarya	--No disponible--		1,7 a 1,8 µm	Elipsoide, ovoide & Limoniforme	P		globosa ubicación terminales e intercalares	(Zentmyer, 1987)
P. capsici	--No disponible--		1,6 µm	Ovoide & elipsoide	P ò SP		la mayoría no forma Clamidospora	
P. palmivora	45,88 x 58,17µm	23,25 x 36,83µm	1,4 a 1,8µm	Limoniforme, ovoide	P ò SP	5µm & sésil	globosa ubicación terminales	(Carriel, 2013).
P. capsici	30-100µm	25-35 µm	1,3 - 2,1	Elipsoide a piriforme, esférico	P	10 µm o más de largo	raras o ausentes	(Stamps, 1998)
P. palmivora	35 - 60µm	20-40µm	1,7 - 1,9	Obturbinado, elipsoide, obpiriforme, esférico, ovoide	P	< 5	30 - 35 µm	
P. megakarya	20 - 60µm	13 - 41µm		Ovoide	PP	10 - 30 µm		
P. parasítica	14-74µm	12-60µm	1,3	ovoides a esféricos	P			

Cuadro 2 Comparación de esporangios característica de las formas morfológicas de *Phytophthora palmivora* de algunas especies descrito por varios autores

Especies o forma	Tamaño de los Esporangios				Longitud de pedicelo	Referencia
	Forma de los esporangios ^s	(μm) ^c	L:B ^d	Caduco	(μm)	
<i>P. palmivora sensu</i> Butler (MF1)	E, O, de base amplia	35–60 × 20–40 (55.5 × 33)	1.7–1.9	+	2–5	(Brasier & Griffin, 1979); (Stamps, 1985)
<i>P. megakarya</i> (MF3)	OBP, O, E	20–60 × 13–41 (36 × 26)	1.2–1.6	+	10–30	(Brasier & Griffin, 1979); (Stamps, 1985)b
<i>P. palmivora</i> (MF4) (= <i>P. capsici</i>)	E, en forma de barco	34–69 × 19.30 (43 × 22)	1.6–2.0	+	10–150	(Brasier & Griffin, 1979)
<i>P. capsici sensu</i> Tsao 1991 (MF4) (= <i>P. capsici</i>)	O, E, OBP, OBT, S, variable	37–50 × 19–30 ^f (42 × 25)	1.14–2.19	+	43–148	(Tsao, 1991)
<i>P. capsici sensu</i> Tucker (1931)	E, OBP, OBT, S, variable	16–71 × 12–57 (35 × 23.6)	7.3–2.0 (1.7)	+	10–200	(Tucker, 1931)(Stamps, 1985)f
<i>P. arecae</i> ^f	E, OBT, la base cónica	30–71 × 20–48 (45 × 33)	1.1–1.6 (1.35)	+	1.6	(Coleman, 1910); (Stamps, 1985)c
<i>P. meadii</i>	E, OBP, S, formas distorsionadas	25–72 × 14–40 (48 × 24)	1.3–2.0	+	10–20	(McRae, 1918); (Waterhouse, 1974)b
<i>P. botryosa</i>	O, en grupos	28–31 × 15–16 (28 × 15)	1.6–2.1 (1.8)	+	5–20	(Chee, 1969); (Stamps, 1985)e

<i>P. heveae</i>	E, OBP, de base amplia	27–66 × 20–49	1.1–2.9	+	<10	(Thompson, 1929); (Waterhouse, 1963); (Stamps, 1978)d
		(44 × 29.6)	(1.45)			
<i>P. nicotianae</i> (<i>P. parasitica</i>)	E, O, OBP, S	11–60 × 10–45	1.1–1.7	–		(Waterhouse, 1963)
		(40 × 28.5)	(1.34)			
<i>P. colocasiae</i>	E, O	40–70 × 17–28	(1.6)	+	3.5–10	(Butler & Kulkarni, 1913)
		(59 × 23)				
<i>P. arecae</i> ^g	E, O	45.4 ± 4.0 ×	1.6	+	3.4 ± 0.3	(Mchau & Coffey, 1994)a
		29.5 ± 2.8				
<i>P. palmivora</i> ^g	E, O	45.3 ± 5.0 ×	1.5	+	3.5 ± 1.0	(Mchau & Coffey, 1994)a; (Stamps, 1985)a
		29.8 ± 3.6				
b	E, elipsoidal; O, ovoide; OBP, piriforme; OBP, cometas, esféricas					
c	Promedios están entre paréntesis.					
d	De longitud-anchura relación.					
e	Segundo autor listado ha resumido los datos pertinentes sobre esa especie.					
f	Disco de zanahoria agar en agua bajo luz (Tsao, 1991).					
g	<i>P. palmivora</i> y <i>P. arecae</i> se considera que son la misma especie (Mchau & Coffey, 1994)a.					

Fuente: (Brasier & Griffin, 1979)

Cuadro 3 Resumen de las características importantes para diagnóstico de *Phytophthora palmivora*, *P. megakarya* y MF4 (*P. capsici* *sensu* Tsao 1991) de cacao

Características	<i>P. palmivora</i> (tipo MF1)	<i>P. megakarya</i> (tipo MF3)	<i>P. capsici</i> (TipoMF4)
Cromosoma	$n = 9-12$ pequeño	$n = 5-6$ grande	$n = 9-12$ pequeño
Morfología de la Colonia	Micelio aéreo escaso, excepto en el centro; estrellado, patrón estriado; borde claramente definido	Bastante uniforme, en el fondo, de algodón. Micelio aéreo sobre toda la colonia; débil lobulada / estampado de flores; borde difuso	Uniforme micelio aéreo densa sobre toda la colonia; patrón petaloide; borde difuso
Morfología del esporangio	Cerca de esférica a oval alargada; papilas prominentes; base redondeada	Cerca de esférica a alargada ovalada; Prominentes papilas; redondeada de base	Alargado y con forma de barco; papila menos prominente; de base cónica hacia pedicelo
Tipo de pedicelo de los esporangio	Amplio, corto y ocluida; longitud mayormente 2-5 micras	Estrecho, longitud media, y no ocluido; sobre todo 10-30 micras	Estrecho, largo, y no ocluido; 20-150 μ m longitud, a veces hasta 250 micras
Relación largo ancho del esporangio	1.2-1.8 (up to 2.2 on pods)	1.2-1.6	1.6-2.0 (-2.4)
Tipo compatibilidad	Predominantemente A2 (A1 poco común)	Predominantemente A1 (A2 raro)	A1 y A2
Morfología del ogonio	Esférico, reunido tallo bastante abruptamente; tallo estrecho, tubular, o ampliar hacia oogonio	Piriforme, estrechándose hacia abajo a una base en forma de embudo	Esférico a ligeramente ovalada
La tinción de pared oogonio	Nulo	Las manchas oscuras	Manchas oscuras
Respuesta a Trichoderma aislado A2 por	Negativo	Negativo	Positivo
Temperaturas cardinales (°C) (min., opt., max.)	10-11, 28-30, 34	10-11, 24-26, 29-30	8, 28-30, 33
Distribución de cacao	Alrededor del Mundo	Africa Occidental	Centro y Sur América, las Indias Occidentales
Pruebas realizadas en agar zanahoria. Reproducido con permiso de Cambridge University Press, Cambridge, Reino Unido; cortesía C. M. Brasier y M. J. Griffin (1979).			
<i>P. Palmivora</i> MF4 ha sido descrito como <i>P. capsici</i> (Tsao & Alizadeh, 1987); (Tsao, 1991); (Mckay & Coffey, 1995)			

Fuente:(Tsao, 1991)

CAPÍTULO III
METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1 MATERIALES Y MÉTODOS

3.1.1 Localización y Características Climáticas

La presente investigación se realizó durante el periodo marzo a diciembre del 2014, en el laboratorio de Microbiología de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, ubicado en el Cantón Quevedo perteneciente a la Provincia de los Ríos, Av. Quito, Km 1 Vía Sto. Domingo. La colección de muestras de mazorca de cacao con la enfermedad “Mazorca Negra” causado por *Phytophthora spp.* se reportan en el Cuadro 4.

Cuadro 4 Condiciones climáticas de los lugares donde se colectaron tejidos enfermos de mazorcas de cacao con *Phytophthora spp*

Localización		Características climatológicas			
Cantón	Provincia	Temperatura	Precipitación anual	Humedad relativa	Altitud
Quevedo	Los Ríos	20 a 33 °C	2162 mm	76 a 84%	75 msnm
Buena Fe	Los Ríos	20 a 33 °C	2265 mm	87%	100 m.s.n.m
Valencia	Los Ríos	23 a 31 °C	2136mm	87%	112 m.s.n.m
Quinsaloma	Los Ríos	24.4°C	2226mm	90 y 60%	30 msnm
San Juan	Los Ríos	24.9 °C	2136mm	87%	32 msnm
Ventanas	Los Ríos	25.1 °C	2136mm	87%	75 msnm
Mocache	Los Ríos	23 a 33°C	2000mm	85.84%	56 msnm
San Miguel de los Bancos	Pichincha	15 a 32°C	3.493 mm	93%	1,269 msnm
Concordia	Sto. Domingo de los Tsachilas	24.2 °C	3.045.1 mm	85.8 %	550 msnm
El esfuerzo	Sto. Domingo de los Tsachilas	24.2 °C	3.500 mm.	85.8 %	550 msnm
Nuevo Israel	Sto. Domingo de los Tsachilas	24.2 °C	3.500 mm.	85.8 %	550 msnm
Isidro Ayora	Guayas	23 a 27°C	2001 mm	87%	84 m.s.n.m
Echeandia	Bolívar	18 a 28°C	2000 mm	86%	370 a 830 m.s.n.m
El Empalme	Guayas	23 a 24 °C	1530,12mm	75,04%	128 Msnm

Fuente:(INAMI, 2014)

3.1.2 Materiales y Equipos

Los materiales y equipos utilizados en la investigación, se explican a continuación.

➤ **Material experimental**

➤ **Mazorcas de cacao con la enfermedad “Mazorca Negra” *Phytophthora spp.***

Muestras de mazorcas enfermas recolectadas en fincas de distintas zonas cacaoteras para realizar aislamientos del organismo causal de la enfermedad conocida como mazorca negra (*Phytophthora spp.*).

➤ **Materiales de Campo Utilizados para la Recolección de Mazorcas**

Fundas plásticas transparentes, GPS, Lápiz, marcador, Cámara SONY 14.1 MPX, Hielera, tablero apoya manos plástico Oficio A4, machete, tijera de podar, cinta de papel.

➤ **Materiales de Laboratorio**

Cajas Petri, probeta, bisturí, matraz, vasos de precipitación, para film, tijera, tubos de ensayos, laminas porta objeto, laminas cubre objeto, algodón, papel aluminio, mechero, guantes, mascarillas, papel toalla, Aza bacteriológica, varilla de vidrio, gradillas, gasa, fósforos, mecheros, aspersores para alcohol, mandil, pipeta Pasteur, Erlenmeyer.

➤ **Sustancias y Reactivos**

Alcohol, Medio de cultivo PDA (Potato Dextrosa Agar), AA (Bacto Agar), V8 (Medio Jugo V8), cloranfenicol, trypan blue, Agua destilada estéril, hipoclorito de Sodio.

➤ Equipos

Microscopios, Cámara de flujo laminar, autoclave, estufa, refrigeradora, microondas, vernier micrómetro, Cámara SONY 14.1 MPX. Balanza electrónica de 1 a 1000g.

3.1.3 Factor en estudio

Aislamientos de *Phytophthora* obtenidos de mazorcas enfermas colectadas en distintas zonas cacaoteras.

3.1.3.1 Colección de muestras de mazorca de cacao infectadas con *Phytophthora spp*

En el Cuadro 5, se indican las características generales de las plantaciones de la zona central del litoral de cacao consideradas en este estudio. En cada localidad, se visitaron fincas cacaoteras para colectar mazorcas o segmentos de tallo y ramas con la sintomatología típica de mazorca negra o cánceres causados por *Phytophthora*. Los recorridos se realizaron durante el periodo de marzo a julio, época que es propicia para el desarrollo del organismo causal.

Cuadro 5 Ubicación y otras características de las fincas donde se recolectaron las mazorcas enfermas con *Phytophthora spp*

Sitios visitados						Caracterización de la muestra	
Lugar		Cantón	Provincia	Coordenadas		Tipo de cacao	Edad
Finca Melva Menéndez	Recinto Cuatro Mangas	Buena Fe	Los Ríos	S 00°56.586'	W 079°29734'	CCN51	5 años
Finca Pedro Mendoza	Recinto Federico Intriago	Valencia	Los Ríos	S 00°49.580'	W 079°28.748'	CCN51	5 años
Finca Eduardo Mendoza	Recinto Federico Intriago	Valencia	Los Ríos	S 00°48.060'	W 079°25.658'	CCN51	6 años
Finca Florinda Lucas	Recinto guayacanes	Valencia	Los Ríos	S 00°45.510'	W 079°27.976'	CCN51	5 años
Finca Francisco Burgos	Recinto La Cadena	Valencia	Los Ríos	S 00°36.095'	W 079°26.217'	CCN51	3 años
Finca Rodríguez Hidalgo	Recinto Puente camarones	Buena Fe	Los Ríos	S 00°38.670'	W 079°26.614'	CCN51	6 años
Finca Teresa Zapata	Recinto Puente camarones	Buena Fe	Los Ríos	S 00°43.414'	W 079°27.182'	CCN51	5 años
Hcda. Fernanda Zurita	Recinto Delia María	Valencia	Los Ríos	S 00°43.984'	W 079°18.556'	Nacional	4 años
Finca Calixto Carranza	Recinto San Alfonso de pices	Valencia	Los Ríos	S 00°48.641'	W 079°21.461'	Nacional	30 años
no disponible	San Francisco Km 26	Buena Fe	Los Ríos	S 01°05.546'	W 079°26.151'	Nacional & CCN51	8 años
no disponible	Fumisa	Buena Fe	Los Ríos	S 01°15.930'	W 079°23.400'	CCN51	4 años
Finca Severo Castillo	Quinsaloma	Quinsaloma	Los Ríos	S 01°12.819'	W 079°19.641'	CCN51	8 años
no disponible	La Ercilia	Quinsaloma	Los Ríos	S 01°12.784'	W 079°18.761'	CCN51	10 años
no disponible	Zapotal	Ventanas	Los Ríos	S 01°18.807'	W 079°21.176'	Nacional & CCN51	8 años
Finca José Contreras	Loma de mera	Mocache	Los Ríos	S 01°051.671'	W 079°29.286'	CCN51	8 años
Finca Efraín Almeida	Cuatro vientos	Mocache	Los Ríos	S 01°06.622'	W 079°28.147'	CCN51	15 años
no disponible	Pichilingue	Mocache	Los Ríos	S 01° 06.809'	W 079°27.934'	CCN51	~ 10-15 años
Finca Betty Bravo	Pichilingue viejo	Mocache	Los Ríos	S 01°06.874'	w 079°28.739'	CCN51	7 años

Cuadro 5.....

Finca Mariano Palomino	San Felipe	Mocache	Los Ríos	S 01°05.815'	W 079°29.784'	CCN51	6 años
Finca José Ríos	Bella sombra	Mocache	Los Ríos	S 01°07.185'	W 079°30.074'	Nacional	90 años
Finca Nelly Campos	Vía Quevedo Km 9	Mocache	Los Ríos	S 01°05.160'	W 079°31.115	CCN51	7 años
Finca Saquisela	San Miguel de los Bancos	San Miguel de los Bancos	Pichincha	no disponible	no disponible	CCN51	~ 10-15 años
no disponible	Nuevo Israel	Sto. Domingo de los Tsachilas	Sto. Domingo de los Tsachilas	no disponible	no disponible	CCN51	8 años
no disponible	El Esfuerzo	Sto. Domingo de los Tsachilas	Sto. Domingo de los Tsachilas	UTM 17M 069180088	9957741	CCN51	5 años
Quinta María Isabel	La Concordia	Sto. Domingo de los Tsachilas	Sto. Domingo de los Tsachilas	UTM 17M 0684430	9993974	CCN51	4 años
Finca Denise	Isidro Ayora	Isidro Ayora	Guayas	no disponible	no disponible	Nacional	5 años
Finca Jorge Ayala	San Juan	PUEBLOVIEJO	Los Ríos	UTM 17 M 0662835	9818276	CCN51	6 años
no disponible	Echeandia	Echeandia	Bolívar	no disponible	no disponible	CCN51	~ 10-15 años
Hcda. Rio Lindo	Hcda. Rio Lindo	El Empalme	Guayas	no disponible	no disponible	CCN51	~ 10-15 años
UTEQ	Finca La María	Quevedo	Los Ríos	S 01°06'02"	W 70°27'13"	CCN51	~ 10-15 años

3.1.4 Aislamiento del Microorganismo

Las mazorcas se lavaron con abundante agua y luego se secaron; posteriormente se extrajeron pequeños fragmentos del tejido enfermo. Estos se colocaron en cajas Petri conteniendo medio de cultivo Papa-Dextrosa-Agar (PDA 35gr/L) y agar V8 (200ml de jugo V8 Cambell+3gr CaCo₃, +18gr Bacto Agar), siguiendo la descripción propuesta por Luz (2008) para obtener colonias puras. Las cajas se mantuvieron en incubación hasta la aparición del organismo en el medio de cultivo; a las 48 horas se seleccionaron las colonias sin contaminación y se dejaron en incubación por 7 días en oscuridad.

De cada una de las colonias aisladas se transfirió una muestra a tubos de ensayo conteniendo medio de cultivo Papa-Dextrosa-Agar (PDA 2%+1000ml de agua destilada), + cloranfenicol (0,1 ml), con la finalidad de disponer colonias puras, para su conservación y futura evaluación de la estructuras de *Phytophthora*. Estas colonias se mantuvieron en refrigeración a 12°C según método utilizado por Luz (2008). En algunas localidades fue necesario repetir la colección de muestras para conseguir aislar *in vitro* el organismo. Para facilidad de identificación, las colonias finalmente obtenidas se codificaron con un número decimal en que la fracción entera indica el sitio de colección y la fracción decimal la mazorca o tejido de donde se obtuvo la colonia. Las colonias codificadas se incorporaron a la colección de microorganismos de la UTEQ, para referencia y futuros trabajos.

3.1.5 Variables para la Caracterización Morfológica y Morfométricas

3.1.5.1 Caracterización Morfológica de Colonias de *Phytophthora spp*

A partir de los aislamientos seleccionados se obtuvieron colonias de 10 días en Agar V8. Para determinar la velocidad de crecimiento, del borde de estas colonias de 10 días de edad, se transfirieron fragmentos de 5mm de diámetro, al centro de cajas Petri conteniendo medio de cultivo Agar-V8 + cloranfenicol

(0,1 ml). Las cajas se mantuvieron en una incubadora a 26°C. Con un calibrador Vernier, se realizaron dos medidas perpendiculares de la colonia cada 24 horas exactas. Hasta obtener un cubrimiento total del plato monitoreando a la vez el crecimiento del micelio con la finalidad de observar la agresividad del patógeno, las mediciones se realizaron en una cámara de flujo laminar bajo estrictas condiciones de asepsia.

3.1.5.2 Aspecto de la Colonia

En los platos cubiertos por las respectivas colonias de *Phytophthora*, se evaluó el aspecto, la morfología y forma de desarrollo de la colonia. La evaluación se cumplió de acuerdo con las características morfológicas de las colonias obtenidas en medio agar V8. La identificación se efectuó acorde a las claves morfológicas de Brasier & Griffin (1979).

3.1.5.3 Mediciones Morfométricas

Para la identificación del microorganismo del género *Phytophthora spp.* asociados a la Mazorca Negra; se utilizaron las cajas Petri de los 30 aislamientos utilizados en las características morfológicas de las colonias. Se hicieron placas permanentes con lactofenol + trypan blue, se realizó la medición microscópica de los esporangios (μm), su presencia o ausencia, la longitud del pedicelo, el tipo de papila y clamidospora, todo esto tomando como referencia metodologías utilizadas por otros autores (Erwin & Ribeiro, 1996).

Las mediciones de las estructuras asexuales de *Phytophthora spp.* se realizaron en 30 estructuras por cada aislamiento y con la ayuda de un microscopio compuesto, provisto de un micrómetro ocular. Las mediciones se realizaron bajo el objetivo 40X, dando 400x de aumento.

CAPÍTULO IV
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 RESULTADOS

4.1.1 Características Morfológicas

4.1.1.1 Caracterización Morfológica de Colonias de *Phytophthora spp*

El crecimiento del Pseudohongo *Phytophthora spp.* cubrió la caja Petri en el material CCN51 en un periodo de 4 a 6 días, mientras que el material Nacional la cubrió en 7 días. En la Fig. 6 se observa el aspecto de las colonias de *Phytophthora* producido en Agar -V8. Se visualizan los diferentes aspectos del crecimiento del micelio aéreo abundante, borde regular de las colonias y aspecto estrellado. Estas características nos aproxima a las observaciones realizadas por Brasier & Griffin (1979). Para el tipo MF1 de *Phytophthora palmivora*, el patrón de crecimiento predominante es el estrellado detectados en 30 cepas. La cepa 4,10, colectada en el recinto Guayacanes presento aspecto aracnoide y la cepa 33,20, colectada en la Concordia fue petaloide, con aspecto algodonoso, micelio aéreo sobre toda la colonia confiriéndole una similitud a *P. Capsici* de acuerdo a la descripción de Brasier & Griffin(1979).

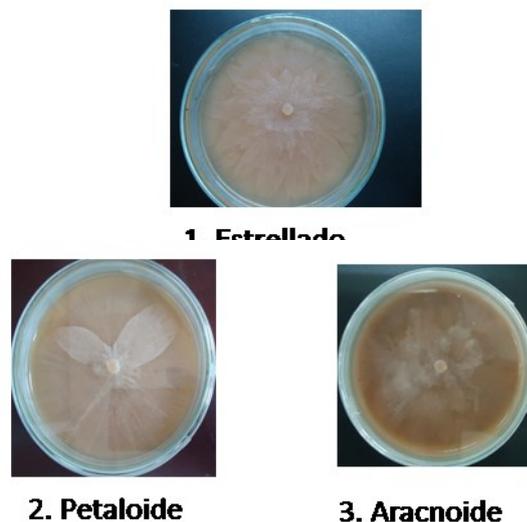


Figura 6 Tipificación del aspecto del crecimiento radial de las cepas de *Phytophthora* sobre en medio de cultivo Agar-V8

4.1.1.2 Morfología del Esporangio

Se realizó la medición de 1.368 estructuras asexuales de *Phytophthora*. Se observaron las formas de los esporangios encontrados en los aislamientos de diferentes lugares; tal como se muestra en la Figura 7. La forma dominante de los esporangios en la mayor parte de los aislamientos fue Obpiriforme, Obturbinate, Globosa, Limoniforme. Estos tipos de esporas son características de *P. palmivora* igual a lo descrito por Stamps (1998) Según Zentmyer (1987), la forma ovoide es característica de *P. capsici*.

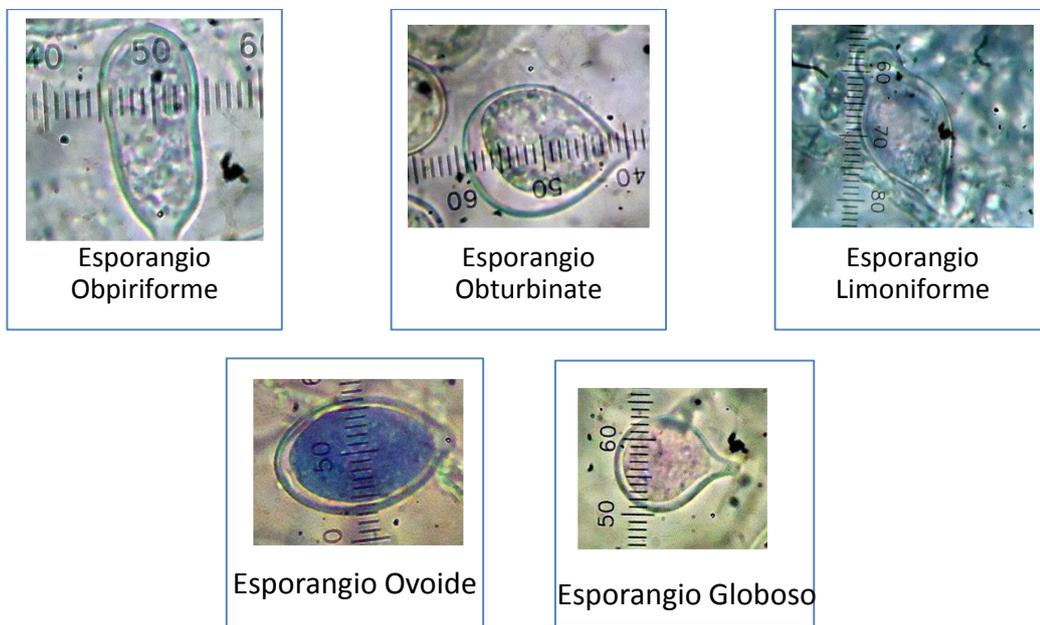


Figura 7 Formas predominantes de los Esporangios (40x) de *Phytophthora* presentes en las diferentes cepas estudiadas. UTEQ. Quevedo, 2014

Se observó la papila de los esporangios predominando los esporangios papilados. Según la descripción de Erwin & Ribeiro (1996) es característica común en *P. palmivora*.

P. capsici se caracteriza por la presencia de papilados y semipapilados, y algunas veces se encuentran bipapilados por lo tanto; las características de la papila en los esporangios que presentaron algunos aislamientos de este estudio según la descripción de Erwin & Ribeiro (1996) corresponden a *P. capsici*. En la **Figura 8**. Se observan los diferentes tipos de papila en el presente estudio.

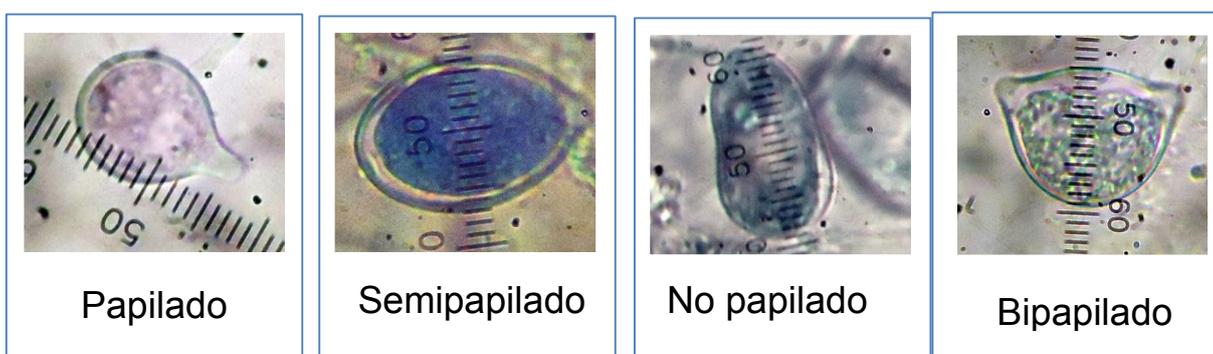


Figura 8 Tipos de papila de los esporangios (40x) de las cepas estudiadas, UTEQ. Quevedo, 2014

En el Cuadro 6 se reúnen todas las características morfológicas de los aislamientos de *Phytophthora* observadas en este estudio.

Cuadro 6 Características morfológicas de los aislamientos de *Phytophthora* spp.

Código	Origen del Aislamiento	Aspecto	Esporangio		Localización
		Colonia	Forma	Papila	Clamidospora
1,4	Cuatro mangas	Estrellada	Globosa & Limoniforme	Papilado & Semipapilado	Intercalar & Terminal
2,1	Federico Intriago	Estrellada	Obturinate	Papilado & Semipapilado	Terminal
3,1	Federico Intriago	Estrellada	Obpiriforme	Papilado	Intercalar & Terminal
4,1	Recinto guayacanes	Aracnoide	Obturinate	Papilado & Semipapilado	Terminal
5,1	La Cadena	Estrellada	Limoniforme, Globosa,	Papilado	Terminal

5,3	La Cadena	Estrellada	Obturinate & Obpiriforme	Papilado, Semipapilado & No papilado	Intercalar & Terminal
6,3	Puente camarones	Estrellada	Obpiriforme	Papilado	Terminal
7,1	Puente camarones	Estrellada	Globosa & Obpiriforme	Papilado, Semipapilado & No papilado	Terminal
9,1	Recinto Delia Maria	Estrellada	Obturinate	Papilado	Terminal
10,2	San Alfonso de pices	Estrellada	Obpiriforme	Papilado	Terminal
14,1	Buena fe	Estrellada	Obturinate, Ovoide & Obpiriforme	Papilado, Semipapilado & No papilado	terminal
14,2	Buena fe	Estrellada	Obturinate, Ovoide & Obpiriforme	Papilado, Semipapilado & No papilado	terminal
16,1	Fumisa	Estrellada	Obturinate	Papilado & Semipapilado	Intercalar & Terminal
16,3	Fumisa	Estrellada	Obturinate	Papilado	Terminal
17,1	Quinsaloma	Estrellada	Globosa, Limoniforme y Obturbinate	Papilado	Intercalar & Terminal
18,1	La Ercilia	Estrellada	Obturinate	Papilado	Terminal
19,1	Zapotal	Estrellada	Obturinate, ovoide	Papilado, Semipapilado & No papilado	Terminal
23,3	Loma de mera	Estrellada	Obpiriforme	Papilado & Semipapilado	Intercalar & Terminal
24,2	Cuatro vientos	Estrellada	Obturinate	Papilado & Semipapilado	Terminal
25,1	Pichilingue	Estrellada	Obturinate, Limoniforme & Obpiriforme	Papilado, Semipapilado & No papilado	Intercalar & Terminal
25,2	Pichilingue	Estrellada	Obturinate, Limoniforme & Obpiriforme	Papilado, Semipapilado & No papilado	Intercalar & Terminal
27,1	Pichilingue viejo	Estrellada	Obturinate, Ovoide	Papilado & Semipapilado	Intercalar & Terminal
28,3	San Felipe	Estrellada	Obturinate, Ovoide	Papilado & Semipapilado	Terminal
29,1	Bella sombra	Estrellada	Obturinate, Ovoide	Papilado	Intercalar & Terminal
32,1	Vía Quevedo Km9	Estrellada	Obturinate, Ovoide	Papilado & Semipapilado	Intercalar & Terminal
33,1	Concordia	Estrellada	Obpiriforme, Obturbinate	Papilado	Intercalar & Terminal
33,2	Concordia	Estrellada	Obpiriforme, Obturbinate	Papilado	Intercalar & Terminal
33,3	Concordia	Petaloides	Obpiriforme, Obturbinate	Papilado, bipapilado	Intercalar & Terminal
34,1	Echeandia	Estrellada	Obturinate, obpiriforme & ovoide	Papilado, Semipapilado & No papilado	terminal
34,2	Echeandia	Estrellada	Obpiriforme, Obturbinate	Papilado	Intercalar & Terminal
34,3	Echeandia	Estrellada	Obpiriforme, Obturbinate	Papilado	Intercalar & Terminal
35,1	El Esfuerzo	Estrellada	Obturinate, obpiriforme & ovoide	Papilado, Semipapilado & No papilado	Intercalar & Terminal
35,2	El Esfuerzo	Estrellada	Obturinate, obpiriforme & ovoide	Papilado, Semipapilado & No papilado	Intercalar & Terminal
35,3	El Esfuerzo	Estrellada	Obturinate, obpiriforme & ovoide	Papilado, Semipapilado & No papilado	Intercalar & Terminal
36,1	Quevedo	Estrellada	Obpiriforme	Papilado, no papilado	terminal
37,1	Nuevo Israel	Estrellada	Obturinate, obpiriforme	Papilado & Semipapilado	Intercalar & Terminal
37,2	Nuevo Israel	Estrellada	Obturinate, obpiriforme	Papilado & Semipapilado	Intercalar & Terminal
38,1	San Juan	Estrellada	Obturinate, obpiriforme & ovoide	Papilado	Intercalar & Terminal
38,2	San Juan	Estrellada	Obturinate, obpiriforme & ovoide	Papilado	Intercalar & Terminal
38,3	San Juan	Estrellada	Obturinate, obpiriforme & ovoide	Papilado, Semipapilado & No papilado	Intercalar & Terminal
39,1	Isidro Ayora	Estrellada	Obturinate	Papilado, Semipapilado & No papilado	Intercalar & Terminal
40,1	El Empalme	Estrellada	Obpiriforme	Papilado, no papilado	terminal
42,2	San Miguel de los bancos	Estrellada	Obpiriforme	Papilado & Semipapilado	terminal

Código: No. de muestra y No. de aislamiento obtenido.

4.2 Características Morfométricas

4.2.1 Relación Largo/Ancho de los Esporangios

En la comparación de las dimensiones de las estructura asexuales de los aislamientos de *Phytophthora* obtenido (**cuadro 7**) se realizó con las claves de identificación de la especie *Phytophthora*. La relación L/A de esporangios se encuentra dentro de los rangos especificados para estas especies.

En la relación L/A de 1.368 esporangios de *Phytophthora*, los rangos que presenta este estudio es de **1.3–2.1** para la especie *P. capsici*, especificados por Stamps (1998).

Para la especie de *P. palmivora* está dentro de la gama presentada con el promedio de **1.7-1.8** para *P. palmivora* según lo reportado por Zentmyer (1987) y también los límites **1.7- 1.9** recomendados por Stamps (1998).

Cuadro 7 Relación Largo-Ancho de los esporangios de *Phytophthora spp* aislados de las diferentes localidades de la zona central del litoral

Código	Valores Media- Relación L/A de Esporangios			
	Origen del Aislamiento	LARGO	ANCHO	L/A
24,2	Cuatro vientos	44,94	33,62	1,3
25,1	Pichilingue	44,94	33,62	1,3
2,1	Federico Intriago	41,66	30,83	1,4
4,1	Recinto guayacanes	41,66	30,83	1,4
17,1	Quinsaloma	46,99	34,93	1,4
38,2	San Juan	47,81	35,34	1,4
9,1	Recinto Delia María	44,36	32,47	1,4
5,1	La Cadena	52,23	37,88	1,4
18,1	La Ercilia	45,02	32,64	1,4
35,3	El Esfuerzo	39,44	28,62	1,4
16,1	Fumisa	37,88	27,31	1,4
16,3	Fumisa	42,64	30,75	1,4
28,3	San Felipe	46,58	33,46	1,4
37,2	Nuevo Israel	44,36	31,98	1,4
35,2	El Esfuerzo	43,54	31,00	1,4
32,1	Vía Quevedo Km9	46,58	32,72	1,4
35,1	El Esfuerzo	42,56	29,52	1,4
39,1	Isidro Ayora	45,67	31,65	1,4
5,3	La Cadena	52,32	36,08	1,5

29,1	Bella sombra	47,56	32,47	1,5
38,1	San Juan	46,41	31,73	1,5
25,2	Pichilingue	47,89	32,55	1,5
14,1	Buena fe	44,44	30,09	1,5
7,1	Puente camarones	49,94	33,62	1,5
27,1	Pichilingue viejo	48,71	32,47	1,5
34,2	Echeandia	49,61	33,13	1,5
14,2	Buena fe	50,35	33,05	1,5
1,4	Cuatro mangas	54,78	34,28	1,6
19,1	Zapotal	51,33	31,57	1,6
33,2	Concordia	49,2	30,01	1,6
33,3	Concordia	50,02	30,59	1,6
34,1	Echeandia	58,14	34,77	1,7
40,1	El Empalme	50,92	29,85	1,7
33,1	Concordia	51,74	29,93	1,7
38,3	San Juan	56,09	31,32	1,8
36,1	Quevedo	55,76	30,91	1,8
37,1	Nuevo Israel	55,43	29,52	1,9
3,1	Federico Intriago	58,22	30,83	1,9
34,3	Echeandia	56,17	29,52	1,9
23,3	Loma de mera	59,78	30,91	1,9
6,3	Puente camarones	53,46	26,81	2,0
42,2	San Miguel de los bancos	61,66	30,42	2,0
10,2	San Alfonso de pices	48,46	22,80	2,1

Código: No. de muestra y No. de aislamiento obtenido

4.2.2 Longitud del Pedicelo

Las medidas del pedicelo de los esporangios obtenidos en el Cuadro 8, presenta valores que se encuentran dentro del rango de **2 - 5 μm** que es característico de la especie, *P. palmivora*, según lo reportado por varios autores (Brasier & Griffin, 1979);(Stamps, 1985).

Para los valores máximo se obtuvieron mediciones algo extremas de pedicelo dentro del rango **10 μm o más de largo** de *P. capsici* igual a la metodología de Stamps (1998).

Cuadro 8 Longitud del pedicelo de los esporangios de los diferentes aislamientos estudiados

LARGO DEL PEDICELO						
Código	Origen del Aislamiento	Caducos	Media	Máximo	Mínima	S
37,2	Nuevo Israel	19	0,9	2,5	2,5	1,21
34,3	Echeandia	17	1,1	2,5	2,5	1,25
35,3	El Esfuerzo	16	1,1	2,5	2,5	1,25
9,1	vía Quevedo Km9	15	1,1	2,5	2,5	1,25
33,2	Concordia	13	1,4	2,5	2,5	1,24
14,1	Buena fe	16	1,6	12,3	2,5	1,21
38,2	San Juan	14	1	4,9	2,5	1,39
2,1	Federico Intriago	18	1,3	4,9	2,5	1,55
4,1	Recinto guayacanes	16	1,3	4,9	2,5	1,55
33,1	Concordia	15	1,3	4,9	2,5	1,41
7,1	Puente camarones	19	1,4	4,9	2,5	1,9
28,3	San Felipe	14	1,4	4,9	2,5	1,4
38,3	San Juan	14	1,4	4,9	2,5	1,4
19,1	Zapotál	12	1,6	4,9	2,5	1,37
18,1	La Ercilia	11	1,7	4,9	2,5	1,47
34,2	Echeandia	11	1,7	4,9	2,5	1,47
29,1	Bella sombra	9	1,8	4,9	2,5	1,28
35,2	El Esfuerzo	8	2	4,9	2,5	1,36
38,1	San Juan	9	2	4,9	2,5	1,5
33,3	Concordia	6	2,1	4,9	2,5	1,13
6,3	Puente camarones	1	2,7	4,9	2,5	0,99
40,1	El Empalme	1	2,8	4,9	2,5	1,07
10,2	San Alfonso de Pices	3	3	4,9	2,5	1,5
5,3	La Cadena	3	0,9	7,4	2,5	1,99
16,1	Fumisa	22	1,1	7,4	2,5	1,68
27,1	Pichilingue viejo	11	1,8	7,4	2,5	1,7
32,1	Vía Quevedo Km9	11	2,1	7,4	2,5	2,05
16,3	Fumisa	4	2,3	7,4	2,5	1,28
1,4	Cuatro mangas	4	2,5	7,4	2,5	1,51
36,1	Quevedo	7	2,5	7,4	2,5	1,99
3,1	Federico Intriago	2	2,6	7,4	2,5	1,28
24,2	Cuatro vientos	9	2,2	9,8	2,5	2,08
23,3	Loma de mera	7	2,7	9,8	2,5	2,18
17,1	Quinsaloma	13	2,1	12,3	2,5	2,64
14,2	Buena fe	16	2,2	12,3	2,5	2,36
37,1	Nuevo Israel	6	2,6	12,3	2,5	2,41
25,1	Pichilingue	1	3	12,3	2,5	2,01
42,2	San Miguel de los bancos	0	3	12,3	2,5	1,9
5,1	La Cadena	17	2,6	17,2	2,5	4,28
34,1	Echeandia	13	2,2	24,6	2,5	4,45
25,2	Pichilingue	10	2,8	24,6	2,5	4,51
39,1	Isidro Ayora	1	3,4	24,6	2,5	4,22
35,1	El Esfuerzo	14	3	32	2,5	5,9

Código: No. de muestra y No. de aislamiento obtenido

Los esporangios de los aislamientos en su mayoría se observaron dehiscentes es decir sin pedicelos, y de tamaño largo y corto **Figura 9**.

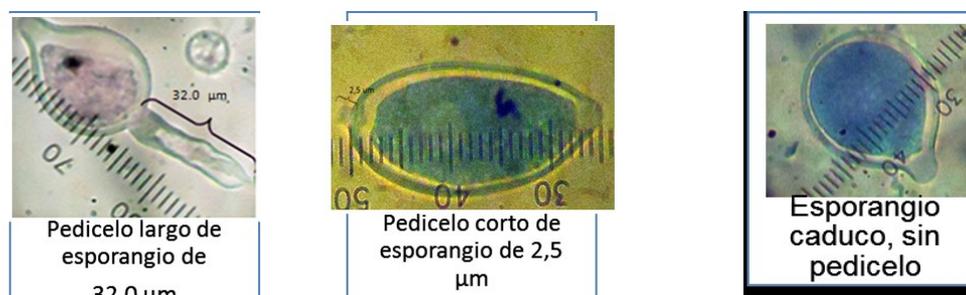


Figura 9 Dimensiones de longitud del pedicelo de los esporangios de las cepas estudiadas, UTEQ. Quevedo, 2014

4.2.3 Clamidospora

Las clamidosporas en todas las cepas estudiadas fueron esféricas con doble pared, la medida de diámetro de Clamidospora de *Phytophthora* obtenidos en cuadro 9, los diámetros comprenden en los rangos dados por Brasier y Griffin (1979), para los morfotipos 1 y 2 (MF1 y MF2) de *Phytophthora palmivora*, y *P. capsici* que son muy amplios.

Cuadro 9 Medidas del diámetro de la Clamidospora

Diámetro de la Clamidospora					
Código	Origen del Aislamiento	Media	DS	Mínimo	Máximo
1,4	Cuatro mangas	36,08	3,95	29,52	44,28
2,1	Federico Intriago	30,01	3,06	22,14	36,9
3,1	Federico Intriago	31,24	3,55	27,06	39,36
4,1	Recinto guayacanes	30,01	3,06	22,14	36,9
5,1	La Cadena	35,83	5,07	24,6	44,28
5,3	La Cadena	34,93	8,16	14,76	54,12
6,3	Puente camarones	36,82	3,62	29,52	41,82
7,1	Puente camarones	35,01	3,69	29,52	41,82
9,1	Recinto Delia María	31,57	2,9	27,06	36,9
10,2	San Alfonso de pices	30,01	4,35	24,6	36,9
14,1	Buena fe	32,39	4,29	24,6	44,28
14,2	Buena fe	32,31	3,46	24,6	36,9
16,1	Fumisa	29,11	4,09	24,6	39,36
16,3	Fumisa	30,75	2,21	24,6	34,44
17,1	Quinsaloma	32,31	3,86	27,06	41,82
18,1	La Ercilia	30,91	3,8	22,14	39,36
19,1	Zapotal	31,73	5,3	22,14	49,2
23,3	Loma de mera	36,41	6,54	24,6	51,66

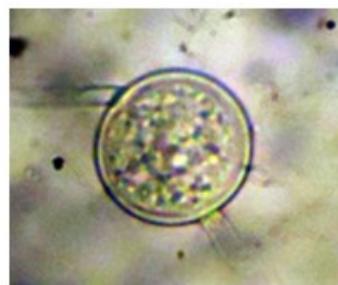
24,2	Cuatro vientos	36,49	5,52	27,06	46,74
25,1	Pichilingue	29,77	5,46	19,68	39,36
25,2	Pichilingue	35,1	4,23	27,06	41,82
27,1	Pichilingue viejo	31,49	4,3	24,6	44,28
28,3	San Felipe	33,87	2,94	27,06	41,82
29,1	Bella sombra	30,5	3	24,6	36,9
32,1	Vía Quevedo Km9	31,57	3,72	24,6	39,36
33,1	Concordia	27,06	1,94	24,6	29,52
33,2	Concordia	30,5	1,23	29,52	31,98
33,3	Concordia	35,26	3,12	31,98	44,28
34,1	Echeandia	34,36	3,57	24,6	39,36
34,2	Echeandia	31,08	3,74	24,6	39,36
34,3	Echeandia	31,98	3,48	24,6	36,9
35,1	El Esfuerzo	40,51	4,07	31,98	49,2
35,2	El Esfuerzo	32,23	3,62	24,6	39,36
35,3	El Esfuerzo	30,59	3,14	24,6	36,9
36,1	Quevedo	38,29	4,12	31,98	46,74
37,1	Nuevo Israel	30,67	3,92	24,6	39,36
37,2	Nuevo Israel	33,05	3,14	27,06	36,9
38,1	San Juan	31,9	6,15	24,6	49,2
38,2	San Juan	32,23	2,27	27,06	36,9
38,3	San Juan	30,59	3,08	24,6	36,9
39,1	Isidro Ayora	38,87	4,68	27,06	49,2
40,1	El Empalme	34,52	4,01	24,6	39,36
42,2	San Miguel de los bancos	31,41	3,8	24,6	44,28

Código: No. de muestra y No. de aislamiento obtenido

Las clamidosporas fueron abundantes y se presentaron de manera terminal e intercalar características de *P. capsici* y *P. palmivora*, descripción igual a las características dadas por (Zentmyer, 1987)(Stamps, 1998).



clamidospora terminal



clamidospora intercalar

Figura 10 Clamidospora de los aislamientos de *Phytophthora* (40x), de las cepas estudiadas, UTEQ. Quevedo, 2014

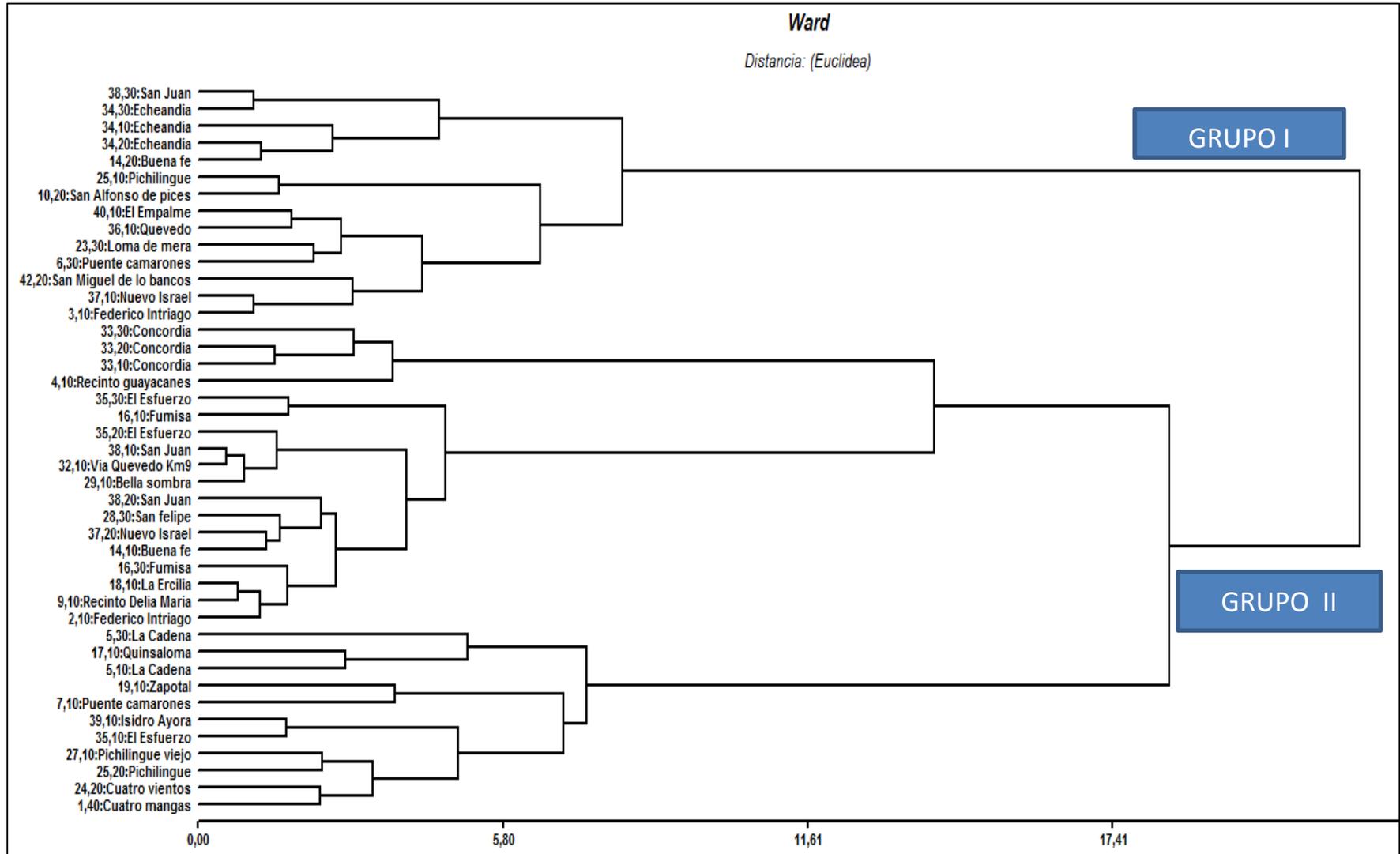
Los resultados que se agrupan en el Dendrograma **Figura 10**, obtenido a partir del análisis de los valores basados en 30 aislamientos de *Phytophthora*, colectados en diferentes lugares, de la zona central de litoral. Se destaca la gran variabilidad existente entre los aislamientos estudiados y el clima. A una distancia euclídea aproximada de 18.8 se observa, dos grandes grupos, el grupo I integrado por el 29,2% y el grupo II con el restante 70.8%, de los aislamientos.

En el grupo I se presentan dos subgrupos a una distancia euclídea de 7.9, Estos resultados agrupan a estos lugares en las mismas características meteorológicas, bajo el rango 15 a 33°C de temperatura, Humedad relativa 76 a 93%, las cuales se encuentran en el clima tropical característicos de la época invernal.

En el grupo II se presentan dos subgrupos próximos a una distancia euclídea de 13.76 las ubicaciones en el Dendrograma se asocian a temperatura de 18 a 33°C, Humedad relativa de 85.8% a 87%, clima tropical típico en esta zona para la época de estudio.

En los lugares de colección de la mazorca negra *Phytophthora spp*, el clima brinda condiciones; que favorecen el desarrollo del Pseudohongo, entre el cual el ciclo de vida asexual en menos de cuatro días, manifestando sintomatología de forma visible a los 2 a 3 días posteriormente de la infección, el ambiente influye predominantemente en el proceso de infección y esporulación de *Phytophthora*, con días favorables de lluvia que beneficia al patógeno.

FIGURA 11 Dendrograma basado en las distancias Euclidea y método Ward para 30 aislamientos de *Phytophthora* colectados en la zona central del litoral



4.3 Discusión

Los aislamientos obtenidos, crecieron a un rango de velocidad cubriendo el fondo de las cajas entre 4 a 6 días en el material CCN51, y 7 días en el material Nacional este resultado indica, que presentaron variabilidad en relación a su velocidad de crecimiento, cuando se mantuvieron bajo condiciones controladas con ambiente estable a temperatura 26°C.

Las colonias de *Phytophthora* producido en Agar-V8, presentaron diferentes aspectos. El crecimiento del micelio fue aéreo abundante, borde regular de las colonias y aspecto estrellado. Estas características nos aproxima a las observaciones realizadas por Brasier & Griffin (1979). Para el tipo MF1 de *Phytophthora palmivora*, el patrón de crecimiento predominante es el estrellado detectados en 30 cepas. La cepa 4,10, colectada en el recinto Guayacanes presentó aspecto aracnoide y la cepa 33,20, colectada en la Concordia fue petaloide, con aspecto algodonoso, micelio aéreo sobre toda la colonia confiriéndole una similitud a *P. Capsici* este comportamiento concuerda con Brasier & Griffin (1979).

Se observaron las diferentes formas de los esporangios encontrados en los aislamientos de diferentes lugares; de los esporangios en la mayor parte de los aislamientos fue Obpiriforme, Obturbinate, Globosa, Limoniforme. Estos tipos de esporas son características de *P. palmivora* igual a lo descrito por Stamps (1998), según Zentmyer (1987), la forma ovoide es característica de *P. capsici*.

La característica de la papila de los esporangios que presentaron los aislamientos de este estudio se encontró la presencia de papilados y semipapilados, y bipapilados por lo tanto características referidas por Erwin & Ribeiro (1996) corresponden a *P. capsici*. En este estudio predominaron los esporangios papilados, según la descripción de Erwin & Ribeiro (1996) es característica común en *P. palmivora*.

En las Características Morfométricas para la identificación de las especies de *Phytophthora* se utilizó la Relación Largo/Ancho de los Esporangios que se encuentra dentro de los rangos especificados para estas especies. En la relación L/A de 1.368 esporangios de *Phytophthora*, los rangos que presenta este estudio es de **1.3–2.1** para la especie *P. capsici*, especificados por Stamps (1998). Para la especie de *P. palmivora* está dentro de la gama presentada con el promedio de **1.7-1.8** para *P. palmivora* según lo reportado por Zentmyer (1987) y también los límites **1.7- 1.9** recomendados por Stamps (1998).

La longitud del pedicelo y la caducidad de los esporangios son también características importantes, únicas de ciertas especies debido a que su longitud es decisiva en la separación de algunas especies. Las medidas del pedicelo de los esporangios presentó valores que se encuentran dentro del rango de **2 - 5 µm** que es característico de la especie, *P. palmivora*, según lo reportado por varios autores (Brasier & Griffin, 1979; Stamps, 1985). Para los valores máximos se obtuvieron mediciones algo extremas de pedicelo dentro del rango **10 µm o más de largo** de *P. capsici* igual a los encontrado aplicando la metodología de Stamps (1998), Los esporangios de los aislamientos en su mayoría se observaron caducos es decir sin pedicelos.

Las clamidosporas en todas las cepas estudiadas fueron esféricas con doble pared y abundantes, la medida de diámetro de Clamidospora de *Phytophthora* comprenden en los rangos dados por Brasier y Griffin (1979), para los morfotipos 1 y 2 (MF1 y MF2) de *Phytophthora palmivora*, y *P. capsici* que son muy amplios. Las clamidosporas se presentaron de manera terminal e intercalar características de *P. capsici* y *P. palmivora*, descripción igual a las características dadas por (Zentmyer, 1987; Stamps, 1998).

En cuanto al Dendrograma se presentaron 2 grupos; bien definidos a partir del análisis de los valores basados en 30 aislamientos de *Phytophthora*, colectados en diferentes lugares, de la zona central de litoral se destaca la gran variabilidad entre los aislamientos estudiados y el clima cuyas características brindan condiciones; que favorecen al desarrollo del organismo en un rango de 15 y 30 °C de temperatura, clima tropical, Humedad relativa 76 a 93%, entre

el ciclo de vida asexual en menos de cuatro días visualizándose síntomas a los 2 a 3 días posteriormente de la infección, el ambiente influye predominantemente en el proceso de infección y esporulación de *Phytophthora*, con días favorables de lluvia que beneficia al patógeno.

CAPÍTULO V
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

- Las características del crecimiento patrón tipo petaloide y estrellado, que presentan las colonias de los aislamientos, en el medio de cultivo jugo V8, permiten presumir que pertenecen a las especies *Phytophthora palmivora* y *P. capsici*.
- Los caracteres morfológicos que presentaron de las especies encontradas corresponden con *P. palmivora* y *P. capsici*, lo que indica alta probabilidad de que estas dos especies estén presentes en el Litoral ecuatoriano; dentro de cada grupo se observó variabilidad entre los diferentes aislamientos, indicando presencia de “biotipos” diferentes.
- El clima brinda condiciones que favorecen al desarrollo del organismo, dentro del ciclo de vida asexual, particularmente la temperatura de 15 y 30 °C, Humedad relativa 76 a 93%, en el área cacaotera de la zona central del litoral.

5.2 Recomendaciones

- Confirmar la presencia de las dos especies y definir los biotipos o razas que estén afectando al cacao. Se recomienda realizar y continuar la investigación con las pruebas clásicas a nivel bioquímico y compatibilidad sexual entre aislamientos.
- Realizar la identificación molecular de las colonias estudiadas a fin de lograr diferenciación intraespecífica de las mismas.
- Realizar estudios de patogenicidad de las cepas o especies encontradas para determinar preferencia de aquellas con la variedad CCN 51 y Nacional.

CAPÍTULO VI

BIBLIOGRAFÍA

6.1 Literatura citada

- Brasier, & Griffin. (1979). Taxonomy of 'Phytophthora palmivora' on cocoa (Vol. 72). Society, Transactions of the British Mycological.
- Brasier, & Griffin. (1979). Comparison of sporangium characteristics of the morphological forms of Phytophthora palmivora with some species that closely resemble. Recuperado el 12 de 04 de 2015, de http://www.phytophthoradb.org/file/html_fppd/phytophthora/palmivora/Table_1.htm
- Butler, & Kulkarni. (1913). Comparison of sporangium characteristics of the morphological forms of Phytophthora palmivora with some species that closely resemble . Recuperado el 12 de 04 de 2015, de http://www.phytophthoradb.org/file/html_fppd/phytophthora/palmivora/Table_1.htm
- Chee. (1969). Comparison of sporangium characteristics of the morphological forms of Phytophthora palmivora with some species that closely resemble. Recuperado el 12 de 04 de 2015, de http://www.phytophthoradb.org/file/html_fppd/phytophthora/palmivora/Table_1.htm
- Coleman. (1910). Comparison of sporangium characteristics of the morphological forms of Phytophthora palmivora with some species that closely resemble . Recuperado el 12 de 04 de 2015, de http://www.phytophthoradb.org/file/html_fppd/phytophthora/palmivora/Table_1.htm
- Echemendia, Y. E. (2010). Phytophthora características y diagnosticos daños que provoca en alguno cultivos tropicales. Recuperado el 12 de 08 de 2014, de <http://www.fao.org/docs/eims/upload/cuba/1060/cuf0022s.pdf>
- Erwin, & Riveiro. (1996). Phytophthora diseases worlwide. En Erwin, & Riveiro, Phytophthora diseases worlwide (pág. 526). U.S.A.

- Grente, J. (1961). Lá maladie de l' encre du chataignier (Vol. 1). Annles Epiphyt
- Griffith. (1992). Target sites of fungicides to control oomycetes. En J. Griffith, Target sites of fungicides to control oomycetes (págs. 66-99). In W. Koller.
- ICA. (2012). Manejo fitosanitario del cultivo del cacao (*Theobroma cacao* L. medidas para la etapa invernol. Recuperado el 17 de abril de 2014, de <http://www.ica.gov.co/getattachment/c01fa43b-cf48-497a-aa7f-51e6da3f7e96/-nbsp;M;anejo-fitosanitario-del-cultivo-de-Cacao.aspx>
- INAMI. (2014). INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA E HIDROLOGIA. (INAMI, Editor, INAMI, Productor, & INAMI) Recuperado el 04 de 05 de 2015, de <http://186.42.174.231/meteorologia/boletines%20historicos/BCLIMA2012/MENSUAL/>
- INEC. (2011). Cacao fino de aroma en Ecuador. Recuperado el 04 de 12 de 2014, de <http://www.ecuadorencifras.com/cifras-inec/pdfs/agro14.pdf>
- Luz. (2008). GLOSSARIO ILUSTRADO DE PHYTOPHORA Tecnicas Especiais Para o Estudo De Oomicetos. GLOSSARIO ILUSTRADO DE PHYTOPHORA, 28-29.
- Luz. (2010). Phytophthora spp. EM CULTIVOS DIVERSOS NO SUL DA BAHIA E IDENTIFICAÇÃO DE AGENTES DE BIOCONTROLE A ESTES DE BIOCONTROLE A ESTES PATOGENOS. Recuperado el 11 de 11 de 2014, http://www.uesc.br/cursos/pos_graduacao/mestrado/ppgpv/dissertacoes/marcosviniciusoliveiradossantos.pdf
- Machado, M. (2008). Caracterizacion morfologica y fisiologica de Phytophthora spp, aisladas de plantas de aguacatero con sintomas de marchitez. Citrifrut, 25(2), 55.
- Mchau, & Coffey. (1994). Comparison of sporangium characteristics of the morphological forms of *Phytophthora palmivora* with some species that

closely resemble . Recuperado el 12 de 04 de 2015, de http://www.phytophthoradb.org/file/html_fppd/phytophthora/palmivora/Table_1.htm

Mckay & Coffey. (1995). Resumen de las características importantes para diagnóstico de *Phytophthora palmivora*, *P. megakarya* y MF4 (*P. capsici* sensu, Tsao 1991) de cacao. Recuperado el 24 de 05 de 2015, de http://www.phytophthoradb.org/file/html_fppd/phytophthora/palmivora/Table_4.htm

McMahon, P. & Purwantara, A. (2004). Diversity and management of cocoa in Asia: *Phytophthora* in cocoa, (págs. 104-115).

McRae. (1918). Comparison of sporangium characteristics of the morphological forms of *Phytophthora palmivora* with some species that closely resemble. Recuperado el 12 de 04 de 2015, de http://www.phytophthoradb.org/file/html_fppd/phytophthora/palmivora/Table_1.htm

Mora, I. (2008). Factibilidad de la producción y comercialización de cacao. Recuperado el 12 de 09 de 11, de <http://repositorio.iaen.edu.ec/bitstream/24000/410/1/IAEN-M041-2008>

Porras, & Sanchez. (1991). Enfermedades del Cacao. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura, 32.

Rivero. (2007). *Phytophthora cactorum*: caracterización epidemiológica e incidencia en la productividad y en la calidad de frutos de peral cv. Recuperado el 11 de 10 de 2014, de http://inta.gob.ar/documentos/phytophthora-cactorum-caracterizacion-epidemiologia-e-incidencia-en-la-productividad-y-en-la-calidad-de-frutos-de-peral-cv.-williams/at_multi_download/file/Tesis_Victoria_Rivero.pdf

Stamps. (1985). Comparison of sporangium characteristics of the morphological forms of *Phytophthora palmivora* with some species that closely resemble. Recuperado el 12 de 04 de 2015, de

http://www.phytophthoradb.org/file/html_fppd/phytophthora/palmivora/Table_1.htm

Stamps. (1998). Manejo de enfermedades del cacao (*Theobroma cacao* L.) en Colombia con énfasis en monilia (*Moniliophthora roreri*). Recuperado el 02 de 08 de 2014,

[http://conectarural.org/sitio/sites/default/files/documentos/Manejo%20de%20las%20enfermedades%20del%20cacao%20\(Theobroma%20cacao%20L\)%20en%20Colombia,%20con%20%C3%A9nfasis%20en%20Monilia%20\(Moniliophthora%20roreri\).pdf](http://conectarural.org/sitio/sites/default/files/documentos/Manejo%20de%20las%20enfermedades%20del%20cacao%20(Theobroma%20cacao%20L)%20en%20Colombia,%20con%20%C3%A9nfasis%20en%20Monilia%20(Moniliophthora%20roreri).pdf)

Suarez, Y., & Aranzuzu, f. (2010). Manejo de las enfermedades del cacao (*theobroma cacao* L.) Colombia. Recuperado el 13 de 08 de 2014, de Corpoica:

<http://conectarural.org/sitio/sites/default/files/documentos/Manejo%20de%20las%20enfermedades%20del%20cacao%20en%20Colombia%20C%20con%20%C3%A9nfasis%20en%20Monilia.pdf>

Thompson. (1929). Comparison of sporangium characteristics of the morphological forms of *Phytophthora palmivora* with some species that closely resemble. Recuperado el 12 de 04 de 2015, de http://www.phytophthoradb.org/file/html_fppd/phytophthora/palmivora/Table_1.htm

Tsao & Alizadeh. (1987). Resumen de las características importantes para diagnóstico de *Phytophthora palmivora*, *P. megakarya* y MF4 (*P. capsici* sensu, Tsao 1991) de cacao. Recuperado el 24 de 05 de 2015, de http://www.phytophthoradb.org/file/html_fppd/phytophthora/palmivora/Table_4.htm

Tsao. (1991). Resumen de las características importantes para diagnóstico de *Phytophthora palmivora*, *P. megakarya* y MF4 (*P. capsici* sensu, Tsao 1991) de cacao. Recuperado el 24 de 05 de 2015, http://www.phytophthoradb.org/file/html_fppd/phytophthora/palmivora/Table_4.htm

- Tucker. (1931). Comparison of sporangium characteristics of the morphological forms of *Phytophthora palmivora* with some species that closely resemble . Recuperado el 12 de 04 de 2015, de http://www.phytophthoradb.org/file/html_fppd/phytophthora/palmivora/Table_1.htm
- Waterhouse. (1963). Comparison of sporangium characteristics of the morphological forms of *Phytophthora palmivora* with some species that closely resemble . Recuperado el 12 de 04 de 2015, de http://www.phytophthoradb.org/file/html_fppd/phytophthora/palmivora/Table_1.htm
- Waterhouse. (1974). Comparison of sporangium characteristics of the morphological forms of *Phytophthora palmivora* with some species that closely resemble. Recuperado el 12 de 04 de 2015, de http://www.phytophthoradb.org/file/html_fppd/phytophthora/palmivora/Table_1.htm
- Zentmyer. (1987). Taxonomic relationship and distribuicion *Phytophthora* species causing black pod of cacao. Proceedings of the Tenth International Cocoa Research Conference. (págs. 391-395). U.S.A.

CAPÍTULO VII
ANEXOS

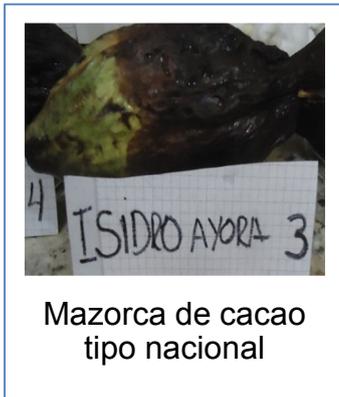
ANEXO 7.1 Localización de las fincas donde se colectaron las muestras
todas las colecciones se realizó en época lluviosa.

- ✓ Finca experimental “La María ‘de la UTEQ, localizado en el kilómetro 7,5 de la Vía Quevedo El Empalme
- ✓ km 9 vía a Quevedo, Mocache, Provincia de Los Ríos.
- ✓ Los Recintos guayacanes, la cadena, Delia María, San Alfonso de Pices, Federico Intriago, ubicado en el cantón Valencia, Provincia de los Ríos.
- ✓ Los Recintos Loma de Mera, Pichilingue, Pichilingue viejo, San Felipe, Bella sombra, Cuatro vientos, perteneciente al Cantón Mocache, Provincia de los Ríos.
- ✓ Finca de la propiedad del Sr. Jorge Ayala, cantón San Juan, Provincia de los Ríos.
- ✓ En los sectores Fumisa, Cuatro mangas, San Francisco Km 26, Cantón Buena Fe, Puente Camarones, Provincia de Los Ríos
- ✓ Hacienda Rio Lindo ubicado en el cantón El Empalme, Provincia del Guayas.
- ✓ Cantón Echeandia, Provincia de Bolívar
- ✓ En la finca Denisse propiedad del Sr. Efraín Bustamante, ubicado en el cantón Isidro Ayora, Provincia del Guayas,
- ✓ Finca Saquisela Propiedad del Sr. Saquisela, Cantón San Miguel de los Bancos provincia de Pichincha.
- ✓ En la Quinta María Isabel, Propiedad de María Isabel Ordoñez ubicado en el cantón la concordia, en la parroquia de El Esfuerzo, Nuevo Israel, Provincia de Santo Domingo.

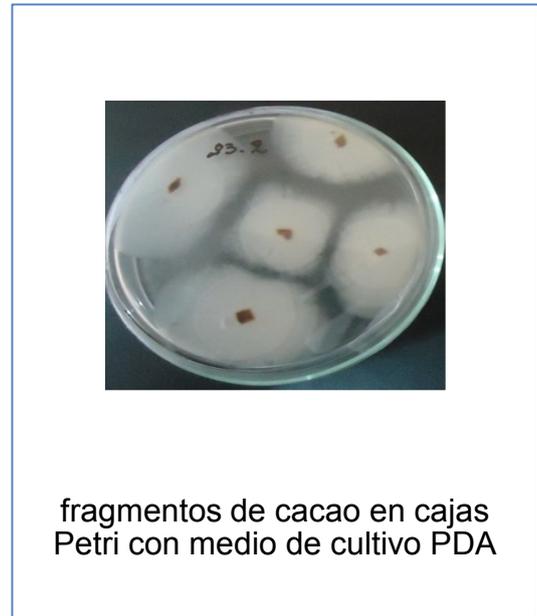
ANEXO 7.2 Identificación de aislamiento de Phytophthora procedentes de frutos de cacao de 30 lugares, sitio de origen y tipo de cacao frente de cada aislamiento.

Código Cepa	Lugar	Cantón	Tipo de cacao	Nº de muestras de mazorcas de cacao	Total de aislamiento
1.40	Recinto Cuatro Mangas	Buena Fe	CCN-51	3	8
2.10	Recinto Federico Intriago	Valencia	CCN-51	3	8
3.10	Recinto Federico Intriago	Valencia	CCN-51	3	8
4.10	Recinto guayacanes	Valencia	CCN-51	3	8
5.40	Recinto La Cadena	Valencia	CCN-51	3	8
6.30	Recinto Puente camarones	Buena Fe	CCN-51	3	8
7.10	Recinto Puente camarones	Buena Fe	CCN-51	3	8
9.10	Recinto Delia Maria	Valencia	Nacional	3	8
10.20	Recinto San Alfonso de pices	Valencia	Nacional	3	8
14.10	San Francisco Km 26	Buena Fe	Nacional y CCN-51	3	8
14.20	Fumisa	Buena Fe	CCN-51	3	8
17.10	Quinsaloma	Quinsaloma	CCN-51	3	8
18.10	La Ercilia	Quinsaloma	CCN-51	3	8
19.10	Zapotal	Ventanas	CCN-51 y nacional	3	8
23.30	Loma de mera	Mocache	CCN-51	3	8
24.20	Cuatro vientos	Mocache	CCN-51	3	8
25.10	Pichilingue	Mocache	CCN-51	3	8
27.10	Pichilingue viejo	Mocache	CCN-51	3	8
28.30	San Felipe	Mocache	CCN-51	3	8
29.10	Bella sombra	Mocache	Nacional	3	8
32.10	Via Quevedo Km 9	Mocache	CCN-51	3	8
42.20	San Miguel de los Bancos	San Miguel de los Bancos	CCN-51	3	8
37.10	Nuevo Israel	Sto. Domingo de los Tsachilas	CCN-51	3	8
35.10	El Esfuerzo	Sto. Domingo de los Tsachilas	CCN-51	3	8
33.10	La Concordia	Sto. Domingo de los Tsachilas	CCN-51	3	8
39.10	Finca Denise	Isidro Ayora	Nacional	3	8
38.20	San Juan	PUEBLOVIEJO	CCN-51	3	8
34.10	Echeandia	Echeandia	CCN-51	3	8
40.10	Hcda. Rio Lindo	El Empalme	CCN-51	3	8
36.10	Finca La María	Quevedo	CCN-51	3	8
TOTAL				90	240

ANEXO 7.3 Mazorcas de cacao con síntomas de Phytophthora, que empiezan con manchas de color café que aparecen en uno de los extremos del fruto.



ANEXO 7.4. Colonias de Phytophthora en medios de cultivo PDA Y Jugo V8

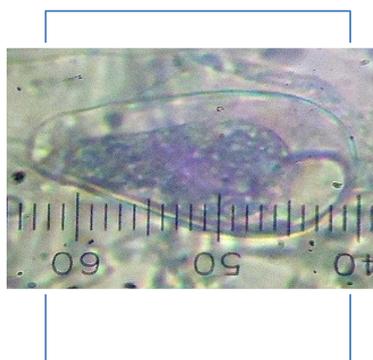




ANEXO 7.5. Medición de estructura y observaciones de esporangios.



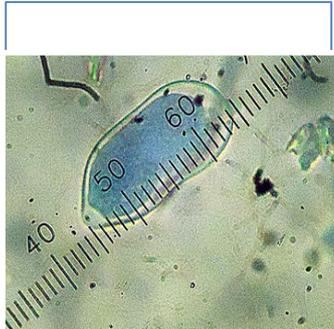
Esporangio de
forma obpiriforme
medicion ocular
40X



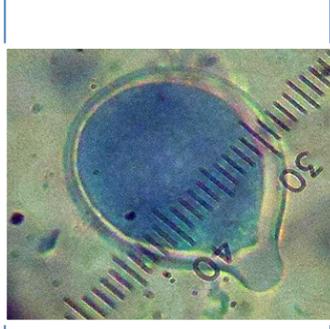
Esporangio de
forma obpiriforme
no papilado
medicion ocular
40X



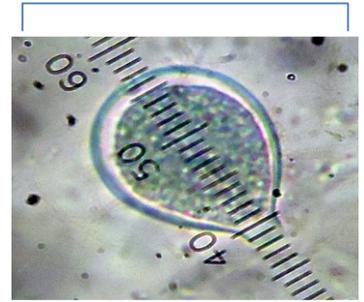
Esporangio
obpiriforme
papilado
medicion ocular
40X



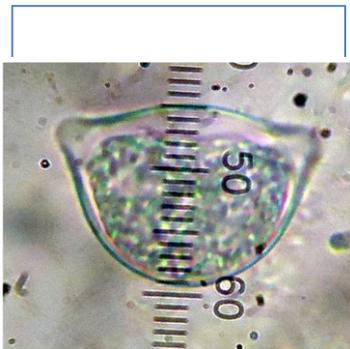
Esporangio de forma Obpiriforme semipapilado medicion ocular 40X



Esporangio de forma Obturbinate papilado medicion ocular 40X



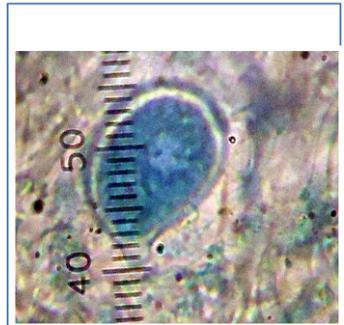
Esporangio de forma Obturbinate papilado medicion ocular 40X



Esporangio forma bipapilado medicion ocular 40X



Esporangio forma bipapilado medicion ocular 40X



Esporangio forma distortidos medicion ocular 40X

ANEXO 7.6. Medición y observaciones de Clamidospora



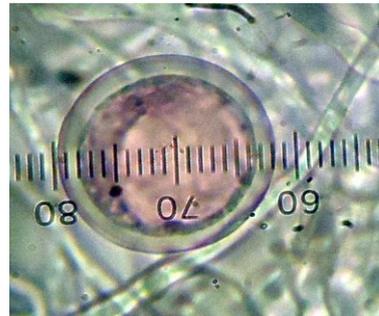
Clamidospora Terminal
medicion ocular 40X



Clamidospora Intercalar
medicion ocular 40X



Clamidospora Intercalar
medicion ocular 40X



Clamidospora Terminal
medicion ocular 40X