

Especies de *Phytophthora* Aisladas de Cacao en México y su Distribución Geográfica¹

R. Montes-Belmont*, L. de los Santos*

ABSTRACT

In order to study taxonomy and geographical distribution of *Phytophthora* spp. of cocoa in the States of Tabasco and Chiapas, Mexico, Sixty-three isolates of this fungus from pods, leaves and soil of cocoa plantations in both states were collected. Determinations of colony morphology, ability to produce sporangia and chlamydospores, morphology and size of sporangia, sporangial pedicels, chlamydospores, oospores, antheridia and maximal temperature for growth were made with these isolates. According to our results, *P. citrophthora* was the most frequent species, followed by *P. capsici* they were found in seven countries of both states, and *P. palmivora* and *P. nicotianae* var. *nicotianae* were found only in two countries of Chiapas. In observations made on cocoa cultivars amelonado, calabacillo, Ceylan, cundeamor and guayaquil concerning resistance to these fungal species, several reactions were obtained. This explains why it is difficult to produce clones of cocoa in Mexico that maintain resistance to *Phytophthora*.

COMPENDIO

Se colectaron 63 aislamientos de *Phytophthora* procedentes de mazorcas, hojas y suelo de plantaciones de cacao, de nueve municipios de los estados mexicanos de Tabasco y Chiapas, para estudiar su taxonomía y la distribución geográfica de sus especies. Se determinó: la morfología de las colonias, habilidad para producir esporangios y clamidiosporas; forma y tamaño de: esporangios, pedicelos de los esporangios, clamidiosporas, oosporas y anteridios, además de definir su temperatura máxima de crecimiento. De acuerdo con los resultados obtenidos, *P. citrophthora* resultó la especie más ampliamente distribuida, *P. capsici* se encontró en siete municipios de ambos estados, y *P. palmivora* y *P. nicotianae* var. *nicotianae* sólo se encontraron en dos municipios de Chiapas. En observaciones sobre la resistencia de los cacaos amelonado, calabacillo, Ceilán, cundeamor y guayaquil a estas especies fungosas, se obtuvo una diversidad de reacciones que explican la dificultad que se ha tenido para obtener clones con resistencia estable a este complejo de especies productoras de la pudrición negra de la mazorca en México.

INTRODUCCION

En estudios recientes se ha demostrado que la enfermedad conocida como "Pudrición negra de la mazorca del cacao" es ocasionada por varias especies de *Phytophthora* (2, 5, 6, 10, 11). La distribución de estas especies es muy variable, existiendo distinta predominancia de cada una de ellas en diferentes partes del mundo. En Brasil, predomina *P. capsici* sobre *P. palmivora* y *P. citrophthora* (9). En Venezuela, la especie más ampliamente distribuida es *P. palmivora* aunque también existen *P. megasperma* y *P. capsici* (5, 11). En Camerún y Nigeria, *P. megakarya* se considera como la más virulenta y extendida pero además se presentan *P. capsici*, *P. palmivora* y *P. botryosa* var. *africana* (2, 3, 11). En México, se sabe de la presencia de *P. capsici* (5, 11) y en estudio de cepas procedentes de México, Guatemala y Costa Rica, se encontraron, además de esta especie, a *P. palmivora*, *P. citrophthora* y *P. heveae* sin que se precise su origen (6).

Ante esta situación, el presente trabajo se orientó hacia el conocimiento y distribución de las especies de *Phytophthora* en los principales estados productores de cacao en México: Tabasco y Chiapas. Los cuales en conjunto representan más del 90% del área cacaotera del país.

MATERIALES Y METODOS

Origen de los aislamientos. Se colectaron un total de 63 aislamientos de mazorcas, hojas y suelo, de plantaciones de cacao en los municipios de: Cárdenas, Comalcalco, Huimanguillo, Paraíso y Teapa, en Tabasco, y de Cacahuatán, Ciudad Hidalgo, Rosario Izapa y Tuxtla Chico, en Chiapas. Por cada localidad, se estudiaron siete cepas de diferentes plantaciones.

Crecimiento micelial y producción de esporangios. Para observar el desarrollo micelial y la habilidad para producir esporangios, se usó como medio de cultivo, zanahoria-agar (1), transfiriendo discos de 3 mm de diámetro con el hongo en activo desarrollo a las cajas de Petri y se dejaron las cepas crecer a temperatura ambiente (24 a 28°C). En los casos en que el micelio era de aspecto algodonoso y abundante, a los cuatro días, se hizo un raspado con navaja de afeitarse y se

1 Recibido para publicación el 13 de febrero 1989

* Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Unidad Oaxaca, Instituto Politécnico Nacional, Apartado Postal 1123, Oaxaca, Oax., México C.P. 68000

dejó por 24 horas al aire a fin de estimular la producción de esporangios. En todas las cepas se hicieron observaciones a los cinco días de incubación, sobre: aspecto de las colonias, producción de esporangios, tipos de esporangióforos e hifas somáticas

Producción de oosporas. Todos los aislamientos fueron apareados entre sí, en todas las combinaciones posibles, para lo cual se colocaron discos de las cepas en agar sobre cajas de Petri en un medio jugo de tomate-agar, colocando cuatro discos en extremos separados y uno en el centro. Todas las cajas con los apareamientos fueron colocadas en oscuridad durante dos semanas a 20°C

Medición de estructuras reproductivas. De cada cepa se hicieron preparaciones montadas en azul de algodón-lactofenol para determinar forma de esporangios; sus dimensiones fueron definidas a partir de 50 esporangios por cada aislamiento, usando un microscopio compuesto con micrómetro ocular

Con los apareamientos que produjeron oosporas se hizo la medición de éstas y de los anteridios en la misma cantidad que los esporangios

Temperatura máxima de crecimiento. Todos los aislamientos fueron transferidos a medio zanahoria-agar y se incubaron a 30, 33, 35 y 37°C observando su desarrollo a las 24, 48 y 72 horas

Resistencia a diferentes tipos de cacao. Dentro de los cacaos más comunes en México, se colectaron mazorcas de dos meses de edad de los tipos: amelonado, calabacillo, Ceilán, cundeamor, guayaquil verde y guayaquil rojo. Estas mazorcas fueron inoculadas con cinco de los aislamientos para lo cual se usaron 12 frutos por cepa; en cada una de las mazorcas se adhirieron tres anillos de plasticina de 4 cm de diámetro y 2 cm de altura; en medio de éstas se colocó 1 ml de una suspensión de esporangios. Posteriormente, las mazorcas fueron incubadas en cámara húmeda a temperatura ambiente por seis días. La evaluación de la resistencia se hizo con base en lo indicado en la Fig. 1.

RESULTADOS Y DISCUSION

De acuerdo con los criterios de Waterhouse (9) Ho (4), Newhook (8), Waterhouse y Stamps (5), Brasier (2) y las descripciones de hongos fitopatógenos del Commonwealth Mycological Institute, los aislamientos estudiados quedaron dentro de las siguientes especies:

P. citrophthora Crecimiento micelial de aspecto algodonoso, laxo; esporangióforos irregularmente ramificados y en algunas cepas, no ramificados

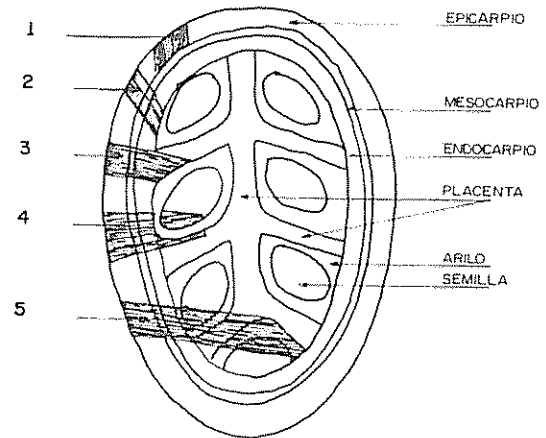


Fig. 1 Escala de valores para medir el grado de penetración de *Phytophthora*

En la mayoría, pedicelo no deciduo y sólo en un aislamiento los pedicelos eran desprendibles en agua. Una característica típica fue su variabilidad en las formas de los esporangios: obovoides, elipsoides, obpiriformes y con frecuencia, deformes, con uno o dos cuellos alargados o con dos o tres ápices. Su tamaño promedio fue de 61 por 23 μ con papila de 5 μ y relación largo/ancho (L/A) 2/6. Oosporas esféricas de 25 μ de diámetro, anteridios anfiginos de 13 x 11 μ (Fig. 2) No formaron clamidosporas. Su temperatura máxima de crecimiento fue de 30°C. Esta especie fue la más ampliamente distribuida pues se encontró en todos los municipios muestreados

P. capsici Crecimiento micelial abundante tomando la colonia el aspecto de un crisantemo. Esporangióforos ramificados en forma de abanico. Pedicelo deciduo largo, en promedio de 51 μ . Esporangios predominantemente elípticos, obovoides, de base angosta. Sus dimensiones promedio fueron 45 x 21 μ con papila de 5 μ y una relación (L/A) de 2/1. Oosporas esféricas o semiesféricas de 25 μ de diámetro; anteridios anfiginos de 14 x 19 μ . No formaron clamidosporas (Fig. 3) Crecieron a 37°C. Se detectó en todos los municipios de Tabasco y además, en Chiapas, en Cacahuatán y Tuxtla Chico.

P. palmivora Crecimiento de la colonia en forma radial de dos tipos: uniforme, a todo lo largo de la caja, y otro con un anillo con mayor concentración de hifas en la mitad del diámetro de la colonia. Esporangióforos ramificados irregularmente. Pedicelo deciduo corto de 5 μ . Esporangios elipsoides, ovoides, obovoides u obpiriformes, todos, con base redondea-

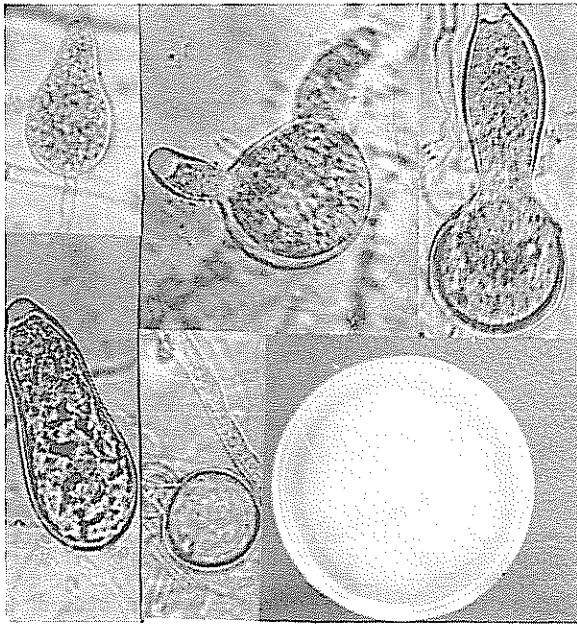


Fig 2 *P. citrophthora* Esporangios, oosporas y aspecto de la colonia

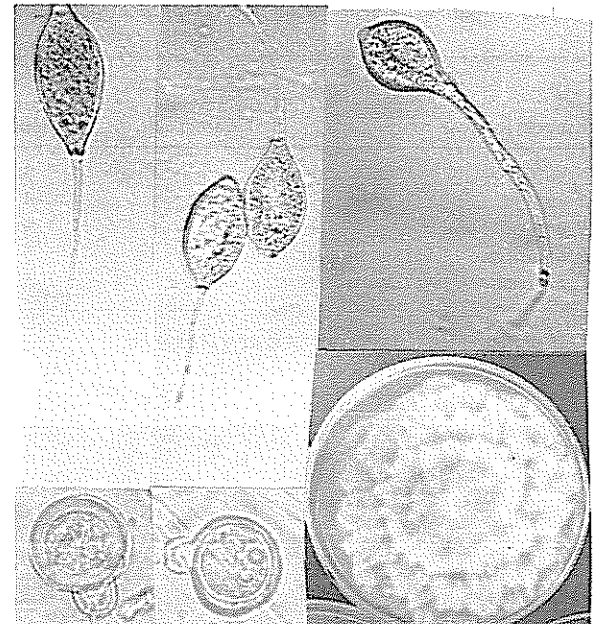


Fig 3 *P. capsici* Esporangios, oosporas y aspecto de la colonia

da. Su tamaño promedio fue de $40 \times 24 \mu$ con papila de 5μ y L/A de 1/6. Oosporas esféricas u ovoides, de 22μ de diámetro y anteridios anfíginos de $16 \times 13 \mu$. Clamidosporas presentes en todos los aislamientos y de 30μ diámetro en promedio (Fig 4). En algunos aislamientos, la temperatura máxima de crecimiento fue de 35°C y en otros, de 37°C . Se encontró únicamente en Tuxtla Chico y Rosario Izapa, estado de Chiapas.

P. nicotianae var. *nicotianae*. Micelio de aspecto algodonoso, sin mucha abundancia de hifas, con hinchamientos globosos. Esporangióforos irregularmente ramificados. Pedicelo deciduo en algunas cepas, generalmente muy pequeño de 2μ . Esporangios esféricos, ovoides u obpiriformes algunos con dos papilas; otros intercalares. Sus dimensiones medias fueron $54 \times 41 \mu$. Papila de 5μ . L/A 1/3. Oosporas esféricas de 24μ de diámetro y anteridios anfíginos de $16 \times 12 \mu$. Clamidosporas presentes de 28μ de diámetro (Fig 5). Creció a 35°C . Su distribución también fue restringida a Tuxtla Chico y Rosario Izapa.

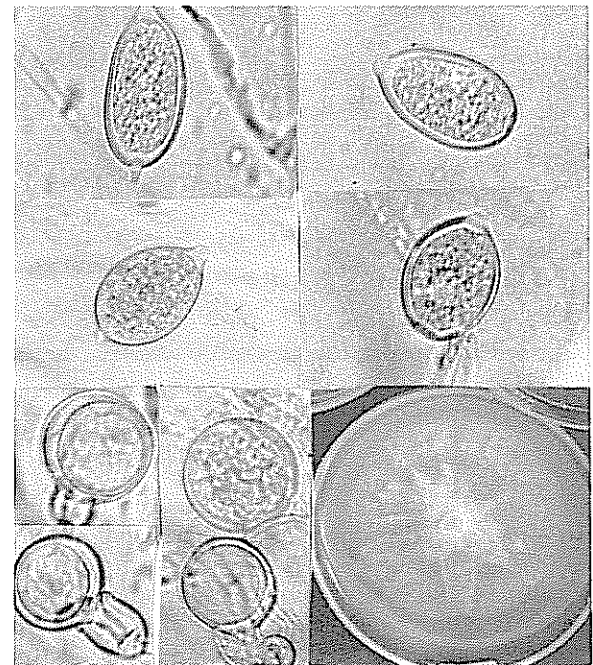


Fig 4 *P. palmivora* Esporangios, oosporas, clamidospora y aspecto de la colonia

Como se puede observar en las anteriores descripciones, existen algunos caracteres como la longitud del pedicelo deciduo y la forma de la base del esporangio que, en las descripciones originales de las especies de *Phytophthora*, no se consideraron de importancia; sin embargo, en las especies encontradas en cacao se ha visto que son caracteres constantes y que permiten un diagnóstico preciso (2, 8).

Resistencia a diferentes tipos de cacao. Los resultados se expresan en el Cuadro 1. Los cacaos calabacillo, Ceilán y guayaquil verde fueron altamente susceptibles a las cepas probadas. El amelonado fue medianamente resistente a *P. palmivora*. El cundeamor fue resistente a *P. capsici* y medianamente resistente

Cuadro I. Grado de penetración de *Phytophthora* después de seis días.

Especie fungosa	Tipo de cacao					
	Calabacillo	Amelonado	Cundeamor	Ceilán	Guayaquil A	Guayaquil B
<i>P. palmivora</i>	5	3	4	4	5	5
<i>P. capsici</i>	5	4	2	5	5	2
<i>P. citrophthora</i>	5	5	5	5	4	5
<i>P. nicotianae</i> 1* var. <i>nicotianae</i>	5	5	3	5	5	5
<i>P. nicotianae</i> 2* var. <i>nicotianae</i>	5	5	3	5	5	2

* Corresponden a dos cepas de la misma especie

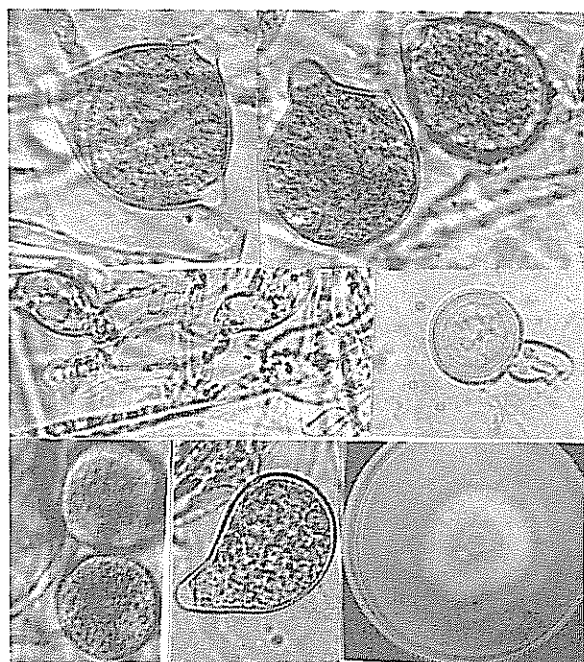


Fig. 5. *P. nicotianae* var. *nicotianae*. Clamidosporas, esporangios, oospora, hinchamientos de las hifas y aspecto de la colonia

a *P. nicotianae* var. *nicotianae*. El guayaquil rojo resultó con resistencia a *P. capsici* y *P. nicotianae* var. *nicotianae*. Todos los tipos de cacao fueron susceptibles a *P. citrophthora*. Esta diversidad de reacciones hospedero-patógeno explican en parte porqué ciertos clones de cacao que, en algunos lugares son calificados como resistentes, en otras regiones resultan susceptibles, siendo éste uno de los factores determinantes de la distribución de las especies y sus posibles razas fisiológicas. En México, durante mucho tiempo la Estación Experimental de Rosario Izapa fue un centro de mejoramiento de cacao de la cual se generaron algunos clones clasificados como resistentes a *Phytophthora*; sin embargo, al ser sembrados en Tabasco, no se obtuvieron los mismos resultados

LITERATURA CITADA

- BRASIER, C.M. 1967. Physiology of reproduction in *Phytophthora*. PhD Thesis. Hull, England, University of Hull 205 p.
- BRASIER, C.M.; GRIFFIN, M.J. 1979. Taxonomy of "*Phytophthora palmivora*" on cocoa. Transaction of the British Mycological Society 72:111-143.
- GRIFFIN, M.J. 1977. Cocoa *Phytophthora* Workshop. Pans. (England) 23:107-110
- HO, H.H. 1981. Synoptic keys to the species of *Phytophthora*. Mycologia 73:705-714
- KAOSIRI, I. 1978. Morphological, taxonomic and cytological studies of *Phytophthora palmivora*. PhD Thesis. University of California Riverside 253 p.
- LOZANO, F.Z.; ROMERO, C.S. 1984. Estudio taxonómico de aislamientos de *Phytophthora* patógeno de cacao. Agrociencia (Méx.) 56:175-182.
- LUZ, E.D.M.N.; CAMPELO, A.M.F.L. 1985. Population dynamics of *Phytophthora* in cocoa-growing areas in Bahia. Fitopatologia Brasileira (Bras.) 19(1):9-16
- NEWHOOK, F.J.; WATERHOUSE, G.M.; STAMPS, O.J. 1978. Tabular key to the species of *Phytophthora*. De Bary Commonwealth Mycological Institute. 22 p. (Mycological Paper No. 143).
- WATERHOUSE, G.M. 1963. Key to the species of *Phytophthora*. De Bary Commonwealth Mycological. 22 p. (Institute Mycological Paper No. 92).
- WATERHOUSE, G.M. 1974. Other species of *Phytophthora* recorded on cocoa. *Phytophthora* Disease of Cocoa. p. 71-79.
- ZENTMYER, G.A. et al. 1979. Morphological forms of *Phytophthora palmivora*. International Cocoa Research Conference (7, Donala, Cameroon). p. 291-296.