



*“Por un Desarrollo Agrario  
Integral y Sostenible”*

UNIVERSIDAD NACIONAL  
AGRARIA  
FACULTAD DE AGRONOMIA

## **Trabajo de Graduación**

Factores asociados a la mortalidad de  
Encinos (*Quercus* spp.) en la Reserva  
Natural Cerro Tomabú, Estelí, Nicaragua

### **AUTORES**

Br. Víctor Manuel Valdivia Vílchez  
Br. Jairo Ramón Araya González

### **ASESORES**

Ing. MSc. Yanet Gutiérrez Gaitán  
Ing. Oswaldo Rodríguez Flores  
Ing. MSc. Alberto Sediles Jaen

**Managua, Nicaragua  
Marzo, 2015**



*“Por un Desarrollo Agrario  
Integral y Sostenible”*

UNIVERSIDAD NACIONAL  
AGRARIA  
FACULTAD DE AGRONOMIA

## **Trabajo de Graduación**

Factores asociados a la mortalidad de  
Encinos (*Quercus* spp.) en la Reserva  
Natural Cerro Tomabú, Estelí, Nicaragua

### **AUTORES**

Br. Víctor Manuel Valdivia Vílchez  
Br. Jairo Ramón Araya González

### **ASESORES**

Ing. MSc. Yanet Gutiérrez Gaitán  
Ing. Oswaldo Rodríguez Flores  
Ing. MSc. Alberto Sediles Jaen

**Managua, Nicaragua  
Marzo, 2015**



*“Por un Desarrollo Agrario  
Integral y Sostenible”*

UNIVERSIDAD NACIONAL  
AGRARIA  
FACULTAD DE AGRONOMIA

**Trabajo de Graduación**

Factores asociados a la mortalidad de  
Encinos (*Quercus* spp.) en la Reserva  
Natural Cerro Tomabú, Estelí, Nicaragua

**AUTORES**

Br. Víctor Manuel Valdivia Vílchez  
Br. Jairo Ramón Araya González

**ASESORES**

Ing. MSc. Yanet Gutiérrez Gaitán  
Ing. Oswaldo Rodríguez Flores  
Ing. MSc. Alberto Sediles Jaen

Presentado a la consideración del Honorable Tribunal  
Examinador como requisito para optar al grado de  
Ingenieros en Sistema de Protección Agrícola y Forestal

**Managua, Nicaragua  
Marzo, 2015**

## INDICE GENERAL

SECCION	PAGINA
DEDICATORIA.....	i
AGRADECIMIENTO.....	ii
DEDICATORIA.....	iii
AGRADECIMIENTO.....	iv
INDICE DE FIURAS.....	v
INDICE DE CUADROS.....	vi
INDICE DE ANEXOS.....	vii
RESUMEN.....	viii
ABSTRACT.....	ix
I.INTRODUCCION.....	1
II.OBJETIVO.....	3
III.MATERIALES Y METODOS.....	4
3.1.Ubicación y descripción de área de estudio.....	4
3.2.Fase de campo.....	5
3.2.1. Descripción, ubicación de sitios de toma de muestras.....	5
3.2.2. Descripción de tomas de muestras en las parcelas de muestreo.....	5
3.2.2.1. Muestras para estudios fitopatológico.....	5
3.2.3. Frecuencia de colecta de muestras.....	6
3.2.4. Registros de síntomas en los arboles de roble ( <i>Quercus</i> spp).....	6
3.2.5. Colecta de insectos en las diferentes parcelas de estudios.....	7
3.2.5.1. Trampas embudos para la captura de insecto.....	7
3.2.6. Claves utilizada para la identificación de los especímenes de insectos.....	7
3.2.7. Estimación de Incidencia y severidad de la marchitez de lo encinos.....	7
3.2.8. Datos dasometricos y antropogenicos en las parcelas de muestreo.....	8

3.3. Fase de laboratorio.....	9
3.3.1. Análisis patológico de material vegetativo tomado de las diferentes parcelas de estudio.....	10
3.3.1.1. Medios de cultivos.....	10
3.3.2. Técnica de aislamiento de patógenos de tejido vegetal (tallos y raíces) en medios de cultivo.....	10
3.3.3. Técnica de aislamiento de <i>Phytophthora spp</i> de corteza de tallo y raíces en medios específicos.).....	11
3.3.4. Técnica de aislamiento de patógeno de muestras de suelo tomadas de las diferentes parcelas de muestreo.....	11
3.3.4.1. Técnica de aislamiento de hongos y bacterias de muestras de suelo.....	11
3.3.5. Captura de <i>Phytophthora spp</i> utilizando como cebo hojas de clavel.....	11
3.3.6. Técnica de aislamiento e identificación de Oomycetes fitopatógenos.....	12
3.3.6.1. Inducción a la formación de esporangio de especies de <i>Phytophthora spp</i>	12
3.3.7. Claves utilizadas para la identificación de <i>Phytophthora spp</i> .....	13
3.3.8. Factores bióticos y abióticos evaluados.....	14
3.3.9. Análisis de la información.....	15
IV.RESULTADO Y DISCUSIÓN.....	16
4.1. Etapa de campo.....	16
4.1.1. Caracterización de las fincas.....	16
4.1.2. Descripción de los sitios muestreados.....	17
4.1.3. Registro de actividades antropogénicas.....	19
4.1.4. Análisis de la información de medición dasométrica en encinos.....	20
4.1.5. Descripción de síntomas en los árboles de <i>Quercus spp</i> en campo asociados a la marchitez.....	21
4.1.6. Incidencia y Severidad de la marchitez de los árboles de encino.....	23
4.2. Etapa de laboratorio.....	25

4.2.1. Análisis patológico de suelo.....	25
4.2.2. Captura de <i>Phytophthora spp</i> utilizando como cebo hojas de clavel.....	25
4.2.3. Análisis patológico de tejido vegetal (corteza y raíces).....	26
4.2.4. Identificación del género y especie de <i>Phytophthora spp</i> .....	27
4.2.4.1. Características macro y micro morfológica.....	27
4.2.5. Identificación de especies de insectos encontrados en las parcelas de estudio.....	29
4.2.5.1. Especies de insectos encontrados.....	29
4.2.6. Relación insecto patógeno en la marchitez de los encinos.....	31
VI. CONCLUSIONES.....	32
VII. RECOMENDACIONES.....	33
VIII. LITERATURA CITADA.....	34
IV. ANEXOS.....	39

## **Dedicatoria**

A nuestro padre celestial por darme la vida, sabiduría para culminar con mi estudio, por ser él quien guía mis pasos en esta vida y es la luz que ilumina mi camino.

A mis padres Julián Valdivia Artola y Petrona Vílchez Lazo quienes siempre han estado apoyándome en cada una de mis decisiones y quienes siempre me han aconsejado en lo bueno y en lo malo. Los amo con todo mí ser.

A mis hermanos Ever Valdivia, Juana Valdivia, Julio Valdivia y Claudia Valdivia quienes me han brindado su apoyo durante toda mi preparación, y confiaron en mí.

A mi novia Lic. María Esperanza Ponce Reyes quien siempre ha estado a mi lado apoyándome en las buenas y en las malas te amo.

A Erlinda Vílchez y José Jara quienes han sido como mis segundos padres durante mis cinco años en la universidad y me han dado su apoyo incondicional.

A mis asesores quienes me apoyaron durante mi estudio Ing. MSc. Yanet Gutiérrez Gaitán, Ing. Oswaldo Rodríguez e Ing. MSc. Alberto Sediles.

A dos grandes amigos que logre conocer en mi estudio Lic. Isaías Sánchez e Ing. Markellyn Rodríguez, quienes estuvieron conmigo siempre guiándome y apoyándome en todo quienes a pesar de mis errores siempre tuvieron la paciencia de explicar nuevamente y compartir sus conocimientos conmigo.

**Víctor Manuel Valdivia Vílchez**

## **Agradecimiento**

A mis asesores Ing. MSc. Yanet Gutiérrez Ing. Oswaldo Rodríguez e Ing. MSc. Alberto Sediles, por estar ahí siempre apoyándome y formándome como un profesional entusiasta y por brindarme todos los conocimientos científicos, por no dudar de mis capacidades como profesional. Muchas bendiciones y que el amor de nuestro señor siempre este ahí rodeándolos. Nunca podré agradecerles todo lo que hicieron para formarme como un profesional competitivo y lleno de valores éticos.

Al Lic. Isaías Sánchez e Ing. Markellyn Rodríguez que a pesar de mis errores y equivocaciones siempre estuvieron conmigo y no dudaron de mis capacidades, gracias por sus regaños que fueron necesarios y que ayudaron a formarme como una mejor persona.

Al Dr. Jorge Ulises Blandón Díaz quien nos apoyó en la identificación del patógeno y quien siempre tuvo la disposición a ayudarnos.

A mis amigos Favio Zeledón y Jorge Herrera quienes me apoyaron y siempre estuvieron dándome ánimo para lograr mis metas.

A Ismael Rugama, guardabosque de la reserva de Tomabú quien durante nuestras visitas nos atendió siempre con amabilidad y tuvo disposición en cuanto a nuestras necesidades que tuvimos durante nuestro estudio.

**Víctor Manuel Valdivia Vilchez**

## **Dedicatoria**

El autor de este trabajo de investigación a:

Al ser supremo que me impregno de fe y sabiduría, a mis padres Jairo Ramón Araya Rodríguez Y María Concepción González Aguirre por haber abierto el camino y conducirme al éxito.

A Rosa Corina López Miranda por el apoyo incondicional al forjamiento de mi carrera profesional,

Y de manera muy especial a mis tíos Sebastián Araya y Dolores Tablada quienes siempre estuvieron conmigo en las buenas y malas situaciones de mi vida.

**Jairo Ramón Araya González**

## **Agradecimiento**

Al concluir mi trabajo de investigación agradezco al alma mater de la Universidad Nacional Agraria por haberme facilitado las herramientas necesarias para enfrentarme a la vida, al Lic. Isaiás Sánchez, Ing. Markellyn Rodríguez y a mis asesores Ing. MSc. Yaneth Gutiérrez, Ing. MSc. Alberto Sediles Jeans, Ing. Oswaldo Rodríguez y en especial a mi gran amigo y compañero Víctor Valdivia Vélchez.

**Jairo Ramón Araya González**

## INDICE DE FIURAS

FIGURAS		PAGINA
1	Mapa de las zonas de estudio Reserva Natural Cerro Tomabú.....	4
2	Especies de Encino en la Reserva Natural Cerro Tomabú.....	16
3	Números de árboles de encinos con síntomas de chancro exudados negros, en las parcelas de estudios.....	21
4	Encinos con síntomas de chancros con exudados negros en el fuste y marchitez de las ramas, Reserva Natural Cerro Tomabú Estelí Nicaragua, Foto UNA.....	23
5	Incidencia total de la marchitez de los encinos, Reserva Natural Cerro Tomabú (2014).....	23
6	Incidencia de la marchitez de los encinos por especies, Reserva Natural Cerro Tomabú (2014).....	24
7	Severidad total de la marchitez de los encinos, Reserva Natural Cerro Tomabú (2014).....	24
8	Número de unidades formadoras de colonias de patógenos en dilución de suelo en los diferentes medios.....	25
9	Números de unidades formadoras de colonia <i>Phytophthora spp</i> utilizando la técnica de captura con hojas de clavel.....	26
10	Numero de colonias <i>Phytophthora spp</i> en los diferentes medios.....	27
11	Número de especímenes de insectos por orden en las parcelas de estudio, Reserva Natural Cerro Tomabú 2014.....	30
12	Familia de insectos encontradas en las parcelas de estudio, Reserva Natural Cerro Tomabú, 2014.....	30

## INDICE DE CUADROS

<b>CUADROS</b>		<b>PAGINA</b>
1	Datos geográficos de cada sitio de muestreo en la Reserva Natural Cerro Tomabú.....	17
2	Números de encinos y árboles muertos en las parcelas de estudio....	20
3	Especies de insectos encontrados durante el monitoreo en encinos, Reserva Natural Cerro Tomabú, Estelí, 2014.....	29

## INDICE DE ANEXOS

ANEXO		PAGINA
1	Datos meteorológicos de INETER puesto San Isidro año 2013 y 2014	40
2	Escala de (Starkey <i>et al.</i> , 1989).....	41
3	Hoja de entrevista.....	42
4	Preparación de medios de cultivo.....	43
5	Método de dilución de suelo (Castaño-Zapata, 1986).....	45
6	Solución salina para la inducción a esporangios <i>Phytophthora spp.</i> ....	46
7	Programa Lucid key.....	47
8	Parcelas de muestreo.....	48
9	Caracterización de síntomas aéreos.....	51
10	Grados de Severidad de la marchitez de los encinos en cada parcela de estudio.....	52
11	Estructuras de <i>Phytophthora cinnamomi</i> .....	53
12	Tabla de identificación de <i>Phytophthora spp</i> Species ID Worksheet....	55
13	Hoja de recuento de datos para parcelas.....	57
14	Fotos de insectos encontrados en la Reserva Natural Cerro Tomabú...	58
15	Promedios de altura y diámetro de fuste (DAP) de cada encino presente en las parcelas de estudio.....	60
16	Lista de materiales utilizados durante el estudio.....	61

## Resumen

Con el objetivo de estudiar los factores asociados a la mortalidad de los encinos (*Quercus* spp), en la Reserva Natural Cerro Tomabú, Estelí; se establecieron seis parcelas de estudio de 0.1 ha, durante los meses de Febrero – Mayo y Junio – Octubre 2014. En cada una se colectaron insectos, suelo y tejido vegetal enfermo; estimación de incidencia y severidad de la marchitez de los encinos; datos dasométricos y antropogénico. Para la identificación de patógenos, se utilizaron medios generales (Papa Dextrosa Agar, Agar Nutritivo y Agar Agua) y selectivos (Caldo V<sub>8</sub>, agar V<sub>8</sub>, y Harina de maíz - agar más antibióticos: Piramicina, Ampicillina, Rifampicina, Vancomicina y Benomyl) y caracterización macro morfométrica, con claves taxonómicas. Los datos fueron analizados de manera descriptiva. La población de árboles muestreados fue de 298 *Q. segoviensis* y *Q. sapotifolia* son las especies, que predominan en un 58 % y 42 % respectivamente. En el mes de septiembre se registró el mayor porcentaje de incidencia de marchitez en ramas con 88.3 % y 99 % de incidencia por especie en árboles jóvenes de *Q. sapotifolia*. La severidad con 29.2 %. *Phytophthora cinnamomi*, se aisló de suelo y tejido vegetal, constituyendo el patógeno que se asocia a la marchitez de ramas, chancros con exudados negros en fuste y muerte en los encinos. Las pocas lluvias y el despale ocasionado por los pobladores participan como factores de estrés en la mortalidad de los encinos. Los insectos colectados se consideran de naturaleza benéfica y constituyen parte de la diversidad de insectos de la reserva.

**Palabras claves:** *Quercus segoviensis*; *Quercus sapotifolia*; Mortalidad en encinos.

## ABSTRACT

With the goal to study the factors associated with the mortality of oaks (*Quercus spp*) in the Natural Reserve called Cerro Tomabú, was settled six plots of 0.1 ha, during the months February – May and June – October 2014. In each one was collected insect, soil and sick plant tissue, as well as incidence and severity of worn branches of oaks, dendrometric and anthropogenic data. For the identification of pathogens, were used general means (Potato Dextrose Agar, Agar Agar, Nutrient and water) and selective (Caldo V8, V8, and corn meal, Agar more antibiotics, Pirimicin, Ampicillin, Rifampicina, Vancomycin and Benomyl) and they characterized macro morphometric, with taxonomy codes. The data were analyzed in a descriptive way. The population of trees was sampled 298 *Q. segoviensis* and *Q. sapotifolia* were species that predominate 58 % and 42 % respectively. The highest percentage of incidence and severity was registered in the third sampling in the month of September with 88.3 % and 99 % the incidence per younger species *Q. sapotifolia* trees. The severity was 28.2 %. *Phytophthora cinnamomi*, was branches will, canker with black exudates in the shaft and death in the oaks. The low rainfall and the felling of trees caused by the people involved as stressor in the mortality oaks. The collected insects are considered beneficial nature and are part of the diversity of insects of booking in the reserve.

**Key words:** *Quercus segoviensis*; *Quercus sapotifolia*; holm oak mortality.

## I. INTRODUCCIÓN

Los árboles comúnmente llamados robles pertenecen a la familia *Fagaceae*, en esta se encuentra el género *Quercus sp.* La madera producida por estas plantas está considerada entre los recursos de madera dura más valiosa que existen. En todo el mundo se conocen unas 1 000 especies de *Quercus*, pero no todas son aprovechables desde el punto de vista forestal pues algunas especies son arbustivas con alturas menores de los 10 metros (Bárcenas, 1990).

Nicaragua, es el límite territorial de muchas especies de plantas tanto del sur como del norte, ejemplo de esto, Nicaragua es el límite natural de los pinos. Todas estas características físicas y biológicas han permitido al país ser rico en ecosistemas y diversidad de especies, tanto de plantas como de animales. También a través del tiempo han ocurrido migraciones de fauna y humanos, de norte a sur y de sur a norte, estos movimientos migratorios ha permitido la traída de especies vegetales útiles de ambas direcciones (Grijalva, 2006).

Los encinos son árboles muy comunes y crecen de manera nativa en bosques entremezclado con pino (bosques conocidos como de pino- encinos). En Nicaragua, se encuentran distribuidos en los departamentos de Estelí, Jinotega, León, Madriz, Nueva Segovia, Matagalpa y Boaco; generalmente en alturas de 650 a 1500 msnm. Se han descrito 12 especies: *Q. xalapensis*, *Q. cortesii*, *Q. benthamii*, *Q. oleoides*, *Q. insignis*, *Q. purulhana*, *Q. segoviensis*, *Q. lancifolia*, *Q. bumelioides*, *Q. elliptica*, *Q. salicifolia* y *Q. sapotifolia*. Las especies *Q. sapotifolia* y *Q. peduncularis* (actualmente renombrado *Q. segoviensis*), se reportan por MARENA (1997).

Los encinares desempeñan un importante papel en la estructura y dinámica en la reserva, también tienen un alto valor comercial por la calidad de su madera, así como también sirven como refugio de especies de aves migratorias y propias de la zona, que forma parte de la belleza escénica de la zona.

En el año 2013 pobladores de las comunidades de Tomabú, Estelí, reportaron la mortalidad de los árboles de encino, cuyos síntomas inician en las puntas de las ramas, ramas secas, amarillamiento rojizo y defoliación de las hojas. Árboles con síntomas de chancros con exudados negros en el fuste y muerte de los árboles. La mortalidad de los encinos ha sido más notoria durante los últimos años, esta ha incrementado cada vez más, reduciendo el área de bosque de encino, utilizada actualmente para siembra de pastos y área de pastoreo; perturbando de esta manera la diversidad de flora y fauna.

El avance de la mortalidad de los encinos también se ha reportado en la comunidad de la Garnacha, localizada en la Reserva Natural Tisey, Estelí. En esta reserva, la mortalidad de encinos es más evidente (Edwin Herrera, comunicación personal, datos no publicados, 2014).

*Phytophthora cinnamomi* Rands, se reporta como el principal agente causal de la muerte de las especies de encino, devastando grandes hectáreas de bosques en el centro oeste de México, (Alvarado, *et al* 2007). La especie *P. ramorum* (Werres, De Cock & Manin'tVeld), también ha sido reportada en los Estados Unidos, como la muerte súbita del roble.

En la región Centro Americana y en particular Nicaragua, existen limitados estudios e información acerca de la salud e importancia de estas áreas de los bosques de pino encino, catalogada como zona de amortiguamiento (corredor biológico), que ha sido degradada principalmente a causa de la deforestación. Los pobladores de la Reserva, relacionan la mortalidad de los encinos a causa de insectos barrenadores, desconociéndose los factores que inciden en estas. El presente estudio se realizó con la finalidad de contribuir a documentar acerca de esta problemática fitosanitaria que afecta la Reserva Natural del Cerro Tomabú, Estelí.

## II. OBJETIVOS

### 2.1. Objetivo general

Generar información acerca de los factores bióticos y abióticos que inciden en la mortalidad de los encinos (*Quercus* spp), en la Reserva Natural Cerro Tomabú, Estelí.

### 2.2. Objetivo específicos

Determinar los agentes bióticos y abióticos asociados a la mortalidad de Encinos en la Reserva Natural Cerro Tomabú

Determinar la incidencia y severidad de la marchitez de la copa y ramas de los árboles de encinos en la Reserva Natural Cerro Tomabú

Caracterizar las condiciones del estado fitosanitario, dasométricos y antropogénicos que inciden en la mortalidad de los encinos en el área de estudio

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Ubicación y descripción de área de estudio

El estudio se realizó en la Reserva Natural Cerro Tomabú desde Diciembre 2013 a octubre del 2014, que se ubica en el municipio de Estelí del departamento de Estelí entre las coordenadas 12°59'54" a 13°03'34" latitud norte y 86°16'10" a 86°19'20" longitud oeste. En la Reserva Tomabú, se ubican tres comunidades, Llano Redondo en el sector de Wasuyuca, la comunidad de San Antonio y Las Cuevas (MARENA, 2007). El sector de Wasuyuca, se encuentra a una altitud de 1,200 msnm, la cual limita al norte con Sutiaba; al sur con las Cuevas; al oeste el Pedregal; y al este con San Antonio. Las Cuevas con una altitud de 1,175 msnm, limita al norte Llano Redondo y el Espinal; al sur con Santa Cruz; al oeste con Santa Cruz una parte y al este con la comunidad de Tomabú. San Antonio con una altitud de 1,040 msnm y coordenadas de la cual limita al norte con las Mesetas y la Arrayan; al sur con Llano Redondo; al oeste con Llano Redondo y al este con la comunidad el Espinal (Figura 1).



Figura 1. Mapa de las zonas de estudio Reserva Natural Cerro Tomabú

Los datos climatológicos, fueron facilitados por INETER (2014), y se obtuvieron del puesto meteorológico San Isidro, por considerarse el puesto más cercano a la Reserva.

Durante el año 2014, fue de pocas lluvias, presentando la mayor precipitación en el mes de octubre (47.3 mm), temperatura máxima de (37.1 °C) en el mes de abril y Humedad Relativa 94 % en el mes de octubre; no obstante, para el análisis descriptivo de patógeno asociado a la marchitez de los encinos, se consideraron también los datos del 2013, en la que prevaleció abundantes lluvias, desde el inicio del período lluvioso con precipitaciones máximas de (302.1 mm) en el mes de septiembre (Anexo 1).

### **3.2. Fase de campo**

#### **3.2.1. Descripción, ubicación de sitios de toma de muestras**

Se seleccionaron seis parcelas de estudio dentro de los bosques de encinos en tres comunidades. Seleccionando dos parcelas de estudio en la finca de Pedro Valdivia que se localizan en el sector de Wasuyuca, una en la finca de Luis Montenegro en la comunidad de San Antonio, tres parcela de estudio en la comunidad Las Cuevas ubicando dos parcela en la finca de Joaquín Meza y una en la finca de Roberto Cruz. En las parcelas de estudio se consideró la presencia de encinos y árboles que presentaban daños por marchitez.

Las parcelas de estudio se delimitaron según metodología citada por INTECFOR (1993) y adaptada a las características del presente estudio. En cada sitio se ubicaron parcelas con un radio de 17.85 m (de 0.1 hectárea) donde se implementó un muestreo dirigido. Dentro de cada una de las parcelas se registraron cada especie que integra el área de muestreo, se tomaron muestras de insectos asociados a los encinos, así como suelo y partes afectadas del árbol, además se realizaron la caracterización de los parámetros, dasométricos y antropogénicas asociados a las parcelas de muestreo.

#### **3.2.2. Descripción de toma de muestras en las parcelas de muestreo**

##### **3.2.2.1. Muestras para estudios fitopatológico**

Para determinar la presencia del o los agentes causales de la muerte de los encinos en la Reserva Natural Cerro Tomabú, se tomaron muestras por cada punto tal como: ramas, cortezas de tallo, suelo y raíz tomadas en las parcelas de estudio establecidas.

Para el análisis patológico de cada parcela de estudio se tomaron 1 a 3 submuestras de suelo a orillas de árboles que presentaban los síntomas como exudados y marchitez en las copas, las muestras se tomaron alrededor del tronco, para el cual se retiró el horizonte orgánico y el suelo se recolectó a una profundidad no mayor de 20 cm, conformando una muestra por sitio. Además se colectaron tejidos (corteza del tronco) que presentaban los síntomas tales como exudados y marchitamientos vasculares ocasionados por los agentes bióticos asociados al arbolado, así como también se tomaron muestras de raíces de los árboles que presentaban los síntomas mencionados anteriormente, ambas muestras tales de corteza y raíces se empacaron en bolsas de papel Graf se etiquetaron y se trasladaron para su debido análisis a los laboratorios de Microbiología y Micología de la Universidad Nacional Agraria en termos para evitar la deshidratación las muestras de tejido vegetal y de suelo.

### **3.2.3. Frecuencia de colecta de muestras**

Las muestras se tomaron en dos épocas (seca y lluviosa), las colectas en la época seca fueron en el mes de Febrero y las correspondiente a la época lluviosa se realizó en dos tomas correspondiente al establecimiento de las primeras lluvias en el mes de Julio y el segundo muestreo se realizó en la época más lluviosa del invierno en el mes de Septiembre.

### **3.2.4. Registro de síntomas en los árboles de roble (*Quercus spp*)**

Los síntomas que se observaban en los árboles de encino de las fincas evaluadas fueron descritos de manera ordenada en cada visita en campo y en laboratorio. En campo consistió en la descripción de síntomas en la parte área y la presencia de exudados en el fuste. En laboratorio consistió en el levantamiento de datos de cada muestra la cual fue procesada utilizando diferentes medios de cultivos.

### **3.2.5. Colecta de insectos en las diferentes parcelas de estudio**

#### **3.2.5.1. Trampas embudos para la captura de insecto**

Para la captura de las especies de insectos presente en las parcelas de muestreo y en el ecosistema de bosque de roble y para poder determinar si los especímenes presentes tenían alguna relación con la mortalidad de los encinos de la zona. Se utilizaron trampas de embudos con atrayentes como alcohol puro y aguarrás (360 ml de cada atrayente por trampa) las cuales fueron colocadas en cada parcela y monitoreadas cada ocho días en dos etapas Iniciando la primera etapa en el periodo de verano en los meses de abril hasta el mes de junio, y la segunda etapa en el periodo de lluvia iniciando en el mes de julio hasta el mes de Noviembre. Estas trampas han sido utilizadas en sistemas agroforestales de pino encino, para la captura de insectos descortezadores (*Ips* spp y *Dendroctonus* spp).

Los insectos colectados se llevaron al Museo Entomológico de la Universidad Nacional Agraria, donde se clasificaron según las características morfológicas de los insectos, seguidamente se prepararon y se montaron con alfileres entomológicos para proceder a su identificación.

#### **3.2.6. Claves utilizada para la identificación de los especímenes de insectos**

Entre los métodos de identificación que se utilizaron están: guías pictóricas (catálogo de insecto artrópodos de Maes 1998), consultas a especialista (docentes del área de entomología de la Universidad Nacional Agraria) y comparaciones morfológicas con colección de referencia del Museo de Entomología de la Universidad Nacional Agraria.

#### **3.2.7. Estimación de Incidencia y severidad de la marchitez de los encinos**

Para determinar el porcentaje de encinos que presentaban síntomas o partes de árboles con síntomas de marchitez, se estimó la incidencia que refiere al número de árboles enfermos con síntoma de marchitez; entre el total de árboles evaluados, en cada parcela, expresado en porcentaje, con la siguiente fórmula:

### Número de árboles enfermos con síntomas de marchitez X 100

$$\text{Incidencia (I)} = \frac{\text{Número de árboles enfermos con síntomas de marchitez X 100}}{\text{Número total árboles evaluados}}$$

La severidad está referida al porcentaje o proporción de tejido del árbol con síntomas de marchitez en ramas o parte de ella. El cálculo de la severidad, se realizó con la siguiente fórmula (Martínez, *et al* 2002)

$$I = \left( \frac{\sum(n * v)}{iN} \right) * 100$$

I- % de intensidad de ataque del patógeno

(n \* v) total de plantas con un grado por su respectivo grado de escala.

N- total de plantas evaluadas

i- Grado máximo de la escala (i =5)

La severidad de la marchitez de los encinos, se estimó de manera visual, tomando como referencia la escala de Starkey *et al* (1989), citada por (Alvarado *et al* 2008), (Anexo 2).

#### 3.2.8. Datos dasométricos y antropogénicos en las parcelas de muestreo

Con la finalidad de conocer la edad de los árboles, pendiente y el uso que de las áreas donde se encuentran establecidos los árboles de encino, se realizaron las siguientes mediciones:

**Dasométricas (m):** Medición de la altura y diámetro a cada árbol, con cinta dasométrica.

**Pendiente (%),** Medición del ángulo de inclinación de la gradiente del suelo, realizada con Pistola Aga.

Según la Norma técnica obligatoria Nicaragüense (NTON) para el manejo sostenible de los bosques naturales latifoliados y de coníferas, (2004), un bosque joven es el que

presenta alturas promedios mayores a tres metros y diámetros promedios menores a 10 cm, Diámetro a la Altura del Pecho (DAP).

**Antropogénicas:** Se realizaron entrevistas a los dueños de las fincas de las parcelas de estudio (Anexo 3). Con la finalidad de conocer el estado y uso de cada una de las parcelas donde se realizaron los muestreo.

### **3.3. Fase de laboratorio**

Considerando que este estudio es preliminar, la fase de laboratorio, se realizó considerando los reportes e investigaciones realizadas en la región Centro América y Norte América en *Quercus* spp,

El análisis patológico de las muestras de tejido vegetal enfermo y de suelo se realizó en laboratorios de Microbiología y Micología de la Universidad Nacional Agraria ubicada en km 12 carretera norte en Managua.

De cada muestra colectada de las diferentes parcelas de estudio se realizaron cinco repeticiones de cada muestra y medios de cultivo en los diferentes medios utilizados. El total de platos utilizados al procesar las muestras de suelo y tejido vegetal de las seis parcelas con las tres técnicas fueron 330 platos petri.

### **3.3.1. Análisis patológico de material vegetativo tomado de las diferentes parcelas de estudios**

#### **3.3.1.1. Medios de cultivos**

Los medios utilizados en el aislamiento de patógenos en tejido vegetal y suelo fueron:

Medios generales

- Agar-Agua (AA) para inducir la esporulación de estructuras reproductivas del patógeno.
- Papa dextrosa agar (PDA) medio general para el crecimiento de hongo.
- Agar nutritivo (AN), medios general para el crecimiento de bacteria (Anexo 4).

Medios específicos

- Agar jugoV8 mas antibióticos (Piramicin, Ampicilina, Rifampicin, Benomyl) medio para el crecimiento de *Phytophthora* spp.
- Harina de maíz (PARB) más antibióticos (Piramicin, Ampicilina, Rifampicin, Benomyl) medio de cultivo para el desarrollo de *Phytophthora* spp. (Anexo 4)

### **3.3.2. Técnica de aislamiento de patógenos de tejido vegetal (tallo y raíces) en medios de cultivos**

Se tomó trozos de raíces y corteza, se cortaron en pequeños trozos de tres milímetros, se enjuagaron por quince segundos en hipoclorito de sodio al 0.005%, se escurrió el hipoclorito, luego se enjuago en agua estéril por minuto y medio, posterior se secó en papel toalla. Posterior se sembró en los diferentes medios de cultivos generales: Agar nutritivo (AN) para bacteria, Agar – Agar (AA) para inducir la esporulación de estructuras reproductivas del patógeno, Papa dextrosa agar (PDA) para hongo.

### **3.3.3. Técnica de aislamiento de *Phytophthora* spp de corteza de tallo y raíces en medios específicos**

Los trozos de raíces y corteza de tallo infectados se cortaron trozos de tres milímetro, se colocaron en hipoclorito de sodio al 0.005% por quince segundos, luego se escurrió y se enjuago con agua estéril por un minuto y medio, se secó en papel toalla. Finalmente se sembró en el medio, una vez listo se colocaron los platos en la incubadora con una temperatura de 22<sup>0</sup>C.

### **3.3.4. Técnica de aislamiento de patógeno de muestras de suelo tomadas de las diferentes parcelas de muestreo**

#### **3.3.4.1. Técnicas de aislamiento para hongos y bacterias de muestras de suelo**

El método utilizado para aislar hongos y bacterias de suelo fue el Método de dilución de suelo (Anexo 5). Los medios utilizados fueron Papa dextrosa agar (PDA), y Agar nutritivo (AN).

### **3.3.5. Captura de *Phytophthora*, utilizando como cebo hojas de clavel**

Para el aislamiento del genero *Phytophthora* de muestras de suelo se siguió el procedimiento de captura empleado por Almaraz – Sánchez et al (2013) con algunas modificaciones. Se utilizaron recipientes plásticos de 400 ml en los cuales se depositó y homogenizo una mezcla de 100 gramos de suelo y 300 ml de agua (relación 1:3). Para el cebado se utilizaron hojas de clavel que fueron previamente secadas en hornos y desinfectadas al someterlas a tratamiento con luz ultravioleta antes de ser utilizadas. En cada recipiente se colocaron veinticinco trocitos de hoja de clavel (5 mm de diámetro aproximadamente) y se incubaron a 22<sup>0</sup>C por 72 horas. Transcurrido este tiempo los trocitos de clavel fueron transferidos a medio V8 agar más antibióticos y posteriormente al medio (PARB) más antibióticos. Las colonias puras del patógeno fueron mantenidas en papa dextrosa agar (PDA).

Cuando se presentó contaminación con bacterias se utilizó uno de los métodos sugeridos por Kaminskyj (2005), al que se le denomina método por superposición el cual consistió en realizar el siguiente procedimiento: Se colocó en un plato Petri vacío trozo de medio con micelio contaminado y sobre el trozo se colocó un triángulo de medio limpio.

El micelio creció al interior del triángulo de medio limpio y emergió en la superficie de este libre de bacterias. El medio que se colocó sobre el trozo de medio con micelio contaminado fue de (PARB) más antibióticos con la finalidad de obtener un cultivo puro de *Phytophthora spp*, para la identificación de especies.

### **3.3.6. Técnicas de aislamiento e Identificación de Oomycetes fitopatógenos**

#### **3.3.6.1. Inducción a la formación de esporangio de especies de *Phytophthora***

Para la inducción y formación de esporangios se utilizaron dos técnicas, estas consistieron:

Se pesó 1.5g de suelo sin esterilizar y se mezcló en 100ml de agua estéril, se homogenizó y se vertió en platos Petri en donde se colocó trozos de agar con micelio de (*Phytophthora spp*) obtenidos de cultivos puros y se incubó a una temperatura de 22°C. A las 24 horas de ser incubado se procedió a la medición de esporangios con el microscopio calibrado en el objetivo de 40 X, las mediciones se realizaron durante 3 días consecutivos.

La otra técnica consistió, en utilizar una solución de minerales (Anexo 6), la cual consistió en tomar micelios, obtenidos de los cultivos puros y se colocaron en caldo de V8 y se incubó a una temperatura 22°C por 24 horas. El crecimiento micelial obtenido a las 24 horas se lavó en agua estéril y se trató con solución salina por una hora, se incubó por 24 horas y se procedió a la medición de esporangios con el microscopio calibrado con el objetivo de 40X, de igual manera las mediciones se realizaron durante 3 días consecutivos (Besoain *et al* 2005) (Anexo 6).

### **3.3.7. Claves utilizada para la identificación de *Phytophthora***

Para la identificación de especies de *Phytophthora spp* aislado de las muestras procesadas, se utilizó la clave de *Phytophthora* (Gallego *et al* 2008) y el Programa electrónico Lucid Key elaborado por la Universidad de California (Anexo 7).

### **3.3.8. Factores bióticos y abióticos evaluados**

#### **Factores bióticos**

- Especies insectiles presente
- Fitopatógenos: Bacteria, Hongos y Oomicetes
- Incidencia y severidad de la copa y rama de árboles marchitas

#### **Factores abióticos y dasométricos**

- Georreferenciación de las parcelas de muestreo (pendiente y altitud)
- Caracterización de sitios de muestreo
- Altura y diámetro de cada especies de roble presente en los sitios de estudio
- Registro de actividades antropogénicas (Entrevistas a propietarios de las fincas y regente forestal (Anexo 3))

### **3.3.9. Análisis de la información**

Con la información obtenida, se analizó de manera descriptiva, los resultados de los datos recopilados en campo y laboratorio durante los tres muestreos realizados.

Con los datos del cálculo de incidencia y severidad se calcularon sacando el porcentaje por muestreo y luego se graficaron los tres muestreo realizado durante el estudio.

Se describió las parcelas de estudio como también el estado fitosanitario de cada árbol presente en la parcelas de estudio.

## IV. RESULTADO Y DISCUSIÓN

### 4.1. Etapa de campo

#### 4.1.1. Caracterización de las fincas

La población de árboles muestreados en la Reserva Natural Cerro Tomabú fue de 298, en la cual se determinaron dos especies de encino según Missouri Botanical Garden (2013), *Quercus segoviensis* y *Quercus sapotifolia*; predominando *Quercus segoviensis* con 58% y *Q. sapotifolia* con 42% (Figura 2), esta información además sustentada con las entrevista realizadas al guarda bosque de la zona y encuestas a los propietarios de las seis fincas donde se colectaron las muestras de suelo, tejido vegetal y captura de insectos.

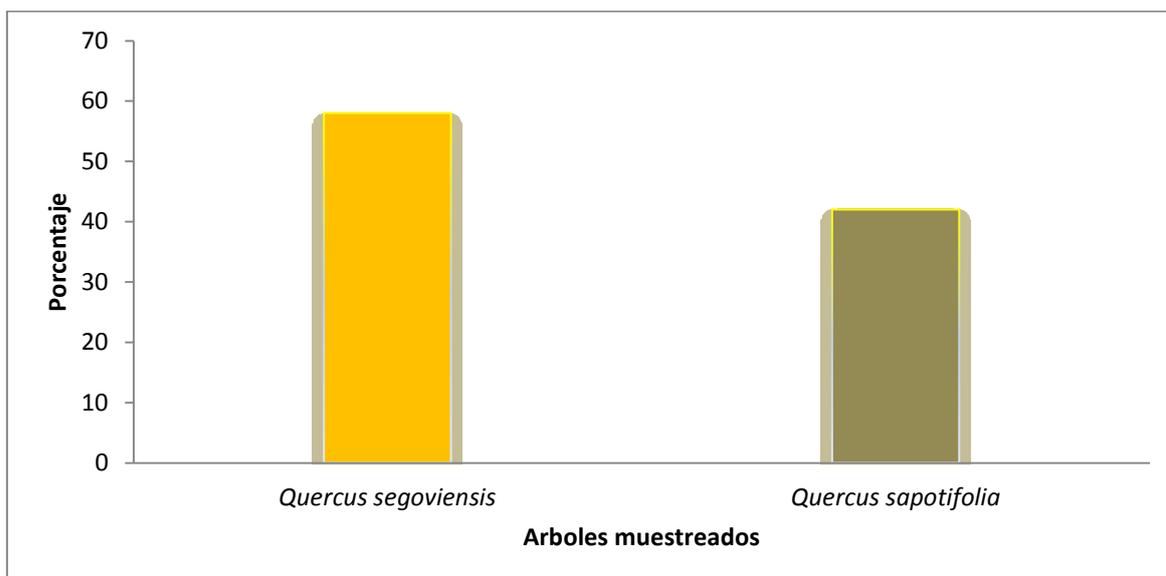


Figura 2. Especies de Encino en la Reserva Natural Cerro Tomabú

Los datos geográficos de cada finca, se muestran en el Cuadro 1. La altitud en que se encuentran los encinos en la Reserva Natural Cerro Tomabú, oscila desde 1 040 hasta 1 253 msnm, condiciones favorables para el crecimiento y reproducción de los encinos. Las parcelas de estudios con pendientes de 14 y 32 %, son las que presentaban suelos pedregosos y terrenos muy accidentados. En todo los estados y Republica de México reportan encinares en alturas de 3 100 msnm (Valencia, 2004).

**Cuadro 1. Datos geográficos de cada sitio de muestreo en la reserva Natural Tomabú**

<b>Poblado</b>	<b>Finca</b>	<b>Pendiente (%)</b>	<b>Coordenadas</b>	<b>Altitud (msnm)</b>
<b>Llano Redondo (Wasuyuca)</b>	Pedro Valdivia parcela N0. 1	14	N 13°02'23.9" W 086°18'00.2"	1253
<b>Llano redondo (Wasuyuca)</b>	Pedro Valdivia parcela No. 2	30	N 13°02'26.3" W 086°17'56.9"	1198
<b>San Antonio</b>	Luis Montenegro parcela No. 3	25	N 13°02'39.7" W 086°17'32.1"	1040
<b>Las cueva</b>	Joaquín Meza parcela No. 4	32	N 13°01'31.0" W 086°17'16.6"	1171
<b>Las cuevas</b>	Joaquín Meza parcela No. 5	29	N 13°01'31.2" W 086°17'21.4"	1229
<b>Las cuevas</b>	Roberto Cruz parcela No. 6	17	N 13°01'32.4" W 086°17'7.8"	1196

Durante el estudio se realizó entrevistas a cada uno de los propietarios de las fincas donde se establecieron las parcelas de estudio con el propósito de conocer el uso y manejo que realiza en su finca.

#### **4.1.2. Descripción de los sitios muestreados**

##### **Parcela de estudio 1, Pedro Valdivia (PV 1)**

Presentó dos especies de encinos (*Quercus segoviensis*) y (*Quercus sapotifolia*). Es un área transitada por los pobladores que se movilizan de la comunidad de Wasuyuca hacia Llano redondo, el cual se presume que son ellos el vehículo de transporte de inóculo del patógeno presente en la área de estudio, a otras áreas de la Reserva. (Anexo 8)

### **Parcela de estudio 2, Pedro Valdivia (PV 2)**

Es una de las áreas que presentó menor cantidad de árboles de roble, encontrándose solamente (*Quercus segoviensis*). Son árboles que se asentaban en suelos altamente rocosos.

En sus alrededores se observó poca presencia de árboles, es una área muy abierta en comparación con el sitio de muestreo uno. Es un sitio transitado por los pobladores de la zona, el cual se presume que son ellos el vehículo de transporte del inoculo a otras áreas de la Reserva (Anexo 8)

### **Parcela de estudio 3, Luis Montenegro (LM 3)**

Presentó menor población de árboles, encontrándose una especie de las que se presentan en la reserva, siendo (*Quercus segoviensis*), suelo pedregoso, además es un sitio en la que el dueño de la finca, refirió, con mayor incidencia la mortalidad de los robles ya que una gran parte, fue utilizada para la siembra de pasto para ganado y potrero (Anexo 8)

### **Parcela de estudio 4, Joaquín Meza (JM 4)**

Fue el segundo sitio con mayor presencia arbórea, que en su mayoría son de una sola especie (*Quercus sapotifolia*), a su alrededor se observó presencia de árboles de pino. De los seis sitios de muestreo es uno en donde se observó síntomas de chancros o canchros con exudados negros en el fuste de los árboles (Figura 4). Es un sitio transitado por los pobladores de la comunidad de las cuevas que se dirigen hacia la parte más alta del cerro a colectar leña, el cual se presume que son ellos el transporte del inoculo a otras áreas de la Reserva (Anexo 8).

### **Parcela de estudio 5, Joaquín Meza (JM 5)**

Es el tercer sitio con mayor cantidad de árboles, encontrándose solamente (*Quercus sapotifolia*). Es una de las áreas que ha sido intervenida por los leñadores de la zona, en sus alrededores se observó árboles de encino incluyendo a los pinos (Anexo 8).

## **Parcela de estudio 6, Roberto Cruz (RC6)**

Según los pobladores de Las Cuevas, en este sitio, se observaron las primeras muertes de los robles, es una de las áreas que presentó menor cantidad de árboles, encontrándose las mismas especies de encino en suelos pedregosos.

En esta área, se observó y se reportó por el productor, la mayor mortalidad de los encinos, al igual que los otros sitios de muestreo es el área mayor transitada por los pobladores, el cual se presume que son ellos el vehículo de transporte de inóculo del patógeno presente en la área de estudio a otras áreas de la Reserva. En las partes donde han muerto los árboles de encinos, ya son utilizadas para el cultivo de pasto y como pastoreos. (Anexo 8)

En las seis fincas muestreadas no se realizan ningún tipo de manejo por parte de sus propietarios ni por las autoridades encargadas del cuidado y protección de esta área protegida. Según información obtenida de las entrevistas a los propietarios, los árboles muertos que se encontraban en sus parcelas con síntomas de marchitez avanzada fueron talados para uso propio en sus hogares así como también utilizados para cercas en sus propias fincas y viviendas.

### **4.1.3. Registro de actividades antropogénicas**

Los espacios donde alguna vez crecieron los robles no están siendo reforestados, debido a que no existe en la zona un plan de reforestación, manejo fitosanitario y viveros con las especies de *Quercus*, que se reportan en Nicaragua. Estas áreas vacías presente en las fincas están siendo utilizadas por los propietarios para la siembra de pasto para alimento de ganado y uso de potreros.

Entre los factores abióticos más importantes que se presentaron durante el estudio fueron el de pale realizado por los propios pobladores, así como también las bajas precipitaciones que se presentó durante todo el año 2014.

#### 4.1.4. Análisis de la información de medición dasométrica en encinos

Con la finalidad de conocer la edad de la población de *Quercus*. Según la Norma técnica obligatoria Nicaragüense para el manejo sostenible de los bosques naturales latifoliados y de coníferas (NTON, 2004) y los datos tomados durante el estudio reflejan que el bosque de *Quercus* en parcelas de estudio son árboles jóvenes y en desarrollo (Anexo 15)

La cantidad de árboles muestreados y árboles muertos por parcela se muestran en el Cuadro 2, el porcentaje de encinos muertos durante el período de estudio fue de 5.7 %, en estudios realizados en otras especies de *Quercus* spp en México no informan el porcentaje de mortalidad de encinos.

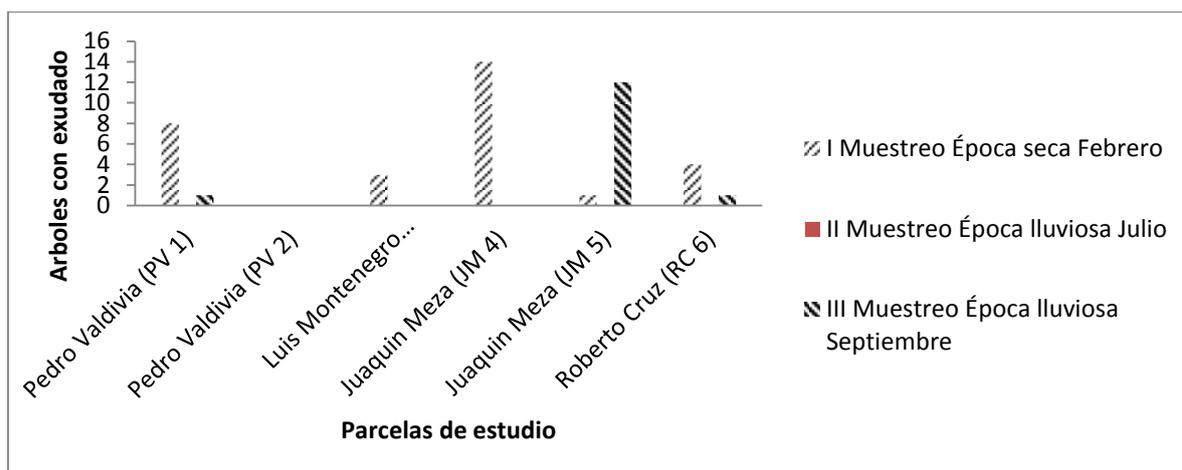
**Cuadro 2: Números de encinos y árboles muertos en las parcelas de estudio**

Parcela de Estudio	I Muestreo verano		II Muestreo invierno		III Muestreo invierno		Total de encinos muertos
	Febrero	Julio	Julio	Septiembre	Septiembre		
	Total de encinos muestreados	Encinos muertos	Total de encinos muestreados	Encinos muertos	Total de encinos muestreados	Encinos muertos	
Pedro Valdivia (PV 1)	147	2	145	3	142	4	9
Pedro Valdivia (PV 2)	28	2	26	0	26	0	2
Luis Montenegro (LM 3)	21	0	21	0	21	0	0
Joaquín Meza (JM 4)	46	2	44	0	44	0	2
Joaquín Meza (JM 5)	36	0	36	0	36	0	0
Roberto Cruz (RC 6)	20	4	16	0	16	0	4
<b>Total</b>	<b>298</b>	<b>10</b>	<b>288</b>	<b>3</b>	<b>285</b>	<b>4</b>	<b>17</b>

#### 4.1.5. Descripción de síntomas en los árboles de *Quercus* en campo asociados a la marchitez

Al realizar las colectas de muestras en las plantaciones, los síntomas observados en los árboles fueron puntas de las ramas laterales secas de igual manera en la copa; y coloración amarillas rojizas en las hojas. En daños severos los árboles se mostraban completamente sin hojas. En este estudio el patógeno *Phytophthora*, se aisló en el laboratorio en tejido vegetal y suelo en muestras obtenidas de las parcelas de estudio.

De igual forma en los fustes de los árboles se observaron chancros con exudados negros en sus alrededores, que al raspar la corteza, se observan grietas en el floema de color café-oscuro siendo en las parcelas de estudio cuatro y cinco de Joaquín Meza la de mayor número de encinos con exudados negros en el fuste (Figura3).



**Figura 3: Número de árboles de encinos con síntomas de chancros exudados negros, en las parcelas de estudios**

Estas parcelas del propietario Joaquín Meza son las que presentaban la mayor cantidad de *Quercus sapotifolia* con síntomas de chancros con exudados negros en fuste, con un total de 26 encinos, la cual predominó también en sus alrededores.

De las dos especies presente en la Reserva Natural, *Quercus sapotifolia* presentó mayor manifestación de síntomas de ramas laterales secas y marchitez en la copa; así también coloración amarilla rojiza en las hojas y chancros con exudaciones en fuste.

De acuerdo a la literatura citada no existen estudios que revelen que la especie *Quercus sapotifolia* sea susceptible al patógeno *Phytophthora*.

Tainter *et al* (2007), refieren en estudio realizado en otras especies de encinos en México, que los arboles afectados por *P. cinnamomi*, muestran síntomas en la copa, y además grietas en la corteza de la que salen exudaciones negras; este síntoma es conocido como enfermedad de la “tinta”. Al remover la corteza que está por debajo de la exudación se revela un cancro en el floema, el cual tiene un color distintivo que puede ser rojizo, café anaranjado a color vino tinto, considerados signos de la enfermedad.

Estos mismos autores argumentan que la declinación general del árbol, mortalidad de las ramas, o mortalidad completa y rápida de la copa, pueden ocurrir en un periodo de crecimiento anual o demorar varios años para su completa manifestación patológica.

Otro estudio realizado por Alvarado *et al.*, (2008), describe los síntomas por *Phytophthora cinnamomi*, como: 1. Secado de ramas tiernas en un corto tiempo; 2. Secado en follaje maduro; 3. Cancros con exudado oscuro en la corteza de los troncos; 5. Daño por manchones y dispersión radial a partir del foco de infección.

La especie *ramorum*, se ha reportado también como el causante de chancros y presencia de gotas de color marrón rojizo oscuro sobre la corteza (sangrado), mostrando en su parte interior una cancrrosis de color marrón oscuro bordeado por una línea de tono oscuro (NPDN, s.f)

En las especies de los encinos en la Reserva Natural Cerro Tomabú la secuencia de síntomas en los árboles se observaron: marchitamiento en las copas de los encinos de arriba hacia abajo, marchitamiento en las ramas laterales tanto en las ramas de la parte bajera como en las ramas intermedias, en algunos árboles, chancros con exudados negros en la parte del fuste a sus alrededores, estos exudados se presentaban en la parte inicial del fuste hasta cincuenta centímetros de altura (Figura 4, Anexo 9). En raíces colectadas de cada una de las parcelas de estudio se observaron coloraciones café oscura en la parte interna al realizar cortes transversal; estos síntomas se presentaban con mayor frecuencia en la especie de *Quercus sapotifolia* (Figura 4)

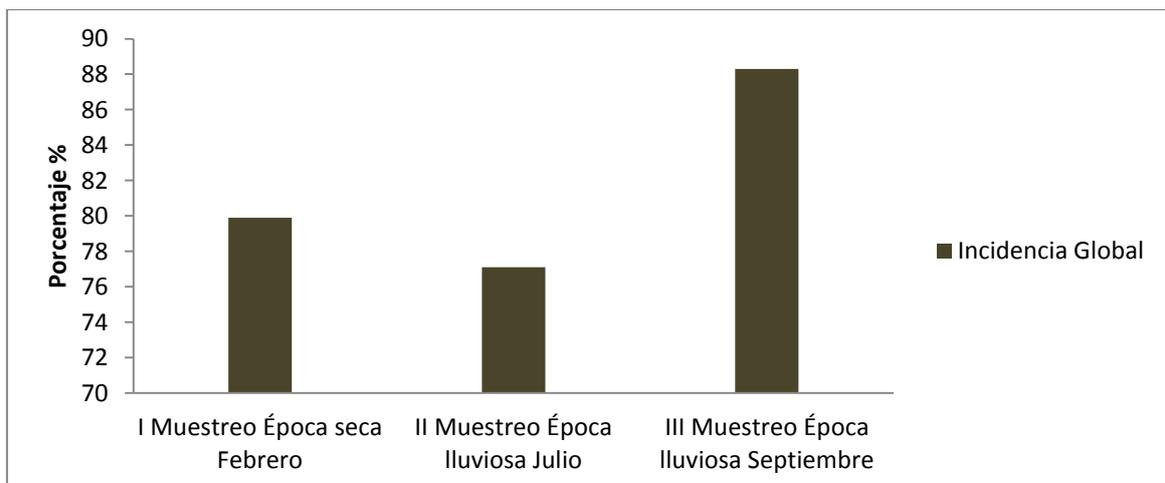


**Figura4:** Encinos con síntomas de chancros con exudados negros en el fuste y marchitez en las ramas, Reserva Cerro Natural Tomabú Estelí Nicaragua., Foto UNA.

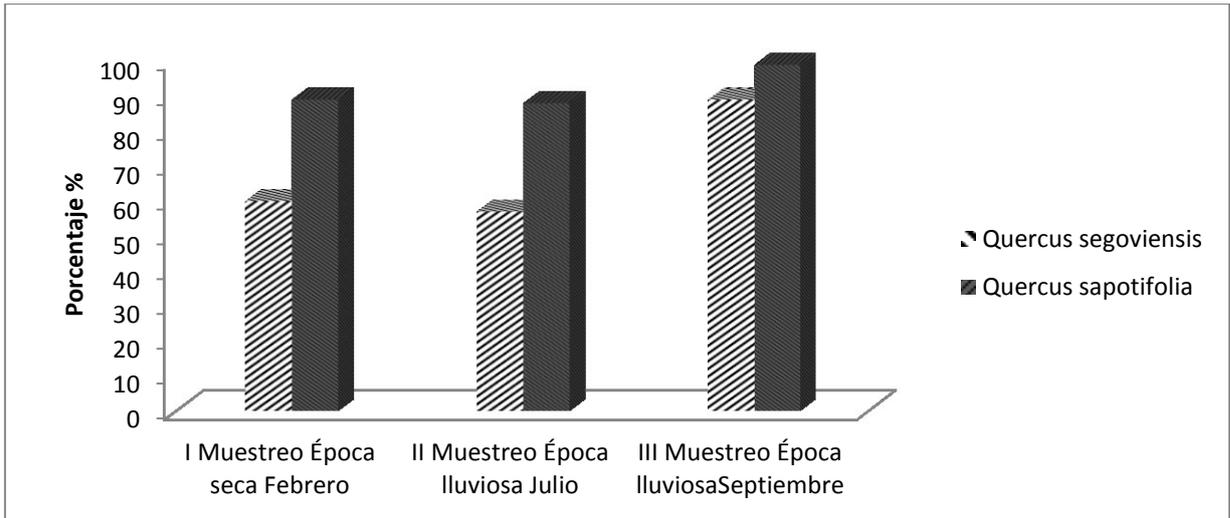
#### 4.1.6. Incidencia y Severidad de la marchitez de los árboles de encinos

Durante los tres muestreos realizados durante el estudio se observó en el tercer muestreo una mayor incidencia de 88.3 % con respecto a los dos muestreos anteriores (Figura5). Resultando un total de 216 encinos con síntomas de marchitez, en el muestreo de febrero, 210 árboles en el mes de julio y 279 en el mes de septiembre.

La incidencia promedio registrada por especies, con síntomas de marchitamiento de ramas y copa de los árboles, en las seis parcelas de estudio fue de 99 % en *Quercus sapotifolia* (Figura6). En el tercer muestreo en comparación con los anteriores, fue en el mes de septiembre, que se presentó mayor precipitación en el año 2014, esto evidencia que la marchitez no obedece a un estrés hídrico.



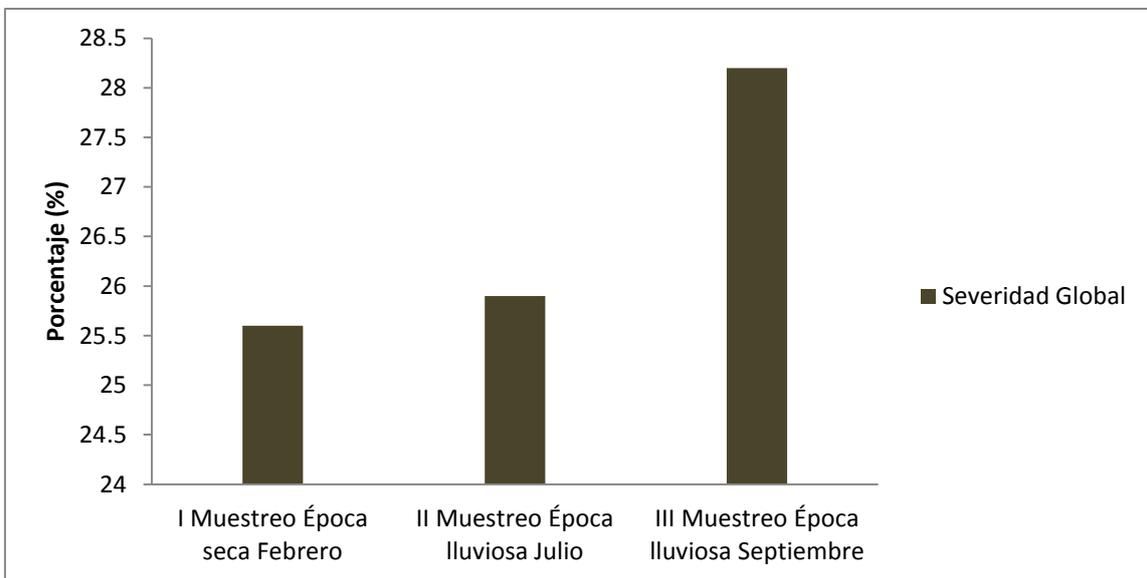
**Figura5:** Incidencia total de la marchitez de los encinos, Reserva Natural Cerro Tomabú (2014)



**Figura6: Incidencia de la marchitez de los encinos por especies, Reserva Natural Cerro Tomabú (2014)**

La severidad promedio de la marchitez de los encinos, durante los dos primeros muestreos realizados fue 25.7 % y 28.2% en el último muestreo (Figura7).

De acuerdo escala de Starkey (1989), la severidad de la marchitez de ramas laterales osciló entre 0 -10 %, que representa el grado 1 de dicha escala (Anexo 10).

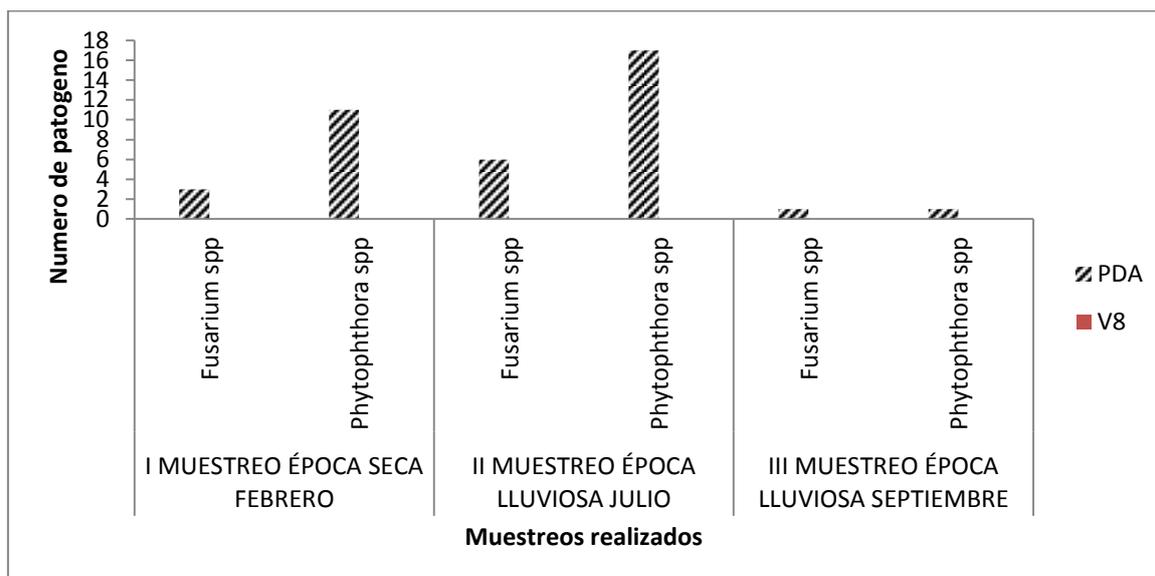


**Figura7: Severidad de la marchitez de los encinos, Reserva Natural Cerro Tomabú (2014)**

## 4.2. Etapa de laboratorio

### 4.2.1. Análisis patológico de suelo

Los análisis realizados a las diferentes muestras de las parcelas de estudio se encontró con mayor frecuencia a los patógenos de *Phytophthora* spp y *Fusarium* spp en medio (PDA), en el primero y segundo muestreo realizado. (Figura8). El medio de cultivo V8 más antibiótico es un medio específico para el crecimiento de *Phytophthora* spp sin embargo, este no funcionó en la técnica de dilución de suelo.

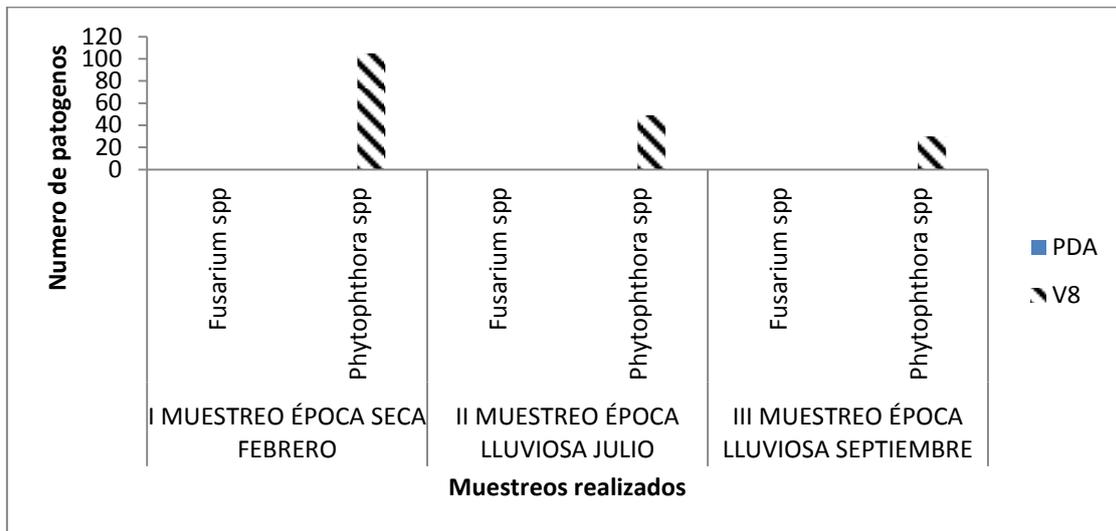


**Figura8: Número de unidades formadoras de colonia de patógenos en dilución de suelo en los diferentes medios**

### 4.2.2. Captura de *Phytophthora* utilizando como cebo hoja de clavel

Con esta técnica de captura, se encontró mayor número de crecimiento micelial del género *Phytophthora* en el primer muestreo (Figura 9), no obstante en los aislados obtenidos de este patógeno, en el primer muestreo, fue difícil su purificación para la obtención de cultivo puro e identificación de especies, debido a la gran cantidad de crecimientos bacterianos, aun utilizando 5 diferentes antibióticos. La identificación de las especies de *Phytophthora* se realizó a partir del segundo muestreo.

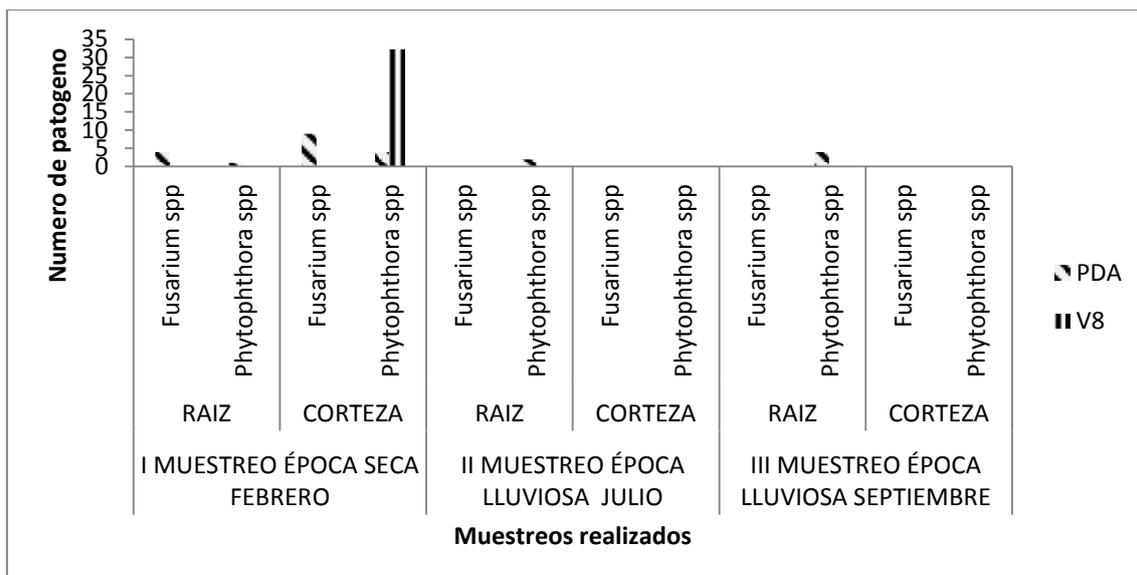
El aislamiento y la obtención de cultivo puro, de este patógeno, presenta muchas dificultades, por lo cual las especies de *Phytophthora* no son reconocidas ampliamente como agentes causales de muchas enfermedades, siendo atribuidas a otros microorganismos aislados fácilmente en medios de cultivos (Tsao, 1983, citado por Almaraz – Sánchez et al (2013)).



**Figura9: Número de colonias miceliales de *Phytophthora*, utilizando la técnica de captura con hojas de clavel**

#### 4.2.3. Análisis patológico de tejido vegetal (corteza y raíces)

En las muestras procesadas de material vegetativo de raíces y corteza de los troncos de los encinos, se encontraron ambos patógenos: *Fusarium* y *Phytophthora*, en el primer muestreo. *Phytophthora*, fue aislado con mayor número de frecuencia en el medio de cultivo V8 (Figura 10)



**Figura10: Número de colonias *Phytophthora*, en los diferentes medios**

Al género *Phytophthora*, le favorece las condiciones de mucha humedad, esta condición fue obtenida por las lluvias que prevalecieron en el año 2013, por tal razón, en el primer muestreo, se aisló el mayor número de colonias de estos patógenos. En el año 2014, se presentó un año prolongado de sequía y las lluvias se establecieron hasta en el mes octubre, contrario al año 2013 (Anexo 1)

Durante el proceso de procesamiento y aislamiento de los patógenos de muestras de suelo y tejido vegetal, la bacteria *Pseudomona fluorescens* creció en todas los aislados, considerándose esta de carácter antagonico.

#### 4.2.4. Identificación del género y especie de *Phytophthora*

##### 4.2.4.1. Características macro y micro morfológica

De acuerdo a la clave de Gallegl *et al* (2008), las características observadas en el microscopio de los aislados de los cultivos puros tomadas de las muestras de campo son del género *Phytophthora spp*. El micelio observado de este patógeno en medio de V8, es de color café, hifas cenocíticas y apariencia coraloides. Los esporangios son ovoides de 19 micras de largo y 14 micras de ancho (Anexo 11).

De acuerdo a la clave de Gallegl *et al* (2008) y el Programa de Lucid Key, para la identificación de especies, las características observadas en el microscopio, corresponden a la especie *cinnamomi*. Las estructuras sexuales observadas, de esta especie fueron oogonio de 15.6 de largo y 16.2 ancho y anteridios anfigenos rodeando al oogonio (Anexo 11).

Besoain, *et al*, (2005), en estudio realizado en Aguacate (*Persea americana* Mill), en la enfermedad de marchitamiento causado por *Phytophthora cinnamomi*, el tamaño de los esporangios, encontrados fueron de 63,9 x 39,4 micras estos difieren del tamaño encontrado en los aislados en *Quercus*.

En estudio realizado en Tecoaapa, Guerrero, México, Alvarado *et al.*, (2008). En sus aislados encontraron micelios turulosos, coraloides y las dimensiones de sus esporangios fueron de (48.24×31.47 µm) típicos de *Phytophthora cinnamomi*.

La Clave de identificación de especies de Gallegl *et al* (2008), refiere que el tamaño de los esporangio es de 60 x 34 y 85 x 35 y la medición de los oogonios de 40 micras. El tamaño de los esporangios y oogonios difieren en los estudios anteriormente señala dos en relación a la identificación de la especie de *cinnamomi*; al igual manera las condiciones climáticas y especies de *Quercus spp* y hospederos.

En otros estudios realizados por Pérez *et al* (2011), argumenta que *Phytophthora ramorum* fue descrita en Europa como una nueva especie asociadas con ramitas y la enfermedad del tizón foliar en *Rhododendron* y *Viburnum*, plantas en Alemania y en los países bajos. En América del Norte, *P. ramorum* responsable de la mortalidad de las especies de California *Quercus agrifolia*, *Q. kelloggii* (*Lithocarpus densiflorus*), con la enfermedad comúnmente conocido como muerte súbita del roble.

## 4.2.5. Identificación de especies de insectos encontrados en las parcelas de estudio

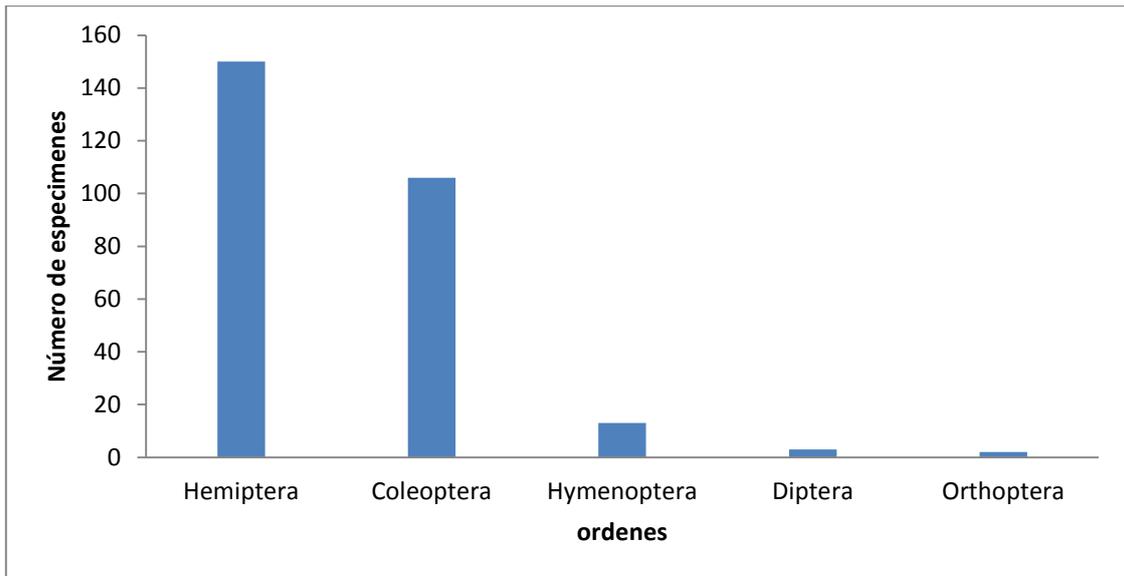
### 4.2.5.1. Especies de insectos encontrados

Los monitoreo y colectas que se realizaron durante el estudio con las trampas de embudo Lindgren en los seis sitios de estudio se encontraron las siguientes ordenes Cuadro 3.

**Cuadro 3: Especies de insectos encontrados en durante el monitoreo en encinos, Reserva Natural, Cerro Tomabú, Estelí, 2014.**

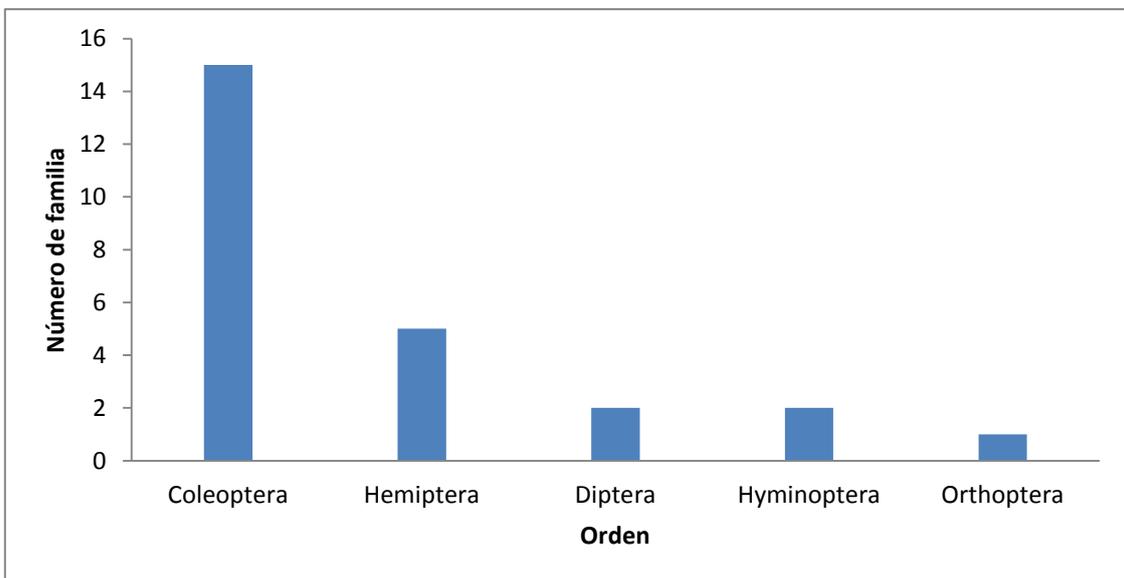
Orden	Nombre científico	Rol ecológico	Habitad o cultivos que ataca
<b>Coleoptera</b>	<i>Conoderus</i> sp	Plaga	Ataca cultivos de cereales y bulbos
<b>Hymenoptera</b>	<i>Sceliphron</i> sp	Benéfico	Depredador de arañas
<b>Diptera</b>	<i>Lespesia</i> sp	Benéfico	Depredador y parasitoide de otros depredadores
<b>Dermaptera</b>	<i>Dorus hinearis</i>	Benéfico	Depredador de otros artrópodos
<b>Orthoptera</b>	<i>Blotella</i> sp	Descomponedor de materia orgánica	Cucaracha de la madera
<b>Hemiptera</b>	<i>Apiomeris</i> sp	Benéfico	Depredador de otros artrópodos
<b>Hemíptera</b>	<i>Arilus</i> sp	Benéfico	Depredador de otros artrópodos
<b>Coleoptera</b>	<i>Ips</i> sp	plaga	Descortezador
<b>Hymenoptera</b>	<i>Polistes</i> sp	Depredador y polinizador	policultivos
<b>Coleóptera</b>	<i>Dendroctonus</i>	plaga	Descortezador

La presencia de *Ips* spp y *Dendroctonus* spp colectados en las trampas establecidas en las parcelas de estudio se debe a que en la reserva Natural Cerro Tomabú predominan, bosque entre mezclados de pino-encino, y también se relaciona a los atrayentes utilizados en las trampas eran específicos para los descortezadores de pino, considerados plagas de importancia económica, pero no así en las especies de *Quercus*.



**Figura 11: Número de especímenes de insectos por orden en las parcelas de estudio, Reserva Natural, Cerro Tomabú, 2014**

Se encontraron cinco órdenes, de los cuales Hemiptera y Coleóptera son los más representativos, pero es el orden Hemiptera quien predomina con 150 especímenes sobre los demás.



**Figura 12: Familias de insectos encontradas en las parcelas de estudio, Reserva Natural, Cerro Tomabú, 2014**

Es el orden Coleóptera quien presento mayor número de familia. Entre las familias identificadas ninguna es de interés económico la mayoría son benéficas depredadores, polinizadores, descomponedores y parasitoides. No se logró encontrar especies de

insectos como *Orgyasp* y *Eutachyptera psidii* reportadas como de foliadores de los encinos.

#### **4.2.6. Relación insecto patógeno en la marchitez de los encinos**

Las especies de insecto encontradas e identificadas se consideran de naturaleza benéfica y no se asocian a la mortalidad de los encinos, la literatura consulta no refiere estudios relacionando vectores del patógeno *Phytophthora* en encinos.

Pérez *et. al* (2011), refiere el síntoma del sangrado de la cancrrosis causado por *Phytophthora*, puede estrangular al árbol y hacer que las hojas cambien a un color marrón y ocasionar la muerte de la copa del árbol encino. Después de haber contraído la infección inicial, los árboles pueden morir en varios meses y/o varios años. Los árboles infectados pueden atraer a *Monarthrum scutellare* y *M. dentiger* y pueden ser colonizados por el hongo putrefacta (*Hypoxyton thouarsianum*).

## V. CONCLUSIONES

El patógeno *Phytophthora cinnamomi* Rands, se aisló de suelo, raíces y corteza, asociándose a la marchitez de los encinos en las seis parcelas de estudio. La especie de *Q. sapotifolia* mostró mayor porcentaje de síntomas de chancros con exudados negros en el fuste relacionándose al patógeno.

Las especies de insectos colectados en las trampas en las parcelas de estudios son considerados de naturaleza benéfica, estos no se asocian a la mortalidad de los encinos.

La incidencia de la marchitez de los encinos, se registró en el mes de septiembre con 88.3 %. La especie de *Q. sapotifolia* con un 99 % de incidencia. La mortalidad de encinos registrados durante el estudio fue de 17 árboles que representa el 5.7 % de encinos muertos.

El mayor porcentaje de severidad de la marchitez de los encinos, se registró en el mes de septiembre con 28.2 %. El 84 % de la población de encinos en las seis parcelas de estudio la severidad de la marchitez se encuentra entre 0 a 10 %.

Los encinos de la Reserva Natural Cerro Tomabú se desarrollan en suelos pedregosos pendientes altas y altitudes arriba de los mil metros sobre el nivel del mar. Los datos dasométricos, revelan que predominan los árboles jóvenes, en las parcelas de estudio, pero la mortalidad de los encinos se asocia a arboles jóvenes y adultos

## VI. RECOMENDACIONES

Continuar con el estudio de los factores asociados (bióticos y abióticos) a la mortalidad de los encinos mediante el uso de parcelas de monitoreo permanente, que permitan la toma de datos biológicos, climáticos y edáficos, durante las dos épocas del año.

Realizar pruebas con semillas y plantas de vivero de las diferentes especies de *Quercus* existentes en Nicaragua para determinar la susceptibilidad a las mismas a los patógenos encontrados durante el presente estudio como es *Phytophthora cinnamomi*.

## VII. LITERATURA CITADA

- Araica, R; Ruiz, E. 2005. Determinación de insectos y patógenos en la Reserva Natural Meseta Tisey–Estanzuela, Estelí. Trabajo de diplomado. Managua, Nicaragua, Universidad Nacional Agraria. Facultad de Recursos Naturales y del Ambiente. Paginas consultadas. 47 p.
- Alvarado Rosales, D; Saavedra Romero, L; Almaraz Sánchez, A; Tlapal Bolaños, B; Trejo Ramírez, O; Davidso, JM; Klienjunas, JT; Oak, S; O, Brien, JG; Orozco Torres, F; Quiroz Reygadas, D. 2007. Agentes Asociados y su papel en la Declinación y Muerte de Encino (*Quercus*, FAGACEA) en el centro - oeste de México (en línea). POLIBOTANICA. No.23. pp 1 – 21.
- Alvarado Rosales, D; Saavedra Romero, L; Almaraz Sánchez, A.2008. Primer Reporte de *Phytophthora cinnamomi* Rands. Asociado al Encino (*Quercus* spp.) En Teconapa, Guerrero, México. Agro ciencia 42: 565-572p.
- Almaraz –Sánchez, A, Alvarado-Rosales,D, Saavedra-Romero, Luz de L.2013. Trampeo de *Phytophthora cinnamomi* en bosque de encino con dos especies ornamentales e inducción de su esporulación. Revista Chapingo Serie Ciencia forestales y del ambiente 19: 5-12.
- Beagle, J; Ivors, K; Blanco, M; Melgar, J.2013. Manual Rapid Diagnostic tools for Phytophthora on Horticulture Crops. Implementación de Herramientas de diagnóstico rápido para *Phytophthora* en cultivos agrícolas en Centro América, Honduras. HND. Zamorano Agricultura University, Tegucigalpa, Honduras. 51p
- Besoain, X; Arenas, C; Salgado, E; Latorre. B, A.2005.Efecto del Periodo de Inundación en el Desarrollo de la Tristeza del Palto (*Persea americana*), Causada por *Phytophthoracinnamomi*.Facultad de Agronomía, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso.

- Barcenas, G. 1990. Estado actual del conocimiento de la Madera de encino (*Quercus* sp) en México.
- Cerda, F. 2001. Estudio de la biología del gusano de seda de los Robles (*Quercus* sp). Tesis Ing. Forestal. Managua, Nicaragua, Universidad Nacional Agraria, Facultad de Recursos Naturales y del Ambiente. 59 p.
- Castaño-Zapata, J.1986. Prácticas de laboratorio de fitopatología. Honduras, MIPH Escuela Agrícola Panamericana EL ZAMORANO. 518P
- Grijalva, A.2006.Flora útil Etnobotanica de Nicaragua.1ª ed Managua, MARENA. 290P.
- Gallego, M., and Hong.C 2008. *Phytophthora*: Identifying species by morphology and DNA fingerprints. American Phytopathological society Press, st. Paul Minnesota158p
- Huberli. D, Hayden K. J, Calver M, Garbelotto M. Intraspecific variation in host Susceptibility and climatic factors mediate epidemics of sudden oak death In western US forests, Plant Pathology (2012) 61,579 592
- INTECFOR.; IRENA.; UNA-MANAGUA.; INATEC. 1993. Manual Técnico Forestal. 1a. Ed. Managua, NI. INTECFOR/INATEC. 30, 54, 58 p.
- INETER (Instituto Nicaragüense de Estudios Territoriales). Resumen meteorológico anual del año 2013 y 2014 del puesto de San Isidro.
- Kaminskyj, S.G.W. 2005. Drug-free methods for purifying contaminated fungi cultres. Inoculum 56:14.

- MBG (Missouri Botanical Garden, US). 2013. Trópicos: flora de Nicaragua (en línea). Missouri, US. Consultado 01 de nov. 2013. Disponible en <http://www.tropicos.org/Name/40021776?projectid=7>
- Maes, J: M.1998. Insectos de Nicaragua: Catalogo de los insectos y artrópodos terrestres de Nicaragua. León, Nicaragua. Imprenta Print Vol. 1,2 y 3. 1893 p.
- MARENA (Ministerio de Recursos Naturales y del Ambiente). 2007. Plan de manejo de la Reserva Natural Cerro Quiabuc – Las brisa, Cerro Tomabú (CD) Managua Nicaragua. 1 disco compacto (80 min).
- MARENA (Ministerio de Recursos Naturales y del Ambiente). 1997. Estudio tecnológico de la madera de Barazon, Mandagual, Manu, Roble y Roble encino. Ficha técnica No 59. Managua Nicaragua.
- MAGFOR (Ministerio Agropecuario y Forestal). Dirección General Protección y Sanidad Agropecuaria, Dirección de Sanidad Vegetal y Semilla. 2004. Lista oficial de plagas reportadas en Nicaragua.
- Martínez, B; Bernal, A; Pérez, S; Muñis, Y. 2002. Variabilidad Patogénica de aislamiento de *Alternaria Solani* sor. Rev. Protección veg. Vol. 17. No: 1. pp 45-53
- Norma Técnica Obligatoria Nicaragüense.1800104.2004. Norma técnica para el manejo sostenible de los bosques naturales latifoliados y de coníferas. Nicaragua, 16 p
- Orosco.L; Brumer.C.2002. Inventario forestal para bosques latifoliados en América central. Turrialba, C.R, CATIE. 264p
- OFI-CATIE. S.f. Arboles de Centro América. Descripción de especies *Quercus* spp.

Pérez Sierra, A; Álvarez, L.A; Vercauteren, A; Heungens, K; Abad-Campos, P. 2011. Genetic diversity, sensitivity to phenylamide fungicides and aggressiveness of *Phytophthora ramorum* on camellia, Rhododendron and viburnum plants in Spain. *Plantpathology*.No. 60.pp 1069-1076.

Richard S. Dodd', Daniel Hiiberh', VladDouhovnikoff', Tamar Y. Harnik', Zara Afzal-Rafii and Matteo Garbelotto *New Phytologist* (2005) 165: 203-214 *New Phytologist* (2004) 60\ : 10.1111/j.1469-8137,2004.01200.x

Tainter, Frank. H; Alvarado, Rosales, D. La enfermedad “tinta” del encino / Ink disease of oak. *Phytophthora cinnamomi* Rands, (Pythiales, phythiceae) en Cibrián, Tovar. D; Alvarado, Rosales. D; García, Díaz. SE. 2007. Enfermedades forestales en México. México. pp 244 a 246

TheNature conservancy.2012.Honduras bosque de pino-encino (en línea).consultado 22 ago.2013. Disponible en <http://www.mundotnc.org/donde-trabajamos/americas/honduras/lugares/index.htm>

Tainter, Frank. H; Alvarado, Rosales.D. La enfermedad “tinta” del encino / Ink disease of oak. *Phytophthora cinnamomi* Rands, (Pythiales, phythiceae) en Cibrián, Tovar. D; Alvarado, Rosales. D; García, Díaz. SE. 2007. Enfermedades forestales en México. México. p 244 a 246

USDA–CSREES Integrated Pest Management Centers, Red Nacional de Diagnósticos de Plantas, APHIS, Servicio Forestal de los Estados Unidos, ARS y 1862 Land-Grant Universities. S.f. Muerte súbita del roble por *Phytophthora ramorum*. Eds. Julie Todd, Technically Correct Scientific Communications, State College, PA. Consultado 22 agosto. 2013. Disponible [https://www.ncipmc.org/alerts/suddenoakdeath/sod\\_spanish.pdf](https://www.ncipmc.org/alerts/suddenoakdeath/sod_spanish.pdf)

Universidad Nacional de Agricultura, Catacamas, Olancho, Honduras.2012 La UNA  
Incorporada al Proyecto Pino-Encino. Honduras.. Consultado 22 ago. 2013.

Disponible en <http://www.mundotnc.org/donde-trabajamos/americas/honduras/lugares/index.htm>

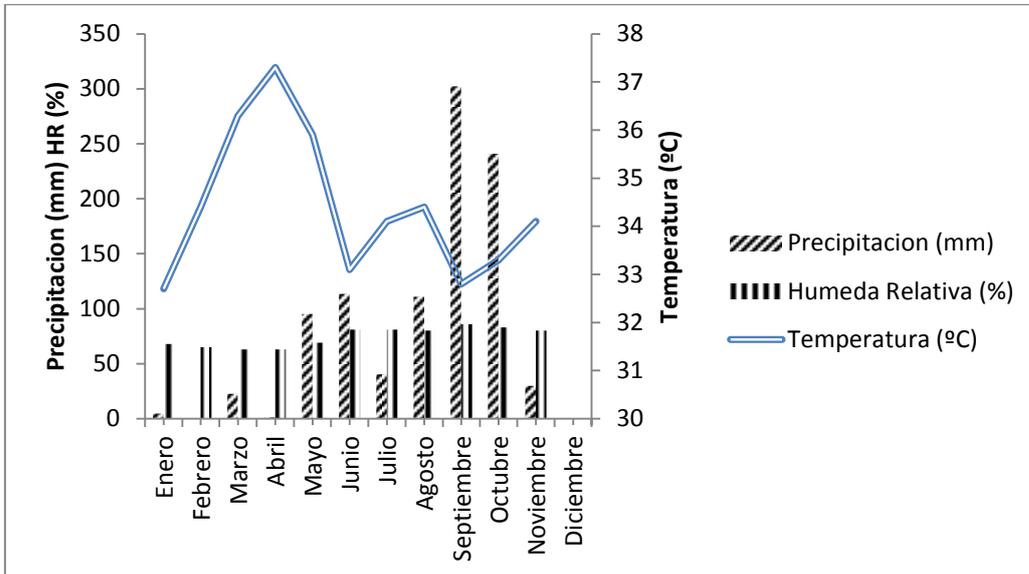
Valencia A, S. 2004. Diversidad del genero *Quercus* (Fagaceae) en México (en línea).  
Boletín de la Sociedad Botánica de México. No.75. pp 33 – 53. Consultado 17 set.  
2013. Disponible en <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57707503>

Valenzuela, Garza. R; Cibrián, Tovar. D. Pudrición de cuello de raíz por Ganoderma /  
Buttrotby Ganoderma. Ganoderma P. Karst, (Polyporales, Ganodermatacea) en  
Cibrián, Tovar. D; Alvarado, Rosales. D; García, Díaz. SE. 2007. Enfermedades  
Forestales en México. México. p 220 a 226.

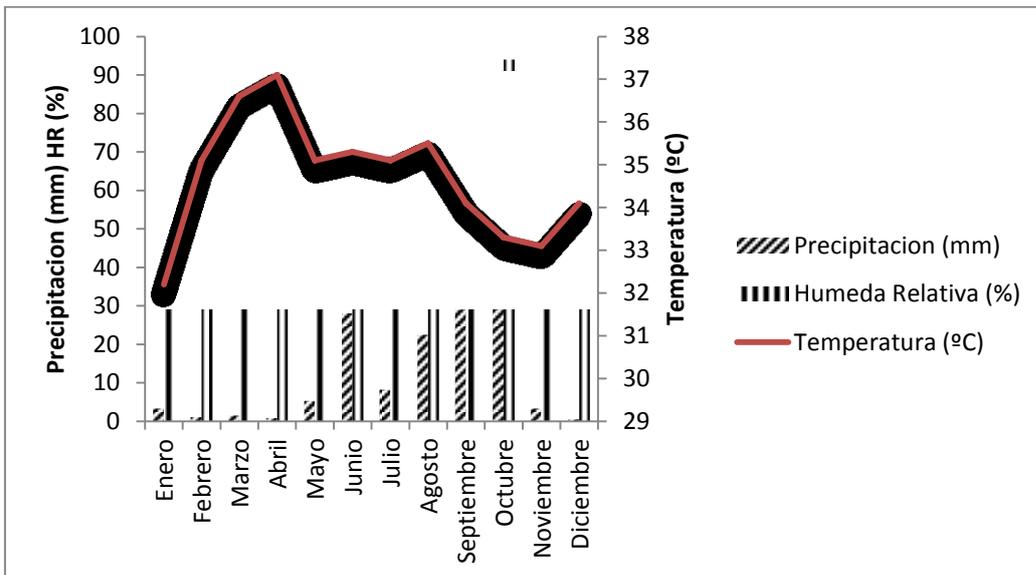
Zentmyer, GA. Origin and Distribution of *Phytophthora cinnamomi*. 1985. Calif.  
Avocado societyyearbook 69:89-96.

## **VIII. ANEXOS**

**Anexo 1: Datos meteorológicos de INETER puesto San Isidro año 2013 y 2014**



**Gráfico. Datos meteorológicos, INETER (2013)**



**Gráfico. Datos meteorológicos, INETER (2014)**

**Anexo 2: Escala de Severidad de marchitez de las árboles de encinos (*Quercus*spp)  
(Starkey *et al.*, 1989)**

<b>Grados</b>	<b>Porcentaje muerte regresiva de marchitez en ramas</b>	<b>Descripción de síntomas</b>
<b>1</b>	<b>0 - 10 %</b>	<b>Trazas de muerte regresiva</b>
<b>2</b>	<b>11-33 %</b>	<b>Ligero</b>
<b>3</b>	<b>34 -66 %</b>	<b>Moderado</b>
<b>4</b>	<b>67 – 98 %</b>	<b>Severo</b>
<b>5</b>	<b>100</b>	<b>Muerto</b>

### **Anexo 3: Hoja de entrevista**

#### Preguntas orientadoras

1. Cuál es el uso que usted le da a su finca dentro del área protegida de la reserva natural cerro Tomabú (agrícola, potrero)
2. Que beneficio les brinda su finca
3. Que uso le da los árboles secos, que se encuentran en su finca
4. Realizan algún tratamiento a los arboles dentro de su finca
5. Lleva usted recuento de la mortalidad de los árboles en su finca
6. Ha reforestado su finca
7. Siempre han existido arboles de roble en su finca
8. Desde hace cuánto ha venido observando la muerte de los robles en su finca

#### **Anexo 4: Preparación de medios de cultivos**

##### **Agar-Agua (AA) (Castaño-Zapata, 1986)**

Agar..... 17 g

Agua..... 1 000 ml

Empleado para inducir, la esporulación de estructuras fructíferas sobre la raíz, tallo y ramas.

##### **Papa dextrosaagar(PDA) (Castaño-Zapata, 1986)**

PDA..... 39 g

Agua..... 1000 ml

Medio general para hongo.

##### **Agar nutritivo (AN) (Castaño-Zapata, 1986)**

AN..... 9 g

Agua..... 1 000ml

Medio general para bacterias.

##### **Cultivo V<sub>8</sub> (Castaño-Zapata, 1986)**

Agua destilada..... 1000 ml

Agar.....17g

Carbonato de calcio (CaCO<sub>3</sub>).....1.5g

Jugo V<sub>8</sub>.....100ml

B- sistotrol..... 0.05g

**Adicionar a un litro de Jugo V8:**

<b>Antibióticos</b>	<b>Stock</b>	<b>Use</b>
<b>Ampicillin</b>	25 mg/ml	10.0 ml
<b>Rifampicin</b>	10 mg/ml	1.0 ml
<b>Piramicin</b>	20 mg/ml	1.0 ml
<b>Vancomycin</b>	50 mg/ml	4.0 ml
<b>Benomil</b>	10 mg7ml	2.0 ml
<b>Polymicin B</b>	50 mg7ml	1.0 ml

**Cultivo PARC**

H2O..... 1000 ml

Harina de Maíz..... 15g

Agar..... 17g

**Adicionar a un litro de Harina de maíz con Agar**

<b>Antibióticos</b>	<b>Stock</b>	<b>Use</b>
<b>Ampicillin</b>	25 mg/ml	10.0 ml
<b>Rifampicin</b>	10 mg/ml	1.0 ml
<b>Piramicin</b>	20 mg/ml	1.0 ml
<b>Vancomycin</b>	50 mg/ml	4.0 ml
<b>Benomil</b>	10 mg7ml	2.0 ml
<b>Polymicin B</b>	50 mg7ml	1.0 ml

## **Anexo 5: Método de dilución de suelo (Castaño-Zapata, 1986)**

Procedimiento:

1. Remover el suelo pesar 1g poner en 99 ml H<sub>2</sub>O estéril. Se deja su reposo 5 min. (dilución 1:10<sup>-2</sup>).
2. 1 ml de la dilución 10<sup>-2</sup> se transfiere asépticamente al tubo con 9 ml de agua estéril (10<sup>-3</sup>). Se mezcla bien el inóculo golpeando el tubo con el dedo índice.
3. De manera analógica se transfiere al tercer tubo hasta la dilución 10<sup>-6</sup>.
4. De la dilución 10<sup>-4</sup> sembrar 0.2 ml en PDA y de la dilución 10<sup>-6</sup> sembrar 0.2 ml en medio AN y se distribuye por toda la superficie con espátula Drigalski.

## Anexo 6: Solución salina para la inducción a esporangios *Phytophthora*

Preparación por litro

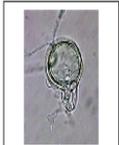
CaNO <sub>3</sub>	2.36 g/L
KNO <sub>3</sub>	0.5 g/L
MgSO <sub>4</sub>	1.0 g/L
KOH	7.5 g/L
FeSO <sub>4</sub>	24.5 g/L
EDTA	1ml/L

## Anexo 7: Programa Lucid key

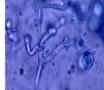
LucidPlayer (UNREGISTERED) - A Key to the Common Phytophthora species - G:\03\_Lucid Key-beta version\A Lucid Key to the Common Species of Phytophthora.lkc4

Key Features Entities View Window Help

Features Available: 20

-  aplerotic
-  plerotic
- Chlamydospores, Hyphae, and Culture Growth
  -  Chlamydospores
    - present
    - absent

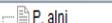
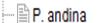
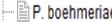
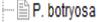
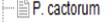
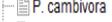
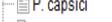
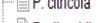
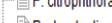
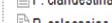
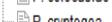
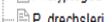
Features Chosen: 8

-  Chlamydospores
  - present
-  Hyphal swellings
  - present
- Culture growth habit
  - present

Entities Remaining: 1

-  P. cinnamomi

Entities Discarded: 53

-  P. alni
-  P. andina
-  P. boehmeriae
-  P. botryosa
-  P. cactorum
-  P. cambivora
-  P. capsici
-  P. citricola
-  P. citrophthora
-  P. clandestina
-  P. colocasiae
-  P. cryptogea
-  P. drechsleri
-  P. erythroseptica
-  P. fragariae

Trees Lists Images

Morphological Characters/Chlamydospores, Hyphae, and Culture Growth/Temperature optimal/moderate: 22-28 C

## **Anexo 8: Parcelas de muestreo**

### **Parcela de estudio 1, Pedro Valdivia**



- **Parcela de estudio 2, Pedro Valdivia**



- **Parcela de estudio 3, Luis Montenegro**



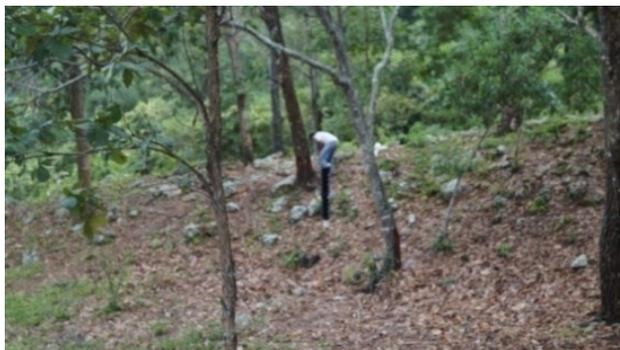
**Parcela de estudio 4, Joaquín Meza**



**Parcela de estudio 5, Joaquín Meza**



- **Parcela de estudio 6, Roberto Cruz**



**Anexo 9: Caracterización de síntomas Aéreos**



**Figura 1 Síntoma Inicial**



**Figura 2 Síntoma intermedio...**



**Figura 3 Muerte**

**Figura 4 Exudados en el fuste**



**Anexo 10: Grados de Severidad de la marchitez de los encinos en cada parcela de estudio**

Parcela de Estudio	I Muestreo verano Febrero					II Muestreo invierno Julio					III Muestreo invierno Septiembre				
	Grados de severidad					Grados de severidad					Grados de severidad				
	Numero de encinos por escala					Numero de encinos por escala					Numero de encinos por escala				
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
<b>Pedro Valdivia (PV 1)</b>	69	15	7	1	2	66	15	6	0	6	82	46	11	0	8
<b>Pedro Valdivia (PV 2)</b>	14	5	0	0	2	13	6	0	0	2	13	11	2	0	2
<b>Luis Montenegro (LM 3)</b>	14	4	0	1	0	14	4	0	1	0	15	3	2	0	0
<b>Joaquín Meza (JM 4)</b>	30	3	0	0	2	30	4	0	0	2	32	4	0	0	2
<b>Joaquín Meza (JM 5)</b>	24	2	0	0	0	24	2	0	0	0	23	12	0	0	0
<b>Roberto Cruz (RC 6)</b>	3	5	6	0	4	2	5	6	0	4	5	1	0	1	3

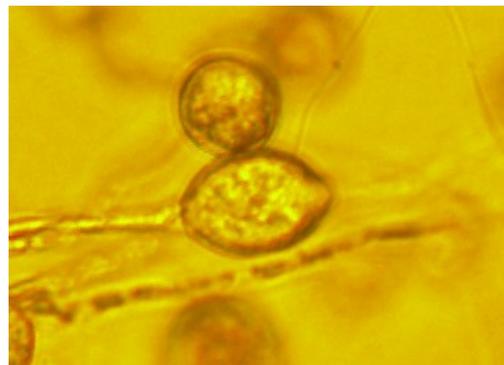
1) 0 a 10%, 2) 11 a 33%, 3) 34 a 66%, 4) 67 a 99%, 5) 100%

**Anexo 11: Estructuras de *Phytophthora cinnamomi***

**Hifas coraloides**

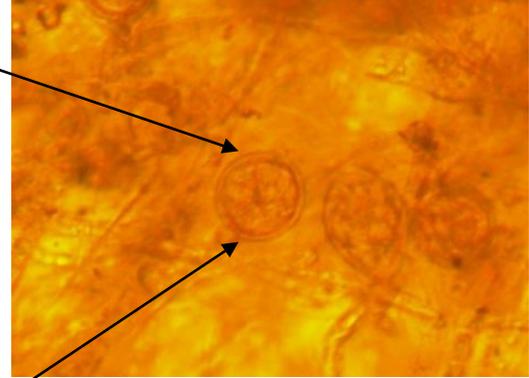


**Esporangios no papilado**



# Oogonios

Oogonio



Anteridio anfigeno

**Anexos 12: Tabla de identificación de *Phytophthora* spp Species ID Worksheet**

<b>Name:</b>			
<b>Morphological Identification</b>			
<b>Asexual Structures</b>		<b>Sexual Structures</b>	<b>Chlamydo spores, hyphae, culture characteristics</b>
<b>Sporangia</b>		<b>Reproductive behavior</b>	<b>Chlamydo spores</b>
Papillate		Homothallic	Present
Semipapillate		Heterothallic	Absent
Nonpapillate			
		<b>Antheridia</b>	<b>Hyphal Swellings</b>
<b>Number apices</b>		Amphigynous	Present
One		Paragynous	Absent
more than one			
		<b>Oogonia Size</b>	<b>Culture growth habit</b>
<b>Caducous</b>		<30 um	rosette
Yes		>30-40 um	not rosette
No		>40-50 um	
		>50	<b>Culture growth rate</b>
<b>Pedicle Length</b>			slow
short - up to 5 um		<b>Oogonium features</b>	not slow
medium - up to 10 um		ornamented	
			<b>Temperature Optimum</b>
long - up to		tapered base	low < 22 C
			moderate 22-28 C
<b>Sporangium shape</b>		<b>Oospore size</b>	high > 28 C
spherical		<20 um	
ellipsoid		20-30 uim	
ovoid		>30 um	
obpyriform		>40 um	
obturbinate			
obovoid		<b>Oospores</b>	
distorted		plerotic	
		aplerotic	
<b>Sporangium base</b>			
tapered			
not tapered			
<b>Sporangium length/breadth ratio</b>			
<1.6			
>1.6			

***Phytophthora* Species ID Worksheet ctd.**

<b>Asexual Structures Ctd.</b>				
<b>Sporangium length</b>				
less than 45 um				
45-75 um				
>75 um				
<b>Sporangiophore features</b>				
sympodia compound				
sympodia simple				
long irregular				
umbellate				
internal proliferation				
basal swelling				
intercallary swelling				
clumps				

**Anexo 13:Hoja de recuentos de datos para parcelas**

Fecha \_\_\_\_\_ Finca \_\_\_\_\_ Parcela \_\_\_\_\_

Tipo de bosque \_\_\_\_\_ Altitud-----

Muestreo	Numero de Encino	Numero de Roblón	Altura	DAP	Pendiente	Coordenada	Síntoma			% Insidencia	Severidad
							Aéreo I Etapa verano	Aéreo II Etapa Invierno	Fuste		
2											
3											
4											
5											
6											
7											

**Anexo 14: Fotos de insectos encontrados en la Reserva Natural Cerro Tomabú**



Orden: Hemiptera  
Familia: Reduviidae  
Género: *Apiomeris*



Orden: Orthoptera  
Familia: Blattellidae  
Género: *Blatella*



Orden: Coleoptera  
Familia: Elateridae  
Género: *Conoderus*



Orden: Hemiptera  
Familia: Reduviidae  
Género: *Arlius*



Orden: Coleoptera  
Familia: Elateridae  
Género: *Chaecolepidi*



Orden: Coleoptera  
Familia: Cerambycidae  
Género: *Chloridasp*



Orden: Hymenoptera  
Familia: Sphecidae  
Género: *Sceliphron*



Orden: Dermaptera  
Familia: Forficulidae  
Género: *Dorushinear*

**Anexo 15: Promedios de altura y diámetro de fuste (DAP) de cada encino presente en las parcelas de estudios**

<b>Muestreo</b>	<b>DAP</b>	<b>Altura</b>
Parcela de estudio 1, Pedro Valdivia (PV)	10	11
Parcela de estudio 2, Pedro Valdivia (PV)	24	17
Parcela de estudio 3, Luis Montenegro (LM)	38	20
Parcela de estudio 4, Joaquín Meza (JM)	13	11
Parcela de estudio 5, Joaquín Meza (JM)	13	11
Parcela de estudio 6, Roberto Cruz (RC)	34	14

## Anexo 16: Listas de materiales utilizados durante el estudio

<b>Lista de materiales utilizado en campo</b>
Cintas plasticas biodegradable
Espray Amarillo
Espray Negro
Machetes
Cinta métrica de 50 m
Palines
Hacha pequeña (casadora)
SERRUCHO
GPS etrex
Lima plana
Tablas de campo
Bolsas plásticas de 5 libra
Bolsa de papel kraf
Trampas de embudo
Aguarras
Alcohol al 90%
Termos
<b>Lista de materiales utilizado en laboratorio</b>
Platos Petri desechable
Platos Petri de vidrio
PDA 500 g
Jugo V8
Agar 500 g
Antibioticos: Rifampicina, Ampicilinas, Piramicina, Benomil, Bancomicina
Papel aluminio
B- sistoterol 10 mg
Carbonato de calcio ACS 500 g
Alcohol al 90%
Hipoclorito
Agua destilada
Arina de maiz
Bisturi
Azas
Acidolactico
Agar Nutriente
Biker
Elenmeyer
Tubos de ensayo
Parrillas
Rotor
Hot play

Auto clave
Horno microonda
Hojas de clavel
Caja entomologica
Alfileres
Pliegue de poroplas
Alfileres de cabezuela
Viales
Insecticida Baygon
Papel tualla