

Evaluación de medios de cultivo naturales para la producción de esporangios y la liberación de zoosporas de *phytophthora palmivora* causante de la pudrición del cogollo en cultivos de palma de aceite

AUTOR:

Ariacna Carolina Santiago Torres

DIRECTOR:

Dalia Maria Blanchar
Mariandrea Garcia Gaona

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN BIOPROSPECCIÓN

FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS

PROGRAMA DE MICROBIOLOGÍA

UNIVERSIDAD POPULAR DEL CESAR

VALLEDUPAR-2025

RESUMEN	6
INTRODUCCIÓN	8
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	11
JUSTIFICACIÓN	14
OBJETIVOS	16
Objetivo General.....	16
Objetivos específicos.....	16
MARCO TEÓRICO	¡Error! Marcador no definido.
ANTECEDENTES	¡Error! Marcador no definido.
Agente Causante	¡Error! Marcador no definido.
Ciclo biológico.....	¡Error! Marcador no definido.
METODOLOGÍA	¡Error! Marcador no definido.
Tipo de estudio y línea de investigación	¡Error! Marcador no definido.
Universo y localización del estudio	¡Error! Marcador no definido.
Hipótesis nula, hipótesis alterna	¡Error! Marcador no definido.
Variables evaluadas	¡Error! Marcador no definido.
Diseño metodológico.....	17
Activación de cepas <i>P palmivora</i> conservadas en agua destilada estéril.....	17
Preparación de Cámaras Húmedas.....	17
Activación del aislado de <i>P.palmivora</i> en fruto de pera.....	17
19	
19	
19	
Preparación de medios de cultivos naturales utilizados para la producción de esporangios y liberación de zoosporas de <i>P. palmivora</i>	19



liberación de zoosporas.....	22
Análisis Estadístico.....	23
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	24
Patogenicidad de los aislamientos de <i>P palmivora</i> en fruto de peras inoculados.....	24
Características macroscópicas y microscópicas en <i>P. palmivora</i> en los diferentes medios de cultivo.....	25
Evaluación del diámetro de crecimiento de los aislamientos de <i>P palmivora</i> en los diferentes medios de cultivo.....	28
Evaluación del diámetro de colonización en función de la cepa de <i>P palmivora</i>	29
Evaluación del diámetro de colonización en función del tipo de medio.....	31
EVALUACIÓN DE ESTRUCTURAS REPRODUCTIVAS SEXUALES DE <i>P palmivora</i>	¡Error! Marcador no definido.
Evaluación de las tres cepas de <i>P palmivora</i> con respecto a la producción de zoosporas.....	33
Evaluación de las tres cepas de <i>P palmivora</i> con respecto a la producción de esporangios.....	34
Evaluación de los tratamientos con respecto a la producción esporangios.....	38
CONCLUSIONES.....	40
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	42
ANEXOS.....	¡Error! Marcador no definido.

Tabla 1. Descripción de los tratamientos.....	23
Tabla 2. Preparación de medios de cultivo para el aislamiento de <i>P palmivora</i>	28
Tabla 3. Análisis de varianza. Diámetro de colonización de cada una de las cepas evaluadas de acuerdo a los diferentes tratamientos.....	34
Tabla 4. Análisis de varianza. Diametro de colonización de cada una de las cepas.	35
Tabla 5. Patrones culturales de los aislados estudiados en los diferentes medios de cultivo utilizados.....	36
Tabla 6. Análisis de varianza. Diámetro de colonización en función del tipo de medio al octavo día de su inoculación.....	38
Tabla 7. Análisis de varianza. Evaluación de las tres cepas de <i>P palmivora</i> en relación a la producción de zoosporas.....	39
Tabla 8. Análisis de varianza. Evaluación de las tres cepas de <i>P palmivora</i> en relación a la producción de esporangios.....	41
Tabla 9. Análisis de varianza. Evaluación de las tres cepas de <i>P palmivora</i> en relación a la producción de zoosporas.....	42
Tabla 10. Análisis de varianza. Evaluación cada uno de los tratamientos con respecto a la producción de zoosporas.....	45
Tabla 11. Análisis de varianza. Evaluación cada uno de los tratamientos con respecto a la producción de esporangios.....	46



Figura 1. Ilustración general de la planta de palma de aceite.....	22
Figura 2. Morfología microscópica de <i>P. palmivora</i>	24
Figura 3. Proceso de desinfección de fruto.....	30
Figura 4. Proceso de inoculación de <i>P. palmivora</i> en pera.	31
Figura 5. Proceso de producción y liberación de zoosporas.....	35
Figura 6. Frutos inoculados con <i>P. palmivora</i> mostrando áreas de colonización alrededor de las zonas de inoculación de forma triangula.....	37
Figura 7. Crecimiento y desarrollo de <i>P. palmivora</i> en diferentes medios	38
Figura 8. Estructura de <i>P palmivora</i> observadas en un lente objetivo de 40X a partir del crecimiento del patógeno en frutos inoculado.....	39
Figura 9. Diámetro de colonización de cada una de las cepas evaluadas de acuerdo con los diferentes tratamientos.	42
Figura 10. Diámetro de colonización de las cepas PCZC145, PCZC137 y PCTU95, en diferentes medios de cultivo.....	43
Figura 11. Diámetro de colonización en función del tipo de medio.....	46
Figura 12. Evaluación de las tres cepas de <i>P. palmivora</i> con respecto a la producción de zoosporas.....	48
Figura 13. Evaluación de las tres cepas de <i>P palmivora</i> con respecto a la producción de esporangios.....	50
Figura 14. Evaluación cada uno de los tratamientos con respecto a la producción de zoosporas.....	51
Figura 15. Evaluación cada uno de los tratamientos con respecto a la producción de esporangios.....	52

RESUMEN

La pudrición del cogollo, causada por *Phytophthora palmivora*, representa uno de los principales desafíos fitosanitarios para la industria palmicultora en Colombia, afectando más de 120 mil hectáreas de palma de aceite. Desde la identificación del agente causal en 2008, Cenipalma ha avanzado significativamente en el estudio del ciclo biológico del patógeno. Con el propósito de mejorar las técnicas para la producción de esporangios y liberación de zoosporas, se evaluaron nuevos medios de cultivo elaborados a partir de extractos naturales, a fin de optimizar el crecimiento y desarrollo de *P. palmivora*.

Se trabajó con tres cepas del patógeno (PCZC145, PCZC137 y PCTU95), suministradas por Cenipalma. Los aislamientos se obtuvieron mediante la inoculación directa de las cepas en frutos de pera utilizados como trampas. Posteriormente, se cultivaron en medios naturales como agar-arveja, agar de cogollo, agar V8 sin clarificar y agar V8 clarificado con antibióticos. Se evaluaron tanto el diámetro de crecimiento del micelio como la presencia de estructuras reproductivas.

Los resultados mostraron que el mayor crecimiento micelial se logró en el medio V8 sin clarificar, con diámetros promedio de 65,04 mm (T4), 66,18 mm (T8) y 63,59 mm (T12). Por el contrario, el menor crecimiento se presentó en el medio de arveja, con valores de 51,83 mm (T1), 52,82 mm (T5) y 51,42 mm (T9). En cuanto a la liberación de zoosporas, todas las cepas mostraron comportamientos similares; sin embargo, la cepa PCZC145 destacó con una mayor producción, alcanzando 3.042.875 zoosporas/ml al octavo día de inoculación.

Estos hallazgos destacan la importancia de seleccionar adecuadamente el medio de cultivo para facilitar el aislamiento y estudio de *P. palmivora*, permitiendo optimizar procesos de investigación y manejo de la enfermedad en campo.

INTRODUCCIÓN

La palma de aceite, originaria de África occidental, es una planta perenne que prospera en climas cálidos. Su producción máxima se alcanza entre los 7 y 10 años, con una vida útil total de hasta 50 años (Abel, 2022).

Entre los principales obstáculos que afectan el crecimiento de la industria palmera en Colombia, las enfermedades relacionadas con el cultivo ocupan un lugar destacado, y dentro de estas, la Pudrición del Cogollo (PC) se destaca como una de las más significativas y problemáticas, cuyo agente causal es el oomiceto *Phytophthora palmivora*, este se encuentra dentro de un grupo de microorganismos fitopatógenos conocidos por su capacidad de causar enfermedades en varios cultivos de importancia económica a nivel mundial, y es especialmente una problemática en las zonas tropicales húmedas (Quiñones, 2018).

El alto impacto de la presencia de *Phytophthora* en los trópicos se debe a que las condiciones bioclimáticas como la combinación de abundantes lluvias estacionales y humedad alta, favorecen y facilitan que las especies de este género tengan gran variedad de plantas hospederas causantes de enfermedades en diferentes tejidos de las plantas, como raíz, foliolos, frutos o meristemo (Soto et., al 2017).

La combinación de esporangios y zoosporas permite a *P. palmivora* adaptarse a diferentes condiciones ambientales y huéspedes, lo que lo convierte en un patógeno formidable en la palmicultura (Mendoza, 2020).

El patógeno *Phytophthora* puede penetrar en la planta hospedera a través de dos métodos de germinación. En la germinación directa, el esporangio germina

directamente en la superficie de la planta y penetra en el tejido del hospedero a través de las aberturas naturales.

En la germinación indirecta, el esporangio libera zoosporas que se enquistan en la superficie de la planta, germinan y desarrollan un apresorio para adherirse a las células de la epidermis, permitiendo al patógeno establecerse y causar infección en la planta (Perrine, 2020).

La PC es la enfermedad más significativa que afecta al sector palmero en Colombia, presente en todas las regiones del país. Entre 2006 y 2010, esta enfermedad causó devastadores efectos, provocando la pérdida de más de 35.000 hectáreas en las zonas Sur-Occidental (Tumaco) y Central. (Martínez et al., 2024).

La PC presenta síntomas variados, influenciados por factores climáticos, del suelo, resistencia genética de la palma y posiblemente por el patógeno involucrado (Moreno-Chacón et al., 2013). Los síntomas externos más frecuentes incluyen pudrición de las flechas, cambios de color como clorosis y amarillamiento, así como alteraciones en la forma y tamaño de las hojas, como moteado, hoja quebrada y hoja pequeña o corta. No hay un patrón específico en la aparición de estos síntomas; pueden manifestarse individualmente o en combinación, sin un orden predeterminado (Fedepalma, 2020).

En los últimos años *P. palmivora* ha tomado relevancia por su capacidad de infectar múltiples especies de plantas. A pesar de que se tienen distintas medidas agronómicas para su manejo, como fungicidas, no siempre resultan económicamente viables para el agricultor (Sarria et al., 2016). Es por ello que su estudio *in vitro* es importante para incrementar las alternativas de manejo y control. Sin embargo, aún hay desconocimiento de su fisiología y mecanismos de infección (Lo presi et al., 2017).

Como medida para facilitar su estudio a nivel de laboratorio en esta propuesta se pretende implementar nuevos medios de cultivos elaborados a partir de frutos y extractos naturales que permitan una mejor y eficiente producción *in vitro* de las estructuras de reproducción como son los esporangios y las zoosporas de *Phytophthora palmivora*.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los oomicetos del género *Phytophthora* comprenden varios de los patógenos que causan mayor afectación en cultivos agrícolas descritos hasta la fecha. Son responsables de enfermedades graves en cientos de especies de plantas, con pérdidas ecológicas y económicas masivas en todo el mundo (Mohamed et al., 2019). Hasta el momento se han descrito 120 especies de *Phytophthora*, se ha demostrado que muchos factores ambientales influyen en el desarrollo de la enfermedad de *Phytophthora*, incluidas las condiciones climáticas, y las características químicas, físicas y biológicas de la planta que pueden interactuar entre sí para inducir la aparición de la enfermedad (Sarker et al., 2020).

P. palmivora, agente causal de la PC, ha generado impactos ambientales y económicos devastadores en la industria palmera de América durante varias décadas, afectando negativamente la producción y la sostenibilidad del sector. La región de América Latina, que incluye países como Colombia, Brasil, Costa Rica, Ecuador, Nicaragua, Panamá, Perú y Surinam, enfrenta un desafío común en la lucha contra PC. Inicialmente, se creía que la pudrición del cogollo era resultado de una combinación de factores bióticos y abióticos, pero ahora se reconoce a *P. palmivora* como el principal causante (Tupaz et al., 2021).

La PC, una enfermedad devastadora para la palma de aceite, ha mostrado patrones variados en Colombia según la región agroecológica. Su historia en el país comenzó en los años sesenta en Urabá, donde afectó 2.500 hectáreas en la plantación de Coldesa. Posteriormente, reapareció en 1988 en la Zona Oriental con características endémicas (Fedepalma, 2016). En los años 2000, la enfermedad se intensificó en Tumaco (2007), afectando más de 30.000 hectáreas. En la Zona

Wilches (2009-2013), impactando más de 40.000 hectáreas. Esta enfermedad ha tenido un impacto significativo en la industria palmera colombiana. (Scovino, 2017).

Actualmente, la PC es el principal obstáculo fitosanitario que enfrenta la industria palmera, afectando negativamente la productividad y la rentabilidad del cultivo, con impactos económicos significativos: pérdidas totales estimadas: \$5.5 billones y pérdidas específicas para los inversionistas: \$2 billones. 70.000 hectáreas de palma de aceite en Tumaco (Nariño), Puerto Wilches (Santander) y Cantagallo (Bolívar) resultando en la pérdida de aproximadamente 15.000 empleos en la zona (FEDEPALMA, 2021).

La industria palmera en Colombia ha sufrido pérdidas significativas debido a la enfermedad causada por *Phytophthora*. En Tumaco, se perdieron el 95% de las 35.256 hectáreas cultivadas, afectando a casi 6.000 empleos. Esta situación se repite en otras regiones como Puerto Wilches, Cantagallo y municipios aledaños. En la zona Central palmera, las pérdidas alcanzan el 80% de las 35.000 hectáreas cultivadas y más de 8.700 empleos han sido afectados. Estas cifras reflejan el impacto devastador de la enfermedad en la economía y la empleabilidad de las comunidades locales (Díaz, 2021).

La infección por *P. palmivora* en palmas jóvenes se manifiesta mediante la formación de clamidosporas y esporangios en el corazón de la planta, causando daño en el tejido meristemático y afectando el crecimiento de nuevas hojas (Gómez et al., 2020).

Por esta razón esta investigación se enfocó en implementar nuevas técnicas metodológicas a partir del uso de nuevos medios de cultivos naturales que permitan una mejor y eficiente producción *in vitro*



UNIVERSIDAD
Popular del Cesar

de las estructuras de reproducción



como son los esporangios y las zoosporas de *P. palmivora* para el estudio microscópico.

JUSTIFICACIÓN

En la actualidad Colombia es el cuarto productor mundial y el primer productor de América de palma de aceite, con cuatro zonas de producción que abarcan 155 municipios de 20 departamentos. Este sector genera más de 7.000 empleos y representa el 17,6% del PIB agrícola nacional, convirtiéndose en un motor fundamental para la economía colombiana y un impulsor del crecimiento económico y social en las regiones productoras (UPRA, 2023). La industria palmera en Colombia es un importante motor de empleo y desarrollo social, generando aproximadamente 146,000 empleos en total, de los cuales 58,000 son directos y 87,000 indirectos, lo que la convierte en uno de los principales sectores impulsores de la economía local y mejorador de la calidad de vida en las zonas palmeras del país (Fedepalma, 2023).

Para alcanzar el máximo rendimiento en cultivos de palma de aceite mantener plantas sanas, proporcionar condiciones óptimas de crecimiento y fomentar la producción de múltiples racimos con alto potencial de aceite. Sin embargo, la PC amenaza este objetivo, convirtiéndose en un problema crítico y letal en varias regiones (Martínez, 2009).

El diagnóstico de laboratorio es crucial para determinar la enfermedad y identificar el agente causal, y los medios de cultivo juegan un papel fundamental en este proceso, permitiendo el aislamiento y cultivo de microorganismos patógenos para una identificación precisa. Esto permite confirmar el diagnóstico, establecer un tratamiento efectivo y desarrollar estrategias de control y prevención (Vásquez, 2022).

Debido a las grandes pérdidas en la producción de Palma de Aceite se deriva de un problema fitosanitario de grandes proporciones y que además su estudio *in vitro* ha sido complicado por la complejidad de su ciclo de vida y así mismo evidenciar las estructuras microscópicas; esta investigación propone aportar en el desarrollo de nuevas metodologías de estudios que permitan evaluar el uso de diferentes tipos de medios de cultivos para producir, mejorar y evidenciar las estructuras microscópicas especialmente la liberación de zoosporas de *P.palmivora* y así tener una mayor precisión en las medidas fitosanitarias tomadas para el tratamiento de esta enfermedad; las cuales ha sido de mucha complejidad para los laboratorios de las empresas productoras de palma de aceite.

OBJETIVOS

Objetivo General

Evaluar medios de cultivo naturales para la producción de esporangios y la liberación de zoosporas de *Phytophthora palmivora* causante de la pudrición del cogollo o (pc) en cultivos de palmas de aceite

Objetivos específicos

- ✓ Evaluar medios de cultivo naturales compuestos de frutos y extractos naturales para la producción *in vitro* de esporangios y liberación de zoosporas.
- ✓ Comparar el diámetro de crecimiento y la cantidad de estructuras de reproducción en tres cepas de *P. palmivora*.
- ✓ Establecer un medio de cultivo natural para conservación del inóculo de *P. palmivora* a lo largo del tiempo.

Diseño metodológico

Activación de cepas *P. palmivora* conservadas en agua destilada estéril.

Se tomaron 3 discos de cada una tres cepas de *P. palmivora*, PCZC145, PCZC137 y PCTU95 (Laboratorio de Microbiología de Cenipalma en el Campo Experimental Palmar de la Vizcaína, conservadas en agua estéril y posteriormente sembradas en agar V8 clarificado hasta obtener su crecimiento óptimo.

Preparación de Cámaras Húmedas

Se tomó un recipiente limpio herméticamente sellado, dentro del recipiente se colocó una toalla de papel scott estéril, posteriormente este material se humedeció con agua destilada estéril y encima de este material ubicado en el fondo del recipiente se colocó una caja de Petri estéril.

Activación del aislado de *P.palmivora* en fruto de pera.

Los métodos empleados para activar y recuperar *P palmivora* en frutos de peras fue basado en el Protocolo Operativo Estandarizado del Laboratorio de Microbiología de Cenipalma. Se utilizaron 3 frutos de pera (*Pyrus communis*) como trampas para la inoculación de las tres cepas de *P palmivora*.

- **Desinfección del fruto**

Se lavó minuciosamente, restregando todas las nervaduras del fruto con Tego al 2% luego se retiró con agua destilada estéril los restos del Tego. Posteriormente se

flameó el fruto tres veces por el lado del pedúnculo en una bandeja de aluminio con alcohol al 96%. Seguido en la cabina de flujo laminar en condiciones estériles se sumergió la pera en una solución de hipoclorito al 3% durante 20 minutos. Pasado este tiempo, se sumergió el fruto en agua destilada estéril quitando el exceso de hipoclorito por 15 minutos.

Se realizó otro enjuague a la pera con agua destilada estéril por 15 minutos. Posteriormente con el uso de pinzas estériles se depositó el fruto en servilletas estériles con el fin de secarlo sin tocar la pera.

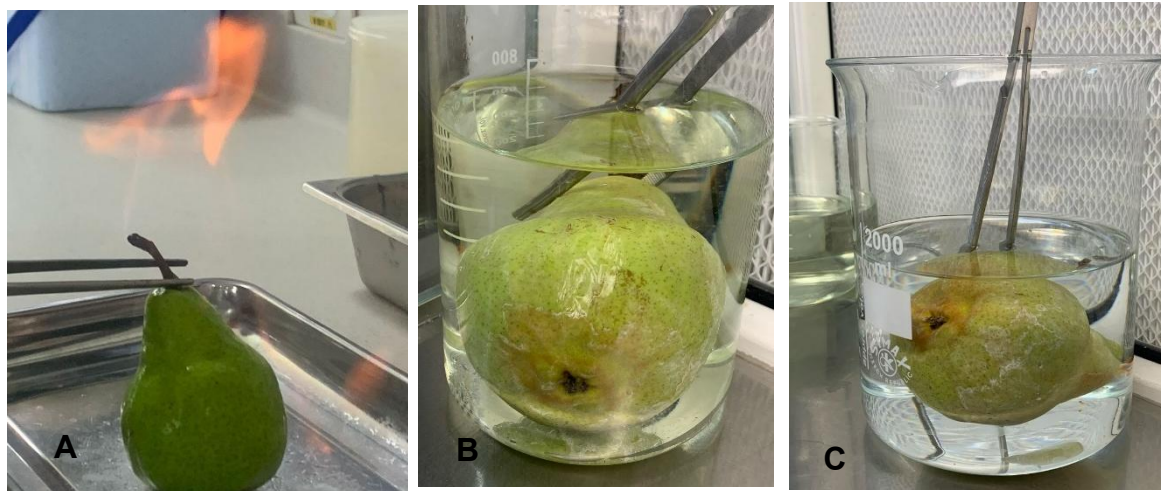


Figura 3. Proceso de desinfección de fruto. (A) Flameo del fruto con alcohol al 96%. **(B)** Fruto en hipoclorito al 3% **(C)** Fruto en agua destilada estéril.

- **Inoculación de *P. palmivora* en fruto de pera**

Una vez realizada la desinfección del fruto, se realizó un corte en forma de triángulo en la pera, dentro de este corte se introdujo un disco o dos de *P. palmivora*, se tapó el orificio con el triángulo antes removido. Se colocó la pera dentro de la cámara húmeda con ayuda de unas pinzas largas estériles, se tapó y dejó incubando a 24°C durante aproximadamente 4 a 5 días, con fotoperiodo 12 horas luz 12 horas oscuridad. Posteriormente se observó el avance o infección de *P. palmivora* sobre el fruto y se recuperó en los medios de cultivos naturales seleccionados.

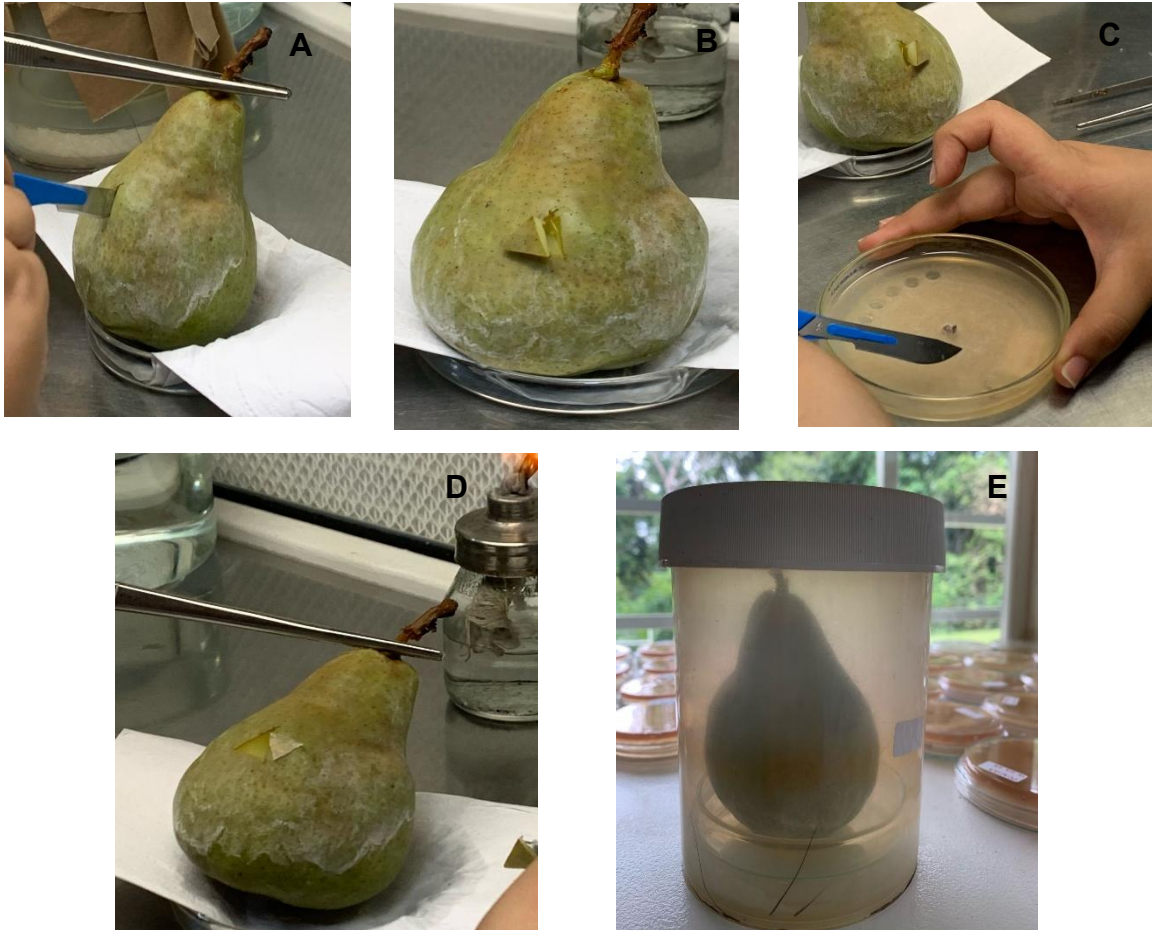


Figura 4. Proceso de inoculación de *P. palmivora* en pera. (A) Corte triangular al fruto. **(B)** Corte realizado **(C)** Corte del disco de la cepa cultivada en V8 clarificado **(D)** Pera inoculadas con el disco. **(E)** Pera inoculada en cámara húmeda.

Preparación de medios de cultivos naturales utilizados para la producción de esporangios y liberación de zoosporas de *P. palmivora*.

En el desarrollo de la presente investigación se prepararon cuatro medios de cultivos naturales para la producción de esporangios y liberación de zoosporas de las tres cepas *PCZC145*, *PCZC137* y *PCTU95* de *P. palmivora*.

MEDIOS DE CULTIVOS NATURALES PREPARADOS		
MEDIO ARVEJA	Para preparar 1000 ml de caldo de arveja, pesar 120 g de arveja congelada, añadir 800ml de agua destilada y poner en la plancha a calentar. Posteriormente, filtrar, añadir la sacarosa 5g, 15 g de agar y aforar a un litro con agua destilada.	Cálculos para 200ml Arveja: 24gr B-sitosterol: 0,01gr Sacarosa: 1gr Agar: 3gr
MEDIO COGOLLO	Para preparar 1000ml de medio cogollo, se pesa 200g de cogollo y se licua con agua destilada. Esta mezcla homogénea se distribuye en frascos de centrífuga de 250ml de manera equitativa. Se lleva centrifugar a 4000 rpm a 20 minutos. Se recupera el sobrenadante. Se reparte en 4 enlermeyer y se adiciona 3,7 g de agar a cada uno.	Cogollo: 40gr B-sitosterol: 0,01gr Agar: 3gr
MEDIO V8 SIN CLARIIFICAR	Para preparar 1000 ml de caldo V8, agregar 252,85ml de jugo V8, 3,57gr CaCO ₃ , mezclar en planta con agitación magnética. Adicionar 0,05gr de B- sitosterol y 15 gr de agar, completar el volumen.	Jugo v8: 50,57ml CaCO ₃ ; 0,71gr B-sitosterol: 0,01gr Agar: 3gr

<p>MEDIO V8 CLARIFICADO</p>	<p>Para preparar 1000 ml de caldo V8, agregar 252,85ml de jugo V8, 3,57gr CaCO₃, mezclar en planta con agitación magnética. Centrifugar a 4000 rpm por 20 minutos. Tomar el sobrenadante y completar el volumen. Adicionar 0,05gr de B- sitosterol y 15 gr de agar.</p>	<p>Jugo v8: 50,57ml CaCO₃; 0,71gr B-sitosterol: 0,01gr Agar: 3gr</p>
--	--	---

Tabla 2. Preparación de medios de cultivo para el aislamiento de *P. palmivora*.

Todos los medios se esterilizaron en autoclave a 121°C y 15 libras de presión durante 30 minutos y posteriormente se sirvieron en cajas de Petri (60 x 15 mm).

Antibióticos

Una vez autoclavados todos los medios. Se espero alcanzar una temperatura de 45 °C y se añadieron los siguientes antibióticos:

- Carbenicilina 100mg/ml
- Vancomicina 25mg/ml
- Cefotaxima a 200mg/ml

Para este estudio se tomaron dos cajas por cada medio de cultivo natural para cada una de las tres cepas evaluadas, seguido se sembraron en el centro de las placas de petri, discos de 10 mm de diámetro de la cepa de *P. palmivora* activada en el fruto.

Se incubaron 24°C y se revisaron diariamente midiendo el diámetro del crecimiento de la colonia durante ocho días. Seguido se describieron las características macroscópicas y microscópicas de cada colonia presente en los medios de cultivo naturales. Se realizaron preparaciones y montajes en microscopio óptico y de fluorescencia para observar las estructuras.

Producción de esporangios y liberación de zoosporas

Se realizaron experimentos de inoculación con *P. palmivora* en 3 cepas diferentes. Para cada cepa, se seleccionaron 2 cajas y se inoculó un disco de 10mm de diámetro con micelio de 5-8 días de cultivo en crecimiento del fruto. Luego, las placas se incubaron a 24°C en oscuridad y se midió el crecimiento radial cada 48 horas durante 8 días, iniciando 48 horas después de la inoculación, utilizando una regla graduada para registrar los resultados.

Se realizó el conteo de zoosporas en todas las réplicas cuando el micelio alcanzó el borde de la placa. Para ello, se siguieron los siguientes pasos:

1. Se adicionaron 5 ml de agua destilada esterilizada fría por placa.
2. Se maceró suavemente la colonia con espátula de Drygalski sin destruir el agar por 1 minuto.
3. Las placas se incubaron a -20°C durante 25 minutos y luego se aplicó un choque térmico a 37°C durante 25 minutos en luz artificial constante para liberar las zoosporas.
4. El conteo de la suspensión de esporas se realizó en cámara de Neubauer.

En este proceso se realizó a los 8 días del cultivo, permitiendo evaluar la producción de zoosporas en cada tratamiento.

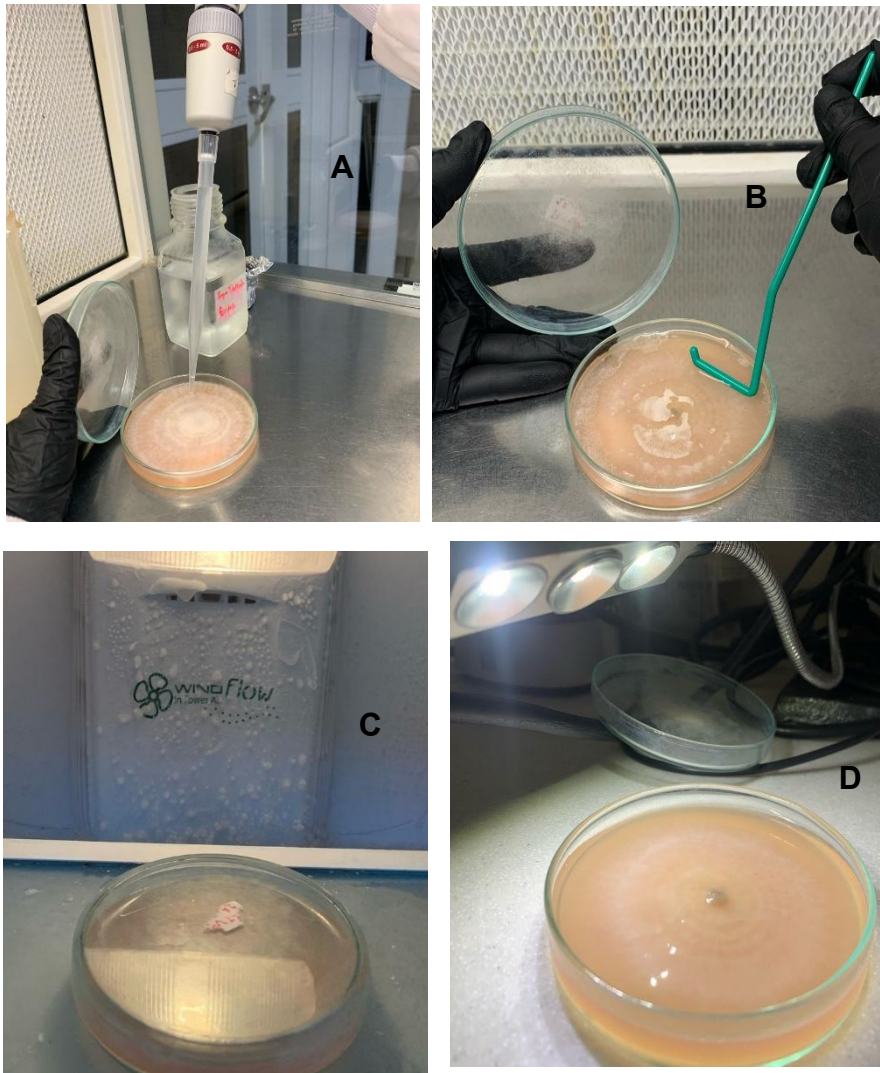


Figura 5. Proceso de producción y liberación de zoosporas. (A) Adición de 5ml de agua destilada estéril frío **(B)** Maceración de la cepa **(C)** Incubación a -20°C. **(D)** Incubación de la cepa en luz artificial.

Análisis Estadístico

Los datos obtenidos fueron analizados mediante análisis de varianza (**ANOVA**) para determinar diferencias significativas entre los tratamientos. En caso de diferencias significativas, se aplicó la prueba de Tukey (**p < 0.05**) para comparar los valores obtenidos en cada medio de cultivo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Patogenicidad de los aislamientos de *P. palmivora* en fruto de peras inoculados.

El crecimiento radial de los aislamientos confirmó su patogenicidad a los tres días posteriores a la inoculación. En los frutos de pera inoculados se registraron cambios característicos como la aparición de copos o montículos, cambio de color a café oscuro, consistencia acuosa y rápida descomposición del tejido alrededor del sitio de inoculación, lo que indica la capacidad del patógeno para infectar y dañar los frutos (Figura 6).

Estos resultados coinciden con los hallazgos de Decloquement et al. (2018), quien reportó que los aislados de *Phytophthora sp.* y *P. palmivora* demostraron patogenicidad entre dos y siete días después de la inoculación, lo que sugiere una rápida capacidad de infección y desarrollo de la enfermedad en los tejidos vegetales. En el estudio realizados por Miyake et al. (2018) encontró que la infección se puede presentar en cortos periodos de tiempo (desde 2 horas) y en cualquier etapa de madurez del fruto, especialmente entre 20–30 °C. Estos datos son útiles para desarrollar modelos predictivos y estrategias de control. La comparación con estos estudios confirma la agresividad de *P. palmivora* en frutos.

Es importante destacar que la capacidad de *P. palmivora* para infectar frutos de pera podría depender de factores como la madurez del fruto, las condiciones ambientales y la presencia de heridas o aperturas naturales que faciliten la entrada del patógeno. Además, la variabilidad en la respuesta de diferentes frutos a la inoculación con *P. palmivora* subraya la necesidad de estudios adicionales para determinar los mecanismos específicos de infección y las posibles estrategias de manejo para prevenir la propagación del patógeno en cultivos susceptibles.

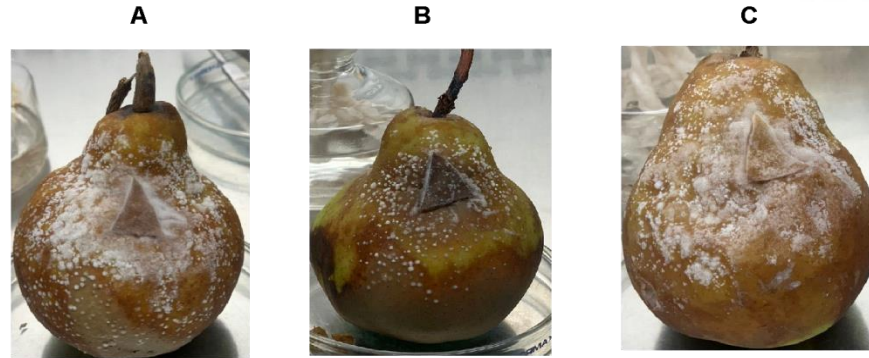


Figura 6. Frutos inoculados con *Phytophthora palmivora* mostrando áreas de colonización alrededor de las zonas de inoculación de forma triangular. a. Pera inoculada con PCZC145 b. Pera inoculada con PCZC137 y c. Pera inoculada con PCTU95.

Características macroscópicas y microscópicas en *P. palmivora* en los diferentes medios de cultivo.

El micelio de *P. palmivora*, obtuvo su mayor desarrollo en el medio de cultivo V8 sin clarificar con crecimiento estriado en estrella de color blanco. El medio V8 control el micelio se desarrolló en forma de estrella ligeramente levantado 8 días después de la siembra. Por otra parte, en el medio Arveja se observó un crecimiento pegado a la placa, un poco algodonoso e irregular, sin embargo, su crecimiento fue mucho más lento y no alcanzó la totalidad de la placa en comparación con los demás medios seleccionados. El medio cogollo presentó un crecimiento aéreo, algodonoso muy abundante e irregular. En todos los casos el crecimiento micelial de *P. palmivora* fue delicado y de consistencia algodonosa, sin importar la presencia de antibióticos.

El agar V8, preparado a partir de jugo vegetal (generalmente jugo de tomate o vegetales mixtos), ha mostrado ser eficaz para el crecimiento y esporulación de diversas especies de *Phytophthora*. En un estudio de González-Peña Fundora et al. (2014), se observó que medios con base de V8 favorecieron un crecimiento vigoroso del micelio y alta producción de esporangios y clamidosporas. Estos resultados sugieren que el V8, por su contenido nutricional equilibrado, proporciona condiciones

óptimas para la esporulación, siendo especialmente útil en estudios de patogenicidad e inoculación.

En cuanto al agar de cogollo y el agar de arveja, la literatura reciente no reporta ampliamente su uso en el cultivo de *P. palmivora*. Sin embargo, en investigaciones prácticas desarrolladas en condiciones tropicales, como las realizadas por Martínez et al. (2010), se ha explorado el uso de medios alternativos elaborados a partir de tejidos vegetales locales (incluidos cogollos de palma y otras partes de plantas como arveja).

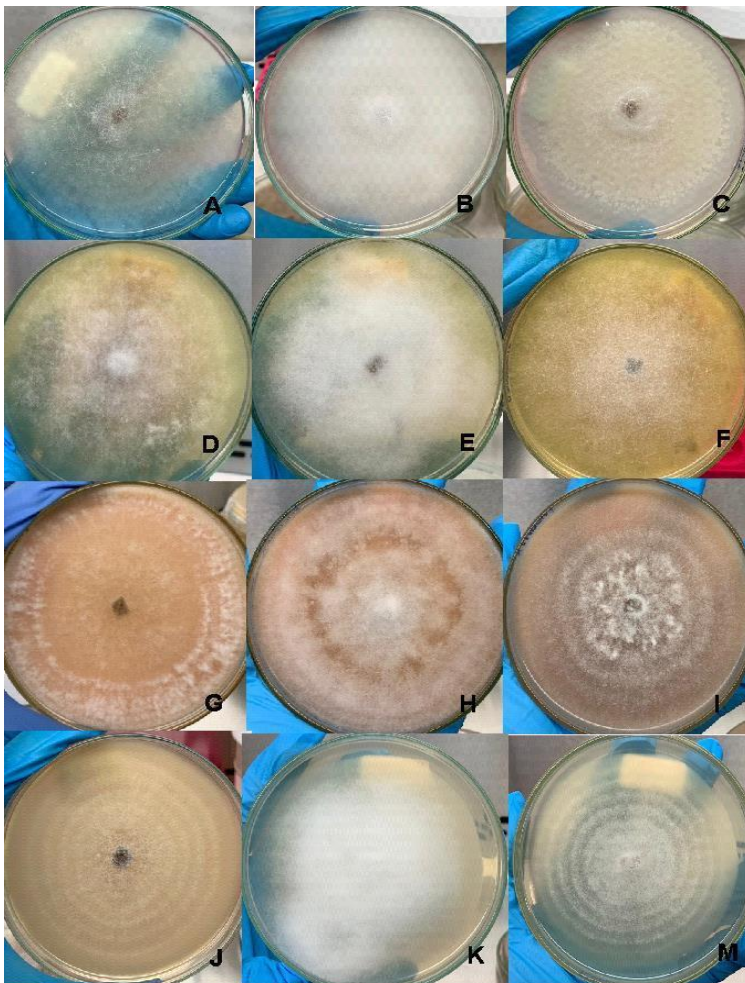


Figura 7. Crecimiento y desarrollo de *Phytophthora palmivora* en diferentes medios: a Medio arveja PCZC145 + antibióticos; b. Medio arveja PCZC137 + antibiótico; c. Medio arveja PCTU95 + antibióticos; d Medio cogollo PCZC145 +antibióticos; e Medio cogollo PCZC137 + antibióticos; f Medio cogollo PCTU95+ antibióticos; g Medio V8 sin clarificar PCZC145 + antibióticos; h Medio V8 sin clarificar PCZC137 + antibióticos; i Medio V8 sin clarificar PCTU95 + antibióticos; j Medio V8 control PCZC145 + antibióticos; k Medio V8 control PCZC137 + antibióticos; m Medio V8 control PCTU95 + antibióticos.

Un estudio en Hawái evaluó el crecimiento de 10 aislamientos de *P. palmivora* a temperaturas entre 10 °C y 35 °C. Se observó que la temperatura influye significativamente en el crecimiento radial de las colonias, siendo óptimo a temperaturas específicas.

Los resultados obtenidos microscópicamente muestran que los esporangios de *P. palmivora* cultivados en diferentes medios y frutos presentan características morfológicas similares, típicas de la especie. Los esporangios observados fueron de forma ovoides, esféricos y elipsoides, caducos y papilados, con pedicelo corto, y estaban acompañados de clamidosporas terminales e intercalares. Esta similitud en la morfología sugiere que la cepa es homogénea y está bien adaptada a las condiciones de crecimiento utilizadas, Rodrigo et al. (2020) presento estructuras similares con esporangios papilados, con pedicelos cortos, caducos y ovoides, originados en esporangióforos ramificados, oosporas pleróticas, mostrando el 100% de identidad para *P. palmivora*.

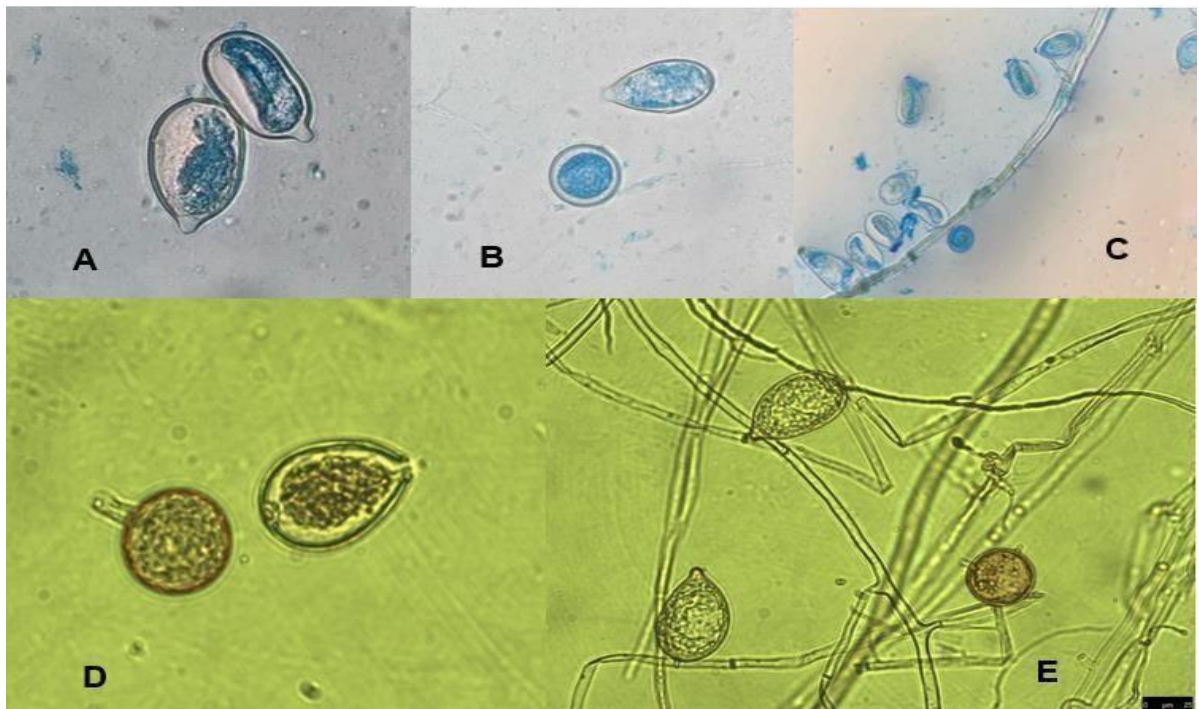


Figura 8. Estructura de *P. palmivora* observadas en un lente objetivo de 40X a partir del crecimiento del patógeno en frutos inoculados. (A). Tinción de azul de lactofenol de esporangios papilados, elipsoides con pedicelo corto, característicos de *Phytophthora palmivora*. **(B).** Tinción de azul de lactofenol de esporangios y clamidospora de *P. palmivora*. **(C).** Tinción de azul de lactofenol de zoosporas, clamidospora y micelio de *P. palmivora*. **(D) y (E)** Tinción con yoduro de propidio de esporangios y clamidosporas

Evaluación del diámetro de crecimiento de los aislamientos de *P. palmivora* en los diferentes medios de cultivo.

El diámetro de colonización varió significativamente según el medio de cultivo. Los tratamientos en el medio V8 sin clarificar mostraron los mayores diámetros de crecimiento, mientras que el medio de arveja presentó los menores valores. El análisis de varianza (ANOVA) indicó diferencias significativas entre los tratamientos, sugiriendo que el medio de cultivo influye directamente en el crecimiento del patógeno.

La elección del medio de cultivo es crucial para el desarrollo óptimo de *P. palmivora*. Estudios han demostrado que medios ricos en nutrientes, como el V8, favorecen un crecimiento más vigoroso del micelio y una mayor esporulación.

Por otro lado, medios con menor contenido nutricional pueden limitar el desarrollo del patógeno, lo que es relevante para estudios de control y manejo de la enfermedad.

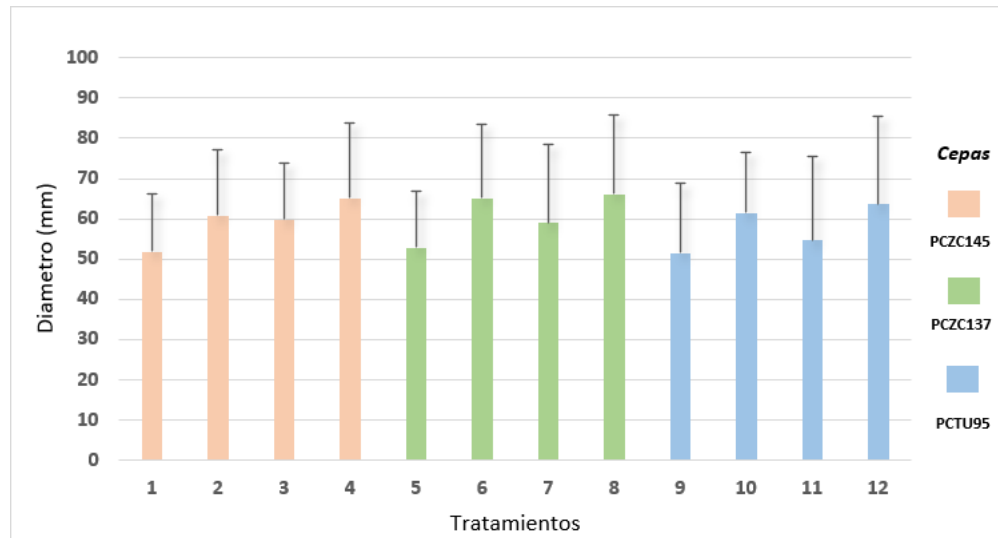


Figura 9. Diámetro de colonización de cada una de las cepas evaluadas de acuerdo con los diferentes tratamientos.

Tratamientos	Tipo de medio	Cepa	Media	D.E	Mín	Máx
T1	Medio Arveja	PCZC145	51,83	±14,4	28,35	73,13
T2	Medio Cogollo	PCZC145	60,74	±16,57	30	85
T3	Medio V8 Clarificado	PCZC145	59,82	±14,14	28,59	87,9
T4	Medio V8 Sin Clarificar	PCZC145	65,04	±18,86	33,48	87,14
T5	Medio Arveja	PCZC137	52,82	±14,14	22,94	76,98
T6	Medio Cogollo	PCZC137	65,09	±18,51	24,2	84,87
T7	Medio V8 Clarificado	PCZC137	59,02	±19,39	25,51	89,43
T8	Medio V8 Sin Clarificar	PCZC137	66,18	±19,62	31,02	87,46
T9	Medio Arveja	PCTU95	51,42	±17,49	27,21	80,78
T10	Medio Cogollo	PCTU95	61,39	±15,18	35,77	83,7
T11	Medio V8 Clarificado	PCTU95	54,56	±20,89	22,52	85,35
T12	Medio V8 Sin Clarificar	PCTU95	63,59	±21,98	28,63	90

Tabla 3. Análisis de varianza. Diámetro de colonización de cada una de las cepas evaluadas de acuerdo con los diferentes tratamientos.

Evaluación del diámetro de colonización en función de la cepa de *P. palmivora*.

En la figura 10, se puede observar que una vez pasados los 8 días de incubación la cepa de PCZC137 presentó el mayor diámetro de colonización en los medios de



mm, seguido de la cepa PCZC145 con una media de 59,36 mm y la cepa PCTU95 presentó el menor promedio en el diámetro de colonización de la cepa con 57,40 mm.

Mediante el análisis de varianzas (ANOVA), se presentó que para el factor de la cepa presentó un *p-value* de 0.254, lo que indica que no hay una diferencia significativa entre las cepas en términos del diámetro.

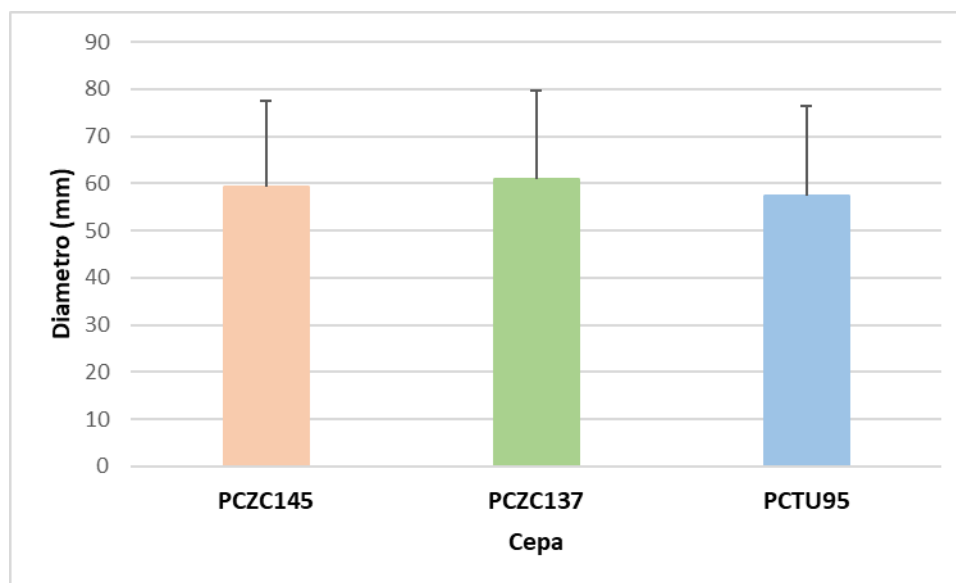


Figura 10. Diámetro de colonización de las cepas PCZC145, PCZC137 y PCTU95, en diferentes medios de cultivo.

Cepa	Media	D.E	Mín	Máx
PCZC145	59,36	±18,11	28,35	87,9
PCZC137	60,87	±18,75	22,94	89,43
PCTU95	57,4	±19,02	22,52	87,18

Tabla 4. Análisis de varianza. Diámetro de colonización de cada una de las cepas.

Evaluación del diámetro de colonización en función del tipo de medio.

El crecimiento de *P.palmivora* en diferentes medios de cultivo varió significativamente, con diferencias en los patrones culturales según la composición del medio. Los aislados provenientes de la Zona Central y Oriental mostraron un comportamiento similar en los distintos medios evaluados. En los medios AA y AC, predominó un patrón cultural esponjoso, mientras que en V8 sin clarificar y V8 clarificado, los aislados presentaron un patrón estriado. Sin embargo, la cepa PCZC137 exhibió un patrón algodonoso en todos los medios, lo que concuerda con lo reportado para *Phytophthora spp.* por Vélez et al. (2008).

Aislamientos	Patrón cultural			
	AA	AC	AVSIN CLARI	V8 CLARI
PCZC145	Esponjoso	Esponjoso	Estriado	Estriado
PCZC137	Esponjoso	Esponjoso	Estriado	Estriado
PCTU95	Esponjoso	Esponjoso	Estriado	Estriado

Tabla 5. Patrones culturales de los aislados estudiados en los diferentes medios de cultivo utilizados.

El análisis estadístico mediante ANOVA mostró que el medio de cultivo influye significativamente en el crecimiento del patógeno, con un p-value de 3.47e-07, lo que indica diferencias significativas en la morfología y el diámetro de colonización de los aislados. La prueba de Tukey reveló diferencias marcadas entre algunos medios, destacando que el medio de cogollo y el medio de arveja presentaron una diferencia significativa en el crecimiento micelial (10,33 mm), con valores de 62,41 mm en cogollo y 52,03 mm en arveja.

Entre los medios V8 clarificado y arveja, se encontró otra diferencia significativa (p-value = 0.0652), con un promedio de crecimiento de 57,8 mm en V8 clarificado y 52,03 mm en arveja. La mayor diferencia se evidenció entre V8 sin clarificar y arveja,



con un p-value de 0.0000007 y un

crecimiento promedio de 64,56 mm en V8 sin clarificar contra 52,03 mm en arveja. Estas diferencias sugieren que el medio V8 sin clarificar es el más adecuado para el crecimiento de *P. palmivora*, promoviendo no solo un mayor desarrollo micelial, sino también una alta esporulación, observada como un incremento en la cantidad de esporangios y estructuras reproductivas.

Estos hallazgos coinciden con estudios previos que han evaluado el crecimiento de *Phytophthora spp.* en distintos medios de cultivo. Iribarren (2015) y Sánchez-Gurrola et al. (2019) reportaron que *P. capsici* en agar V8 presentó tres patrones de crecimiento: estrellado, petaloide y radial, mientras que Appiah et al. (2003) describió que *P. palmivora* crece con un patrón estrellado en agar V8. Esto sugiere que la morfología del crecimiento puede estar influenciada tanto por la especie del patógeno como por el medio de cultivo empleado.

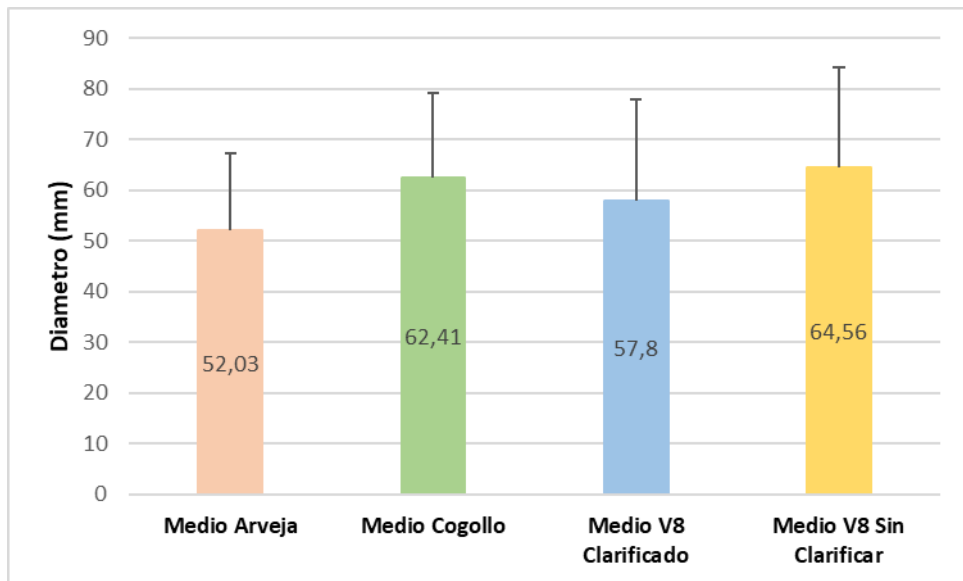


Figura 11. Diámetro de colonización en función del tipo de medio.

Tipo de Medio	Media	D.E	Min	Máx
Medio Arveja	52,03	±15,3	22,94	80,78
Medio Cogollo	62,41	±16,78	24,2	85
Medio V8 Clarificado	57,8	±20,12	22,52	89,43
Medio V8 Sin Clarificar	64,56	±19,64	28,63	87,69

Tabla 6. Análisis de varianza. Diámetro de colonización en función del tipo de medio al octavo día de su inoculación.

Evaluación de las tres cepas de *P. palmivora* con respecto a la liberación de zoosporas.

El análisis de varianza indicó diferencias significativas en la producción de zoosporas entre cepas. La cepa PCZC145 mostró la mayor capacidad de liberación, alcanzando 3.042.875 zoosporas/mL al octavo día posterior a la inoculación.

La alta producción de zoosporas está asociada con una mayor agresividad del patógeno. Las zoosporas, al ser esporas móviles, pueden nadar hacia los tejidos de la planta y facilitar la infección. Además, condiciones ambientales favorables, como alta humedad y temperaturas cálidas, pueden incrementar la producción y movilidad de las zoosporas, aumentando el riesgo de infección en cultivos susceptibles.

Investigaciones han demostrado que el tipo de medio de cultivo afecta significativamente la producción de zoosporas en *P. palmivora*. (Pistininzi et al., 2014) demostró que la mayoría de las especies y aislados produjeron más zoosporas con caldo V8 clarificado al 20% que los otros tres medios: centeno, frijol de Lima y zanahoria. La temperatura óptima para la producción de zoosporas en cultivos privados de nutrientes y sin agua que fluya libremente suele ser 5 °C inferior a la del crecimiento vegetativo. Los cultivos frescos y reanimados son más prolíficos que aquellos que se han subcultivado varias veces. Estos hallazgos ayudarán a los investigadores de oomicetos, aportando calidad, productividad y eficiencia a sus futuros estudios basados en zoosporas.

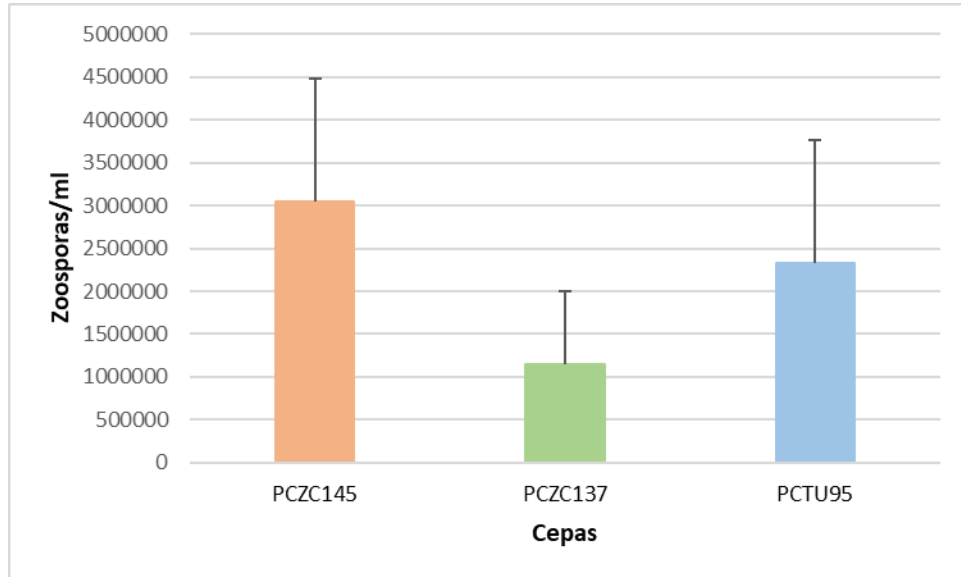


Figura 12. Evaluación de las tres cepas de *P palmivora* con respecto a la producción de zoosporas.

Cepa	Media	D.E	Mín	Máx
PCZC145	3042875,05	±1432637,09	1	8775000
PCZC137	1150312,65	±852008,14	1	2800000
PCTU95	2336000,03	±1431637,09	1	6800000

Tabla 7. Análisis de varianza. Evaluación de las tres cepas de *P palmivora* en relación a la producción de zoosporas.

Evaluación de las tres cepas de *P palmivora* con respecto a la producción de esporangios.

Respecto a la producción de esporangios, la cepa PCZC145 también superó a las demás, con 545.462 esporangios/mL, en comparación con los 239.017 esporangios/mL de la cepa PCZC137. El ANOVA indicó diferencias significativas entre las cepas, lo que fue corroborado por la prueba de Tukey.

Los esporangios son estructuras clave en el ciclo de vida de *P. palmivora*, ya que producen y liberan zoosporas en presencia de agua. La capacidad de una cepa para producir una mayor cantidad de esporangios puede estar relacionada con su potencial

epidémico, especialmente en ambientes húmedos donde la dispersión del patógeno es favorecida.

El estudio sobre la dispersión aérea de *P. palmivora* en palma de aceite destaca la influencia de la humedad y la precipitación en la propagación del patógeno. Gonzales, (2023) nos indica que la detección de esporangios en el aire mediante capturadores Burkard refuerza la importancia del monitoreo ambiental para prevenir brotes y optimizar estrategias de manejo.

Los hallazgos subrayan la necesidad de medidas preventivas como la eliminación de material infectado y la aplicación oportuna de fungicidas. Sin embargo, futuras investigaciones podrían evaluar la viabilidad de los esporangios capturados y su relación con la incidencia real de la enfermedad en campo.

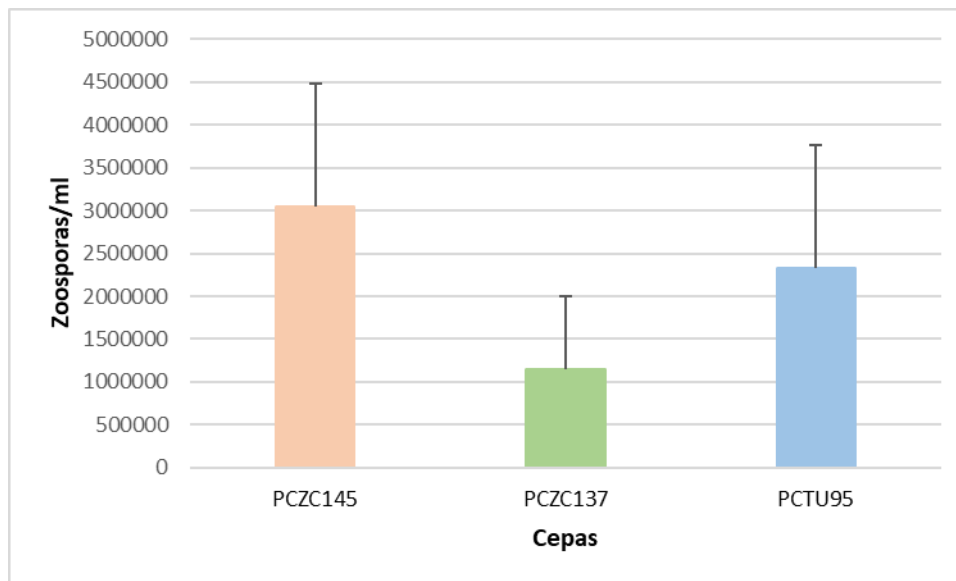


Figura 13. Evaluación de las tres cepas de *P. palmivora* con respecto a la producción de esporangios.

Cepa	Media	D.E	Mín	Máx
PCZC145	545462,96	±634661,49	10000	2775000
PCZC137	239017,86	±299250,10	5000	1150000
PCTU95	363571,43	±338152,95	22500	1375000

Tabla 8. Análisis de varianza. Evaluación de las tres cepas de *P. palmivora* en relación a la producción de esporangios.

Evaluación de los tratamientos con respecto a la producción de zoosporas.

La liberación de zoosporas en *Phytophthora palmivora* es un proceso clave en la dinámica de infección de este oomiceto, ya que las zoosporas son las estructuras encargadas de la diseminación y penetración en los tejidos del hospedero. Diversos estudios han evaluado los factores que influyen en este proceso, destacando la importancia del medio de cultivo, la temperatura y otras condiciones ambientales.

El análisis de varianza (ANOVA) confirmó que la producción de zoosporas varía significativamente entre tratamientos ($p\text{-value} = 6.33e-13$). Los tratamientos T3, T4 y T12 mostraron la mayor esporulación (promedio de 4.020.000 zoosporas/mL), mientras que los tratamientos T1, T5 y T6 presentaron valores considerablemente menores (500.000 - 1.484.000 zoosporas/mL).

El tratamiento T6 y T4 exhibieron una diferencia altamente significativa ($p\text{-value} = 0.0000000$), con T4 alcanzando hasta 5.085.000 zoosporas/mL, lo que indica que ciertos medios favorecen notablemente la producción de zoosporas. Asimismo, la comparación entre T12 y T1 evidenció diferencias significativas ($p\text{-value} = 0.0040384$), lo que sugiere que los medios de cultivo juegan un papel crucial en la esporulación del patógeno.

En estudios previos, se ha determinado que el tipo de medio de cultivo influye directamente en la esporulación y la producción de zoosporas. Por ejemplo, un estudio realizado por González-Peña Fundora et al. (2014) demostró que los caldos a base de zanahoria y V8 favorecen significativamente la producción de zoosporas en *P. palmivora*, con concentraciones que alcanzan hasta 6.4×10^5 zoosporas/ml. Esto se debe a la composición nutricional de estos medios, que facilitan la diferenciación de esporangios y la liberación de zoosporas.

Además, la temperatura es un factor determinante en la liberación de zoosporas. Según Ávila Méndez et al. (2018), el enfriamiento de las muestras a 4°C seguido de un rápido incremento de temperatura hasta 25–28°C induce la liberación sincrónica de zoosporas en *P. palmivora*. Este fenómeno sugiere que los cambios bruscos de temperatura pueden simular condiciones ambientales naturales, como la presencia de lluvia o el rocío, que favorecen la diseminación de este patógeno en el campo.

Por otro lado, se ha observado que la calidad del agua utilizada en el medio también influye en la esporulación. Rodríguez Polanco et al. (2021) indicaron que la liberación de zoosporas es mayor en soluciones de agua destilada que en agua de grifo, lo que puede estar relacionado con la presencia de iones o compuestos inhibitorios en el agua no tratada.

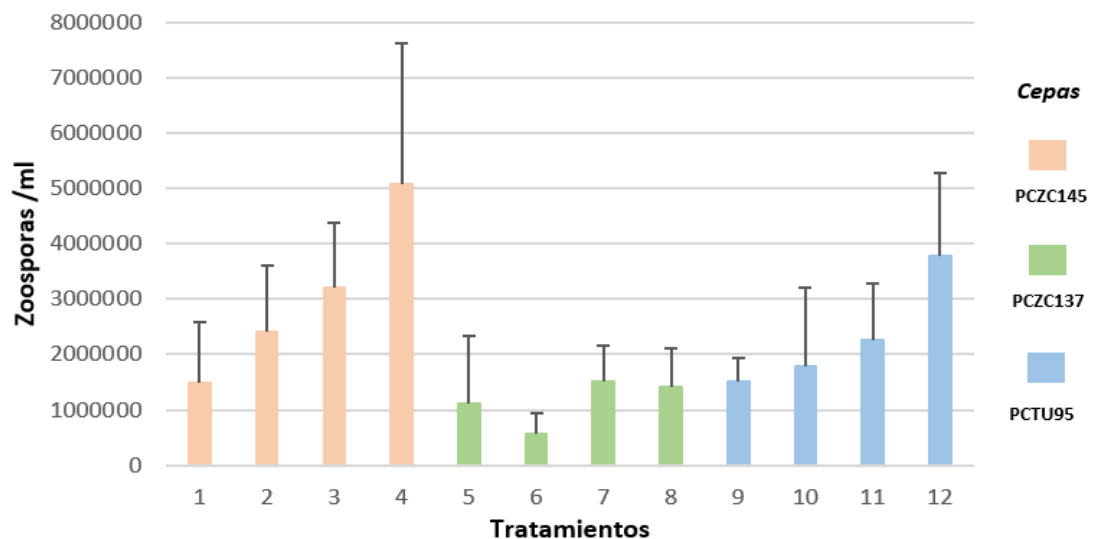


Figura 14. Evaluación cada uno de los tratamientos con respecto a la producción de zoosporas.

Tratamientos	Tipo de medio	Cepa	Media	D.E	Min	Máx
T1	Medio Arveja	PCZC145	1484000,20	±1106020,60	1	2875000
T2	Medio Cogollo	PCZC145	2402500	±1211085,95	900000	4000000
T3	Medio V8 Clarificado	PCZC145	3200000	±1173551,12	1675000	4750000
T4	Medio V8 Sin Clarificar	PCZC145	5085000	±2530650,99	1375000	8775000
T5	Medio Arveja	PCZC137	1120000,50	±1221155,59	1	2800000
T6	Medio Cogollo	PCZC137	569000	±363410,16	115000	1000000
T7	Medio V8 Clarificado	PCZC137	1502500	±660761,35	837500	2800000
T8	Medio V8 Sin Clarificar	PCZC137	1409750,10	±704742,10	1	2220000
T9	Medio Arveja	PCTU95	1517500	±411982,00	1100000	2400000
T10	Medio Cogollo	PCTU95	1791000,10	±1413100,86	1	4250000
T11	Medio V8 Clarificado	PCTU95	2260000	±1030924,61	1075000	4300000
T12	Medio V8 Sin Clarificar	PCTU95	3775500	±1506293,19	1950000	6800000

Tabla 10. Análisis de varianza. Evaluación cada uno de los tratamientos con respecto a la producción de zoosporas

Evaluación de los tratamientos con respecto a la producción esporangios.

El análisis de varianza (ANOVA) indicó que no hubo diferencias significativas entre los tratamientos en cuanto a la producción de esporangios, ya que el p-value (0.195) fue mayor que 0.05, lo que sugiere que los tratamientos aplicados no influyeron de manera significativa en esta variable.

Estudios previos han demostrado que la efectividad de infección de *Phytophthora* varía según la estructura utilizada. Widmer (2009) señaló que la germinación directa de esporangios es menos efectiva para causar necrosis en comparación con la infección mediada por zoosporas. No obstante, Ko y Chan (1974) encontraron que un esporangio de *P. palmivora* podía ser más efectivo que las 16 zoosporas que libera al infectar plántulas de papaya.

Estos hallazgos refuerzan la importancia de comprender los mecanismos de infección y dispersión del patógeno, ya que tanto las zoosporas como los esporangios desempeñan un papel clave en la epidemiología de la enfermedad, dependiendo del hospedero y las condiciones ambientales.

Figura 15. Evaluación cada uno de los tratamientos con respecto a la producción de esporangios

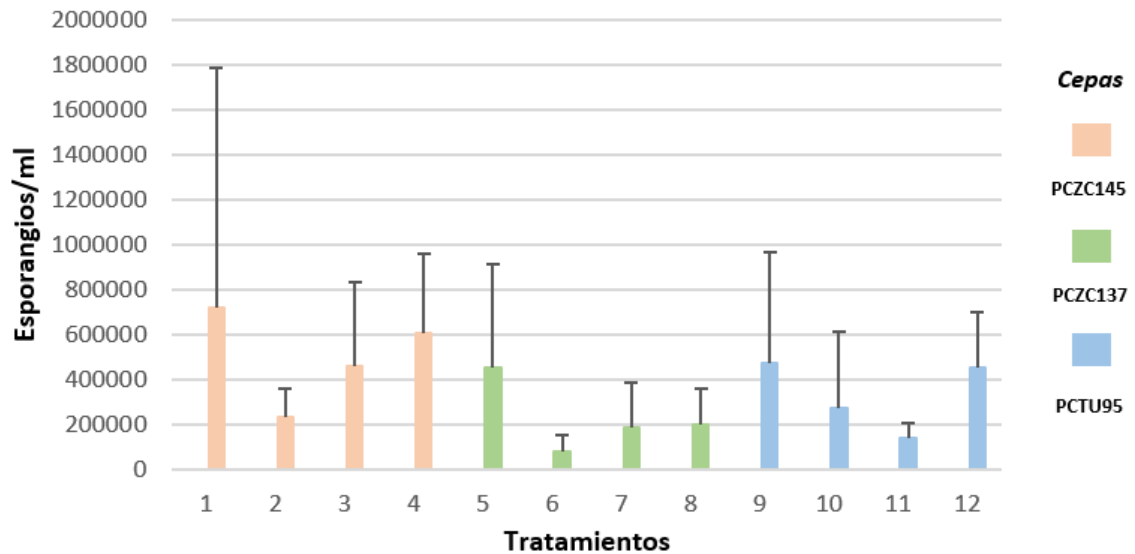


Tabla 13. Prueba de Tukey. Evaluación cada uno de los tratamientos con respecto a la producción de esporangios.

Tratamientos	Tipo de medio	Cepa	Media	D.E	Mín	Máx
T1	Medio Arveja	PCZC145	719375	±1069076,50	10000	2575000
T2	Medio Cogollo	PCZC145	228750	±130280,15	100000	375000
T3	Medio V8 Clarificado	PCZC145	459642,86	±370029,36	75000	1000000
T4	Medio V8 Sin Clarificar	PCZC145	605000	±353886,58	190000	1225000
T5	Medio Arveja	PCZC137	450625	±461953,83	17500	1150000
T6	Medio Cogollo	PCZC137	79642,86	±72477,42	7500	175000
T7	Medio V8 Clarificado	PCZC137	182500	±202010,73	5000	450000
T8	Medio V8 Sin Clarificar	PCZC137	200000	±161094,89	30000	475000
T9	Medio Arveja	PCTU95	474642,86	±494158,44	32500	1375000
T10	Medio Cogollo	PCTU95	270833,33	±342537,10	22500	725000
T11	Medio V8 Clarificado	PCTU95	136500	±70524,82	50000	225000
T12	Medio V8 Sin Clarificar	PCTU95	455000	±244111,20	100000	825000

CONCLUSIONES

- El uso del fruto de la pera nos permitió la captura óptima del patógeno, convirtiéndola en una herramienta útil para iniciar el proceso de aislamiento de la cepa.
- Las cepas PCZC145 y PCTU95 mostraron diferencias significativas en la colonización del micelio en los frutos de pera.
- El micelio de *P. palmivora* obtuvo su mayor desarrollo en el medio de cultivo V8 sin clarificar y el menor diámetro en medio arveja.
- Las diferentes cepas evaluadas del *P. palmivora* presentan actividad en la liberación de zoosporas, observando un crecimiento del micelio estriado, esponjoso y esporulación del patógeno, resaltando la actividad virulenta del aislamiento PCZC145 quien mostro una mayor producción de estructuras reproductivas.
- Se determinó que las mejores condiciones para el mantenimiento de los tres aislamientos son: Tiempo de inducción en frío 25 minutos y tiempo de inducción en luz 25 minutos.

RECOMENDACIONES

- Realizar ensayos con otros aislamientos de *P. palmivora* recuperados en palma de aceite, con el fin de observar la interacción en los diferentes medios de cultivo naturales.
- Es crucial continuar investigando y realizando ensayos para ampliar nuestro conocimiento sobre *Phytophthora* y desarrollar nuevas estrategias para aislar el oomyceto y mejorar la producción de estructuras, como esporangios y zoosporas.

La investigación continua es fundamental para combatir la pudrición del cogollo y proteger los cultivos de palma.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

Abel Valarezo, V. M. (2022). Análisis etiológico de la enfermedad pudrición del cogollo (PC) en cultivo de palma aceitera (*Elaeis guineensis* Jacq.) en la provincia de Esmeraldas, Ecuador [Tesis de grado, Universidad Técnica Luis Vargas Torres].

Aguilar-Ancota, R., Carrasco-Espinoza, C., Morales-Pizarro, A., Yovera-Espinoza, F., & Maldonado-Duque, E. (2020). Etiología de la muerte regresiva por *Phytophthora palmivora* en el cultivo de cacao (*Theobroma cacao* L.). *Revista Científica Agroecosistemas*, 8(2), 71–80.

Ávila Méndez, K., Pico Ortiz, G., Ávila Díaz-Granados, R., Sarria Villa, G. A., & Romero Angulo, H. M. (2018). Identificación de estructuras de infección de *Phytophthora palmivora* en hojas de clones de palma de aceite (*Elaeis guineensis* Jacq.). *Palmas*, 39(1), 120–130.
<https://publicaciones.fedepalma.org/index.php/palmas/article/view/12404>

Cedeño Moreira, Á. V., Romero Meza, R. F., Auhing Arcos, J. A., Mendoza León, A. F., Abasolo Pacheco, F., & Canchignia Martínez, H. F. (2020). Caracterización de *Phytophthora* spp. y aplicación de rizobacterias con potencial en biocontrol de la enfermedad de la mazorca negra en *Theobroma cacao* variedad CCN-51. *Scientia Agropecuaria*, 11(4), 503–512.

Coffey, D. M. (2010). Especies de *Phytophthora* que atacan las palmas: su naturaleza, supervivencia y control. *Palmas*, 31, 376–382.

Croplife. (2020). Pudrición del cogollo en palma de aceite.
<https://croplifela.org/es/plagas/listado-de-plagas/pudricion-del-cogollo>

M. (2013). *Phytophthora palmivora*, la causa de la Pudrición del cogollo en la palma de aceite. *Palmas*, 34, 87–94.

Díaz, J. (2021). Impacto económico de la pudrición del cogollo (*Phytophthora palmivora*) de palma de aceite: Cantón La Unión. *Revista de Ciencias Agropecuarias*, 38(1), 45–58.

Fedepalma. (2016). Pudrición del cogollo: enfrentamiento integral contra un enemigo persistente. https://fedepalma.org/wp-content/uploads/2016/12/M_1_1_-Pudricion-del-cogollo-enfrentamiento-integral.pdf

Fedepalma. (2020). Avances en la investigación de *Phytophthora palmivora*, el agente causal de la Pudrición del cogollo de la palma de aceite en Colombia. <https://publicaciones.fedepalma.org/index.php/palmas/article/viewFile/345/345>

Fedepalma. (2023). Informe Cenipalma 2023 - Impacto de la pudrición del cogollo en la palma de aceite. https://fedepalma.org/wp-content/uploads/2024/06/6D7_Informe_Cenipalma_2023_2_1_PC.pdf

Franceschetti, M., Maqbool, A., Jiménez-Dalmaroni, M. J., Pennington, H. G., Kamoun, S., & Banfield, M. J. (2017). Effectors of filamentous plant pathogens: Commonalities amid diversity. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 81(2), e00066-16. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00066-16>

Gómez, A., & Rodríguez, L. (2020). Caracterización morfológica y molecular de *Phytophthora palmivora*, agente causal de las lesiones iniciales de la pudrición del cogollo (PC) de la palma de aceite en Colombia. *Revista de Ciencias Agropecuarias*, 37(1), 45–58.

(2017). How filamentous plant pathogen effectors are translocated to host cells. *Current Opinion in Plant Biology*, 38, 19–24. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2017.04.005>

Gómez, A., & Rodríguez, L. (2020). Caracterización morfológica y molecular de *Phytophthora palmivora*, agente causal de las lesiones iniciales de la pudrición del cogollo (PC) de la palma de aceite en Colombia. *Revista de Ciencias Agropecuarias*, 37(1), 45–58.

González-Peña Fundora, D., Costales Menéndez, D., & Falcón Rodríguez, A. B. (2014). Efecto de diferentes medios de cultivo sobre el desarrollo de *Phytophthora nicotianae* Breda de Haan. *Revista de Protección Vegetal*, 29(1), 33. <https://revistas.censa.edu.cu/index.php/RPV/article/view/426>

González, S., Pérez, J., & Rodríguez, M. (2020). Monitoreo y manejo curativo de la pudrición del cogollo en *Elaeis guineensis* e híbrido interespecífico OxG en Colombia. ResearchGate. <https://www.researchgate.net/>

Martínez, G. (2008a). Avances en la solución de la pudrición del cogollo de la palma de aceite en Colombia. *Revista Palmas*, 29(2), 53–64.

Martínez, G., Sarria, G. A., Torres, G. A., Aya, H. A., Ariza, J. G., & Rodríguez, J. (2008b). *Phytophthora* sp. es el responsable de las lesiones iniciales de la pudrición del cogollo (PC) de la palma de aceite en Colombia. *Revista Palmas*, 29(3), 31–41.

Martínez, G. (2009). Identificación temprana y manejo integrado de la enfermedad pudrición del cogollo. *Revista Palmas*, 30(2), 63–77.

Martínez, L. G., Noreña, C., Sarria, G. A., Torres, G. A., Varón, F., & Vélez, D. C. (2010). Evaluación y cuantificación de estructuras de *Phytophthora palmivora*, el



responsable de la pudrición del
cogollo (PC) de la palma de aceite. Fedepalma.
<https://repositorio.fedepalma.org/handle/123456789/85407>

Martínez, G., Arango, M., Torres, G., Sarria, G., Vélez, D., Rodríguez, J., & Guest, D. (2013). Avances en la investigación sobre las dos enfermedades más importantes en la palma de aceite en Colombia: la pudrición del cogollo y la marchitez letal. *Revista Palmas*, 34(1), 39–47.

Martínez, G., Sarria, G., Torres, G., Varón, F., Drenth, A., & Guest, D. (2014b). Nuevos hallazgos sobre la pudrición del cogollo de la palma de aceite en Colombia: Biología, detección y estrategias de manejo. *Revista Palmas*, 35(1), 11–17.

Matelco. (2020). Colombia: Primer generador de aceite de palma en América.

Mendoza Thompson, J. U. (2020). *Phytophthora palmivora* afecta diversas etapas, desde plántulas hasta plantas adultas. Universidad Agraria del Ecuador.

Mingorance, F. (2006). El flujo de la palma del aceite de palma Colombia – Bélgica / Europa: Acercamiento de una perspectiva de derechos humanos. *Human Rights Everywhere*.

Miyake, N., & Nagai, H. (2018). Effects of temperature, zoospore concentration, infection period, and fruit maturity on *Phytophthora palmivora* infection of figs. *Journal of General Plant Pathology*, 84(6), 395–401. <https://doi.org/10.1007/s10327-018-0796-1>

Mohamed Azni, I. N. A., Sundram, S., & Ramachandran, V. (2019). Pathogenicity of Malaysian *Phytophthora palmivora* on cocoa, durian, rubber and oil palm determines the threat of bud rot disease. *Forest Pathology*, 49(6), e12557. <https://doi.org/10.1111/efp.12557>

Qu, T., Shao, Y., Csinos, A. S., & Ji, P. (2016). Sensitivity of *Phytophthora nicotianae* from tobacco to fluopicolide, mandipropamid, and oxathiapiprolin. *Plant Disease*, 100(10), 2119–2125.

Pelier, L. C., Rodríguez, A. D., Navarro, G. B., & Ravelo, R. R. (2007). Influencia de cuatro medios de cultivo sobre el crecimiento micelial de *Phytophthora palmivora* (Butler) Butl. *Centro Agrícola*, 34(2), 49–52.

Perrine-Walker, F. (2020). *Phytophthora palmivora*–cocoa interaction. *Journal of Fungi*, 6(3), 167.

Pistininzi, M., Weiss, E., Achtemeier, L., & Hong, C. (2014). Zoospore production biology of pythiaceous plant pathogens. *Journal of Phytopathology*, 162(2), 69–80.

Phillips Mora, W., & Galindo, J. J. (1989). Método de inoculación y evaluación de la resistencia a *Phytophthora palmivora* en frutos de cacao (*Theobroma cacao*). *Turrialba*, 39(4). <https://repositorio.catie.ac.cr/handle/11554/10760>

Rodríguez-Alvarado, G., Díaz-Celaya, M., Grünwald, N. J., Fieland, V., Garay-Serrano, E., & Fernández-Pavía, S. P. (2020). *Phytophthora palmivora* agente causal de la pudrición de fruto de papaya (*Carica papaya*) en Chiapas, México. *Biotecnología y Sustentabilidad*, 5(1), 37–47.

Rodríguez Polanco, E., Parra Alferes, E. B., Bermeo Fuquene, P. A., Segura Amaya, J. D., & Rodríguez Polanco, L. A. (2021). Manejo de la pudrición parda de la mazorca (*Phytophthora palmivora*) en cacao por aplicación conjunta de prácticas culturales y químicas. *Revista Facultad de Ciencias Básicas*, 16(1), 79–94. <https://revistas.unimilitar.edu.co/index.php/rfcb/article/view/4887>

Pudrición del cogollo: enfrentamiento integral contra un enemigo letal, *P. palmivora*.

Sarria, G. A., Torres, G. A., Rodríguez, J., Vélez, D. C., Noreña, C., Varón, F., Coffey, M., Elliot, M., & Martínez, G. (2008). Caracterización morfológica y molecular de *Phytophthora palmivora* agente causal de las lesiones iniciales de la Pudrición del cogollo (PC) de la palma de aceite en Colombia. *Fitopatología Colombiana*, 32(2), 39–44.

Sarria, G. A., Mestizo, Y., Betancourt, W., & Garcia, A. (2016). Pudrición del cogollo: avances, retos y oportunidades en el manejo integrado de esta enfermedad. *Palmas*, 37(4), 91–107.

Sierra-Márquez, J., Sierra-Márquez, L., & Olivero-Verbel, J. (2017). Potencial económico de la palma aceitera (*Elaeis guineensis* Jacq). *Agronomía Mesoamericana*, 28(2), 523–534.

Sarker, S. R., McComb, J., Burgess, T. I., & Hardy, G. E. S. J. (2021). Timing and abundance of sporangia production and zoospore release influences the recovery of different *Phytophthora* species by baiting. *Fungal Biology*, 125(6), 477–484.

Sarker, S. R., McComb, J., Burgess, T. I., & Hardy, G. E. S. J. (2020). Antimicrobianos en medios de aislamiento de *Phytophthora* y el crecimiento de especies de *Phytophthora*. *Patología Vegetal*, 69(8), 1426–1436.

SENASICA. (2020). Fichas técnicas: Pudrición del cogollo. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria.

Silva Acosta, G. E., & Páez Redondo, A. R. (2021). Antagonismo in vitro de nueve hongos aislados del Caribe colombiano sobre *Phytophthora* sp. asociado a palma aceitera. *Ingeniería y Desarrollo*, 39(2), 205–220.

Soto Plancarte, A., Rodríguez Alvarado, G., Fernández Pavía, Y. L., Pedraza Santos, M. E., López Pérez, L., Díaz Celaya, M., & Fernández Pavía, S. P. (2017). Protocolos de aislamiento y diagnóstico de *Phytophthora* spp. enfoque aplicado a la investigación. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 8(8), 1867–1880.

Superintendencia de Industria y Comercio. (2023). Estudios de mercado: Estudio de la agroindustria de la palma africana en Colombia (2010–2011). <http://www.sic.gov.co/>

Tupaz-Vera, A., Ayala-Díaz, I. M., Rincon, V., Sarria, G., & Romero, H. M. (2021). An integrated disease management of oil palms affected by bud rot results in shorter recovery times. *Agronomy*, 11(10), 1995.

Thorold, C. A. (2024). Airborne dispersal of *Phytophthora palmivora*, causing black pod disease in *Theobroma cacao*. *Nature*. <https://www.nature.com/articles/s41598-020-74374-2>

UPRA, 2023. Información del sector palmicultor colombiano - Unidad de Planificación Rural Agropecuaria.

Vázquez-Pertejo, M. T. (2022). Introducción al diagnóstico por laboratorio de la enfermedad infecciosa. Manual Merck.

Velez, D., Noreña, C., Sarria, G., Torres, G., Varón, F., & Martínez, G. (2008). Evaluación y cuantificación de estructuras de *Phytophthora palmivora*, el responsable de la pudrición del cogollo (PC) de la palma de aceite. *Fitopatología Colombiana*, 32(2), 45-50.

Morales, J. F. B. (2022). Control biológico de la mazorca negra (*Phytophthora palmivora* L.) En el cultivo de cacao (*Theobroma cacao* L.). *Revista Metropolitana de Ciencias Aplicadas*, 5(3), 149-154.

Wu, D., Navet, N., Liu, Y., Uchida, J. y Tian, M. (2016). Establishment of a simple and efficient *Agrobacterium*-mediated transformation system for *Phytophthora palmivora*. *Microbiology BMC* , 16 (1), 1-8.

Thorold, C. A. (2024). Airborne dispersal of *Phytophthora palmivora*, causing black pod disease in *Theobroma cacao*. *Nature*. <https://www.nature.com/articles/s41598-020-74374-2>

Tupaz-Vera, A., Ayala-Díaz, I. M., Rincon, V., Sarria, G., & Romero, H. M. (2021). An integrated disease management of oil palms affected by bud rot results in shorter recovery times. *Agronomy*, 11(10), 1995.

Unidad de Planificación Rural Agropecuaria [UPRA]. (2023). Información del sector palmicultor colombiano. <https://www.upra.gov.co/>

Vázquez-Pertejo, M. T. (2022). Introducción al diagnóstico por laboratorio de la enfermedad infecciosa. Manual Merck.

Vélez, D., Noreña, C., Sarria, G., Torres, G., Varón, F., & Martínez, G. (2008). Evaluación y cuantificación de estructuras de *Phytophthora palmivora*, el responsable de la pudrición del cogollo (PC) de la palma de aceite. *Fitopatología Colombiana*, 32(2), 45–50.

Villa, M. A. G., Aguilar, E. E. J., & Morales, J. F. B. (2022). Control biológico de la mazorca negra (*Phytophthora palmivora* L.) en el cultivo de cacao (*Theobroma cacao* L.). *Revista Metropolitana de Ciencias Aplicadas*, 5(3), 149–154.

Wu, D., Navet, N., Liu, Y., Uchida, J., & Tian, M. (2016). Establishment of a simple and efficient *Agrobacterium*-mediated transformation system for *Phytophthora palmivora*. *BMC Microbiology*, 16(1), 1–8.

